

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 762 196**

51 Int. Cl.:

**A01N 65/00** (2009.01)

**A01N 65/20** (2009.01)

**A01N 25/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.02.2012 PCT/AU2012/000160**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.08.2012 WO12113017**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.02.2012 E 12750256 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2019 EP 2677871**

54 Título: **Control de plagas de insectos**

30 Prioridad:

**21.02.2011 AU 2011900586**

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

**22.05.2020**

73 Titular/es:

**INNOVATE AG PTY LIMITED (100.0%)  
77a Rose Street  
Wee Waa, New South Wales 2388, AU**

72 Inventor/es:

**MENSAH, ROBERT**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 762 196 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

Control de plagas de insectos

## 5 Campo técnico

La presente invención se refiere al uso de *Clitoria ternatea* para el control de plagas de insectos, más particularmente para el control de polillas y sus larvas, e insectos masticadores o chupadores de savia en general, a través de la actividad insecticida y/o repeler la plaga de insectos y/o disuadir la plaga de insectos de poner huevos y/o influir en la posición de la puesta de huevos y/o disuadir a la plaga de insectos de alimentarse de un cultivo agrícola u otra planta. En particular, la presente invención se refiere al uso de extractos de *Clitoria ternatea* para el control de plagas de insectos de cultivos agrícolas y otras plantas, más particularmente al control de las polillas y sus larvas y los insectos masticadores o chupadores de savia en cultivos agrícolas y otras plantas..

## 15 Antecedentes de la técnica

La industria algodonera australiana todavía se basa en aplicaciones repetidas de pesticidas sintéticos para controlar las plagas en los cultivos. Los problemas de acompañamiento asociados con la resistencia a los insecticidas, la interrupción de especies beneficiosas, el alto coste de producción y el impacto ambiental ahora requieren que se investiguen estrategias alternativas para manejar *Helicoverpa* spp. Estos incluyen (pero no se limitan a) cultivos de algodón manipulados por ingeniería genética que contienen proteína insecticida de *Bacillus thuringiensis* (Bt) y otras resistencias de plantas hospedadoras, biopesticidas, un mejor manejo de especies beneficiosas, cultivos trampa, cultivos intercalados y plantaciones complementarias, y la manipulación del comportamiento de plagas e insectos beneficiosos. Los cultivos manipulados por ingeniería genética (transgénicos) ahora se cultivan en Australia y en muchos países para controlar las plagas de lepidópteros y su introducción ha reducido el uso de insecticidas sintéticos contra estas plagas. Sin embargo, otras plagas no se ven afectadas por la toxina en las plantas transgénicas, por ejemplo plagas chupadoras. También las larvas de *Helicoverpa* de etapa tercera a tardía que pueden tolerar la toxina han llevado al uso incrementado de insecticidas sintéticos para controlarlos tanto en cultivos de algodón transgénicos como convencionales. Por lo tanto, la necesidad de desarrollar nuevas metodologías para controlar estas plagas es crucial.

Una de las metodologías con mayor potencial para revolucionar la forma en que se manejan las plagas de insectos en cultivos de crecimiento amplio tal como el algodón, es el uso de compuestos químicos vegetales naturales o extractos vegetales. Los extractos de plantas naturales o los compuestos de plantas secundarias (SPC) en general pueden influir en el comportamiento de los insectos al funcionar como señales que estimulan el "interés" de un insecto o disuaden a los insectos de infestar una planta huésped particular (Rhoades and Coates 1976). Muchos SPC han evolucionado en las plantas para proteger las plantas en realidad contra la infestación de plagas (Rhoades and Coates 1976). Esto ha llevado a varios ejemplos de SPC que se utilizan como insecticidas botánicos para reducir el daño de las plagas cuando se aplican a las plantas de cultivo. Algunos SPC extraídos de plantas no hospedadoras y luego rociados en plantas hospedadoras pueden cambiar el comportamiento de una plaga, particularmente las polillas, que luego evitan la planta hospedadora (Tingle and Mitchell 1984). Numerosos estudios sobre el manejo de plagas se han centrado en compuestos químicos que matan a la plaga en lugar de compuestos que modifican el comportamiento (Tingle and Mitchell 1984, Mensah and Moore, 1999). En consecuencia, se han pasado por alto compuestos potencialmente útiles con modos de acción más sutiles que podrían conducir a productos novedosos (Mensah and Moore, 1999). Tales compuestos atraen o repelen las plagas a distancias considerables; o estimular o disuadir tanto la alimentación como la puesta de huevos después del contacto. Los compuestos disuasivos suprimen directamente la oviposición y la alimentación de los insectos (Mensah, 1996, Mensah et al. 2000), se consideran más importantes que los estimulantes y, de hecho, un efecto disuasorio se observa más comúnmente en los SPC (Bernays and Chapman 1994). Es plausible que la eficacia de un elemento disuasorio se incremente cuando se usa en combinación con un atrayente/estimulante aplicado a un recurso no valorado (Miller and Cowles, 1990) en una estrategia de etapas simétricas (Pyke et al. 1987). Por lo tanto, una herramienta para modificar el comportamiento de puesta de huevos y/o alimentación de las plagas de insectos es una metodología novedoso para el manejo de plagas en cultivos agrícolas y ofrece beneficios potencialmente muy significativos.

55 D1: Pandey, A., Pandey, A. y Singh M. P., Ann. Pl. Protec. Sci. 2010, 18 (2): 304-306 describe la actividad antialimentaria de extractos de diversas partes de plantas de *Cassia fistula*, *Sanbuctus nigra* y *Clitoria ternatea*. Los extractos divulgados son extractos de las semillas y raíces de la planta *C. ternatea*.

60 D2: Mathew, N., et al., Parasitol Res, 2009, 104: 1017-1025 describe la actividad larvicida de los extractos de *Saraca indica*, *Nyctanthes arbod-tristis* y *Clitoria ternatea* contra tres especies de vectores de mosquitos. Los extractos de plantas se prepararon mediante extracción con Soxhlet de partes de plantas en polvo en éter de petróleo, cloroformo o metanol, seguido de disolvente eliminado bajo presión reducida y resuspensión en alcohol absoluto o acetona. Las larvas de mosquito se bañaron luego durante 24-48 h en una mezcla de 1 ml de extractos resuspendidos en 99 ml de agua destilada.

65 Resumen de la invención

5 En un aspecto, la presente invención proporciona una composición para controlar plagas de insectos que comprende un extracto de al menos las hojas de *Clitoria ternatea* que comprende SPCs que tienen actividad insecticida y/o que repelen la plaga de insectos y/o disuaden a la plaga de insectos de poner huevos y/o influir en la posición de la puesta de huevos y/o disuadir a la plaga de insectos de alimentarse de una planta, en donde la composición comprende uno o más emulsionantes y opcionalmente comprende un portador.

10 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para controlar una o más plagas de insectos, comprendiendo el método tratar un locus con un SPC que tiene actividad insecticida y/o que repele la plaga de insectos y/o que disuade a la plaga de insectos de poner huevos y/o influye en la posición de la puesta de huevos y/o que impide que la plaga de insectos se alimente de una planta, y que se deriva de *Clitoria ternatea*.

Breve descripción de las figuras

15 La Figura 1 muestra cromatogramas de HPLC de fracciones de extracción en fase sólida (SPE) de *Clitoria ternatea* junto con espectros UV;

20 La Figura 2 ilustra gráficamente la respuesta de alimentación de las larvas en tercer estadio de *Helicoverpa armigera* en hojas de algodón tratadas con fracciones de *Clitoria ternatea* (pruebas sin elección);

La Figura 3 ilustra gráficamente los efectos antibióticos de las fracciones de *Clitoria ternatea* en *H. armigera* en el segundo estadio que dan como resultado mortalidad después de 48 horas;

25 La Figura 4 muestra la respuesta de alimentación sin elección de *H. armigera* en el segundo estadio a los efectos de enmascaramiento de *Clitoria ternatea* F2 en las hojas de Lu Mein (atrayente alimenticio) sobre el peso de la hoja consumida;

30 La Figura 5 muestra el efecto de enmascaramiento sin elección de la fracción # 2 de *Clitoria ternatea* sobre las hojas de Lu Mein sobre el peso de las larvas de *H. armigera* en el segundo estadio (resumen de 3 experimentos);

La Figura 6 es un gráfico que ilustra la eficacia de *Clitoria ternatea* combinada formulada en hexano en la oviposición de *Helicoverpa* spp. en plantas de algodón;

35 La Figura 7 muestra la eficacia de diferentes concentraciones de *Clitoria ternatea* formuladas en hexano en la oviposición de *Helicoverpa* spp. en plantas de algodón;

40 La Figura 8 muestra la eficacia de diferentes concentraciones de *Clitoria ternatea* formuladas en hexano sobre el número de huevos y larvas de *Helicoverpa* spp. por metro por fecha de muestra registrados en campos de algodón comerciales convencionales;

La Figura 9 muestra la eficacia de *Clitoria ternatea* formulada en (1) aceite de semilla de algodón (2) aceite de semilla de algodón crudo y (3) aceite de canola en larvas de *Helicoverpa* spp. desde larvas en segundo estadio hasta pupación en dietas artificiales; y

45 La Figura 10 es un perfil de HPLC a UV210nm de una extracción metanólica de una composición que comprende SPCs derivados de material de planta *Clitoria ternatea* en una etapa previa a la floración (que no comprende flores ni vainas) por contacto con aceite de canola. El perfil se obtuvo usando un LCMSD Agilent 1100 con una columna Phenomex Luna C18 a 40 °C usando las siguientes condiciones de gradiente de disolvente:

50 Fase móvil: A = 0.05% de ácido trifluoroacético (TFA) -Agua B = 0.05% de TFA-Acetonitrilo

Tiempo (min)	%A	%B	Tasa de flujo (mL/min)
0	90	10	1.0
17.5	80	20	1.0
20	5	95	1.0
22.5	5	95	1.0
25	90	10	1.0
30	90	10	1.0

Descripción detallada de la invención

55 La presente invención se refiere al control de una o más plagas de insectos con SPCs derivados de *Clitoria ternatea*.

5 Como se usa en el presente documento, un SPC, o compuesto de planta secundaria, es un compuesto químico sintetizado por una planta que no es esencial para la supervivencia de la planta. Los SPC del presente tienen actividad insecticida y/o repelen la plaga de insectos y/o disuaden a la plaga de insectos de poner huevos y/o influyen en la posición de la puesta de huevos y/o impiden que la plaga de insectos se alimente de la planta.

En una realización, la plaga de insectos es una plaga de plantas y el método comprende aplicar un extracto de *Clitoria ternatea* a la planta o sus alrededores.

10 Las realizaciones de la invención pueden usarse para tratar cultivos para limitar o prevenir la infestación de insectos. La presente invención es especialmente adecuada para plantas agrónomicamente importantes, que se refiere a una planta que se cosecha o cultiva a escala comercial.

15 Ejemplos de tales plantas agrónomicas (o cultivos) son los cereales, tales como trigo, cebada, centeno, avena, arroz, maíz o sorgo; remolacha, tal como remolacha azucarera o forrajera; fruta, por ejemplo, fruta de pepita, fruta de hueso y frutos suaves, tal como manzanas, peras, ciruelas, prunas, duraznos, almendras, cerezas o bayas, por ejemplo fresas, frambuesas o moras; legumbres, tal como frijoles, lentejas, guisantes o frijol de soja; cultivos oleaginosos tales como colza de semilla oleaginosa, mostaza, amapolas, aceitunas, girasoles, cocos, ricino, cacao o cacahuete; la familia del calabacín, tal como calabazas, pepinos o melones; plantas de fibra tales como algodón, lino, cáñamo o yute; frutas cítricas tales como naranjas, limones, toronjas o mandarinas; vegetales tales como espinacas, lechugas, espárragos, especies de repollo, zanahorias, cebollas, chiles, tomates, patatas o pimientos; la familia del laurel tales como el aguacate, la canela o el alcanfor; y tabaco, nueces (tales como nuez de nogal), café, berenjenas, caña de azúcar, té, pimienta, vides, lúpulo, la familia del plátano, plantas de látex y plantas ornamentales. También son importantes los cultivos forrajeros, tales como los pastos y las legumbres.

20 En una realización, las plantas incluyen plantas de fibra, cultivos de granos, cultivos de leguminosas, cultivos de legumbres, hortalizas y frutas, más particularmente, algodón, maíz, sorgo, girasol, alfalfa, diversas legumbres especialmente frijol de soja, guisante, frijol mungo y garbanzos, tomates, okra y plantas similares.

30 En una realización, las plantas incluyen plantas ornamentales. A modo de ejemplo, estas plantas ornamentales pueden ser orquídeas, rosas, tulipanes, árboles, arbustos, hierbas, céspedes y pastos, bulbos, enredaderas, plantas perennes, plantas suculentas, plantas de interior.

35 En una realización, la plaga de insectos es una plaga de un animal y el método comprende aplicar un extracto de *Clitoria ternatea* al animal. En una realización, el animal puede ser perros, gatos, ganado vacuno, ovejas, caballos, cabras, cerdos, pollos, cobayas, burros, patos, pájaros, búfalos de agua, camellos, renos, gansos, llamas, alpacas, elefantes, ciervos, conejos, visón, chinchilla, hámster, zorro, emú, avestruz.

40 En una realización, el método comprende tratar un hábitat.

45 La presente invención abarca la aplicación de un extracto de *Clitoria ternatea* en aceite, agua o cualquier producto portador a una planta afectada por la plaga o sus alrededores, o a un animal afectado por la plaga. El tratamiento puede incluir el uso de una Formulación a base de aceite, una Formulación a base de agua, una Formulación residual, polvo humectable y similares. En algunas realizaciones, se pueden emplear combinaciones de formulaciones para lograr los beneficios de diferentes tipos de Formulación. El extracto puede agregarse al vehículo o, en el caso de una Formulación líquida, el vehículo puede haberse usado para extraer SPC de *Clitoria ternatea*, por ejemplo aceite de canola.

50 En una realización, la Formulación es una Formulación a base de aceite que puede comprender además un surfactante.

En una realización, la Formulación es una Formulación a base de aceite y el aceite es un hidrocarburo C19-C27.

55 En una realización, la Formulación incluye un extracto de *Clitoria ternatea* en un disolvente polar tal como los descritos en la reivindicación 1. En particular, la Formulación puede ser un extracto de *Clitoria ternatea* en alcohol.

60 En una realización, la Formulación incluye un extracto metanólico de *Clitoria ternatea*. En una realización, la Formulación incluye un extracto etanólico de *Clitoria ternatea*. En una realización, la Formulación incluye un extracto de *Clitoria ternatea* en aceite de bajo peso molecular tal como aceite de semilla de algodón crudo y refinado o aceite de canola. Otros aceites incluyen aceites blancos, aceite DC Tron (aceites nC 21 y nC 24), aceite de Canopy (aceite nC27), aceite Biopest (aceites nC 24), aceite latente o aceite de verano, como se conoce en la industria hortícola. La mayoría de estos aceites son nC19-nC27 pero se pueden usar otros hidrocarburos que tienen una toxicidad aceptable. Hay varios de tales productos en el mercado que son adecuados para uso con la presente invención. Estos son aceite Sunspray, aceite de árbol de té, Sunspray Ultra fino fabricado por Sun Refining and Marketing Company.

65

El aceite de pulverización de petróleo se puede usar junto con diluyentes y/o vehículos agronómicamente aceptables adecuados y con otros aditivos comunes en la técnica, tales como emulsionantes, agentes humectantes, surfactantes, estabilizadores, esparcidores o similares.

5 En una realización, la Formulación incluye un extracto acuoso de *Clitoria ternatea*.

En una realización, la Formulación incluye un extracto de *Clitoria ternatea* en un disolvente de hidrocarburo inferior tal como hexano.

10 En una realización, la Formulación incluye una fracción de un extracto crudo de *Clitoria ternatea*

En una realización, la Formulación incluye una mezcla de fracciones de un extracto crudo de *Clitoria ternatea*.

15 El término "portador" como se usa en el presente documento significa un material líquido o sólido, que puede ser inorgánico u orgánico y de origen sintético o natural, con el que el compuesto activo se mezcla o formula para facilitar la aplicación de una composición de acuerdo con la invención o un SPC derivado de *Clitoria ternatea* se aplica a un locus para ser tratado, o para facilitar su almacenamiento, transporte y/o manipulación. En general, cualquiera de los materiales empleados habitualmente en la Formulación de insecticidas son adecuados.

20 El término "locus", como se usa en el presente documento, se refiere a un lugar al que se aplica una composición de acuerdo con la invención o un SPC derivado de *Clitoria ternatea*. Incluye la aplicación a una planta individual, un grupo de plantas tales como una planta y/o sus alrededores, un animal individualmente o en un grupo y la región en la que se pueden plantar plantas o en las que los animales pueden congregarse, así como la aplicación directamente a un insecto o insectos y/o la vecindad en la que están ubicados.

25 Las composiciones de la presente invención pueden emplearse solas o en forma de mezclas con tales vehículos portadores dispersables sólidos y/o líquidos y/u otros agentes activos compatibles conocidos tales como pesticidas, o acaricidas, nematocidas, fungicidas, bactericidas, rodenticidas, herbicidas, fertilizantes, agentes reguladores del crecimiento, etc., si se desea, o en forma de preparaciones de dosificación particulares para aplicaciones específicas hechas a partir de los mismos, tales como soluciones, emulsiones, suspensiones, polvos, pastas y gránulos que están listos para su uso.

30 Las composiciones de la presente invención se pueden formular o mezclar con, si se desea, diluyentes o extendedores insecticidas inertes convencionales del tipo que se puede usar en agentes de control de plagas convencionales, por ejemplo, vehículos transportadores dispersables convencionales en forma de soluciones, emulsiones, suspensiones, concentrados emulsionables, polvos de pulverización, pastas, polvos solubles, agentes de polvo, gránulos o espumas.

35 Los emulsionantes típicos que pueden ser adecuados para uso en las composiciones de la invención incluyen, pero no se limitan a, aceites de peso molecular ligero (por ejemplo, aceites de canola, de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo) y surfactantes no iónicos, aniónicos y catiónicos. Las mezclas de cualquiera de los emulsionantes anteriores también se pueden usar en las composiciones de la presente invención.

40 Los surfactantes no iónicos típicos incluyen alcanoles etoxilados, en particular alcoholes grasos etoxilados y oxoalcoholes etoxilados, tales como alcohol laurílico etoxilado, isotridecanol etoxilado, alcohol cetílico etoxilado, alcohol estearílico etoxilado y sus ésteres, tales como acetatos; alquilfenoles etoxilados, tales como nonilfenilo etoxilado, dodecilfenilo etoxilado, isotridecilfenol etoxilado y sus ésteres, por ejemplo los acetatos alquilglucósidos y alquilpoliglucósidos, alquilglucósidos etoxilados; aminas grasas etoxiladas, ácidos grasos etoxilados, ésteres parciales, tales como mono, di y triésteres de ácidos grasos con glicerina o sorbitán, tales como monoestearato de glicerina, monooleato de glicerina, monolaurato de sorbitan, monopalmitato de sorbitan, monoestearato de sorbitan, monooleato de sorbitán, tristearato de sorbitan, trioleato de sorbitán; ésteres etoxilados de ácidos grasos con glicerina o sorbitán, tales como monoestearato de polioxi-etilenglicerina, monoaurato de sorbitán polioxi-etileno, monopalmitato de sorbitano, monoestearato de sorbitano polioxi-etileno, monooleato de sorbitán polioxi-etileno, trihidrato de sorbitán polioxi-etileno, trioleato de sorbitán polioxi-etileno; etoxilatos de aceites vegetales o grasas animales, tales como etoxilato de aceite de maíz, etoxilato de aceite de ricino, etoxilato de aceite de sebo; etoxilatos de aminas grasas, amidas grasas o de dietanolamidas de ácidos grasos.

45 Los surfactantes aniónicos típicos incluyen sales, en particular, sales de sodio, potasio, calcio o amonio de alquilsulfonatos, tales como laurilsulfonato, isotridecilsulfonato, alquilsulfatos, en particular sulfatos de alcohol graso, tales como laurilsulfato, isotridecilsulfato, cetilsulfato, estearilsulfato, aril sulfonatos y aril sulfonatos, aril sulfonatos y aril sulfonatos, aril sulfonatos y alquil sulfonatos, tales como naftilsulfonato, dibutilnaftilsulfonato, alquildifeniléter sulfonatos tales como dodecildifeniléter sulfonato, alquilbencenosulfonatos tales como cumilsulfonato, nonilbencenosulfonato y dodecilbencenosulfonato; sulfonatos de ácidos grasos y ésteres de ácidos grasos; - sulfatos de ácidos grasos y ésteres de ácidos grasos; sulfatos de alcanoles etoxilados, tales como sulfatos de alcohol laurílico etoxilado; sulfatos de alquilfenoles alcoxilados; alquilfosfatos y dialquilfosfatos; dialquilésteres de ácido sulfosuccínico, como dioctilsulfosuccinato, acilsarcosinatos, ácidos grasos, como estearatos,

acilglutamatos, ligninsulfonatos, condensados de bajo peso molecular de ácido naftalinosulfónico o ácido fenolsulfónico con formaldehído y opcionalmente urea.

5 Los surfactantes catiónicos típicos incluyen compuestos de amonio cuaternario, en particular sales de alquiltrimetilamonio y sales de dialquildimetilamonio, por ejemplo los haluros, sulfatos y alquilsulfatos.

10 En algunas realizaciones, las composiciones de control de insectos pueden combinarse con uno o más insecticidas o pesticidas sintéticos. En una realización, el insecticida o pesticida se selecciona de uno o más de endosulfán, dicofol, clorpirifos, dimetoato, disulfotón, ometoato, paratión, forato, profenofos, sulprofos, tiometon, aldicarb, carbarilo, beta-ciflutrina, deltametrina, esfenvalerato, fenvalerato, fluvalinato, lambda-cihalotrina, clorfluazurón, butóxido de piperonilo y aceites en aerosol de petróleo. En otra realización, el pesticida es un pesticida biológico seleccionado de un virus de polihedrosis nuclear y/o un extracto de planta conocido por ser anti-alimentador de plagas. En aún otra realización, el insecticida o pesticida se usa a una tasa de etiqueta reducida. Por ejemplo, el insecticida o pesticida puede usarse a la mitad o un tercio de la tasa de la etiqueta.

15 Las composiciones de la presente invención se pueden usar para controlar insectos tratando directamente a un huésped o tratando un área en la que se ubicará el huésped. Por ejemplo, el huésped puede tratarse directamente mediante el uso de una Formulación en aerosol, que puede aplicarse a una planta individualmente o cuando se agrupa, tal como un cultivo agrícola.

20 La Formulación de la presente invención puede comprender además otros auxiliares de Formulación conocidos en la técnica de formulaciones agroquímicas en cantidades habituales. Tales auxiliares incluyen, pero no se limitan a, agentes anticongelantes (tales como, pero no limitados a, glicerina, etilenglicol, propilenglicol, monopropilenglicol, hexilenglicol, 1-metoxi-2-propanol, ciclohexanol), agentes reguladores (tales como pero no limitados a hidróxido de sodio, ácido fosfórico), agentes conservantes (tales como, pero no limitados a, derivados de 1, 2-benzisotiazolin-3-ona, ácido benzoico, ácido sórbico, formaldehído, una combinación de parahidroxibenzoato de metilo y parahidroxibenzoato de propilo), agentes estabilizante (tales como, pero no limitados a, ácidos, preferiblemente ácidos orgánicos, tales como ácido dodecibencenosulfónico, ácido acético, ácido propiónico o butil hidroxil tolueno, butil hidroxil anisol), agentes espesantes (tales como, pero no limitados a, heteropolisacárido y almidones), y agentes antiespumantes (tales como, pero no limitados a, aquellos basados en silicona, particularmente poldimetilsiloxano). Tales agentes auxiliares están disponibles comercialmente y son conocidos en la técnica.

35 En una realización, la presente invención usa fracciones, compuestos activos y extractos crudos de Clitoria ternatea formulados en aceite y emulsionantes para controlar plagas de algodón.

40 Preferiblemente, los extractos y formulaciones de Clitoria ternatea son adecuados para matar al insecto. El extracto o Formulación en agua cuando se aplica a la planta o al insecto penetra en las capas de la cutícula del insecto o es ingerido para matar a los insectos o el residuo del extracto en la planta puede repeler a los insectos o disuadirlos de la puesta de huevos o alimentación. La Formulación puede matar o disuadir la puesta de huevos de insectos o alimentación dentro de 3 a 4 días de la aplicación al insecto o al cultivo objetivo.

45 En una realización, el extracto de Clitoria ternatea, fracciones, compuestos crudos o activos en aceite se disuelve en agua y se aplica a los cultivos infestados con los insectos objetivo. La tasa de aplicación de la composición de la invención está típicamente entre 1-2 litros de extractos formulados en aceite o compuestos activos disueltos en 1-500 litros de agua, preferiblemente 60-100 litros de agua por hectárea. En una realización, la tasa de aplicación es de aproximadamente 2 litros de extractos formulados en aceite disueltos en aproximadamente 100 litros de agua por hectárea de plantas. En una realización alternativa, la tasa de aplicación es de aproximadamente 2 litros de Formulación de aceite. Por lo general, el tratamiento puede incluir al menos cuatro pulverizaciones a intervalos de 14 a 28 días.

50 Alternativamente, el método puede comprender aplicar 1-3000 ml, preferiblemente 1000-2000 ml, de extractos formulados en aceite o compuestos activos por hectárea de plantas en ausencia de disolución de los extractos formulados en aceite o compuestos activos en agua, particularmente cuando se van a tratar áreas más pequeñas. Cuando, por ejemplo se van a tratar las plantas en un invernadero.

55 Si bien no desea limitarse a la teoría, se cree que la presente invención controla las polillas y sus larvas y las plagas masticadoras o chupadoras de savia al repeler las plagas, la supresión de la puesta de huevos, la disuasión de la alimentación y la actividad de contacto directo del extracto de la planta que mata el insecto. También puede haber un método de control de otras plagas no objetivo y la conservación de los enemigos naturales de las polillas y sus larvas y las plagas de masticación o succión de savia mediante el tratamiento del hábitat.

60 En una realización, la estructura de Clitoria ternatea utilizada son las hojas, tallos, raíces, vainas, semillas y una combinación de cualquiera de las partes de la planta. Estos pueden usarse como fracciones o extractos crudos en formulaciones tales como aceite o agua de bajo y alto peso molecular o cualquier otro portador para controlar las polillas y sus larvas y las plagas masticadoras o chupadoras de savia mediante acción repelente, supresión de la puesta de huevos, disuasión de la alimentación y actividad de contacto directo.

Desde el punto de vista de la botánica, la *Clitoria ternatea* pertenece a la familia Fabaceae y a la subfamilia Papilionaceae. La familia Fabaceae es una gran familia de alrededor de 12,000 especies que cubren un amplio rango de formas de vida, desde plantas anuales hasta árboles de bosque pluvial. Extendida en regiones tropicales y templadas, y la fuente de muchas plantas alimenticias económicamente importantes, cultivos forrajeros, plantas ornamentales, especies maderables y malezas, la *Clitoria ternatea* es una planta perenne trepadora, con hojas escasamente peludas, generalmente con cinco folíolos. Las flores son grandes, de hasta 5 cm, solitarias o en pares, de color azul con una mancha amarilla en el centro, producidas entre abril y junio. En Australia es una plaga de escape de jardín que se ha naturalizado en los bancos de arroyos y alrededor de pozos de agua en todo el Kimberley; también alrededor de asentamientos costeros en Pilbara y Gascoyne. También se utiliza como cultivo forrajero en gran parte del norte de QLD. Es pantropical, y probablemente nativo de la América tropical.

Para fines de simplicidad, el término "insecto" o sus equivalentes o derivados tales como "insecticida" se utilizarán en esta solicitud; sin embargo, debe entenderse que el término "insecto" se refiere, no solo a los insectos, sino a sus formas inmaduras y larvas.

Los expertos en la técnica reconocerán que no todos los compuestos son igualmente efectivos contra todos los insectos. En las realizaciones, las composiciones muestran actividad contra plagas de insectos, que pueden incluir plagas agronómicas, forestales, de invernadero, de vivero, ornamentales, de alimentos y fibra, de salud pública y animal, de estructura doméstica y comercial, de hogar y de productos almacenados de importancia económica. Las plagas de insectos incluyen insectos seleccionados de los órdenes Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Mallophaga, Homoptera, Hemiptera, Orthoptera, Thysanoptera, Dermaptera, Isoptera, Anoplura, Siphonaptera, Trichoptera, etc., particularmente Coleoptera y Lepidoptera.

Las larvas del orden de los lepidópteros incluyen, pero no se limitan a, gusanos soldado, gusanos cortadores, orugas medidoras y heliothines de la familia Noctuidae *Spodoptera frugiperda* JE Smith (gusanos soldado de otoño); *S. exigua* Hübner (gusano soldado de remolacha); *S. litura* Fabricius (gusano cortador del tabaco, oruga en racimo); *Mamestra configurata* Walker (gusano soldado bertha); *M. brassicae* Linnaeus (polilla de la col); *Agrotis ipsilon* Hufnagel (gusano cortador negro); *A. ortogonia* Morrison (gusano cortador occidental); *A. subterranea* Fabricius (gusano cortador granuloso); *Alabama argillacea* Hübner (gusano de la hoja de algodón); *Trichoplusia ni* Hübner (oruga medidora del repollo); *Pseudoplusia* incluye Walker (oruga medidora de la soja); *Anticarsia gemmatialis* Hübner (oruga de frijol terciopelo); *Hypena scabra* Fabricius (gusano del trébol verde); *Heliothis virescens* Fabricius (gusano del tabaco); *Pseudaletia unipuncta* Haworth (gusano soldado); *Athetis mindara* Barnes y McDunnough (gusano cortador de piel áspera); *Euxoa messoña* Harris (gusano cortador del lado oscuro); *Earias insulana* Boisduval (gusano espinoso); *E. vittella* Fabricius (gusano manchado); *Helicoverpa armigera* Hübner (gusano de cápsula americano); *H. zea* Boddie (gusano del maíz o gusano de la cápsula del algodón); *Melanchnra picta* Harris (oruga cebra); *Egira (Xylomyges) curialis* Grote (gusano cortador de cítricos); perforadores, portadores de casos, gusanos de la telaraña, gusanos de cono y esqueletos izers de la familia Pyralidae *Ostrinia nubilalis* Hübner (barrenador europeo del maíz); *Amyeloides transitella* Walker (gusano anaranjado naval); *Anagasta kuehniella* Zeller (polilla de la harina mediterránea); *Cadra cautella* Walker (polilla de almendras); *Chilo suppressalis* Walker (barrenador del tallo del arroz); *C. partellus* (barrenador del sorgo); *Corcyra cephalonica* Stainton (polilla del arroz); *Crambus caliginosellus* Clemens (gusano tejedor de la raíz de maíz); *C. teterrellus* Zincken (gusano tejedor del bluegrass); *Cnaphalocrocis medinalis* Guenee (rodillo de hojas de arroz); *Desmia funeralis* Hübner (chicharra de la uva); *Diaphania hyalinata* Linnaeus (gusano de melón); *D. nitidalis* Stoll (gusano de pico); *Diatraea grandiosella* Dyar (barrenador del maíz del sudoeste), *D. saccharalis* Fabricius (barrenador de la caña de azúcar); *Eoreuma loftini* Dyar (barrenador mexicano del arroz); *Ephestia elutella* Hübner (polilla del tabaco (cacao)); *Galleria mellonella* Linnaeus (polilla de cera mayor); *Herpetogramma licarsialis* Walker (gusano tejedor del césped); *Homoeosoma electellum* Hulst (polilla de girasol); *Elasmopalpus lignosellus* Zeller (barrenador menor del tallo del maíz); *Achroia grisea* Fabricius (polilla de cera menor); *Loxostege sticticalis* Linnaeus (gusano tejedor de la remolacha); *Orthaga thyrsalis* Walker (polilla tejedora del árbol del té); *Maruca testulalis* Geyer (barrenador de la vaina de frijol); *Plodia interpunctella* Hübner (polilla india de la harina); *Scirpophaga incertulas* Walker (barrenador del tallo amarillo); *Udea rubigalis* Guenee (nivel de hoja del apio); y enrolladores de hojas, gusanos de brote, gusanos de semillas y gusanos de frutas de la familia Tortricidae *Acleris gloverana* Walsingham (gusano de cabeza negra occidental); *A. variana* Fernald (gusano de cabeza negra del este); *Archips argyrospila* Walker (enrollador de hojas de árboles frutales); *A. rosana* Linnaeus (enrollador de hojas europeo); y otras especies de *Archips*, *Adoxophyes orana* Fischer von Rösslerstamm (polilla tortrix de frutas de verano); *Cochylis hospes* Walsingham (polilla de girasol en bandas); *Cydia latiferreana* Walsingham (gusano de la avellana); *C. pomonella* Linnaeus (polilla codificadora); *Platynota flavedana* Clemens (enrollador de hojas abigarrado); *P. stultana* Walsingham (enrolladora de hojas omnívora); *Lobesia botrana* Denis & Schiffermüller (polilla europea de la vid); *Spilopota ocellana* Denis & Schiffermüller (polilla de los brotes con manchas oculares); *Endopiza viteana* Clemens (polilla de la baya de uva); *Eupoecilia ambiguella* Hübner (polilla de la vid); *Bonagota salubricola* Meyrick (enrolladora de hojas de manzana brasileña); *Grapholita molesta* Busck (polilla oriental de la fruta); *Suleima helianthana* Riley (polilla del capullo de girasol); *Argyrotaenia* spp.; *Choristoneura* spp.

Otras plagas agronómicas seleccionadas en el orden Lepidoptera incluyen, pero no se limitan a, *Alsophila pometaria* Harris (gusano del chancro de otoño); *Anarsia lineatella* Zeller (perforadora de ramitas de durazno); *Anisota senatoria* J. E. Smith (gusano de roble rayado naranja); *Antheraea pernyi* Guerin-Meneville (polilla de roble chino Tussah);

Bombyx mori Linnaeus (Gusano de seda); Bucculatrix thurberella Busck (perforador de hojas de algodón); Colias eurytheme Boisduval (oruga de alfalfa); Datana integerrima Grote & Robinson (oruga de nuez); Dendrolimus sibiricus Tschetwerikov (polilla de seda siberiana), Ennomos subsignaria Hübner (oruga agrimensora del olmo); Erannis tiliaria Harris (oruga medidora del tilo); Euproctis chrysothoea Linnaeus (polilla de cola marrón); Harrisina americana Guerin-Meneville (esqueleto de hojas de parra); Hemileuca oliviae Cockrell (oruga de rango); Hyphantria cunea Drury (gusano tejedor de otoño); Keiferia lycopersicella Walsingham (oxiuros del tomate); Lambdina fiscellaria fiscellaria Hulst (cicuta oriental); L. fiscellaria lugubrosa Hulst (oruga medidora de la cicuta occidental); Leucoma salicis Linnaeus (polilla satinada); Lymantria dispar Linnaeus (polilla gitana); Manduca quinque maculata Haworth (polilla de halcón moteada, gusano del tomate); M. sexta Haworth (gusano del tomate, gusano del tabaco); Operophtera brumata Linnaeus (polilla de invierno); Paleacrita vernata Peck (gusano del chancro de primavera); Papilio cresphontes Cramer (cola de golondrina gigante, perro naranja); Phryganidia californica Packard (gusano del roble de California); Phyllocnistis citrella Stainton (minador de hojas de cítricos); Phyllonorycter blancardella Fabricius (minador de hojas tentiforme manchado); Pieris brassicae Linnaeus (gran mariposa blanca); P. rapae Linnaeus (pequeña mariposa blanca); P. napi Linnaeus (mariposa blanca veteada de verde); Platyptilia carduidactyla Riley (polilla de alcachofa); Plutella xylostella Linnaeus (polilla de espalda de diamante); Pectinophora gossypiella Saunders (gusano rosado); Protodice de Pontia Boisduval y Leconte (gusano de la col del sur); Sabulodes aegrotata Guenee (gusano medidor omnívoro); Schizura concinna J. E. Smith (oruga jorobada roja); Sitotroga cerealella Olivier (Polilla de grano Angoumois); Thaumetopoea pityocampa Schiffermuller (oruga procesionaria del pino); Tineola bisselliella Hummel (polilla de la ropa); Tuta absoluta Meyrick (minador de las hojas del tomate); Yponomeuta padella Linnaeus (polilla del armiño); Heliothis subflexa Guenee; Malacosoma spp. y Orgyia spp. de interés son las larvas y los adultos del orden Coleoptera, incluidos los gorgojos de las familias Anthribidae, Bruchidae y Curculionidae (incluidos, pero no limitados a: Anthonomus grandis Boheman (gorgojo de la cápsula); Lissorhoptrus oryzophilus Kuschel (gorgojo de agua de arroz); Sitophilus granarius Linnaeus (gorgojo del granero); S. oryzae Linnaeus (gorgojo del arroz); Hypera punctata Fabricius (gorgojo de la hoja del trébol); Cylindrocopturus adspersus LeConte (gorgojo del tallo del girasol); Smicronyx fulvus LeConte (gorgojo de la semilla de girasol rojo); S. sordidus LeConte (gorgojo de la semilla de girasol gris); Sphenophorus maidis Chittenden (chinche del maíz)); escarabajos pulga, escarabajos del pepino, gusanos de la raíz, escarabajos de las hojas, escarabajos de la patata y minadores de hojas de la familia Chrysomelidae (incluidos, pero no limitados a: Leptinotarsa decemlineata Say (escarabajo de la patata de Colorado); Diabrotica virgifera virgifera LeConte (gusano de la raíz del maíz occidental); D. barberi Smith & Lawrence (gusano de la raíz del maíz del norte); D. undecimpunctata howardi Barber (gusano de la raíz del maíz del sur); Chaetocnema pulicaria Melsheimer (escarabajo pulga del maíz); Phyllotreta cruciferae Goeze (escarabajo pulga del maíz); Colaspis brunnea Fabricius (colaspis de uva); Oulema melanopus Linnaeus (escarabajo de la hoja del cereal); Zygogramma exclamationis Fabricius (escarabajo del girasol); escarabajos de la familia Coccinellidae (incluidos, pero no limitados a: Epilachna varivestis Mulsant (escarabajo de frijol mexicano)); abejorro y otros escarabajos de la familia Scarabaeidae (incluidos, pero no limitados a: Popillia japonica Newman (escarabajo japonés); Cyclocephala borealis Arrow (abejorro norteño enmascarado, larva blanca); C. immaculata Olivier (abejorro enmascarado del sur, larva blanca); Rhizotrogus majalis Razoumowsky (abejorro europeo); Phyllophaga cincta Burmeister (larva blanca); Ligyrus gibbosus De Geer (escarabajo de zanahoria)); escarabajos de alfombra de la familia Dermestidae; gusanos de alambre de la familia Elateidae, Eleodes spp., Melanotus spp.; Conoderus spp.; Limonius spp.; Agriotes spp.; Ctenicera spp.; Aeolus spp.; escarabajos de la corteza de la familia Scolytidae y los escarabajos de la familia Tenebrionidae.

Los adultos e inmaduros del orden Diptera son de interés, incluidos los minadores Agromyza parvicornis Loew (minador de mancha del maíz); mosquitos (que incluyen, pero no se limitan a: Contarinia sorghicola Coquillett (mosquito del sorgo); Mayetiola destructor Say (mosca de Hesse); Sitodiplosis mosellana Gehin (mosquito del trigo); Neolasioptera murtfeldtiana Felt, (mosquito de semilla de girasol)); moscas de la fruta (Tephritidae), Oscinella frit Linnaeus (moscas de la fruta); cresas (incluidos, pero no limitados a: Delia platura Meigen (cresas de la semilla de maíz); D. coarctata Fallen (mosca del bulbo del trigo) y otras Delia spp., Meromyza americana Fitch (cresa del tallo del trigo); Musca domestica Linnaeus (moscas domésticas); Fannia canicularis Linnaeus, F. femoralis Stein (moscas domésticas menores); Stomoxys calcitrans Linnaeus (moscas de establo); moscas de la cara, moscas de cuerno, moscardas, Chrysomya spp.; Phormia spp.; y otras plagas de moscas moscoideas, moscas del caballo Tabanus spp.; éstridos Gastrophilus spp.; Oestrus spp.; larvas de ganado Hypoderma spp.; tábanos Chrysops spp.; Melophagus ovinus Linnaeus (keds); y otros Brachycera, mosquitos Aedes spp.; Anopheles spp.; Culex spp.; moscas negras Prosimulium spp.; Simulium spp.; mosquitos picadores, moscas de arena, sciahdos y otros nematocera. Se incluyen como insectos de interés adultos y ninfas de los órdenes Hemiptera y Homoptera, tales como, pero no limitados a, adelgidos de la familia Adelgidae, chinches de plantas de la familia Miridae, cigarras de la familia Cicadidae, saltahojas, Empoasca spp.; de la familia Cicadellidae, saltamontes de las familias Cixiidae, Flatidae, Fulgoroidea, Issidae y Delphacidae, saltamontes de la familia Membracidae, psílidos de la familia Psyllidae, moscas blancas de la familia Aleyrodidae, áfidos de la familia Aphididae, filoxera de la familia Phylloxera, de la familia Pseudococcidae, cochinillas de las familias Asterolecanidae, Coccidae, Dactylopiidae, Diaspididae, Eriococcidae, Orthozoiidae, Phoenicococcidae y Margarodidae, chinches de encaje de la familia Tingidae, chinches de la familia Pentatomidae, chinches, Blissus sp.; y otras chinches de semillas de la familia Lygaeidae, chinches de la familia Cercopidae, chinches de la familia Coreidae, y chinches rojas y barnizador del algodón de la familia Pyrrhocoridae.

Los miembros agrónomicamente importantes del orden Homoptera incluyen además, pero no se limitan a: Acyrthosiphon pisum Harris (áfido del guisante); Aphis craccivora Koch (áfido caupi); A. fabae Scopoli (áfido de frijol negro); A. gossypii Glover (áfido de algodón, áfido de melón); A. maidiradicis Forbes (áfido de la raíz de maíz); A. pomi

De Geer (áfido de manzana); Parche de *A. spiraeicola* (áfido de spirea); *Aulacorthum solani* Kalténbach (áfido dedalera); *Chaetosiphon fragaefolii* Cockerell (áfido de fresa); *Diuraphis noxia* Kurdjumov/Mordvilko (áfido ruso del trigo); *Dysaphis plantaginea* Paaserini (áfido rosado de manzana); *Eriosoma lanigerum* Hausmann (áfido de manzana lanudo); *Brevicoryne brassicae* Linnaeus (áfido de la col); *Hyalopterus pruni* Geoffroy (áfido de ciruela harinoso);  
 5 *Lipaphis erysimi* Kalténbach (áfido del nabo); *Metopolophium dirrhodum* Walker (áfido de cereal); *Macrosiphum euphorbiae* Thomas (áfido de la patata); *Myzus persicae* Sulzer (áfido del melocotón-patata, áfido del melocotón verde); *Nasonovia ribisnigri* Mosley (áfido de lechuga); *Pénfigo* spp. (áfidos de la raíz y áfido de agalla); *Rhopalosiphum maidis* Fitch (áfido de la hoja de maíz); *R. padi* Linnaeus (áfido de avena-cereza ave); *Schizaphis graminum* Rondani (chinche verde); *Sipha flava* Forbes (áfido amarillo de la caña de azúcar); *Sitobion avenae* Fabricius (áfido inglés);  
 10 *Therioaphis maculata* Buckton (áfido de alfalfa manchado); *Toxoptera aurantii* Boyer de Fonscolombe (áfido negro de los cítricos); y *T. citricida* Kirkaldy (áfido marrón de los cítricos); *Adelges* spp. (adelgidos); *Phylloxera devastatrix* Pergande (pecan phylloxera); *Bemisia tabaci* Gennadius (mosca blanca del tabaco, mosca blanca de la patata dulce); *B. argentifolii* Bellows & Perring (mosca blanca de hoja plateada); *Dialeurodes citri* Ashmead (mosca blanca de los cítricos); *Trialeurodes abutiloneus* (mosca blanca de alas anilladas) y *T. vaporariorum* Westwood (mosca blanca de invernadero); *Empoasca fabae* Harris (saltahojas de la patata); *Laodelphax striatellus* Fallen (saltamontes marrón más pequeño); *Macrolestes quadrilineatus* Forbes (saltahojas de aster); *Nephotettix cincticeps* Uhler (saltahojas verde); *N. nigropictus* Stal (saltahojas del arroz); *Nilaparvata lugens* Stal (saltamontes marrón); *Peregrinus maidis* Ashmead (saltamontes del maíz); *Sogatella furcifera* Horvath (saltamontes de lomo blanco); *Sogatodes orizicola* Muir (delfácido de arroz); *Typhlocyba pomaria* McAtee (saltahojas de la manzana blanca); *Erythroneoura* spp. (saltahojas de uva);  
 20 *Magiccada septendecim* Linnaeus (cigarra periódica); *Icerya adquirei* Maskell (cochinilla de cojín de algodón); *Quadraspidiotus perniciosus* Comstock (cochinilla de San José); *Planococcus citri* Risso (cochinilla de cítricos); *Pseudococcus* spp. (otro complejo de cochinillas); *Cacopsylla pyricola* Foerster (psylla de la pera); *Triozia diospyri* Ashmead (psylla de caqui).

25 Las especies de interés agrónomicamente importantes del orden Hemiptera incluyen, pero no se limitan a: *Acrosternum hilare* Say (chinche verde); *Anasa tristis* De Geer (chinche de la calabaza); *Blissus leucopterus leucopterus* Say (chinche de los cereales); *Corythuca gossypii* Fabricius (chinche de encaje de algodón); *Cyrtopeltis modesta* Distant (chinche de tomate); *Dysdercus suturellus* Herrich-Schaffer (barnizador de algodón); *Euschistus servus* Say (chinche marrón); *E. variolatus* Palisot de Beauvois (chinche de una mancha); *Graptostethus* spp. (complejo de chinches de semillas); *Leptoglossus corculus* Say (chinche de hoja de pino); *Lygus lineolaris* Palisot de Beauvois (chinche empañada); *L. hesperus* Knight (chinche empañada occidental); *L. pratensis* Linnaeus (chinche común); *L. rugulipennis* Poppius (chinche empañada europea); *Lygocoris pabulinus* Linnaeus (cápside verde común); *Nezara viridula* Linnaeus (chinche verde del sur); *Oebalus pugnax* Fabricius (chinche del arroz); *Oncopeltus fasciatus* Dallas (chinche de algodón grande); *Pseudatomoscelis seriatus* Reuter (pulga saltona del algodón).

35 Adicionalmente, las realizaciones de la presente invención pueden ser eficaces contra Hemiptera tales como *Calocoris norvegicus* Gmelin (chinche de fresa); *Orthops campestris* Linnaeus; *Plesiocoelis rugicollis* Fallen (cápside de manzana); *Cyrtopeltis modestus* Distant (chinche de tomate); *Cyrtopeltis notatus* Distant (mosca chupadora); *Spanagonicus albofasciatus* Reuter (pulga saltona de marcas blancas); *Diaphnocoris chlorionis* Say (chinche de la planta de miel); *Labopidicola allii* Knight (chinche de la planta de cebolla); *Pseudatomoscelis seriatus* Reuter (pulga saltona del algodón); *Adelphocoris rapidus* Say (chinche rápida de la planta); *Poecilocapsus lineatus* Fabricius (chinche de cuatro líneas); *Nysius ericae* Schilling (chinche falsa); *Nysius raphanus* Howard (chinche falsa); *Nezara viridula* Linnaeus (chinche verde del sur); *Eurygaster* spp.; *Coreidae* spp.; *Pyrrhocoridae* spp.; *Tinidae* spp.; *Blostomatidae* spp.; *Reduviidae* spp.; y *Cimicidae* spp.

45 También se incluyen adultos y larvas del orden Acari (ácaros) tales como *Aceria tosichella* Keifer (ácaro del curl del trigo); *Petrobia late* Müller (ácaro del trigo marrón); ácaros araña y ácaros rojos de la familia Tetranychidae, *Panonychus ulmi* Koch (ácaro rojo europeo); *Tetranychus urticae* Koch (ácaro araña de dos puntos); (*T. mcdanieli* McGregor (ácaro McDaniel); *T. cinnabarinus* Boisduval (ácaro araña carmín); *T. turkestanus* Ugarov & Nikolski (ácaro araña de la fresa); ácaros planos de la familia Tenuipalpidae, *Brevipalpus lewisi* McGregor (ácaro plano de cítricos); ácaros de la roya y de brotes la familia Eriophyidae y otros ácaros de alimentación foliar y ácaros importantes para la salud humana y animal, es decir, ácaros del polvo de la familia Epidermoptidae, ácaros del folículo de la familia Demodicidae, ácaros del grano de la familia Glycyphagidae, garrapatas del orden Ixodidae. *Ixodes scapularis* Say (garrapata del venado); *I. Holocyclus* Neumann (garrapata de parálisis australiana); *Dermacentor variabilis* Say (garrapata del perro americano); *Amblyomma americanum* Linnaeus (garrapata estrella solitaria); y ácaros de la costra y la picazón en las familias Psoroptidae, Pyemotidae y Sarcoptidae. las plagas del orden Thysanura son de interés, como *Lepisma saccharina* Linnaeus (pez plateado); *Thermobia domestica* Packard (insecto del fuego).

60 En una realización, los insectos se seleccionan del gusano de la cápsula del algodón, gusano nativo, miridios verdes, áfidos, chinches vegetales verdes, chinches de hoyuelos de la manzana, trips (trips de placa, trips de tabaco, trips de cebolla, trips de flores occidentales), moscas blancas y ácaros de dos manchas.

En una realización, las plagas de insectos de animales incluyen pulgas, piojos, mosquitos, moscas, moscas tsetsé, hormigas, garrapatas, ácaros, peces plateados y niguas.

65

Las plagas de insectos pueden probarse para determinar la actividad insecticida de las composiciones de las realizaciones en etapas tempranas de desarrollo, por ejemplo, como larvas u otras formas inmaduras. Los insectos pueden criarse en la oscuridad total a una temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C y de aproximadamente 30% a aproximadamente 70% de humedad relativa. Los métodos para criar larvas de insectos y realizar bioensayos son bien conocidos por un experto en la materia.

En algunas realizaciones, el efecto insecticida es un efecto en el que el tratamiento con una composición hace que al menos aproximadamente el 10% de los insectos expuestos mueran. En algunas realizaciones, el efecto insecticida es un efecto en el que el tratamiento con una composición hace que al menos aproximadamente el 25% de los insectos mueran. En algunas realizaciones, el efecto insecticida es un efecto en el que el tratamiento con una composición hace que al menos aproximadamente el 50% de los insectos expuestos mueran. En algunas realizaciones, el efecto insecticida es un efecto en el que el tratamiento con una composición hace que al menos aproximadamente el 75% de los insectos expuestos mueran. En algunas realizaciones, el efecto insecticida es un efecto en el que el tratamiento con una composición hace que al menos aproximadamente el 90% de los insectos expuestos mueran.

Los insectos beneficiosos que pueden ser conservados por la presente invención incluyen (1) escarabajos depredadores (véase tabla 11) adultos de *Harmonia arcuata* (Fabricius), adultos de *Diomus notescens* (Blackburn), adultos de *Coccinella repanda* (Thunberg), *Dicranolaius bellulus* (Guerin); (2) chinches depredadores tales como *Geocoris lubra* (adultos kirkaldy, adultos *Cermatulus nasalis* (Westwood), *Nabis capsiformis* (Germar), (3) Arañas especialmente salticidas, *Araneus* spp. *Oxyopes* spp. Y (Parasitoides) *Pterocormus promissorius* (Erichson), *Heteropelma scaposum* (Morley), *Netelia producta* (Brulle).

Las realizaciones de la invención también están dirigidas a hacer un agente de control de insectos mejorado mediante la identificación de una o más fracciones en un agente complejo, el rastreo de una o más fracciones usando los métodos descritos en el presente documento y caracterizando la una o más fracciones que tienen efectos positivos o negativos sobre la actividad potencial contra un insecto objetivo.

En algunas realizaciones, se pueden aislar una o más fracciones en un agente complejo (tal como, por ejemplo, un aceite esencial) usando técnicas de fraccionamiento que incluyen, por ejemplo, extracción con solvente diferencial, destilación fraccionada, cristalización fraccionada, congelación fraccionada, fraccionamiento en seco, fraccionamiento con detergente, extracción con solvente, fraccionamiento con CO<sub>2</sub> supercrítico, destilación al vacío, cromatografía en columna, cromatografía en fase reversa, cromatografía líquida de alta presión y similares. Estos métodos son conocidos por los expertos en la técnica.

Se prefiere la destilación al vacío, porque es relativamente simple de emplear y no requiere el uso de solventes.

En algunas realizaciones, una o más fracciones de un agente complejo pueden aislarse mediante cromatografía de columna usando soporte sólido de sílica o alúmina. Un disolvente orgánico, que incluye, por ejemplo, alcanos tales como hexanos y éter de petróleo, tolueno, cloruro de metileno (u otros hidrocarburos halogenados), éter dietílico, acetato de etilo, acetona, alcohol, ácido acético y similares, se puede usar solo o en combinación como el solvente de la columna, o fase móvil. En algunas realizaciones, el agente complejo se fracciona por cromatografía de columna usando una concentración creciente de un disolvente polar como disolvente de elución. Los métodos de cromatografía de columna y los disolventes comunes para su uso son bien conocidos en la técnica.

En algunas realizaciones, los SPC pueden aislarse mediante extracción con disolvente. Por ejemplo, un aceite esencial se puede combinar con un disolvente orgánico, que incluye, por ejemplo, un disolvente orgánico TAL como metanol, ácido acético, acetona, acetonitrilo, benceno, 1-butanol, 2-butanol, 2-butanona, alcohol t-butílico, tetracloruro de carbono, clorobenceno, cloroformo, ciclohexano, 1, 2-dicloroetano, éter dietílico, dietilenglicol, diglima (dietilenglicol dimetiléter), 1, 2-dimetoxietano (glima, DME), dimetiléter, dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), dioxano, etanol, acetato de etilo, etilenglicol, glicerina, heptano, hexametilfosforamida (HMPA), hexametilfosforosa triamida (HMPT), hexano, metil t-butil éter (MTBE), cloruro de metileno, JV-metil -2-pirrolidinona (NMP), nitrometano, pentano, éter de petróleo (ligroína), 1-propanol, 2-propanol, piridina, tetrahidrofurano (THF), tolueno, trietilamina, agua, agua pesada, o-xileno, m-xileno y/o xileno. También se pueden emplear otros disolventes orgánicos conocidos por los expertos en la técnica. La mezcla del SPC y el disolvente orgánico se puede combinar luego con un disolvente de extracción que no es miscible en el disolvente orgánico, que incluye, por ejemplo, agua, etanol y metanol. Esta combinación se agita vigorosamente en un recipiente de vidrio tal como un embudo de decantación durante varios minutos, luego se deja sedimentar en fases separadas durante varios minutos. Luego se deja que la fase más baja y más densa drene del embudo separador. La fase orgánica se puede volver a extraer repetidamente con el disolvente de extracción para partición adicional de los compuestos que son solubles en el disolvente de extracción de la fase orgánica. El volumen de la fase orgánica y la fase extraída se puede reducir en volumen usando evaporación rotatoria, produciendo dos fracciones separadas del SPC.

En algunas realizaciones, un método para identificar un agente mejorado contra un insecto objetivo puede incluir la identificación de los compuestos presentes bien sea en un agente complejo o en fracciones individuales aisladas de un agente complejo y el cribado de los compuestos ingredientes para su actividad. La identificación de los compuestos se puede realizar analizando el agente complejo o una fracción aislada del mismo mediante cromatografía líquida de

alto rendimiento (HPLC) o cromatografía de gases (GC) junto con espectrometría de masas (MS). Los compuestos de ingredientes también se pueden identificar enriqueciendo o purificando primero los ingredientes individuales hasta homogeneidad utilizando técnicas que incluyen, por ejemplo, extracción con solvente diferencial, destilación fraccionada, destilación al vacío, cristalización fraccionada, congelación fraccionada, fraccionamiento en seco, fraccionamiento en detergente, extracción con solvente, fraccionamiento con CO<sub>2</sub> supercrítico, cromatografía en columna, cromatografía en fase reversa, cromatografía líquida de alta presión y similares. Los componentes enriquecidos o purificados se pueden identificar utilizando técnicas de espectroscopía, que incluyen, por ejemplo, espectroscopía infrarroja (IR), espectroscopía Raman, espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) y similares.

Algunas realizaciones se refieren al uso de derivados químicos o análogos de productos químicos identificados para generar un agente mejorado contra un insecto objetivo. Los derivados químicos de los productos químicos identificados pueden incluir compuestos derivados con un grupo funcional inorgánico u orgánico. En algunas realizaciones, el derivado químico es un compuesto derivado con un grupo funcional orgánico. En algunas realizaciones, el grupo funcional orgánico puede ser un grupo alquilo. En algunas realizaciones, el grupo funcional orgánico puede ser un metilo, etilo, propilo, butilo, cerilo, decilo, heptilo, hexilo, miricilo, miristilo, nonilo, octilo, palmitilo, pentilo, estearilo, isopropilo, isobutilo, lignocerilo, pentacosilo, heptacosilo, montanilo, nonacosilo, pentan-2-ilo, isopentilo, 3-metilbutan-2-ilo, tert-pentilo, neopentilo, undecilo, tridecilo, pentadecilo, margarilo, nonadecilo, araquilo, henicilo, behenilo, tricosilo, grupo ciclobutilo, ciclopropilo o similares. En algunas realizaciones, el grupo funcional orgánico puede ser un grupo arilo. En algunas realizaciones, el grupo funcional orgánico puede ser un grupo fenilo o bifenil-4-ilo.

En algunas realizaciones, el agente mejorado contra un insecto objetivo incluye un derivado químico que es un derivado halogenado de un compuesto identificado. En algunas realizaciones, el derivado químico es un derivado fluorado, clorado, bromado o yodado.

En algunas realizaciones, el agente mejorado contra un insecto objetivo incluye un derivado químico que es un derivado alquenilado de un compuesto. En algunas realizaciones, el derivado químico es un derivado oleado, alilado, isopropenilado, vinilado, prenilado o fitilado.

En algunas realizaciones, el agente mejorado contra un insecto objetivo incluye un derivado químico que es un derivado hidroxilado de un compuesto identificado.

En algunas realizaciones, el agente mejorado contra un insecto objetivo incluye un derivado químico que es un derivado tiolado de un compuesto identificado.

En algunas realizaciones, el agente mejorado contra un insecto objetivo incluye un derivado químico que es un derivado carboxilado de un compuesto identificado.

En algunas realizaciones, el agente mejorado contra un insecto objetivo incluye un derivado químico que es un derivado amidado de un compuesto identificado.

En algunas realizaciones, el agente mejorado contra un insecto objetivo incluye un derivado químico que es un derivado esterificado de un compuesto identificado.

En algunas realizaciones, el agente mejorado contra un insecto objetivo incluye un derivado químico que es un derivado acilado de un compuesto identificado.

En algunas realizaciones, el agente mejorado contra un insecto objetivo incluye un derivado químico que es un derivado sulfonado de un compuesto identificado.

En algunas realizaciones, el agente mejorado contra un insecto objetivo incluye un derivado químico que se deriva mediante la introducción de un homólogo de un grupo sustituyente.

En algunas realizaciones, el agente mejorado contra un insecto objetivo incluye un derivado químico que se deriva moviendo un sustituyente alrededor de un anillo a una posición diferente.

En algunas realizaciones de la invención, la eficacia de una composición de prueba se puede determinar realizando estudios con insectos. Por ejemplo, la eficacia de una composición de prueba para matar un insecto, alterando su propensión a alimentar o poner huevos, o similares, un insecto puede estudiarse usando experimentos controlados en los que los insectos están expuestos a la composición de prueba. En algunas realizaciones, la toxicidad de una composición de prueba contra un insecto puede estudiarse usando experimentos controlados en los que los insectos están expuestos a la composición de prueba.

En algunas realizaciones, las formulaciones consisten en un emulsionante de alta solvencia y la capacidad de formar emulsiones estables de la Formulación total en agua y un aceite "portador" que también puede tener propiedades pesticidas. Un aceite "portador" preferido es un aceite vegetal esterificado.

5 Modos de llevar a cabo la invención.

Se realizó un estudio para identificar plantas que podrían usarse como cultivo de trampa o refugio dentro de un sistema comercial de algodón para controlar las plagas del algodón. En este estudio, se plantó un amplio rango de plantas tales como alfalfa, arveja, sorgo, maíz dulce y Clitoria ternatea y genotipos de algodón en franjas de 12 metros dentro de campos comerciales de algodón. La sucesión de plagas en estos cultivos, especialmente los recuentos de huevos y larvas de *Helicoverpa* spp. se llevaron a cabo quincenalmente durante la temporada de algodón. Los resultados del ensayo revelaron que *Helicoverpa* spp. y otras infestaciones de plagas de algodón en *Clitoria ternatea* fueron significativamente más bajas que en algodón y otros cultivos de refugio. Por lo tanto, se pensó que la planta contenía algunos SPC que pueden matar o modificar el comportamiento de las plagas de insectos. Dado que *Clitoria ternatea* no había recibido atención previa en términos de identificación de SPC y uso de estos SPC para controlar las plagas, se anticipó que un fraccionamiento dirigido por bioensayo de la planta puede revelar compuestos o fracciones para el control biológico de plagas previamente desconocidas.

20 Ejemplo 1 *Clitoria ternatea*: experimentos de alimentación de toxicidad

Con base en los resultados de la prueba de campo que reveló que *Helicoverpa* spp. y otra infestación de plagas de algodón de *Clitoria ternatea* fue significativamente menor que la de algodón y otros cultivos de refugio probados, se llevó a cabo una investigación de las posibles razones de esto y los SPC involucrados. El estudio también determinó la ubicación en las estructuras de las plantas que pueden contener los compuestos tóxicos y el uso de *Clitoria ternatea* como producto formulado para controlar las plagas en los cultivos agrícolas.

Toxicidad de las estructuras vegetales para larvas de 1er y 2do estadio de *Helicoverpa* spp.

Se prepararon estructuras o partes de *Clitoria ternatea* (a saber, hojas nuevas, medias, viejas; vainas enteras y cortadas; semillas verdes (inmaduras), maduras; semillas inmaduras trituradas y semillas maduras trituradas) y se colocaron individualmente en un papel de filtro humedecido con 100 µl de agua destilada en una placa de Petri de 12 mm de diámetro. Un segundo estadio larvario de *Helicoverpa* spp. se colocó en cada estructura de planta en cada placa de Petri y se selló. Cada tratamiento fue replicado cuatro veces. Luego se colocaron las placas en una incubadora Labec que funcionaba a 25 °C (± 2 °C) con 14 horas de luz/10 horas de oscuridad y se verificó diariamente la mortalidad durante hasta 9 días. El porcentaje de mortalidad para cada tratamiento se calculó en los días 1-2, 3-4 y 5-9 días.

Análisis de los datos

40 Todos los datos experimentales se analizaron utilizando los procedimientos ANOVA de InStat, versión 2.03 (Graphpad InStat Software Inc., San Diego, California, EE. UU.). Las pruebas de comparación múltiple de Tukey-Kramer se utilizaron para separar las medias.

Resultados

45 La Tabla 1 presenta la mortalidad de *Helicoverpa* spp en diferentes partes de *Clitoria ternatea* (*Clitoria ternatea*). Los resultados muestran que las toxinas en *Clitoria ternatea* se encuentran en todas las partes de la planta con la mayor cantidad de hojas. Se descubrió que *H. punctigera* era más susceptible a las toxinas en *Clitoria ternatea* que las larvas de *H. armigera*.

50 Tabla 1. Mortalidad de larvas de segundo estadio de *Helicoverpa* spp. en diferentes estructuras de *Clitoria ternatea*

Especies	Estructura de la planta	Parte	Porcentaje de mortalidad			
			Día 1-2	Día 3-4	Día 5-9	Total
H. armigera	Hoja	Nueva	20.0	10.0	20.0	50.0
		Media	10.0	30.0	0	40.0
		Antigua	20.0	30.0	31.1	81.1
	Semilla entera	Verde	31.1	0	20.0	51.1
		Madura	63.3	-	-	63.3

(continuación)

Especies	Estructura de la planta	Parte	Porcentaje de mortalidad			
			Día 1-2	Día 3-4	Día5-9	Total
	Semilla triturada	Verde	20.0	11.1	40.0	71.1
		Madura	0	41.1	20.0	61.1
H. punctigera	Hoja	Nueva	88.9	-	-	88.9
		Media	77.8	-	-	77.8
		Antigua	88.9	-	-	88.9
	Semilla entera	Verde	12.5	0	10.0	22.5
		Madura	50.0	-	-	50.0
	Semilla triturada	Verde	44.4	0	10.0	54.4
		Madura	11.1	62.5	-	73.6

<sup>1</sup> Tratamiento de control: hoja de algodón recién abierta en comparación con la hoja de Clitoria ternatea; Cuadrado y cápsula de algodón en comparación con la vaina de Clitoria ternatea y la semilla de algodón en comparación con la semilla de Clitoria ternatea. La mortalidad larval en algodón (mortalidad control) se utilizó para calcular la mortalidad corregida.

Ejemplo 2 Extracción cruda de Clitoria ternatea Elección de disolvente y procedimiento de extracción

5 Tres solventes con diferente polaridad utilizados para la extracción fueron agua (alta polaridad), metanol (polaridad intermedia) y hexano (apolar). Tanto el enjuague superficial como la homogeneización se emplearon en las primeras etapas del estudio. El proceso de lavado implicó agitar las hojas en disolvente durante 30 segundos y evaporar el disolvente hasta un volumen que alcanzó una concentración equivalente a 1 g de peso de hoja fresca por ml. Los

10 homogeneizados se prepararon sumergiendo las hojas en disolvente durante la noche antes de mezclarlas en un mezclador Waring industrial durante 10 minutos. El material de la hoja mezclado se filtró y se evaporó al mismo volumen ajustado que para el lavado de la superficie. En el caso de la extracción con hexano, se eliminó cualquier fase acuosa usando un embudo de separación y el hexano se evaporó al volumen apropiado.

15 Los extractos de metanol y hexano se concentraron usando un evaporador rotativo y extractos de agua con un secado por congelación.

Extracto de methanol

20 Para la preparación de extractos metanólicos para fraccionamiento SPE y posterior suministro de fracciones para bioensayo, se usó material vegetal secado por congelación. Hasta doce contenedores, cada uno con hasta ca. 45 g de material vegetal, se secaron hasta peso constante (24-30 horas). El peso seco por congelación fue generalmente del 25% al 30% del peso húmedo.

25 El material seco por congelación (peso) se cortó en porciones de 2-3 mm y se pesó en un vaso de precipitados de 150 ml. Se añadió metanol de grado HPLC, 50 ml, y la muestra se sometió a ultrasonidos durante 20 minutos. El disolvente se filtró y la masa de la planta se trató tres veces más de la misma manera, combinándose los filtrados, luego se evaporó hasta sequedad usando un evaporador rotatorio. La temperatura del baño de agua se mantuvo a 40 °C.

30 Extracto de etanol

35 Se realizó una extracción exhaustiva de 500 g de material vegetal molido secado al aire usando etanol caliente. El extractor Soxhlet se ejecutó durante 24 horas y al evaporar el disolvente se obtuvieron 80 g de extracto (16%). Para comparación, se realizó otra extracción en otra muestra usando etanol a temperatura ambiente y remojo durante 24 horas. Este proceso produjo 25 g de extracto (5%) en el primer remojo. No se hicieron extractos repetidos.

Fraccionamiento de extractos.

40 La extracción en fase sólida (SPE) se usó para fraccionar extractos y proporcionar fracciones para ensayos biológicos contra insectos usando cartuchos SPE en fase sólida basados en sílica hidrófoba C18 que comprenden una sílica lavada con ácido de forma irregular de 40 µm/120 µm, (60 A porosidad media) con un grupo funcional unido a octadecilo trifuncional (Varian Bond Elute (Parte No. 12256001) o Phenomenex Strata C18-E (Parte No. 8B-S001-JCH)). Todos los cartuchos se procesaron simultáneamente en un colector de vacío Alltech (Parte No. 210351). Los

cartuchos SPE se usaron para acomodar 1.5 g de peso húmedo de material vegetal liofilizado y dieron una mejor definición de banda cuando los extractos secos se dispersaron en ayuda de filtro de Celite (Merck Celite 545, 0.02-0.1 mm) antes de agregarlos a un cartucho acondicionado. como un sólido Con este fin, se usó el extremo del bulbo de una pipeta Pasteur para suministrar un volumen, medido a la constricción en el cuello de la pipeta (ca. 0,2 g), de Celite, 6 veces a los 9 ml restantes de muestra, que se habían transferido, con enjuague, a un pequeño vial previamente pesado que se unió al evaporador rotativo. Después de mezclar completamente la Celite, el contenido del vial se secó hasta una pasta bajo N<sub>2</sub>, luego se completó usando el evaporador rotativo. Los cartuchos SPE se acondicionaron pasando 5 ml de metanol seguido de casi todos los 5 ml de agua. Una sexta parte de la muestra seca/residuo de Celite se transfirió con una espátula a cada uno de los seis cartuchos SPE acondicionados. El procedimiento general consistió en pasar 5 ml de agua a través de la columna seguido de alícuotas de mezclas de metanol/agua, metanol puro, luego acetona, con todos los eluidos recolectados.

#### Análisis por HPLC

Se usó un instrumento Agilent 1100 con detector de matriz de diodos para la cromatografía a escala analítica. La columna era un Phenomenex Luna a base de sílica 5 µm C18 (2), 150 mm x 4,6 mm, mantenido a 30 °C. Se analizaron volúmenes variables, pero normalmente 20 µl, de muestra filtrada a través de un programa de elución con gradiente de metanol/agua acidificada de MeOH al 5 % a MeOH al 100% en 20 minutos, se mantuvo a 28 minutos y se devolvió a MeOH al 5% por 30 minutos y se mantuvo a 37 minutos para equilibrar. Ambos componentes de la fase móvil contienen 0.5% de ácido acético. La tasa de flujo fue usualmente de 1 ml/min. El detector de matriz de fotodiodos recolectó datos a 254 nm, 280 nm, 360 nm, 430 nm y 450 nm. Todos los cromatogramas ilustrados a continuación fueron los adquiridos a 280 nm.

#### Resultados

Los análisis químicos y estructurales de las fracciones SPE de un extracto metanólico de *Clitoria ternatea* se dan en la Figura 1. La traza más alta es la del extracto de metanol crudo del material vegetal secado por congelación. Los siguientes representan las diversas fracciones (1-6) eluidas secuencialmente de un cartucho SPE a medida que aumenta la polaridad del disolvente. Como se esperaba, el proceso de separación de fase inversa común tanto para el fraccionamiento SPE como para el análisis de HPLC da como resultado componentes químicos con mayor afinidad por la fase estacionaria que aparecen en tiempos de retención más largos en fracciones posteriores.

Ejemplo 3 Eficacia de las fracciones de *Clitoria ternatea* en la oviposición de *Helicoverpa* spp. en plantas de algodón en la casa de malla (prueba de no elección)

El experimento se realizó para determinar las actividades disuasorias de la oviposición de fracciones aisladas de *Clitoria ternatea*. Las fracciones de *Clitoria ternatea* probadas fueron (1) Fracción 1, (2) Fracción 2, (3) Fracción 3, (4) Fracción 4, (5) Fracción 5 y (6) Fracción 6 y (7) Sin tratamiento (control). Cada tratamiento se repitió 4 veces en un diseño aleatorio completo. Las plantas utilizadas en el experimento se cultivaron en macetas de 8 cm de diámetro en suelo negro (del campo) y se regaron tres veces por semana. Las plantas fueron fertilizadas una vez. Las plantas en macetas se mantuvieron y se mantuvieron en la casa de malla, lo que permitió un mayor grado de exposición al medio ambiente natural, pero las protegió de la posible infestación de plagas. Una vez que las plantas habían alcanzado la etapa de 4 hojas verdaderas, se colocaron 0.25 ml de extracto de cada tratamiento en cada hoja (1 ml en una maceta) y se extendió uniformemente sobre la superficie. Luego se cubrieron las plantas y se liberaron tres polillas hembras apareadas (5 días después de la emergencia) en las jaulas. Los huevos se contaron tres días después del tratamiento. El índice de disuasión de la oviposición (ODI) se calculó de la siguiente manera:  $ODI = 100 \times (C-T)/(C + T)$  donde C = huevos totales puestos en control; T = huevos totales en papel de filtro tratado.

#### Análisis de los datos

Todos los datos experimentales se analizaron utilizando los procedimientos ANOVA de Instat, versión 2.03 (Graphpad Instat Software Inc., San Diego, California, EE. UU.). Se usaron pruebas de comparación múltiple de Tukey-Kramer para separar las medias

#### Resultados

Ninguna prueba de elección realizada bajo condiciones de laboratorio usando hembras adultas *H. armigera* confirmó que la fracción 3 y la fracción 4 de *Clitoria ternatea* (Tabla 2) tenían una cantidad significativamente menor ( $P < 0.001$ ) de huevos por planta puestos en ellas que todas las demás fracciones probadas (Tabla 2) Por lo tanto, las dos fracciones pueden contener compuestos que disuaden la oviposición.

Tabla 2. Prueba de oviposición sin elección de hembras *Helicoverpa armigera* en papeles de filtro tratados con fracciones 1-3 de *Clitoria ternatea*

## ES 2 762 196 T3

Tratamientos	No. huevos/planta ± SE	<sup>1</sup> Índice disuasorio de la oviposición (ODI)
Fracción 1	32.75 ± 25.39 a	20.1 a
Fracción 2	41.00 ± 14.41 a	9.1 a
Fracción 3	17.50 ± 7.84 b	47.6 b
Fracción 4	6.50 ± 1.19 a	42.2 a
Fracción 5	58.25 ± 22.96 b	-56.9 b
Fracción 6	35.00 ± 10.40 b	-37.3 b
Control (agua)	49.25 ± 17.21 a	0.0 a

Las medias dentro de las columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (P> 0.05) (prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer).

<sup>1</sup>El índice disuasorio de la oviposición (ODI) se calculó como sigue:

$$\text{ODI} = 100 \times (C - T) / (C + T);$$

donde C = huevos totales puestos en control; T = huevos totales en papel de filtro tratado.

Ejemplo 4 Eficacia de las fracciones de *Clitoria ternatea* en la alimentación de larvas en segundo estadio de *Helicoverpa* spp. en discos de hojas de plantas de algodón en el laboratorio (prueba de no elección)

5 El experimento se realizó usando hojas de algodón en una prueba de no elección. Se usaron larvas en segundo estadio de *H. armigera* para los bioensayos de alimentación. Las fracciones de *Clitoria ternatea* probadas fueron (1) Fracción 1, (2) Fracción 2, (3) Fracción 3, (4) Fracción 4, (5) Fracción 5, (6) Fracción 6 y (7) Tratamiento de agua (control). Cada tratamiento se repitió 4 veces en un diseño aleatorio completo. Para el estudio se utilizaron tres hojas de algodón de un día tomadas de plantas cultivadas en el invernadero. Las hojas fueron tratadas con 1 ml de extracto de cada tratamiento. Para evitar la preferencia o evitar el extracto, se aplicaron 0.5 ml a cada lado de la superficie de la hoja. Las hojas se dejaron secar al aire en la campana extractora durante 1 hora.

15 Una vez que se secó al aire, se cortó un disco de 25 mm de cada hoja tratada, se pesó y se colocó en una placa de Petri de 55 mm. El papel de filtro se humedeció con 100 µl de agua destilada para evitar que el disco se seque. Se pesó una larva del tamaño deseado y se colocó en cada placa. Luego se colocaron las placas en una incubadora Labec a 25 °C (± 2 °C) con 14 horas de luz/10 horas de oscuridad durante 48 horas.

20 Cuarenta y ocho horas después del tratamiento, se pesaron tanto los discos foliares como las larvas. Las diferencias en los pesos de los discos foliares y las larvas antes y después de los experimentos se calcularon para cada tratamiento y control para determinar cualquier efecto antialimentario de los tratamientos.

Análisis de los datos

25 Todos los datos experimentales se analizaron utilizando los procedimientos ANOVA de Instat, versión 2.03 (Graphpad Instat Software Inc., San Diego, California, EE. UU.). Se usaron pruebas de comparación múltiple de Tukey-Kramer para separar las medias

Resultados

30 En los bioensayos sin elección realizados utilizando las fracciones de *Clitoria ternatea* y larvas de segundo y tercer estadio de *H. armigera*, las hojas tratadas con las fracciones 2, 4 y 6 se consumieron a niveles más bajos y las larvas ganaron menos peso en comparación con las otras fracciones y el control probado (Figura 2a). La fracción 2 parece tener un efecto disuasorio más fuerte que las fracciones 4 y 6, tanto que dio como resultado una pérdida de peso en el segundo estadio (Figura 2b).

Ejemplo 5 Eficacia de las fracciones de *Clitoria ternatea* sobre la toxicidad de larvas de segundo estadio de *Helicoverpa* spp. en el laboratorio (prueba de no elección)

40 El experimento estaba usando hojas de algodón en una prueba de no elección. Se usaron larvas de segundo estadio de *H. armigera* para los bioensayos de alimentación. Las fracciones de *Clitoria ternatea* probadas fueron (1) Fracción 1, (2) Fracción 2, (3) Fracción 3, (4) Fracción 4, (5) Fracción 5, (6) Fracción 6 y (7) Tratamiento de agua (control). Cada tratamiento se repitió 4 veces en un diseño aleatorio completo. Para el estudio se utilizaron tres hojas de algodón de un día tomadas de plantas cultivadas en el invernadero. Las hojas fueron tratadas con 1 ml de extracto de cada

tratamiento. Para evitar la preferencia o evitar el extracto, se aplicaron 0.5 ml a cada lado de la superficie de la hoja. Las hojas se dejaron secar al aire en la campana extractora durante 1 hora.

5 Una vez que se secó al aire, se colocó una larva de segundo estadio en una placa de Petri con un disco de hoja de 25 mm de diámetro, en un papel de filtro humedecido con 100 µl de agua destilada y sellado. Luego se colocaron las placas en una incubadora Labec a 25 °C (± 2 °C) con 14 horas de luz/10 horas de oscuridad y se verificó diariamente la mortalidad de las larvas durante 3 días.

10 Análisis de los datos

Todos los datos experimentales se analizaron utilizando los procedimientos ANOVA de Instat, versión 2.03 (Graphpad Instat Software Inc., San Diego, California, EE. UU.). Las pruebas de comparación múltiple de Tukey-Kramer se utilizaron para separar las medias.

15 Resultados

20 Los resultados del estudio también mostraron que las fracciones de *Clitoria ternatea* tenían efectos antibióticos en las larvas de segundo estadio de *H. armigera*. Los experimentos mostraron que las fracciones 2, 3 y 4 contienen compuestos tóxicos para las larvas debido a las tasas de mortalidad más altas en estos tratamientos después de 48 horas que el control (Figura 3). Esta cifra indica que después de 48 horas, 7 de las 10 larvas probadas murieron en un período de 48 horas.

25 Ejemplo 6 Actividad disuasoria de alimentación de Fracción 2 de *Clitoria ternatea* aplicada a hojas de genotipo de algodón susceptible (Lumein)

30 Se realizaron experimentos de enmascaramiento para observar y cuantificar los efectos de la respuesta de alimentación o los efectos antialimentarios de larvas de segundo estadio de *Helicoverpa* spp. hacia un genotipo de algodón conocido por estimular la alimentación larval de *Helicoverpa* spp. Las pruebas se realizaron en el laboratorio de ACRI con larvas de segundo estadio de *H. armigera* para determinar los efectos de las interacciones del uso de una combinación de un estimulante alimentario identificado (fracción 3 de Lu Mein) y un elemento disuasorio de alimentación (fracción 2 de *Clitoria ternatea*).

35 En este experimento, se aplicó fracción 2 de *Clitoria ternatea* a discos de hojas de un genotipo de algodón llamado Lu Mein. Un segundo disco de hoja se trató con agua. Una vez que se secó al aire, se colocó una larva de segundo estadio en una placa de Petri con un disco de hoja de 25 mm de diámetro, en un papel de filtro humedecido con 100 µl de agua destilada y sellado. El experimento fue replicado 10 veces en un diseño de bloques completos al azar. Luego se colocaron las placas en una incubadora Labec que funcionaba a 25 °C (± 2 °C) con 14 horas de luz/10 horas de oscuridad. Las larvas se dejaron alimentar durante 48 horas y el peso de la hoja consumida y el peso de las larvas se calcularon y analizaron para determinar las diferencias en la hoja consumida y la pérdida o ganancia de peso entre los discos de hoja tratados con fracción 2 de *Clitoria ternatea* y tratados con agua.

40 Análisis de los datos

45 Todos los datos experimentales se analizaron utilizando los procedimientos ANOVA de Instat, versión 2.03 (Graphpad Instat Software Inc., San Diego, California, EE. UU.). Las pruebas de comparación múltiple de Tukey-Kramer se utilizaron para separar las medias.

Resultados

50 Los resultados del estudio mostraron que la fracción 2 de *Clitoria ternatea* enmascara el efecto estimulante de la alimentación de las hojas de Lu Mein, reduciendo la cantidad de hojas consumidas por larva en comparación con las tratadas con agua (Figura 4). Esto resultó en una ganancia de peso larval menor en comparación con el control (Figura 5).

55 Ejemplo 7 Efecto de las fracciones de *Clitoria ternatea* formuladas en hexano sobre la oviposición de *Helicoverpa* spp. en plantas de algodón.

60 Las fracciones 2, 3 y 4 de *Clitoria ternatea* se combinaron y formularon en hexano para estudios para determinar la oviposición de *Helicoverpa* spp. En la casa de malla. Se realizaron tres experimentos en una jaula de malla (100 cm x 50 cm x 70 cm) cuando las plantas estaban en una etapa de 6 hojas verdaderas. Se utilizaron cuatro tratamientos que representan concentraciones de 0 (control), 20% v/v, 15% v/v y 10% v/v de las formulaciones de *Clitoria ternatea*. Se asignaron al azar diez plantas de algodón a cada tratamiento y se encerraron en la jaula de malla. Cada tratamiento fue aplicado a la escorrentía utilizando un pequeño aspersor manual. Las plantas de control se rociaron con agua. Cada tratamiento fue repetido 4 veces en diferentes jaulas en un diseño aleatorio completo. Se liberaron veinte polillas hembras apareadas en cada jaula para depositarlas en las plantas tratadas. A los tres días después del tratamiento,

se contó el número de huevos por planta en cada tratamiento y se calculó el número de huevos por planta. Los datos se expresaron como número de huevos por planta por tratamiento.

#### Análisis de los datos

5 Todos los datos experimentales se analizaron utilizando medidas repetidas ANOVA (Graphpad Instat Software, Inc., v2.03, San Diego, CA, EE. UU.). El tratamiento y las fechas de la muestra fueron las variables independientes. Se usó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer para separar las medias.

#### 10 Resultados

Los resultados del estudio mostraron que el número de huevos por metro registrado en plantas de algodón tratadas con fracciones combinadas de *Clitoria ternatea* al 10%, 15% y 20% v/v fue significativamente menor ( $P < 0.001$ ) que las plantas no tratadas (control) en los 3 experimentos realizados (Figuras 6a, b y 7). No se detectó ninguna diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre las concentraciones de *Clitoria ternatea*, lo que indica que la concentración de 10% v/v fue tan eficaz como las concentraciones de 15 y 20% v/v (Figuras 6A, B y 7). También se observó que la Formulación de hexano era tóxica para las plantas de algodón causando quemaduras en las hojas.

20 Ejemplo 8 Experimentos de campo con fracciones de *Clitoria ternatea* - Efecto de las fracciones combinadas de *Clitoria ternatea* formuladas en hexano sobre la oviposición de *Helicoverpa* spp. en plantas de algodón

Las formulaciones 2, 3 y 4 de *Clitoria ternatea* se formularon en hexano y se usaron para ensayos de campo en cultivos de algodón convencionales contra *Helicoverpa* spp. El ensayo se realizó en cultivos comerciales convencionales de algodón. La Formulación de *Clitoria ternatea* se evaluó en 3 concentraciones diferentes (1) 20% v/v (2) 15% v/v (3) 10% v/v y (4) Control (sin pulverizar) para determinar la eficacia contra huevos y larvas de *Helicoverpa* spp. Cada tratamiento se repitió 4 veces en un diseño de bloques completos al azar. Cada parcela replicada o tratada medía 100 metros de largo y 6 metros o filas de ancho. La aplicación foliar de las diferentes tasas de las fracciones formuladas de *Clitoria ternatea* se aplicó en 15 litros de agua dos veces durante el ensayo con 24 días de diferencia. Los huevos y las larvas de *Helicoverpa* spp. se evaluaron visualmente en una fila de un metro de plantas de algodón seleccionadas al azar. Los recuentos previos al tratamiento se tomaron un día antes de la aplicación del tratamiento, y los recuentos posteriores al tratamiento 7, 14, 21 y 28 días después del tratamiento. Los datos se expresaron como número de huevos y larvas de *Helicoverpa* spp. por metro por fecha de muestra.

#### Análisis de los datos

35 Todos los datos experimentales se analizaron utilizando medidas repetidas ANOVA (Graphpad Instat Software, Inc., v2.03, San Diego, CA, EE. UU.). El tratamiento y las fechas de la muestra fueron las variables independientes. Se usó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer para separar las medias.

#### 40 Resultados

Se encontró una diferencia significativa ( $P < 0.001$ ) entre las plantas de algodón tratadas con fracciones de *Clitoria ternatea* y las plantas no tratadas (control) (Figura 8). Sin embargo, no se detectó una diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) en la actividad disuasoria de la oviposición entre las concentraciones de *Clitoria ternatea* (Figura 8).

45 El número de larvas muy pequeñas y pequeñas (1er - 3er estadio) de *Helicoverpa* spp. por metro por fecha de muestra registradas en parcelas tratadas con diferentes concentraciones de *Clitoria ternatea* fueron significativamente más bajas ( $P < 0.001$ ) que las parcelas no tratadas (control) (Figura 7). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre las diferentes concentraciones de los productos de *Clitoria ternatea* probados (Figura 8).

50 Ejemplo 9 Eficacia de las formulaciones de *Clitoria ternatea* en la oviposición de hembras *Helicoverpa armigera* en plantas de algodón en la casa de malla

Se evaluó la respuesta de oviposición de *Helicoverpa* spp. apareada a plantas de algodón en maceta tratadas con diferentes concentraciones de *Clitoria ternatea* en aceite de canola y aceite de semilla de algodón crudo. Las plantas utilizadas en el estudio fueron plantas de algodón cuadradas en macetas de la misma edad. El experimento se realizó bajo condiciones de no elección. Los tratamientos evaluados fueron (1) 1% de *Clitoria ternatea* en aceite de canola, (2) 2% de *Clitoria ternatea* en canola, (3) 1% de *Clitoria ternatea* en aceite de semilla de algodón crudo, (4) 2% de *Clitoria ternatea* en aceite de semilla de algodón crudo y (5) Control (agua). Cada tratamiento se repitió 8 veces con cada tratamiento que contenía 10 plantas. Cada tratamiento se aplicó a las plantas de algodón respectivas hasta la escorrenría. Cada réplica de tratamiento de 10 plantas se encerró en una jaula de plástico que contenía 4 hembras *H. armigera* apareadas para ovipositar en las plantas. Cuatro días después del tratamiento, se contaron y registraron los huevos en cada planta. Los datos se expresaron como número de huevos por planta.

#### 65 Análisis de los datos

Todos los datos experimentales se analizaron utilizando los procedimientos ANOVA de Instat, versión 2.03 (Graphpad Instat Software Inc., San Diego, California, EE. UU.). Las pruebas de comparación múltiple de Tukey-Kramer se utilizaron para separar las medias.

5 Resultados

No se detectaron diferencias significativas en el número de huevos por planta entre las plantas tratadas con las diferentes formulaciones de *Clitoria ternatea* (Tabla 3). Sin embargo, se detectaron diferencias significativas en el número de huevos por planta entre las plantas tratadas y las plantas control (Tabla 3). Se registraron huevos significativamente más altos ( $P < 0.0001$ ) por planta en las plantas de control en comparación con las formulaciones de *Clitoria ternatea* - Aceite (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto de *Clitoria ternatea* en la Formulación de aceite sobre la oviposición de *H. armigera*. (réplicas por tratamiento) (n = 100 pares apareados de hembras *H. armigera*).

15

Tratamientos	No. de huevos por planta
1% <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de canola	18.25 ± 3.16 a
2% <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de canola	21.13 ± 1.84 a
1% <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de semilla de algodón	21.38 ± 3.06 a
2% <i>Clitoria ternatea</i> + aceite de semilla de algodón crudo	18.63 ± 2.87 a
Control (sin rociar)	37.88 ± 3.62 b

Las medias entre tratamientos seguidos de las mismas letras no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ) según la prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer

20

Ejemplo 10 Efecto de las formulaciones de *Clitoria ternatea* sobre la mortalidad de larvas de *H. armigera* en el laboratorio

25

El estudio se realizó en dieta artificial de *Helicoverpa* spp. en el laboratorio de ACRI. Durante este experimento, el laboratorio se mantuvo a una temperatura de 25 °C y una humedad relativa del 55-60%. Los tratamientos evaluados fueron (1) 1% v/v de *Clitoria ternatea* en aceite de semilla de algodón, (2) 1% v/v de *Clitoria ternatea* en aceite de semilla de algodón crudo, (3) 1% v/v de *Clitoria ternatea* en aceite de canola y (4) Control (agua). Para cada concentración, se rociaron un total de 48 larvas de segundo estadio (12 larvas/replicación) hasta que se escurrió. Después de la aplicación por pulverización, las larvas de cada tratamiento se transfirieron y se mantuvieron por separado en recipientes de plástico transparente de 35 ml (P10M; Solo, Urbana, Illionis, EE. UU.) que contenían una dieta artificial a base de soja mezclada individualmente con cada tratamiento. Cada tratamiento se repitió 4 veces. El número de larvas muertas se contaron y registraron en cada tratamiento a los 14 días después del tratamiento cuando todas las larvas en el control habían pupado.

30

35 Análisis de los datos

Todos los datos experimentales se analizaron utilizando los procedimientos ANOVA de Instat, versión 2.03 (Graphpad Instat Software Inc., San Diego, California, EE. UU.). Las pruebas de comparación múltiple de Tukey-Kramer se utilizaron para separar las medias.

40

Resultados

45

A los 14 DAT, el número de larvas muertas fue mayor en *Clitoria ternatea* al 1% v/v en aceites de semilla de algodón crudo, seguido de *Clitoria ternatea* al 1% v/v en aceites de semilla de canola y algodón (Figura 9). No se registraron muertes en las larvas tratadas con agua (control) (Figura 9). Además, la mayoría de las larvas que no estaban muertas en las parcelas tratadas con *Clitoria ternatea* estaban enfermas y lentas (Figura 9). No había larvas enfermas en el control y todas las larvas habían pupado. En general, el desarrollo de las larvas tratadas con *Clitoria ternatea* se retrasó en un promedio de 4 días en relación con el control.

50

Ejemplo 11 Eficacia de las formulaciones en aceite de *Clitoria ternatea* en plagas e insectos beneficiosos en algodón convencional

55

El estudio se realizó en cultivos comerciales convencionales de algodón de fines de temporada. El ensayo no se direccionó a ninguna plaga específica, pero se aplicaron tratamientos a los cultivos de algodón y se evaluó su eficacia contra cualquier plaga e insectos depredadores que estuvieron en el cultivo durante ese período de la temporada de algodón en la región inferior de Namoi. Los tratamientos evaluados fueron (1) 1% v/v de *Clitoria ternatea* en aceite de

canola, (2) 2% v/v de Clitoria ternatea en aceite de canola, (3) 1% v/v de Clitoria ternatea en aceite de semilla de algodón crudo, (4) 2% v/v Clitoria ternatea en aceite de semilla de algodón crudo, (5) Sin pulverizar (control). Cada tratamiento se repitió 3 veces en un diseño de bloques completos al azar. Cada réplica mide 100 metros de largo y 6 filas o metros de ancho.

5 La aplicación foliar de cada tratamiento se realizó en el día 1. Los recuentos visuales de las siguientes plagas: miridos verdes (*Creontiades dilutus*), oruga medidora de algodón (*Anomis flava*), chinche vegetal verde (*Nezara viridula*) y chinche de hoyuelos de la manzana (*Campylomma liebkechti*) e insectos depredadores (escarabajos depredadores, chinches, crisopas y arañas) que abundaban en el sitio del estudio en el período de los ensayos en cada tratamiento se realizaron 24 horas antes del tratamiento y 3, 5 y 7 días después del tratamiento. Los recuentos se realizaron en dos hileras de algodón de 1 metro seleccionadas al azar en cada réplica de tratamiento, es decir, un total de 6 metros por tratamiento. Los recuentos se separaron en varias plagas y depredadores. Los insectos benéficos se agruparon en escarabajos depredadores, chinches, crisopas y arañas. Los datos se expresaron en números por metro.

15 **Análisis de los datos**

Todos los datos experimentales se analizaron utilizando medidas repetidas ANOVA (Graphpad Instat Software, Inc, v2.03, San Diego, CA, EE. UU.). El tratamiento y las fechas de la muestra fueron las variables independientes. Tukey-Kramer Se utilizaron pruebas de comparaciones múltiples para separar las medias.

20 **Resultados**

25 Las plagas predominantes en el sitio de prueba durante el período de prueba fueron miridos verdes, oruga medidora de algodón, chinches vegetales verdes y chinches de hoyuelos de manzana. Las *Helicoverpa* spp. estuvieron ausentes en el sitio de prueba. Por lo tanto, los datos informados aquí son sobre aquellas plagas que fueron abundantes durante el período de prueba.

Efecto de *Clitoria ternatea* sobre miridos verdes

30 El número de miridos verdes por metro registrado en las parcelas de estudio varió de 0.17 a 0.33 por metro (Tabla 4). A las 3 DAT, todas las parcelas tratadas con *Clitoria ternatea* no tenían miridos registrados en ellas, mientras que la parcela no rociada registró 0.33 por metro (Tabla 4). A 5 DAT, el número de miridos por metro registrado en parcelas tratadas con 2% v/v de *Clitoria ternatea* fue significativamente diferente ( $P < 0.01$ ) que las parcelas sin rociar, pero no fue significativamente diferente ( $P > 0.05$ ) de las parcelas tratadas con 1% v/v *Clitoria ternatea* (Tabla 4). El número de miridos verdes registrados en las parcelas tratadas con *Clitoria ternatea* al 1% v/v no fue significativamente diferente de las parcelas sin rociar (control) a 5 DAT (Tabla 4). A las 7 DAT, número de miridos verdes por metro registrados en el tratamiento y el control; las parcelas no fueron significativamente diferentes (Tabla 4). Esto puede deberse a la eclosión de los huevos de miridos que se colocaron en el pretratamiento de las plantas y también a la falta de una buena cobertura de los productos, ya que muchas de las plantas se desalojaron como resultado de la gran carga de cápsulas.

Efecto de *Clitoria ternatea* sobre oruga medidora del algodón

45 Fueron las especies de insectos más abundantes en el cultivo de algodón en el sitio de estudio durante los ensayos. El estudio mostró que se registraron orugas medidoras de algodón significativamente más bajas ( $P < 0.05$ ) por metro en parcelas tratadas con *Clitoria ternatea* en comparación con el control (Tabla 5). A las 3 DAT, la mortalidad de las orugas medidoras del algodón fue más alta en las parcelas tratadas con *Clitoria ternatea* al 2% en aceite de semilla de algodón crudo (58,9%), seguido por 1% de *Clitoria ternatea* en aceite de semilla de algodón crudo (47.2%) (Tabla 5). El 1 y el 2% de *Clitoria ternatea* en los aceites de semilla de canola causaron 26.6 y 42.9% de mortalidad respectivamente (Tabla 5). La parcela no rociada registró un aumento del 10% en la población de oruga medidora del algodón al mismo tiempo (Tabla 5).

Tabla 4. Eficacia de diferentes tasas de *Clitoria ternatea* en el número de miridos verdes por metro registrados en cultivos comerciales de algodón

Tratamientos	Pretratamiento	3 DAT	5 DAT	7 DAT
1 % <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de canola	0.17 ± 0.17 a	0.00 ± 0.00 a	0.33 ± 0.21ab	0.33 ± 0.21a
2 % <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de canola	0.17 ± 0.17 a	0.00 ± 0.00 a	0.17 ± 0.17 a	0.17 ± 0.17a
1 % <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de algodón crudo	0.33 ± 0.21 a	0.00 ± 0.00 a	0.33 ± 0.21ab	0.33 ± 0.21a
2 % <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de algodón crudo	0.17 ± 0.17 a	0.00 ± 0.00a	0.17 ± 0.17 a	0.00 ± 0.00a
Control (sin rociar)	0.17 ± 0.17 a	0.33 ± 0.21 b	0.50 ± 0.22 b	0.33 ± 0.21a

## ES 2 762 196 T3

Las medias dentro de las columnas seguidas de las mismas letras no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ) (Prueba de comparación múltiple de Tukey - Kramer).

5 Tabla 5. Eficacia de diferentes tasas de *Clitoria ternatea* en el número de oruga medidora del algodón (*Anomis flava*) por metro registrado en cultivos comerciales de algodón

Tratamientos	Pretratamiento	3 DAT	5 DAT	7 DAT
1 % <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de canola	5.00 ± 1.16 a	3.67 ± 0.76 a	4.33 ± 0.96 a	5.83 ± 0.95a
2 % <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de canola	5.83 ± 0.91 a	3.33 ± 1.02 a	3.00 ± 0.68 a	3.33 ± 0.62a
1 % <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de algodón crudo	6.00 ± 1.48 a	3.17 ± 0.87 a	3.67 ± 0.88 a	3.83 ± 1.33a
2 % <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de algodón crudo	5.67 ± 1.09 a	2.33 ± 0.67a	3.83 ± 0.75 a	2.67 ± 0.80a
Control (sin rociar)	8.33 ± 1.41a	9.17 ± 1.72 b	5.83 ± 1.92 a	7.17 ± 0.83a

10 Las medias dentro de las columnas seguidas de las mismas letras no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ) (Prueba de comparación múltiple de Tukey - Kramer).

Efecto de *Clitoria ternatea* sobre la chinche de hoyuelos de la manzana

15 La Formulación de *Clitoria ternatea* a diferentes concentraciones tuvo un efecto significativo en la población de ADB en el sitio de estudio a 3 DAT (Tabla 6). La mayor muerte de ADB a 3 DAT se registró en parcelas tratadas con *Clitoria ternatea* al 2% en aceite de semilla de algodón crudo (65,9%), seguido de *Clitoria ternatea* al 2% en aceite de canola (64.0%) (Tabla 6). El 1% de *Clitoria ternatea* en aceites de semilla de canola y algodón crudo registró 56.8 y 52.1% de mortalidad respectivamente a 3 DAT (Tabla 6).

20 Tabla 6. Eficacia de diferentes tasas de *Clitoria ternatea* en el número de chinche de hoyuelos de la manzana (*Campylomma liebkecht*) por metro registrado en cultivos comerciales de algodón

Tratamientos	Pretratamiento	3 DAT	5 DAT	7 DAT
1 % <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de canola	4.67 ± 0.84 a	0.67 ± 0.33 a	0.50 ± 0.22ab	0.33 ± 0.21a
2 % <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de canola	2.67 ± 0.42 a	0.50 ± 0.22 a	0.00 ± 0.00 a	0.00 ± 0.00a
1 % <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de algodón crudo	3.33 ± 0.84 a	0.83 ± 0.31 a	0.17 ± 0.17 a	0.33 ± 0.21a
2 % <i>Clitoria ternatea</i> + Aceite de algodón crudo	4.67 ± 0.65 a	0.83 ± 0.31a	0.17 ± 0.17 a	0.00 ± 0.00a
Control (sin rociar)	4.17 ± 0.70 a	2.17 ± 0.31 b	1.00 ± 0.26 b	0.83 ± 0.17a

25 Las medias dentro de las columnas seguidas de las mismas letras no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ) (Prueba de comparación múltiple de Tukey - Kramer)

Insectos beneficiosos

30 Los insectos beneficiosos identificados a partir de las parcelas tratadas fueron predominantemente depredadores y estos incluyen escarabajos depredadores, chinches, crisopas y arañas (Tabla 7).

Tabla 7. Depredadores de plagas de algodón muestreados e identificados a partir de parcelas de estudio.

Orden	Familia	Species	Grupo
Coleoptera	Coccinellidae	<i>Coccinella transversalis</i> (Fabricius)	Escarabajos depredadores
		<i>Diomus notescens</i> (Blackburn)	
	Melyridae	<i>Dicranolauis bellulus</i> (Guerin-Meneville)	
Hemiptera	Nabidae	<i>Nabis capsiformis</i> (Germar)	Chinches depredadoras
	Lygaeidae	<i>Geocoris lubra</i> (Kirkaldy)	

(continuación)

Orden	Familia	Species	Grupo
	Pentatomidae	Cermatulus nasalis (Westwood)	
		Ochelia schellenbergii (Guerin-Meneville)	
		Coranus triabeatus (Horvath)	
Neuroptera	Chrysopidae	Chrysopa spp.	Crisopas depredadoras
	Hemerobiidae	Micromus tasmaniae (walker)	
Araneida	Lycosidae	Lycosa spp.	Arañas
	Oxyopidae	Oxyopes spp.	
	Salticidae	Salticidae spp.	
	Araneidae	Araneus spp.	

5 No se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos y el control en el número de escarabajos depredadores (Tabla 8), chinches (Tabla 9), crisopas (Tabla 10) y arañas (Tabla 11). Esto indica que los productos de Clitoria ternatea no tienen efecto sobre los insectos beneficiosos en el algodón.

10 Tabla 8. Eficacia de diferentes tasas de Clitoria ternatea en el número de escarabajos depredadores por metro en cultivos comerciales convencionales de algodón.

Tratamientos	Pretratamiento	3 DAT	5 DAT	7 DAT
1 % Clitoria ternatea + Aceite de canola	0.50 ± 0.22 a	1.17 ± 0.48 a	1.00 ± 0.37 a	0.67 ± 0.21a
2 % Clitoria ternatea + Aceite de canola	1.33 ± 0.42 a	1.33 ± 0.49 a	0.83 ± 0.31 a	1.33 ± 0.21a
1 % Clitoria ternatea + Aceite de algodón crudo	1.00 ± 0.26 a	1.17 ± 0.31 a	1.83 ± 0.70 a	1.00 ± 0.21a
2 % Clitoria ternatea + Aceite de algodón crudo	0.67 ± 0.21 a	1.33 ± 0.33 a	0.87 ± 0.21 a	0.67 ± 0.00a
Control (sin rociar)	0.67 ± 0.21 a	2.17 ± 0.17 a	2.83 ± 0.87 a	1.67 ± 0.22a

15 Las medias dentro de las columnas seguidas de las mismas letras no son significativamente diferentes (P > 0.05) (Prueba de comparación múltiple de Tukey - Kramer)

15 Tabla 9. Eficacia de diferentes tasas de Clitoria ternatea en el número de insectos depredadores por metro en cultivos comerciales convencionales de algodón.

Tratamientos	Pretratamiento	3 DAT	5 DAT	7 DAT
1 % Clitoria ternatea + Aceite de canola	1.00 ± 0.37 a	2.17 ± 0.40 a	2.33 ± 0.33 a	2.17 ± 0.48a
2 % Clitoria ternatea + Aceite de canola	0.83 ± 0.31 a	2.50 ± 0.43 a	2.83 ± 0.48 a	2.17 ± 0.31a
1 % Clitoria ternatea + Aceite de algodón crudo	1.00 ± 0.37 a	2.33 ± 0.33 a	2.67 ± 0.62 a	2.00 ± 0.31a
2 % Clitoria ternatea + Aceite de algodón crudo	0.83 ± 0.31 a	1.33 ± 0.21 a	1.83 ± 0.48 a	2.33 ± 0.33a
Control (sin rociar)	1.50 ± 0.43 a	2.50 ± 0.34 a	2.67 ± 0.42 a	4.17 ± 0.26a

20 Las medias dentro de las columnas seguidas de las mismas letras no son significativamente diferentes (P > 0.05) (Prueba de comparación múltiple de Tukey - Kramer)

25 Tabla 10. Eficacia de diferentes tasas de Clitoria ternatea en el número de crisopas depredadoras por metro en cultivos comerciales convencionales de algodón.

Tratamientos	Pretratamiento	3 DAT	5 DAT	7 DAT
1 % Clitoria ternatea + Aceite de canola	0.50 ± 0.22 a	1.00 ± 0.26 a	0.83 ± 0.17 a	0.50 ± 0.22a
2 % Clitoria ternatea + Aceite de canola	0.33 ± 0.21 a	1.50 ± 0.43 a	1.00 ± 0.26 a	0.33 ± 0.21a
1 % Clitoria ternatea + Aceite de algodón crudo	0.33 ± 0.21 a	1.67 ± 0.42 a	0.83 ± 0.31 a	0.50 ± 0.22a
2 % Clitoria ternatea + Aceite de algodón crudo	0.50 ± 0.22 a	0.67 ± 0.33 a	1.00 ± 0.26 a	0.33 ± 0.21a
Control (sin rociar)	0.67 ± 0.21 a	0.83 ± 0.31 a	0.83 ± 0.33 a	0.50 ± 0.34a

Las medias dentro de las columnas seguidas de las mismas letras no son significativamente diferentes (P> 0.05) (Prueba de comparación múltiple de Tukey - Kramer)

5 Tabla 11. Eficacia de diferentes tasas de Clitoria ternatea en el número de arañas por metro en cultivos comerciales convencionales de algodón

Tratamientos	Pretratamiento	3 DAT	5 DAT	7 DAT
1 % Clitoria ternatea + Aceite de canola	6.33 ± 1.54 a	3.50 ± 1.15 a	3.00 ± 0.78 a	4.17 ± 0.60a
2 % Clitoria ternatea + Aceite de canola	3.00 ± 0.68 a	3.33 ± 0.56 a	3.33 ± 0.67 a	2.33 ± 0.72a
1 % Clitoria ternatea + Aceite de algodón crudo	5.17 ± 0.79 a	2.50 ± 0.43 a	2.83 ± 0.83 a	3.17 ± 0.40a
2 % Clitoria ternatea + Aceite de algodón crudo	3.67 ± 0.84 a	3.00 ± 1.00 a	2.00 ± 0.68 a	2.83 ± 0.60a
Control (sin rociar)	5.67 ± 0.95 a	4.17 ± 0.87 a	3.17 ± 1.07 a	3.17 ± 0.91a

10 Las medias dentro de las columnas seguidas de las mismas letras no son significativamente diferentes (P> 0.05) (Prueba de comparación múltiple de Tukey - Kramer)

Ejemplo 12 Formulación de Clitoria ternatea para ensayos de laboratorio contra plagas de algodón.

15 El material de Clitoria ternatea se cosechó en diferentes etapas de crecimiento en tres ubicaciones diferentes. Los extractos se prepararon calentando una planta macerada y seca (30 g para cada disolvente) en un baño de agua a 80°C durante 1 hora. La filtración y la evaporación se llevaron a cabo después de 24 horas. Las soluciones se evaporaron al vacío a 400°C, mientras que la evaporación de la solución de agua se realizó usando el baño de agua. Las soluciones se evaporaron hasta que se obtuvieron concentrados fraccionados. Los concentrados fraccionados se formularon en surfactantes (C12-C15 Etoxilato y Teric® (Huntsman), un emulsionante (Termul® 3000) y un aceite de peso molecular ligero tal como el aceite de semilla de algodón crudo, aceite de semilla de algodón refinado y aceite de canola. Se aplicaron vacío y presión para garantizar una filtración eficiente.

20 Se desarrollaron cuatro formulaciones para uso en bioensayos de laboratorio y de campo contra plagas de algodón e insectos beneficiosos. Las formulaciones fueron:

- 25 (1) Formulación de Clitoria ternatea en aceite sin emulsionantes (Formulación A),  
 (2) Formulación con emulsionantes pero sin Clitoria ternatea (Formulación B),  
 30 (3) formulaciones de Clitoria ternatea con emulsionantes (Formulación C) y  
 (4) formulaciones de Clitoria ternatea con emulsionantes (Formulación D).

Efecto de diferentes tasas de Clitoria ternatea sobre la mortalidad de los miridos verdes en el laboratorio

35 Las cuatro formulaciones se evaluaron a 0.5%, 1.0%, 1.5% y 2.0% (v/v) en el laboratorio a una temperatura de 25 °C y humedad relativa de 55-60%. Se usó agua como control. Para cada Formulación, se roció un total de 6 (3 pares) de miridos hembra y macho adultos por tratamiento (1 par/réplica) en frijoles hasta que se escurrió. Además, los frijoles también se sumergieron durante 60 segundos en cada tratamiento. Después de las aplicaciones de tratamiento, se transfirieron un par de miridos verdes (machos y hembras) y se liberaron en frijoles sumergidos que se mantenían por separado en recipientes de plástico transparente de 35 ml (P101M; Solo, Urbana, Illionis, EE. UU.). Cada tratamiento se repitió 3 veces. El número de adultos miridos muertos se contó y registró diariamente hasta que todos los insectos en el tratamiento más eficaz mueren. El porcentaje de mortalidad se calculó en relación con el control.

Análisis de los datos.

5 Todos los datos experimentales se analizaron utilizando medidas repetidas ANOVA (Graphpad Instat y Prism Software, Inc. v. 2.03, San Diego, CA, EE. UU.). El tratamiento y las fechas de la muestra fueron las variables independientes. Tukey-Kramer Se utilizaron pruebas de comparaciones múltiples para separar las medias.

Resultados

10 Se detectaron diferencias significativas ( $P < 0.01$ ) entre los tratamientos (Tabla 12). Se mataron menos miridos cuando se aplicó Clitoria ternatea a 0.5% v/v. A medida que la tasa de aplicación aumentó, el número de miridos verdes muertos aumentó significativamente (Tabla 12). La Formulación A causó la mayor mortalidad a los adultos de miridio verde en todas las tasas probadas (Tabla 12). A una tasa de 1% v/v, la Formulación A causó una mortalidad del 55.7% en comparación con el 44.3% causada por la Formulación C y la Formulación D respectivamente (Tabla 12).  
 15 La mortalidad más alta fue causada por la Formulación A (100%), la Formulación C (89%) y la Formulación D (100%) cuando los productos se aplicaron a una tasa de 2% v/v (Tabla 12). La mortalidad a los miridos verdes causada por la Formulación B que no contenía Clitoria ternatea fue significativamente menor ( $P < 0.01$ ) que las otras formulaciones que contenían Clitoria ternatea, y no fue significativamente diferente de los insectos tratados con agua (control) (Tabla 12).

20 Tabla 12. Efecto de la aplicación directa por aspersión y residuos de Clitoria ternatea a base de aceite de canola sobre la mortalidad de adultos de miridio verde en el laboratorio.

Tratamientos	0.5 % v/v (% de mortalidad)	1.0 %v/v (% de mortalidad)	1.5 %v/v (% de mortalidad)	2.0 %v/v (% de mortalidad)
Formulación A	2.00 ± 0.58 a (33.3 %)	1.33 ± 0.33 a (55.7 %)	0.33 ± 0.33 a (89.0 %)	0.00 ± 0.00 a (100.0 %)
Formulación B	2.67 ± 0.33 b (11.0%)	2.67 ± 0.33 b (11.0 %)	2.67 ± 0.33 b (11.0 %)	2.67 ± 0.33 b (11.0 %)
Formulación C	2.00 ± 0.58 a (33.3 %)	1.67 ± 0.67 a (44.3 %)	1.67 ± 0.33 a (44.3 %)	0.33 ± 0.33 a (89.0 %)
Formulación D	2.33 ± 0.33 a (22.3 %)	1.67 ± 0.33 a (44.3 %)	1.33 ± 0.33 a (55.7 %)	0.00 % 0.00 a (100.0 %)
Agua (control)	3.00 ± 0.33 b	3.00 ± 0.33 b	3.00 ± 0.33 b	3.00 ± 0.33 b
Nivel de significancia	$P < 0.01$	$P < 0.001$	$P < 0.01$	$P < 0.01$

25 Las medias entre tratamientos dentro de columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ); Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer.

Ejemplo 13 Eficacia de la combinación de la aplicación directa y los residuos de Clitoria ternatea en la supervivencia de los adultos de miridio verde.

30 Las formulaciones de Formulación A, Formulación C y Formulación D de Clitoria ternatea se evaluaron a 1 y 2 L/ha en el laboratorio con temperatura a 25 °C y 60-70% HR. Se usó agua como control. Para cada Formulación, se rociaron un total de 6 (3 pares) de miridios hembra y macho adultos por tratamiento (1 par/réplica) en frijoles hasta que se escurrió. Los frijoles también se sumergieron durante 60 segundos en cada Formulación y se transfirieron y mantuvieron por separado en recipientes de plástico transparente de 35 ml (P101M; Solo, Urbana, Illionis, EE. UU.).  
 35 Posteriormente, se liberaron un miridio verde macho y hembra (un par) sobre los frijoles en los recipientes de plástico. Cada tratamiento se repitió 3 veces. El número de adultos miridios muertos (machos y hembras) se contaron y registraron a los 3, 5, 7, 9 y 11 días después del tratamiento y se calculó el porcentaje de mortalidad en relación con el control.

40 Análisis de los datos

45 Todos los datos experimentales se analizaron utilizando medidas repetidas ANOVA (Graphpad Instat y Prism Software, Inc. v. 2.03, San Diego, CA, EE. UU.). El tratamiento y las fechas de la muestra fueron las variables independientes. Tukey-Kramer Se utilizaron pruebas de comparaciones múltiples para separar las medias.

Resultados

Eficacia sobre la mortalidad de los machos adultos miridios verdes

50 A las 3 DAT, ninguno de los tratamientos de Clitoria ternatea causó mortalidad a los machos adultos de miridio verde, excepto la Formulación A de 2 L/ha que causó una mortalidad del 33.3% (Tabla 13). A 5 DAT, la Formulación D y la Formulación A aplicadas a 2 L/ha causaron una mortalidad del 33.3%, mientras que las tasas más bajas de productos

Clitoria ternatea no mataron ningún mirido. La tasa de 1 L/ha de los productos de Clitoria ternatea causó una mortalidad del 33.3% de los miridios verdes a 7 DAT, mientras que la tasa de 2 L/ha causó el 66.7% (Tabla 13). A los 9 y 11 DAT, la Formulación A de 2 L/ha y la Formulación D causaron la muerte del 100% de los miridos, mientras que las tasas de 1 L/ha y la Formulación C de 2 L/ha causaron la muerte del 66.7% (Tabla 13).

5 Tabla 13. Efecto de los residuos de Clitoria ternatea en la mortalidad de adultos de miridio verde en el laboratorio

Tratamientos	Pretratamiento	3 DAT % de mortalidad	5 DAT % de mortalidad	7 DAT % de mortalidad	9 DAT % de mortalidad	11 DAT % de mortalidad
1 L/ha de Formulación C	0	0a	0a	33.33a	66.67a	66.67a
1 L/ha de Formulación D	0	0a	0a	33.33a	66.67a	100.00b
1 L/ha de Formulación A	0	0a	0a	33.33a	66.67a	100.00b
2 L/ha de Formulación C	0	0a	0a	33.33a	66.67a	100.00b
2 L/ha de Formulación D	0	0a	33.33a	66.67b	100.00b	100.00b
2 L/ha de Formulación A	0	33.33a	33.33a	66.67b	100.00b	100.00b
Control (agua)	0	0a	0a	0c	0c	0c

10 Las medias entre tratamientos dentro de columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (P> 0.05); Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer.

Ejemplo 14 Eficacia sobre la mortalidad de hembras adultas de miridios verdes

15 La mortalidad de las hembras adultas de miridios verdes a las 3 DAT fue cero, pero fue del 33.3% a las 5 DAT (Tabla 14). La mortalidad cuando las hembras adultas y los frijoles fueron tratados con 2 L/ha de Formulación A y Formulación D fue 66.7% a 7 DAT en comparación con 33.3% cuando fueron tratados con 1 L/ha de Formulación D y Formulación A (Tabla 14). Ninguno de los insectos tratados con 1 L/ha de Formulación C murió a las 7 DAT y solo el 33.3% murió a las 9 y 11 DAT. En contraste, la aplicación de 2 L/ha de Formulación A y Formulación D mató al 100 por ciento de las hembras adultas a 9 DAT, mientras que la Formulación C de 2 L/ha mató 77.7% y la Formulación D y Formulación A de 1 L/ha mató 66.7 % de los insectos. A las 11 DAT, todos los insectos tratados murieron con la excepción de los insectos tratados con 1 L/ha de Formulación C y 1 L/ha de Formulación D, donde solo 33.3 y 66.7% murieron respectivamente (Tabla 14).

25 Tabla 14. Efecto de los residuos de Clitoria ternatea sobre la mortalidad de hembras adultas de miridios verdes en el laboratorio

Tratamientos	Pretratamiento	3 DAT % de mortalidad	5 DAT % de mortalidad	7 DAT % de mortalidad	9 DAT % de mortalidad	11 DAT % de mortalidad
1 L/ha de Formulación C	0	0	0 b	0 a	33.33a	33.33a
1 L/ha de Formulación D	0	0	33.33a	33.33b	66.67b	66.67b
1 L/ha de Formulación A	0	0	33.33a	33.33b	66.67b	100.00c
2 L/ha de Formulación C	0	0	33.33a	66.67 c	77.70b	100.00c
2 L/ha de Formulación D	0	0	33.33a	66.67c	100.00c	100.00c
2 L/ha de Formulación A	0	0	33.33a	66.67c	100.00c	100.00c
Control (agua)	0	0	0b	0a	0d	0d

30 Las medias entre tratamientos dentro de columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (P> 0.05); Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer.

Ejemplo 15 Actividad disuasoria de la oviposición de Clitoria ternatea en adultos de miridio verde en frijoles en el laboratorio: efecto sobre la puesta total de huevos

35

Las formulaciones de Formulación A, Formulación B, Formulación C y Formulación D de Clitoria ternatea se evaluaron a 0.5%, 1.0%, 1.5% y 2.0% (v/v) en el laboratorio con temperatura de 25 °C y 40% de HR. Se usó agua como control. Para cada Formulación, se roció un total de 6 (3 pares) de miridios verdes adultos hembras y miridios machos por tratamiento (1 par/réplica) sobre papeles de filtro hasta que se escurrió. Los frijoles se sumergieron durante 60 segundos en cada Formulación y luego se transfirieron y se mantuvieron por separado en recipientes de plástico transparente de 35 ml (P101M; Solo, Urbana, Illionis, EE. UU.). Se liberaron tres pares de adultos de miridios verdes tratados sobre los frijoles tratados en cada recipiente de plástico. Cada tratamiento se repitió 4 veces. El número de huevos se contó bajo un microscopio binocular y se registró diariamente hasta 9 días después del tratamiento, cuando todos los insectos en uno de los tratamientos murieron. Los datos se expresaron como el número de huevos puestos por hembra y se compararon entre los tratamientos.

Análisis de los datos

Todos los datos experimentales se analizaron utilizando medidas repetidas ANOVA (Graphpad Instat y Prism Software, Inc. v. 2.03, San Diego, CA, EE. UU.). El tratamiento y las fechas de la muestra fueron las variables independientes. Tukey-Kramer Se utilizaron pruebas de comparaciones múltiples para separar las medias.

Resultados

La oviposición de miridos verdes en frijoles fue significativamente menor (P <0.001) a todas las concentraciones en insectos tratados con la Formulación A que los otros tratamientos y controles (Tabla 15). A 0.5% v/v de extracto de Clitoria ternatea, se colocaron 1.17 huevos/hembra en frijoles tratados con la Formulación A en comparación con 8.58 y 7.25 por hembra respectivamente en las plantas tratadas con la Formulación C y la Formulación D (Tabla 15). La Formulación B y los frijoles sin rociar tenían 11 y 12.42 huevos/hembra respectivamente (Tabla 15). A 1.0% v/v, el número de huevos puestos por hembra en los insectos y frijoles tratados con la Formulación D fue el mismo que la Formulación A, la Formulación B y la Formulación C pero la Formulación A fue diferente de la Formulación B y la Formulación C. El número de huevos registrados por hembra en las plantas tratadas con la Formulación A y la Formulación D fue significativamente menor (P <0,0009) que el control (Tabla 15). A tasas de 1.5 y 2 L/ha, no se detectaron diferencias significativas en el número de huevos por hembra en los insectos y frijoles tratados con la Formulación A, la Formulación C y la Formulación D. Sin embargo, el número de huevos por hembra en los insectos y frijoles tratados con la Formulación A fue significativamente menor (P <0.005 y P <0.01) que la Formulación B y los no rociados (control) (Tabla 15).

Tabla 15. Efecto de la aplicación directa por aspersión y residuos de formulaciones de Clitoria ternatea en la oviposición de adultos de miridios verdes en frijoles en el laboratorio.

Tratamientos	0.5% v/v	1.0% v/v	1.5% v/v	2.0% v/v
Formulación A	1.17 ± 0.44 a	1.35 ± 0.65 a	1.25 ± 1.33 a	2.00 ± 1.00 a
Formulación B	11.00 ± 0.76 b	10.35 ± 1.52 bc	11.00 ± 1.20 b	13.00 ± 2.08 b
Formulación C	8.58 ± 2.36 b	12.65 ± 1.15 bc	4.00 ± 2.65 ab	7.33 ± 2.18 ab
Formulación D	7.25 ± 0.95 b	5.00 ± 0.35 ab	5.65 ± 0.55 ab	6.65 ± 1.20 ab
Agua (control)	12.42 ± 3.33 b	20.65 ± 3.38 c	11.65 ± 3.35 b	12.65 ± 3.35 b
Nivel de significancia	P<0.0001	P<0.0009	P<0.005	P<0.01

Las medias entre tratamientos dentro de columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (P> 0.05); Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer.

Ejemplo 16 Actividad disuasoria de la oviposición de Clitoria ternatea en hembras adultas de miridios verdes en frijoles en el laboratorio: días después del tratamiento y puesta de huevos de hembras adultas.

Las formulaciones de Formulación C, Formulación D y Formulación A de Clitoria ternatea se evaluaron a 1 y 2 L/ha en el laboratorio con una temperatura de 25 °C y 40-55% HR. Se usó agua como control. Para cada Formulación, se roció un total de 6 hembras y machos adultos de miridios (3 pares) por tratamiento (1 par/réplica) sobre un papel de filtro hasta que se escurrió. Se sumergieron tres frijoles durante 60 segundos en cada tratamiento o Formulación. Cada par de miridos y un frijol tratado de cada tratamiento se transfirieron y se mantuvieron por separado en recipientes de plástico transparente de 35 ml (P101M; Solo, Urbana, Illionis, EE. UU.). Cada tratamiento se repitió 3 veces. Los números de huevos de miridio verde puestos por hembra en cada tratamiento se contaron bajo un microscopio binocular a los 3, 5, 7, 9 y 11 días después del tratamiento. Se calculó el número de huevos por hembra por tratamiento y se comparó entre tratamientos y control.

Análisis de los datos

Todos los datos experimentales se analizaron utilizando medidas repetidas ANOVA (Graphpad Instat y Prism Software, Inc. v. 2.03, San Diego, CA, EE. UU.). El tratamiento y las fechas de la muestra fueron las variables independientes. Tukey-Kramer Se utilizaron pruebas de comparaciones múltiples para separar las medias.

5 Resultados

Las hembras adultas de miridios verdes no pusieron ningún huevo en frijoles tratados con 2 L/ha de Formulación A a las 3 a 11 DAT (Tabla 16). Los frijoles tratados con 1 L/ha de Formulación A no tenían huevos registrados en ellos a las 3 DAT pero a las 5 a 11 DAT el número de huevos registrados en 1 L/ha de Fórmula A los frijoles tratados variaron de 0.67 a 2.00 por hembra (Tabla 16). El número de huevos puestos en los frijoles tratados con 1 L/ha de Formulación C, Formulación D y agua a 3 DAT fue 0.33, 0.67 y 2.00 por hembra respectivamente (Tabla 16). En el mismo período no se registraron huevos en frijoles tratados con 2 L/ha de Formulación C y Formulación D respectivamente (Tabla 16). A las 5 DAT, los frijoles tratados con 1 L/ha de Formulación C y Formulación D tuvieron 10 y 8.67 huevos/hembra respectivamente y el control tuvo 5.33 por hembra. Cuando la tasa de aplicación de la Formulación C y la Formulación D se duplicó a 2 L/ha, el número de huevos puestos por hembra se redujo a 4.00 (Formulación C) y 6.00 (Formulación D) y esto fue significativamente diferente ( $P < 0.01$ ) de la Tasa de 1 L/ha (Tabla 16). En 7 a 11 DAT, el número de huevos puestos en frijoles tratados con 2 L/ha de Formulación C y Formulación D no fueron significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ) de la tasa de 1 L/ha y el control (Tabla 16).

20 Tabla 16. Efecto de Clitoria ternatea sobre el número de huevos puestos por hembras adultas de miridios verdes en el laboratorio

Tratamientos	Pretratamiento	3 DAT No. huevos puestos/hembra	5 DAT No. huevos puestos/hembra	7 DAT No. huevos puestos/hembra	9 DAT No. huevos puestos/hembra	11 DAT No. huevos puestos/hembra
1 L/ha de Formulación C	0	0.33±0.33a	10.00±4.91a	7.33±0.67a	8.67±2.03a	7.00±1.37a
1 L/ha de Formulación D	0	0.67±0.33a	8.67±0.88a	10.33±0.8a	10.67±1.21a	9.97±1.21a
1 L/ha de Formulación A	0	0 a	0.67±0.33 c	2.00±1.00b	2.00±1.00 b	1.07±1.00bc
2 L/ha de Formulación C	0	0 a	.00±2.00 b	7.00±1.85a	6.33±1.67a	4.53±2.03ab
2 L/ha de Formulación D	0	0 a	6.00±3.79 b	5.67±0.57ab	4.67±1.45ab	4.27±0.97ab
2 L/ha de Formulación A	0	0 a	0 c	0 b	0 b	0 c
Control (agua)	0	2.00±1.16a	5.33±2.67ab	9.67±2.85a	8.00±0.58a	7.13±0.58a
Nivel de significancia		P <0.0001	P <0.01	P <0.01	P <0.01	P <0.05

25 Las medias entre tratamientos dentro de columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ); Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer.

Ejemplo 17 Eficacia de las formulaciones de Clitoria ternatea contra plagas de algodón

30 El ensayo se realizó en un cultivo de algodón convencional comercial regado en la granja del Australian Cotton Research Institute en Narrabri. Se plantó una franja de girasol a un lado del campo para generar altas densidades de miridios verdes y otras plagas de algodón e insectos beneficiosos.

35 Se evaluaron los siguientes tratamientos contra plagas de algodón, especialmente los miridios verdes: (1) 1 L/ha de Formulación C, (2) 1 L/ha de Formulación D, (3) 1 L/ha de Formulación A, (4) 1 L/ha de Formulación B, (5) Insecticidas convencionales (62.5 ml/ha de Fipronil y 0.80 L/ha de Steward) y (6) Control sin rociar (sin tratar). Las parcelas de

tratamiento se organizaron en un diseño de bloques completos al azar con 4 repeticiones por tratamiento. Cada parcela replicada medía 8 m de ancho y 100 metros de largo.

5 Las aplicaciones foliares de cada tratamiento se realizaron durante un período de 3 meses. La decisión de aplicar el tratamiento se realizó con base a las Directrices de IPM y el umbral económico recomendado por CottonLogic de 0.5 miridios verdes por metro. En total, se aplicaron 3 aplicaciones de cada tratamiento durante toda la temporada.

10 Los recuentos previos al tratamiento se realizaron visualmente con miridios verdes adultos y ninfas, chinches vegetales verdes, artrópodos no objetivo, tales como las chinches de hoyuelos de manzana, trips, cicadélidos y áfidos en las plantas de algodón. Los recuentos posteriores al tratamiento se realizaron 3, 7 y 14 días después de la aplicación del tratamiento. En cada recuento, se repiten dos longitudes de fila de 2 metros seleccionadas al azar de cada tratamiento, es decir, se examinó un total de 8 metros por tratamiento. Los datos se expresaron como números por metro para cada tratamiento para cada aplicación de pulverización y número por metro por fecha de muestra al final de la temporada.

15 Análisis de los datos

20 Todos los datos experimentales se analizaron utilizando medidas repetidas ANOVA (Graphpad InStat y Prism Software, Inc. v. 2.03, San Diego, CA, EE. UU.). El tratamiento y las fechas de la muestra fueron las variables independientes. Tukey-Kramer Se utilizaron pruebas de comparaciones múltiples para separar las medias.

Resultados

25 Eficacia de las formulaciones a base de aceite de *Clitoria ternatea* en *Helicoverpa* spp. en algodón comercial

30 Se encontró un número aproximadamente igual de huevos de *Helicoverpa* spp. por metro por fecha de muestra en parcelas tratadas con insecticida convencional ( $2.22 \pm 0.26$ ) en comparación con 1.64, 1.71 y 1.57 en 1 L/ha de Formulación C (1.64), 1 L/ha de Formulación D (1.71) y 1 L/ha de Formulación A (Tabla 17). El número de huevos de *Helicoverpa* por metro por fecha de muestra encontrado en las parcelas tratadas con 1 L/ha de Formulación B (Formulación sin *Clitoria ternatea*, es decir, portador de *Clitoria ternatea*) fue significativamente mayor ( $P < 0.0001$ ) que las otras formulaciones de *Clitoria ternatea*, pero fue el mismo que el de parcelas tratadas con insecticidas convencionales (Tabla 17). La parcela no rociada (3.90 por metro) registró el mayor número de huevos de *Helicoverpa* por metro por fecha de muestra que todos los otros tratamientos (Tabla 17). La mortalidad de los huevos en las parcelas tratadas con insecticida convencional (43.1%) fue significativamente menor ( $P < 0.001$ ) que las parcelas tratadas con Formulación C (58.0%), Formulación D (56.2%) y Formulación A (59.7%) (Tabla 17). Las parcelas tratadas con la Formulación B tenían un 26.2% de mortalidad de huevos de *Helicoverpa* spp. (Tabla 17).

40 El número de larvas de VS+S fue el mismo en insecticidas convencionales (1.19) en comparación con 1.70, 1.65 y 1.46 en las parcelas tratadas con la Formulación C (1.70), la Formulación D (1.65) y la Formulación A (1.46) (Tabla 17). Las parcelas tratadas con la Formulación B tuvieron un número significativamente mayor ( $P < 0.0001$ ) de larvas de *Helicoverpa* spp. VS + S que las otras parcelas tratadas con las otras formulaciones de *Clitoria ternatea* e insecticida convencional (Tabla 17). La parcela no rociada tuvo el mayor número de larvas de VS+S entre los tratamientos, pero esto no fue significativamente diferente ( $P > 0.05$ ) de las parcelas tratadas con la Formulación B (Tabla 17). La mortalidad de las larvas de VS + S en las parcelas tratadas con insecticida convencional (53.9%) fue mayor que la Formulación C (34.1%), la Formulación D (36.1%) y la Formulación A (43.4%) (Tabla 17). La mortalidad de las larvas de VS+S en las parcelas tratadas con la Formulación B (10.1%) fue la más baja entre las formulaciones de *Clitoria ternatea*.

50 El número de larvas de *Helicoverpa* spp. M+L encontradas en las parcelas de insecticidas convencionales (0.30) fueron las mismas que las de las parcelas tratadas con la Formulación C (0.45), la Formulación D (0.46) y la Formulación A (0.26) (Tabla 17). El número de larvas M+L por metro por fecha de muestra encontradas en las parcelas tratadas con la Formulación B (0.70) fue el mismo que las parcelas sin rociar pero significativamente mayor que las otras formulaciones de *Clitoria ternatea* (Tabla 17). La mortalidad de las larvas M+L en las parcelas de insecticidas convencionales (68.1%) fue menor que las parcelas tratadas con la Formulación A (73.3%). La mortalidad de las larvas M+L en las parcelas tratadas con la Formulación C (52.1%) y la Formulación D (51.1%) fue menor que las parcelas de la Formulación A (73.3%) pero mayor que las parcelas tratadas con la Formulación B (25.5%) (Tabla 17).

60 Tabla 17. Efecto global de los extractos de *Clitoria ternatea* sobre huevos, larvas muy pequeñas y larvas pequeñas y medianas y larvas grandes de *Helicoverpa* spp. en cultivos comerciales convencionales de algodón

Tratamientos	Helicoverpa huevos/metro/fecha de muestra (% de mortalidad)	Helicoverpa VS+S larvas/metro/fecha de muestra (% de mortalidad)	Helicoverpa M+L/metro/ fecha de muestra (% de mortalidad)
1 L/ha de Formulación C	1.64 ± 0.26 a (58.0 %)	1.70 ± 0.22 a (34.1 %)	0.45 ± 0.11 a (52.1 %)
1 L/ha de Formulación D	1.71 ± 0.26 a (56.2 %)	1.65 ± 0.25 a (36.1 %)	0.46 ± 0.10 a (51.1 %)
1 L/ha de Formulación A	1.57 ± 0.24 a (59.7 %)	1.46 ± 0.21 a (43.4 %)	0.26 ± 0.06 a (73.3 %)
1 L/ha de Formulación B	2.88 ± 0.23 b (26.2 %)	2.32 ± 0.25 bc (10.1 %)	0.70 ± 0.13 bc (25.5 %)
Convencional	2.22 ± 0.26 ab (43.1 % )	1.19 ± 0.20 a (53.9 %)	0.30 ± 0.06 a (68.1 %)
Sin rociar (Control)	3.90 ± 0.33 c (0)	2.58 ± 0.29 c (0)	0.94 ± 0.19 c (0)
Nivel de significancia	P<0.0001	P<0.0001	P<0.0001

Las medias entre tratamientos dentro de columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (P> 0.05); Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer.

5 Ejemplo 18 Eficacia de formulaciones a base de aceite de Clitoria ternatea en plagas chupadoras en miridos verdes de algodón comercial

10 El número de miridos verdes por metro por fecha de muestra fue el mismo en insecticidas convencionales (0.33) en comparación con 1.07, 1.09 y 0.77 en las parcelas tratadas con la Formulación C (1.07), la Formulación D (1.09) y la Formulación A (0.77) (Tabla 18) Las parcelas tratadas con la Formulación B tuvieron un número significativamente mayor (P <0.0001) de miridos verdes por metro por fecha de muestra que las otras parcelas tratadas con las formulaciones de Clitoria ternatea y el insecticida convencional (Tabla 18). La parcela no rociada tuvo el mayor número de miridos verdes por metro por fecha de muestra entre todos los tratamientos, pero no fue significativamente diferente (P> 0.05) de las parcelas tratadas con la Formulación B (Tabla 18). La mortalidad de los miridos verdes en las parcelas tratadas con insecticida convencional (81.5%) fue mayor que la Formulación C (39.9%), la Formulación D (38.8%) y la Formulación A (56.7%) (Tabla 18). La mortalidad de los miridos verdes en las parcelas tratadas con la Formulación B (32.6%) fue la más baja entre las formulaciones de Clitoria ternatea (Tabla 18).

20 Chinchas de vegetales verdes

25 El número de chinchas vegetales verdes por metro por fecha de muestra fue el mismo en el insecticida convencional (0.19) en comparación con 0.44, 0.35 y 0.17 en la Formulación C (0.44), Formulación D (0.35), Formulación A (0.17) y Formulación B (0.54) parcelas tratadas (Tabla 18). Las parcelas tratadas con la Formulación B (0.54) tuvieron un número significativamente mayor (P <0,0001) de chinchas vegetales verdes por metro por fecha de muestra que las otras parcelas tratadas con las formulaciones de Clitoria ternatea y el insecticida convencional (Tabla 18). La parcela no rociada tuvo el mayor número de chinchas vegetales verdes por metro por fecha de muestra entre todos los tratamientos, pero no fue significativamente diferente (P> 0.05) de las parcelas tratadas con la Formulación B (Tabla 18). La mortalidad de las chinchas vegetales verdes en las parcelas tratadas con insecticida convencional (81.5%) fue mayor que la Formulación C (39.9%), la Formulación D (38.8%) y la Formulación A (56.7%) (Tabla 18). La mortalidad de las chinchas vegetales verdes en las parcelas tratadas con la Formulación B (32.6%) fue la más baja entre las formulaciones de Clitoria ternatea (Tabla 18).

35 Áfidos

40 Se encontró un número aproximadamente igual de áfidos del algodón por metro por fecha de muestra en parcelas tratadas con insecticida convencional (1.20) en comparación con 2.09, 2.06, 0.17 y 2.62 en la Formulación C (2.09), Formulación D (2.06), Formulación A (1.36) y las parcelas tratadas con la Formulación B (2.62) (Tabla 18). Las parcelas tratadas con la Formulación B (2.62) tuvieron un número significativamente mayor (P <0.0001) de áfidos del algodón por metro por fecha de muestra que las otras parcelas tratadas con las formulaciones de Clitoria ternatea y el insecticida convencional (Tabla 18). La parcela no rociada tuvo el mayor número de áfidos del algodón por metro por fecha de muestra entre todos los tratamientos, pero no fue significativamente diferente (P> 0.05) de las parcelas tratadas con la Formulación B (Tabla 18). La mortalidad de los áfidos del algodón en las parcelas tratadas con

insecticida convencional (63.4%) fue mayor que la Formulación C (36.3%), la Formulación D (37.2%) y la Formulación A (58.5%) (Tabla 18). La mortalidad de los áfidos en las parcelas tratadas con Formulación B (20.1%) fue la más baja entre las formulaciones de Clitoria ternatea (Tabla 18).

5 Tabla 18. Eficacia de los extractos de Clitoria ternatea en miridos verdes, chinches vegetales verdes y áfidos del algodón en cultivos comerciales de algodón

Tratamientos	No. Miridos verdes/metro/fecha de muestra (% de mortalidad)	No. Green vege bug/metro/fecha de muestra (% de mortalidad)	No. Aphids/metro/fecha de muestra (% de mortalidad)
1 L/ha de Formulación C	1.07 ± 0.19 a (39.9 %)	0.44 % 0.09 ab (47.6 %)	2.09 ± 0.57 a (36.3 %)
1 L/ha de Formulación D	1.09 ± 0.18 a (38.8 %)	0.35 ± 0.11 ab (58.3 %)	2.06 ± 0.40 a (37.2 %)
1 L/ha de Formulación A	0.77 ± 0.14 ab (56.7 %)	0.17 ± 0.07 a (79.8 %)	1.36 ± 0.29 a (58.5 %)
1 L/ha de Formulación B	1.20 ± 0.21 ac (32.6 %)	0.54 ± 0.14 bc (35.7 %)	2.62 ± 1.07 a (20.1 %)
Convencional	0.33 ± 0.11 b (81.5 %)	0.19 ± 0.07 a (77.4 %)	1.20 ± 0.27 a (63.4 %)
Sin rociar (Control)	1.78 ± 0.25 c (0)	0.84 ± 0.18 c (0)	3.28 ± 0.53 a (0)
Nivel de significancia	P<0.0001	P<0.0001	P>0.05

10 Las medias entre tratamientos dentro de columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (P> 0.05); Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer.

Chinches de hoyuelos de manzana

15 El número de chinches de hoyuelos de manzana por metro por fecha de muestra encontrados en parcelas tratadas con insecticida convencional (2.03) fue menor que en parcelas tratadas con la Formulación C (3.59), Formulación D (3.88), Formulación A (2.70) y Formulación B (4.32) (Tabla 19). Las parcelas tratadas con la Formulación B (4.32) tuvieron un número significativamente mayor (P <0.0001) de errores de hoyuelos de Apple por metro por fecha de muestra que las otras parcelas tratadas con las formulaciones de Clitoria ternatea y el insecticida convencional (Tabla 19). La gráfica no pulverizada (4.57) tuvo el mayor número de chinches de hoyuelos de manzana por metro por fecha de muestra entre todos los tratamientos, pero no fue significativamente diferente (P> 0.05) de las parcelas tratadas con la Formulación B (Tabla 19). La mortalidad de las chinches de hoyuelos de manzana en las parcelas tratadas con insecticida convencional (55.6%) fue mayor que la Formulación C (21.4%), la Formulación D (15.1%) y la Formulación A (40.9%) (Tabla 19). La mortalidad de las chinches de hoyuelos de manzana en las parcelas tratadas con Formulación B (5.5%) fue la más baja entre las formulaciones de Clitoria ternatea (Tabla 19).

25 Jassids verdes

30 El número de cicadélidos verdes por metro por fecha de muestra encontrado en parcelas tratadas con insecticida convencional (2.03) fue el mismo que el encontrado en parcelas tratadas con la Formulación C (2.93), Formulación D (2.88), Formulación A (2.16) y parcelas tratadas con la Formulación B (3.13) (Tabla 19). Las parcelas tratadas con la Formulación A (2.16) tuvieron un número significativamente menor (P <0.0002) de cicadélidos verdes por metro por fecha de muestra que las parcelas tratadas con la Formulación B (3.13). Las parcelas tratadas con la Formulación B tenían el mismo número de cicadélidos verdes por metro por fecha de muestra que las parcelas tratadas con la Formulación C, la Formulación D y la parcela no rociada (3.78) (Tabla 19). Las tasas de supervivencia de cicadélidos verdes en las parcelas tratadas con insecticida convencional (28.6%) fueron más bajas que las parcelas tratadas con la Formulación A (42.9%). Las mortalidades de los cicadélidos verdes en la Formulación C y la Formulación D tratadas fueron aproximadamente las mismas que las parcelas tratadas con la Formulación B (17.2) (Tabla 19).

40 Trips

45 Se encontró aproximadamente el mismo número de trips por metro por fecha de muestra en parcelas tratadas con insecticida convencional (11.06) en comparación con las parcelas tratadas Formulación C (10.00), Formulación D (10.19), Formulación A (10.62), Formulación B (11.04) y parcelas de control (12.22) (Tabla 19). Las parcelas tratadas con la Formulación A (10.62) tuvieron el mismo número de trips por metro por fecha de muestra que las parcelas tratadas con la Formulación B (11.04). Las parcelas tratadas con la Formulación A y la Formulación B tuvieron el

mismo número de trips por metro por fecha de muestra que las parcelas tratadas con la Formulación C, Formulación D, insecticidas convencionales y parcelas sin rociar (12.22) (Tabla 19). La mortalidad de los trips en las parcelas tratadas con insecticida convencional (9,5%) fueron las mismas que las parcelas tratadas con las formulaciones de Formulación A de *Clitoria ternatea* (Tabla 19).

5 Tabla 19. Eficacia de los extractos de *Clitoria ternatea* en chinches de hoyuelos de manzana, cicadélidos verdes y trips en cultivos comerciales de algodón

Tratamientos	No. Chinches de hoyuelos de manzana/metro/fecha de muestra (% de mortalidad)	No. Jassids verdes/metro/fecha de muestra (% de mortalidad)	No. Trips/metro/fecha de muestra (% de mortalidad)
1 L/ha de Formulación C	3.59 ± 0.53 ab (21.4 %)	2.93 ± 0.32 abc (22.5 %)	10.00 ± 1.13 a (18.2 %)
1 L/ha de Formulación D	3.88 ± 0.52 a (15.1 %)	2.88 ± 0.33 ac (23.8 %)	10.19 ± 1.21 a (16.6 %)
1 L/ha de Formulación A	2.70 ± 0.46 bc (40.9 %)	2.16 ± 0.22 b (42.9 %)	10.62 ± 1.12 a (13.1 %)
1 L/ha de Formulación B	4.32 ± 0.62 a (5.5 %)	3.13 ± 0.29 ac (17.2 %)	11.04 ± 1.08 a (9.7 %)
Convencional	2.03 ± 0.33 c (55.6 %)	2.70 ± 0.31 ab (28.6 %)	11.06 ± 1.25 a (9.5 %)
Sin rociar (Control)	4.57 ± 0.56 a (0)	3.78 ± 0.36 c (0)	12.22 ± 1.44 a (0)
Nivel de significancia	P <0.0001	P <0.0002	P >0.33

10 Las medias entre tratamientos dentro de columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (P > 0.05); Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer.

Ejemplo 19 Eficacia de las formulaciones de *Clitoria ternatea* contra insectos beneficiosos clave

15 El ensayo se realizó en un cultivo de algodón convencional comercial regado en la granja del Australian Cotton Research Institute en Narrabri. Se plantó una franja de girasol a un lado del campo para generar altas densidades de miridos verdes y otras plagas de algodón e insectos beneficiosos.

20 Las siguientes formulaciones de *Clitoria ternatea* fueron evaluadas contra insectos beneficiosos en cultivos de algodón (1) 1 L/ha de Formulación C, (2) 1 L/ha de Formulación D, (3) 1 L/ha de Formulación A, (4) 1 L/ha de Formulación B, (5) Insecticidas convencionales (62.5 ml/ha de Fipronil y 0.80 L/ha de Steward) y (6) Control sin rociar (sin tratar). Las parcelas de tratamiento se organizaron en un diseño de bloques completos al azar con 4 repeticiones por tratamiento. Cada parcela replicada medía 8 m de ancho y 100 metros de largo.

25 Las aplicaciones foliares de cada tratamiento se realizaron durante 3 meses. La decisión de aplicar el tratamiento se hizo con base a las Directrices de IPM y CottonLogic recomendó la relación de depredador a pre de 0.5. En total, se aplicaron 3 aplicaciones de cada tratamiento durante toda la temporada.

30 Los recuentos previos al tratamiento se realizaron visualmente a partir de insectos beneficiosos, tales como escarabajos depredadores, chinches depredadoras, crisopas y arañas depredadoras en plantas de algodón. Los recuentos posteriores al tratamiento se realizaron 3, 7 y 14 días después de la aplicación del tratamiento. En cada recuento, se repiten dos longitudes de fila de 2 metros seleccionadas al azar de cada tratamiento, es decir, se examinó un total de 8 metros por tratamiento. Los datos se expresaron como números por metro para cada tratamiento para cada aplicación de pulverización y número por metro por fecha de muestra para cada tratamiento al final de la temporada.

Análisis de los datos

40 Todos los datos experimentales se analizaron utilizando medidas repetidas ANOVA (Graphpad InStat y Prism Software, Inc. v. 2.03, San Diego, CA, EE. UU.). El tratamiento y las fechas de la muestra fueron las variables independientes. Tukey-Kramer Se utilizaron pruebas de comparaciones múltiples para separar las medias.

Resultados

Los insectos depredadores identificados a partir de las parcelas tratadas fueron escarabajos depredadores, chinches, crisopas y arañas (véase Tabla 7).

5 Escarabajos depredadores

No se registraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en el número de escarabajos depredadores por metro por fecha de muestra en las parcelas tratadas con las formulaciones de Clitoria ternatea y las parcelas de control (sin rociar) (Tabla 20). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre las parcelas tratadas con insecticidas convencionales y las parcelas tratadas con formulaciones de Clitoria ternatea (Tabla 20). Las parcelas tratadas con insecticidas convencionales tenían 1.51 escarabajos depredadores por metro por fecha de muestra en comparación con 2.25, 2.19, 2.00, 2.20 y 2.51 para parcelas de la Formulación C (2,25), la Formulación D (2,19), la Formulación A (2,00), la Formulación B (2,20) y control (2.51) (Tabla 20).

15 Chinches depredadores

El mayor número de chinches depredadoras por metro por fecha de muestreo se registró en las parcelas de control (1.78), pero esto no fue significativamente diferente ( $P > 0.05$ ) a partir de las parcelas tratadas con la Formulación B (1.65), la Formulación A (1.25), la Formulación C (1.16) y Formulación D (1.25) (Tabla 20). Los cultivos de algodón tratados con insecticida convencionales tenían el menor número de insectos depredadores ( $P < 0.0001$ ) (Tabla 20).

Crisopas depredadoras

No se encontraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en el número de crisopas depredadoras por metro por muestreo en las parcelas tratadas con formulaciones de Clitoria ternatea y las parcelas tratadas con insecticida convencional (Tabla 20). El mayor número de crisopas por metro se registró en la parcela no rociada (1.01) pero no fue significativamente diferente ( $P > 0.05$ ) de las parcelas tratadas con las formulaciones de Clitoria ternatea (Tabla 20). En contraste, se registró el menor número de crisopas por metro en las parcelas tratadas con insecticida convencional y esto fue significativamente diferente ( $P < 0.03$ ) de las parcelas de control (Tabla 20).

30 Arañas

El número de arañas por metro por fecha de muestreo se registró en las parcelas sin rociar (control) (3.28) en comparación con 2.52, 3.10, 2.78, 2.73 y 2.13 en las parcelas de Formulación C (2.52), Formulación D (3.10), Formulación A (2.78), Formulación B (2.73) y de insecticidas convencionales (2.13) (Tabla 20). La diferencia entre el número de arañas por metro por fecha de muestra encontrada en las parcelas de control no fue significativamente diferente ( $P > 0.05$ ) de las parcelas tratadas con formulaciones de Clitoria ternatea, pero fue diferente ( $P < 0.0003$ ) de las parcelas tratadas con insecticida convencional (Tabla 20). El número de arañas registradas en las parcelas tratadas con insecticida convencional no fue significativamente diferente ( $P > 0.05$ ) de las parcelas tratadas con formulaciones de Clitoria ternatea, con excepción de las parcelas tratadas con Formulación D (Tabla 20).

Tabla 20. Efecto de los extractos de Clitoria ternatea sobre insectos depredadores en cultivos comerciales convencionales de algodón

Tratamientos	No. Escarabajos depredadores/ metro/fecha de muestra	No. chinches depredadoras /metro/fecha muestra	No. Crisopas depredadoras /metro/fecha muestra	No. Arañas/metro/fecha de muestreo
1 L/ha de Formulación C	2.25 ± 0.19 a	1.16 ± 0.19 ab	0.73 ± 0.10 ab	2.52 ± 0.21 ab
1 L/ha de Formulación D	2.19 ± 0.17 a	1.38 ± 0.22 ab	0.86 ± 0.13 ab	3.10 ± 0.22 a
1 L/ha de Formulación A	2.00 ± 0.19 a	1.25 ± 0.18 ab	0.99 ± 0.14 ab	2.76 ± 0.25 ab
1 L/ha de Formulación B	2.20 ± 0.21 a	1.65 ± 0.21 b	0.74 ± 0.11 ab	2.73 ± 0.24 ab
Convencional	1.51 ± 0.17 b	0.97 ± 0.17 a	0.58 ± 0.98 a	2.13 ± 0.19 b
Sin rociar (Control)	2.51 ± 0.18 a	1.78 ± 0.26 b	1.01 ± 0.14 b	3.28 ± 0.30 a
Nivel de significancia	P<0.001	P<0.001	P<0.03	P<0.0003

Las medias entre tratamientos dentro de columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ); prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer.

5 Ejemplo 20 Eficacia de las formulaciones de Clitoria ternatea en moscas blancas Mosca blanca de la hoja plateada

Las siguientes formulaciones de Clitoria ternatea se usaron en los ensayos para determinar la eficacia del producto Clitoria ternatea contra Bemisia tabaci – adultos y ninfas b-biotipo (mosca blanca de la hoja plateada): Son

10 (1) Formulación A (Formulación de Clitoria ternatea en aceite sin emulsionantes),

(2) Formulación D (formulaciones de Clitoria ternatea con emulsionantes)

15 Efecto de los extractos de Clitoria ternatea sobre Bemisia tabaci en cultivos comerciales de algodón en Merah al norte cerca de Wee Waa

20 El ensayo se realizó en cultivos de algodón convencionales de regadío en una granja comercial de algodón en Merah al norte, cerca de Wee Waa. Se realizaron dos ensayos durante un período de dos semanas. Los tratamientos evaluados fueron (1) 2 L/ha de Formulación A (2) 2 L/ha de Formulación D (3) Control sin rociar (sin tratar). Las parcelas de tratamiento se organizaron en un diseño de bloques completos al azar con 3 repeticiones por tratamiento. Cada parcela replicada midió 24 m de ancho y 100 m de largo.

25 Las aplicaciones foliares de cada tratamiento se realizaron el día 1. Los recuentos previos al tratamiento se realizaron visualmente de adultos y ninfas de B. tabaci, en la superficie inferior de las hojas de las plantas de algodón en cada tratamiento. Los recuentos posteriores al tratamiento se realizaron 3, 7 y 14 días después de la aplicación del tratamiento. En cada fecha de muestreo, se seleccionaron al azar veinte (20) plantas de cada réplica de tratamiento y se contaron visualmente adultos de B. tabaci en una hoja del quinto nodo debajo del terminal de cada planta (durante las primeras horas de la mañana (9-10 am) girando cuidadosamente la hoja y contando el número de adultos individuales presentes.

30 En el caso de las ninfas, una hoja del quinto nodo debajo del terminal de cada una de las 20 plantas fue cortada, retirada y cuidadosamente colocada individualmente en una bolsa de plástico. Las bolsas de plástico que contenían hojas individuales se llevaron al laboratorio y las ninfas de B. tabaci se contaron bajo un microscopio binocular. Los datos de adultos y ninfas se expresaron como números por hoja para cada tratamiento.

35 Análisis de los datos.

Todos los datos experimentales se analizaron utilizando medidas repetidas ANOVA (Graphpad InStat y Prism Software, Inc. v. 2.03, San Diego, CA, EE. UU.). El tratamiento y las fechas de la muestra fueron las variables independientes. Tukey-Kramer Se utilizaron pruebas de comparaciones múltiples para separar las medias.

40 Resultados

45 Las cepas de B. tabaci presentes en el sitio de estudio fueron predominantemente el biotipo b. El número de adultos de B. tabaci por hoja registrado en las parcelas tratadas con la Formulación A y la Formulación D fue significativamente menor ( $P < 0.01$  en 3 DAT,  $P < 0.05$  en 7 DAT y  $P < 0.0001$  en 14 DAT) que las parcelas sin rociar (Tabla 21) La mortalidad de adultos de B. tabaci registrada en parcelas tratadas con 2 L/ha de Formulación D en 3 DAT fue del 74.5% en comparación con 54.8 en parcelas tratadas con 2 L/ha de Formulación A (Tabla 21). Sin embargo, en 7 y 14, las mortalidades DAT en las parcelas tratadas con la Formulación A aumentaron a 77.3 y 73.4% respectivamente, mientras que las de las parcelas de la Formulación D fueron 60.4 y 73.2% respectivamente en relación con el control (Tabla 21).

50 En el caso de las ninfas de B. tabaci por hoja, no se encontraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre las parcelas tratadas con la Formulación A y la Formulación D, pero fueron significativamente diferentes ( $P < 0.0001$ ) del control sin rociar en 3, 7 y 14 DAT (Tabla 22). Sin embargo, la mortalidad de las ninfas de B. tabaci en las parcelas tratadas con la Formulación D (74.9%) en 3 DAT fue significativamente mayor que las parcelas tratadas con la Formulación A (28.2%) en relación con el control (Tabla 22). En 7 y 14 DAT, la mortalidad registrada en las parcelas tratadas con la Formulación A aumentó a 73.6 y 55.6%, mientras que la mortalidad en las parcelas tratadas con la Formulación D fue de 75.3 y 67.0% respectivamente en relación con el control (Tabla 22).

60 Tabla 21. Efecto de los extractos de Clitoria ternatea en adultos de Bemisia tabaci por hoja en cultivos comerciales de algodón Bollgard

ES 2 762 196 T3

Tratamientos	Recuentos de pretratamiento	de 3 DAT (% de mortalidad)	7 DAT % de mortalidad)	14 DAT % de mortalidad)
2.0 L/ha de Formulación A	74.33 ± 6.15 a	32.33 ± 3.90 a (54.8 %)	15.56 ± 1.70 a (77.3 %)	15.56 ± 1.70 a (73.4 %)
2.0 L/ha de Formulación D	70.89 ± 7.99 a	18.22 ± 3.62 a (74.5 %)	27.11 ± 5.19 a (60.4 %)	15.67 ± 2.08 a (73.2 %)
Sin rociar (Control)	53.56 ± 7.51 a	71.56 ± 8.85 b (0)	68.45 ± 5.70 b (0)	58.44 ± 5.82 b (0)
Nivel de significancia	P>0.05	P<0.001	P<0.05	P<0.0001

Las medias entre tratamientos dentro de columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (P> 0.05); Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer.

5 Tabla 22. Efecto de los extractos de *Clitoria ternatea* y los insecticidas convencionales sobre las ninfas de *Bemisia tabaci* por hoja en cultivos comerciales de algodón Bollgard

Tratamientos	Recuentos de pretratamiento	3 DAT	7 DAT	14 DAT
2.0 L/ha de Formulación A	75.56 ± 11.35 a	51.11 ± 8.08 a (28.2 %)	44.78 ± 7.15 a (73.6 %)	121.33 ± 15.91a (55.6 %)
2.0 L/ha de Formulación D	75.56 ± 11.18 a	17.89 ± 2.90 a (74.9 %)	41.78 ± 4.85 a (75.3 %)	90.11 ± 5.58 a (67.0%)
Sin rociar (Control)	77.22 ± 9.06 a	71.22 ± 8.35 b (0)	169.33 ± 25.10 b (0)	273.22 ± 24.21 b (0)
Nivel de significancia	P>0.05	P<0.0001	P<0.0001	P<0.0001

10 Las medias entre tratamientos dentro de columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (P> 0.05); Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer.

15 Ejemplo 21 Efecto de extractos de *Clitoria ternatea* e insecticidas convencionales sobre *Bemisia tabaci* en cultivos comerciales de algodón

20 El ensayo se realizó en cultivos de algodón convencionales de regadío en una granja de algodón. Los siguientes tratamientos fueron evaluados contra *B. tabaci* - adultos y ninfas de biotipo b: (1) 2 L/ha de Formulación A (2) 2 L/ha de Formulación D (3) 0,80 L/ha de Diafenthiuron en Merah norte (insecticidas convencionales) y (4) Sin rociar (control). Las parcelas de tratamiento se organizaron en un diseño de bloques completos al azar con 3 repeticiones por tratamiento. Cada parcela replicada midió 24 m de ancho y 100 m de largo.

25 Las aplicaciones foliares de cada tratamiento se realizaron durante dos semanas. Los recuentos previos al tratamiento se realizaron visualmente de adultos y ninfas de *B. tabaci*, en la superficie inferior de las hojas de las plantas de algodón en cada tratamiento. Los recuentos posteriores al tratamiento se realizaron 3, 7 y 14 días después de la aplicación del tratamiento. Los datos de adultos y ninfas se expresaron como números por hoja para cada tratamiento.

Análisis de los datos

30 Todos los datos experimentales se analizaron utilizando medidas repetidas ANOVA (Graphpad Instat y Prism Software, Inc. v. 2.03, San Diego, CA, EE. UU.). El tratamiento y las fechas de la muestra fueron las variables independientes. Tukey-Kramer Se utilizaron pruebas de comparaciones múltiples para separar las medias.

Resultados

35 Las cepas de *B. tabaci* presentes en el sitio de estudio fueron predominantemente el biotipo b. Se encontró aproximadamente el mismo número de adultos de *B. tabaci* por hoja en parcelas tratadas con insecticidas convencionales (15.33) en 3 DAT en comparación con 18.00, 11.33 y 25.00 en la Formulación D, Formulación A y parcelas sin rociar (Tabla 23). En 7 DAT, la cantidad de adultos por hoja registrada en las parcelas tratadas con la Formulación A fue la misma que la Formulación D y las parcelas de insecticidas convencionales, pero fue significativamente diferente (P <0.0001) de las parcelas de control (Tabla 23). En contraste, el número de adultos de *B. tabaci* por hoja encontrados en la Formulación D y las parcelas de insecticidas convencionales no fueron

significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ) de las parcelas de control (Tabla 23). En 14 DAT, no se registraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre los tratamientos y las parcelas de control (Tabla 23). Sin embargo, la mortalidad de los adultos de *B. tabaci* en las parcelas tratadas con Formulación D (54.7%) en 3 DAT fue mayor que las parcelas de Formulación A (28.0%) y las parcelas de insecticidas convencionales (38.7%) (Tabla 23). En 7 DAT, la mortalidad de *B. tabaci* adultos (66.7%) fue mayor que la Formulación D (38.9%) y el insecticida convencional (32.2%) en relación con el control (Tabla 23). Por el contrario, la diferencia en la mortalidad entre los tratamientos fue aproximadamente la misma en relación con el control en 14 DAT (Tabla 23).

El número de ninfas de *B. tabaci* por hoja encontradas en las parcelas tratadas con la Formulación A y la Formulación D no fue significativamente diferente ( $P > 0.05$ ) pero fue significativamente diferente ( $P < 0.06$ ) del insecticida convencional y las parcelas sin rociar en 3 DAT (Tabla 24) No se detectaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en 3 DAT entre parcelas tratadas con insecticida convencional y sin rociar (Tabla 24). No se encontraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre los tratamientos y el control en 7 DAT, pero se encontró una diferencia significativa entre las parcelas tratadas con *Clitoria ternatea* y las parcelas convencionales y no rociadas (Tabla 24). En términos de mortalidad, las parcelas tratadas con la Formulación A y la Formulación D registraron 53.3 y 36.4% de mortalidad de ninfas de *B. tabaci* en comparación con las parcelas tratadas con insecticida convencional que registraron un aumento del 12% de las ninfas sobre la parcela de control (Tabla 24). En 7 DAT, las parcelas tratadas con la Formulación D tenían una mortalidad del 47.5% en comparación con la Formulación A (28.8%) y el insecticida convencional (22.1%). En 14 DAT, la mortalidad causada por los tratamientos individuales aumentó a 77.2 por ciento (Formulación A), 79.5% (Formulación D) y 60.6% (insecticidas convencionales) (Tabla 24).

Tabla 23. Efecto de los extractos de *Clitoria ternatea* y los insecticidas convencionales en adultos de *Bemisia tabaci* por hoja en cultivos comerciales de algodón Bollgard

Tratamientos	Recuentos de pretratamiento	3 DAT (% de mortalidad)	7 DAT (% de mortalidad)	14 DAT (% de mortalidad)
2.0 L/ha de Formulación A	24.33 ± 2.96 a	18.00 ± 2.89 a (28.0 %)	10.00 ± 1.73 a (66.7 %)	14.67 ± 2.90 a (20.0 %)
2.0 L/ha de Formulación D	28.00 ± 3.51 a	11.33 ± 0.88 a	18.33 ± 5.04 ab (38.9 %)	12.33 ± 2.33 a (32.7 %)
0.80 L/ha Diafenthiuron	25.67 ± 1.76 a	15.33 ± 1.45 a (54.7 %)	20.33 ± 2.40 ab (32.2 t)	12.00 ± 0.88 a (34.5 %)
Sin rociar (Control)	23.00 ± 4.73 a	25.00 ± 2.65 b (38.7 %)	30.00 ± 5.77 b (0)	18.33 ± 2.33 a (0)
Nivel de significancia	$P > 0.05$	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	$P > 0.05$

Las medias entre tratamientos dentro de columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ); Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer.

Tabla 24. Efecto de los extractos de *Clitoria ternatea* y los insecticidas convencionales sobre las ninfas de *Bemisia tabaci* por hoja en cultivos comerciales de algodón Bollgard

Tratamientos	Recuentos de pretratamiento	3 DAT (% de mortalidad)	7 DAT (% de mortalidad)	14 DAT (% de mortalidad)
2.0 L/ha de Formulación A	29.67 ± 5.78 a	12.00 ± 1.00 a (53.3 %)	14.00 ± 3.06 a (28.8 %)	9.67 ± 2.19 a (77.2 %)
2.0 L/ha de Formulación D	38.00 ± 2.52 a	16.33 ± 2.33 a (36.4 %)	10.33 ± 0.33 a (47.5 %)	8.67 ± 1.33 a (79.5 %)
0.80 L/ha Diafenthiuron	40.00 ± 9.87 a	28.67 ± 7.22 b (-12.0 %)	15.33 ± 2.40 a (22.1 %)	17.00 ± 1.73 b (60.6 %)
No rociado (control)	17.67 ± 3.33 a	25.67 ± 7.22 b (0)	19.67 ± 0.33 a (0)	42.33 ± 3.93 b (0)
Nivel de significancia	$P > 0.05$	$P < 0.06$	$P > 0.05$	$P < 0.001$

Las medias entre tratamientos dentro de columnas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ); Prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer.

Referencias:

- 5 1 Bernays, E. A. and Chapman, R. F. (1994). Host Plant Selection by Phytophagous Insects. Chapman and Hall. London.
- 2 Mensah, R. K., Verneau, S. and Frerot, B. (2000). Deterrence of oviposition of adult *Ostrinia nubilalis* (Hubner) by a natural enemy food supplement Envirofeast® on maize in France. *International Journal of Pest Management* 46 (1),  
10 49-53
- 3 Mensah, R. K. (1996). Suppression of *Helicoverpa* spp. oviposition by use of natural enemy food supplement "Envirofeast". *Australian Journal of Entomology*, 35, 323-329.
- 15 4 Mensah, R. and Moore, C.J. (1999). A Review of Behaviour Modifying Chemicals in Relation to Pest Host Selection and Management on Australian Cottons. CRDC.
- 5 Miller, J.R. and Cowles, R.S. (1990). Stimulo-deterrent diversion: a concept and its possible application to onion maggot control. *J. Chem. Ecol.* 16: 3197-3212.  
20
- 6 Pyke, B., Rice, M., Sabine, G. and Zalucki, M. (1987). The push-pull strategy-behavioural control of *Heliothis*. *Australian Cotton Grower* 9: 7-9.
- 7 Rhoades, D.F. and Coates, R.H. (1976). Towards a general theory of plant anti-herbivore chemistry. In: J. W. Wallace and L. Mansell, eds. *Biochemical Interactions Between Insects and Plants*. Pp. 168-213. Plenum, New York.  
25
- 8 Tingle, F.C. and Mitchell, E. R. (1984). Aqueous extracts from indigenous plants as oviposition deterrents for *Heliothis virescens*. *J. Chem. Ecology* 10: 101-113.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición que comprende un extracto de al menos las hojas de *Clitoria ternatea* en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en aceites C<sub>19</sub>-C<sub>27</sub>, agua, metanol, etanol, hexano, aceite de canola y aceite de semilla de algodón o una combinación de los mismos, comprendiendo el extracto compuestos de plantas secundarios que tienen actividad insecticida y/o que repelen la plaga de insectos y/o disuaden a la plaga de insectos de poner huevos y/o influyen en la posición de la puesta de huevos y/o disuaden a la plaga de insectos de alimentarse de una planta, en donde la composición comprende uno o más emulsionantes y opcionalmente comprende un portador.
- 10 2. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1, en donde la composición comprende uno o más excipientes agrícolamente aceptables adicionales.
3. Una composición como se reivindica la reivindicación 1 o 2
- 15 en donde el portador es un solvente no polar o un aceite.
4. Una composición como se reivindica la reivindicación 3, en donde el aceite es aceite de canola o aceite de semilla de algodón.
- 20 5. Una composición como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el disolvente comprende metanol y/o etanol.
6. Una composición como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la composición comprende un extracto de una planta completa de *Clitoria Ternatea*.
- 25 7. Una composición como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde *C. ternatea* está en una etapa previa a la floración.
- 30 8. Una composición como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende además uno o más de: metanol, ácido acético, acetona, acetonitrilo, benceno, 1-butanol, 2-butanol, 2-butanona, alcohol t-butílico, tetracloruro de carbono, clorobenceno, cloroformo, ciclohexano, 1,2-dicloroetano, éter dietílico, dietilenglicol, diglime (dietilenglicol dimetil éter), 1,2-dimetoxietano (glimo, DME), dimetiléter, dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), dioxano, etanol, acetato de etilo, etilenglicol, glicerina, heptano, hexametilfosforamida (HMPA), triamida de hexametilfosforoso (HMPT), hexano, metil t-butil éter (MTBE), cloruro de metileno, N-metil-2-pirrolidinona (NMP), nitrometano, pentano, éter de petróleo (ligroína), 1-propanol, 2-propanol, piridina, tetrahidrofurano (THF), tolueno, trietilamina, agua, agua pesada, o-xileno, m-xileno, p-xileno y una combinación de los mismos.
- 35 9. Un método para controlar una o más plagas de insectos de plantas que comprende tratar una planta que sufre una infestación de plagas de insectos o una planta propensa a tal infestación con una composición como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
- 40 10. Un método como se reivindica en la reivindicación 9, en donde la planta se selecciona del grupo que consiste en un cultivo de algodón, un cultivo de granos, un cultivo de leguminosas, un cultivo de legumbres, un cultivo de hortalizas, un cultivo de frutas y una planta ornamental.
- 45 11. Un método como se reivindica en la reivindicación 9 o 10, en donde el control de la infestación de insectos es mediante la reducción de la puesta de huevos, mediante la disuasión de la alimentación de insectos o mediante la muerte directa.
- 50 12. Un método como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en donde la una o más plagas de insectos se selecciona del grupo que consiste en gusano de la cápsula del algodón, gusano nativo, miridios verdes, áfidos, chinches vegetales verdes, chinches de hoyuelos de manzana, trips de placa, trips de tabaco, trips de cebolla, trips de algodón, trips de flores occidentales, moscas blancas, ácaros de dos manchas y saltahojas.

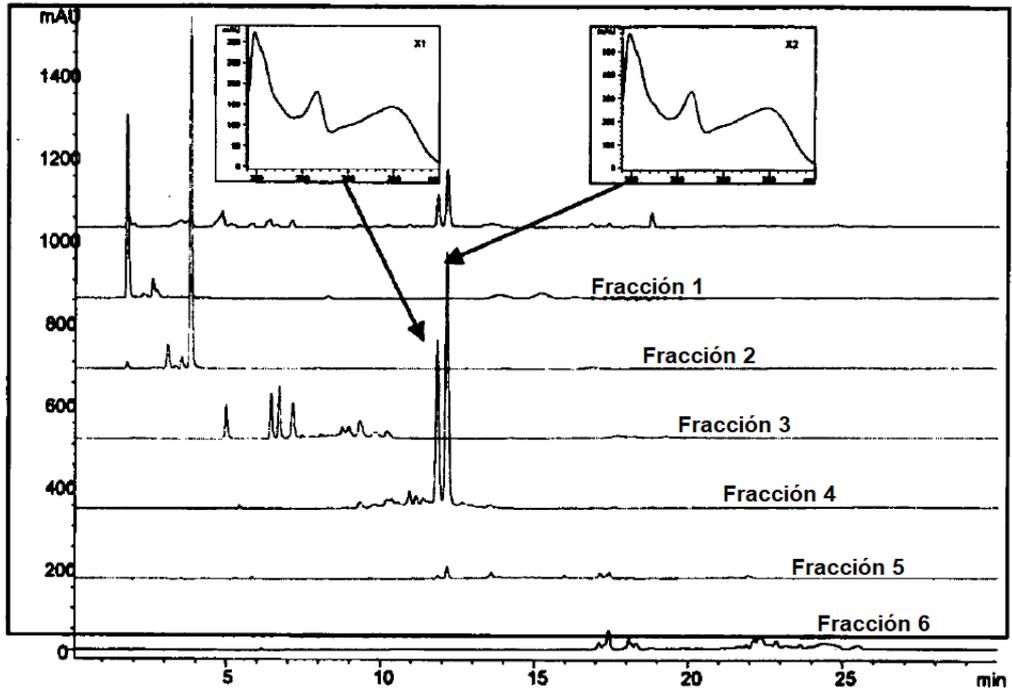


Fig. 1

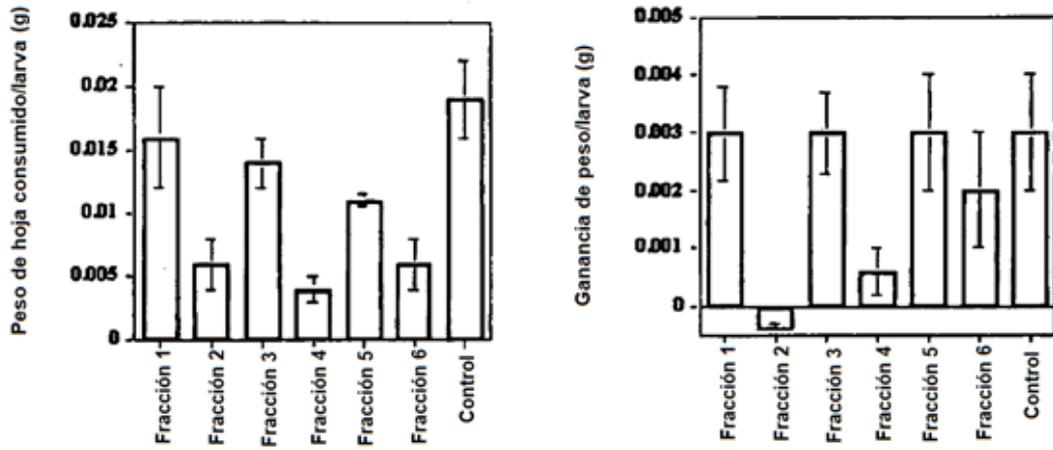


Fig. 2

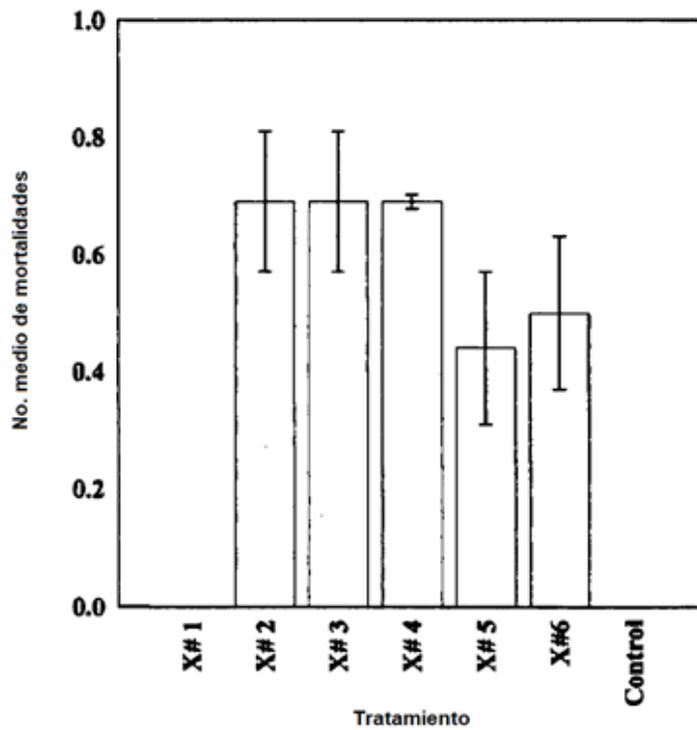


Fig. 3

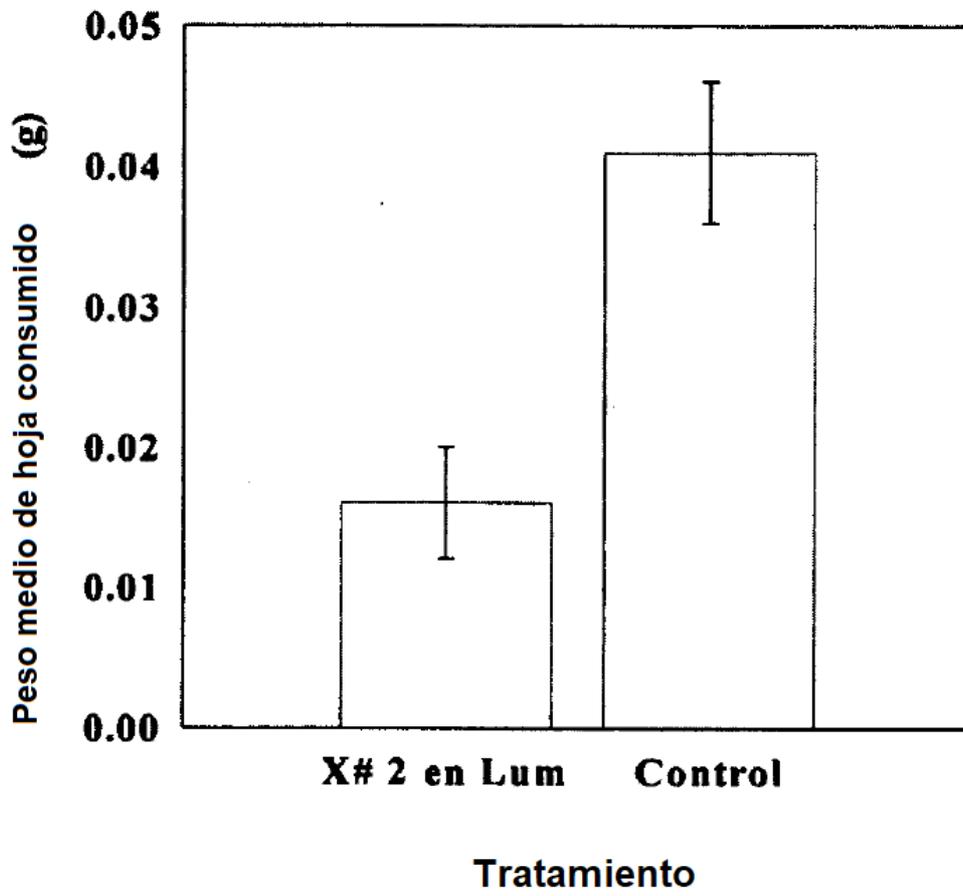


Fig. 4

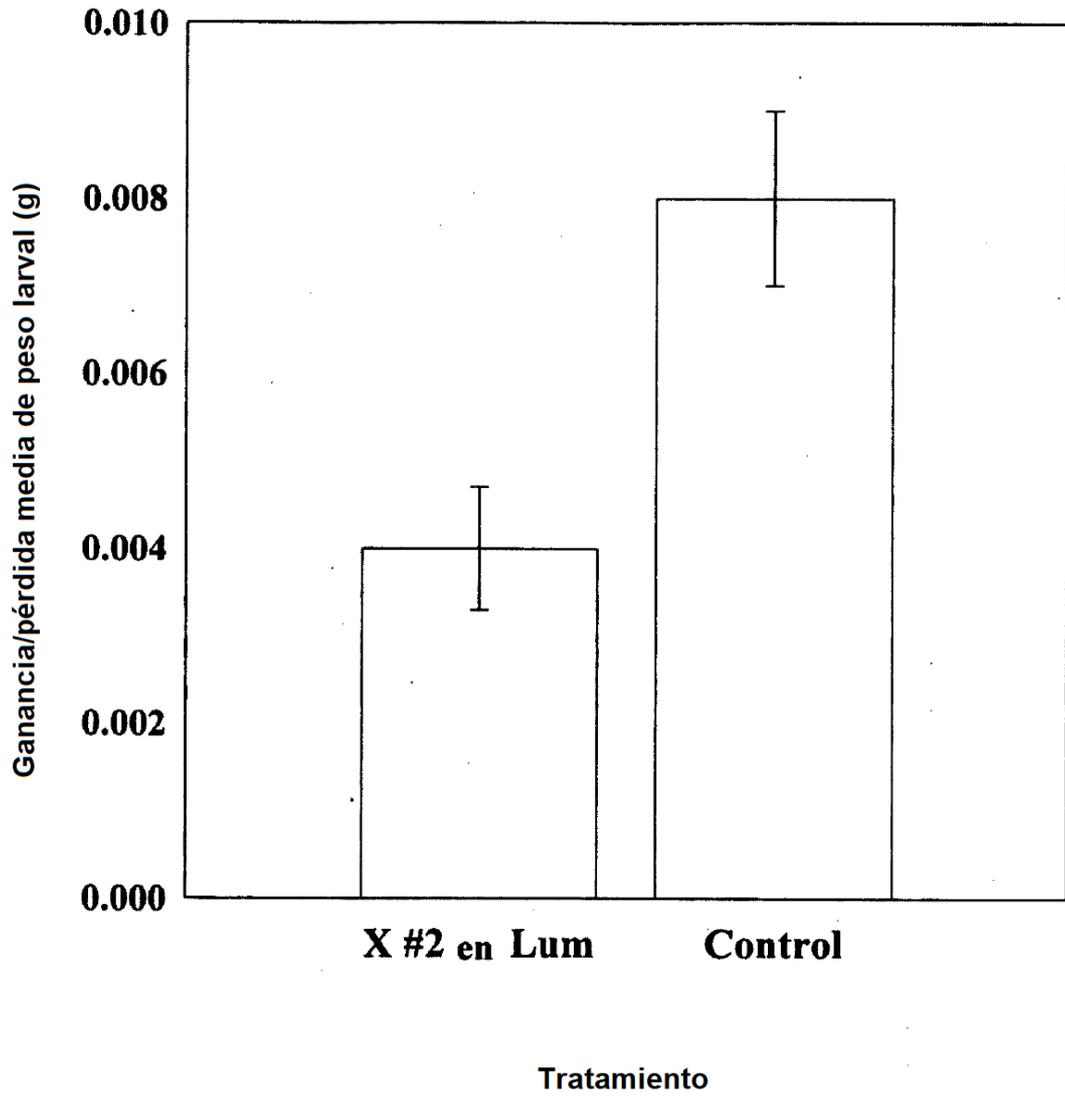


Fig.5

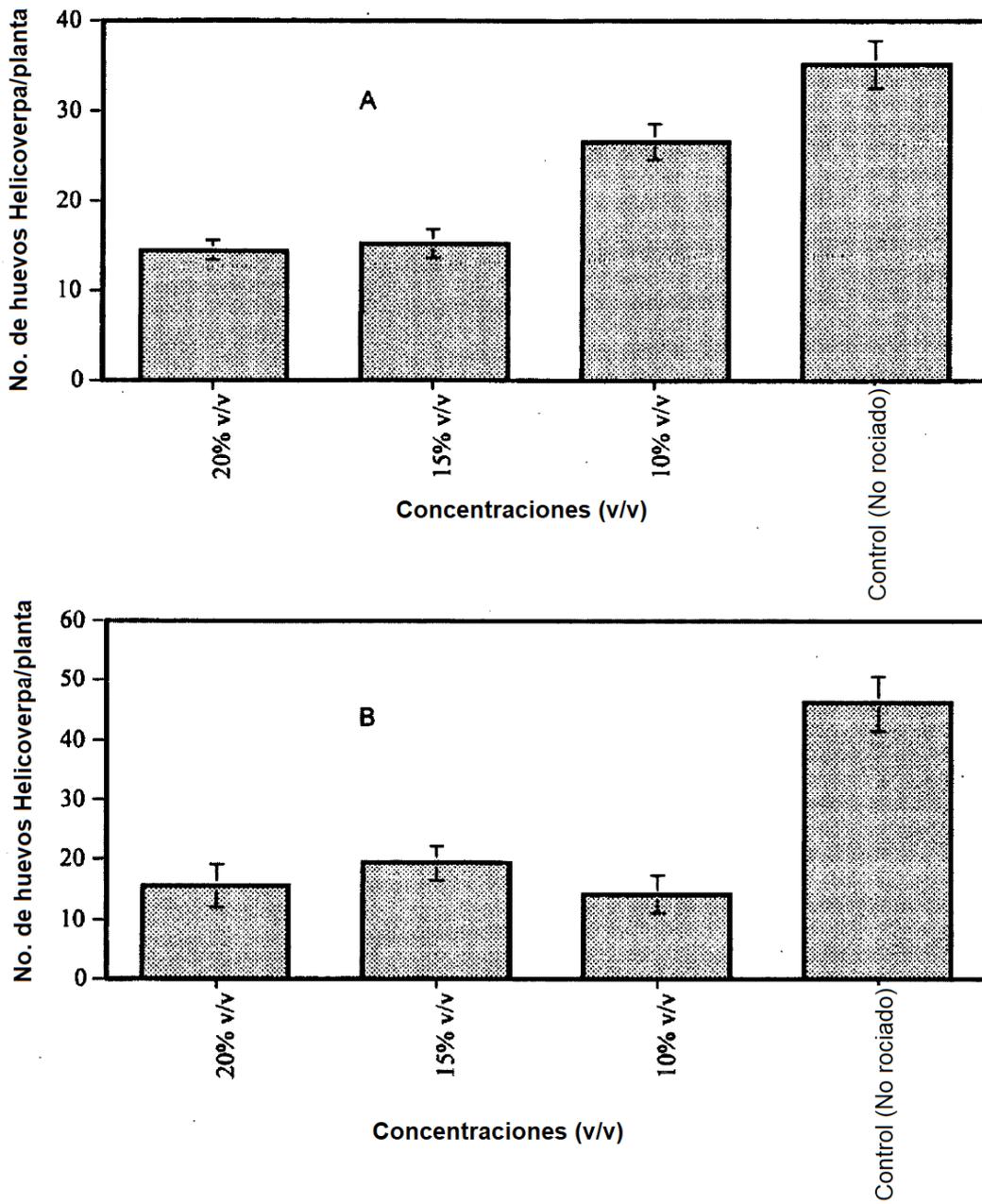


Fig.6

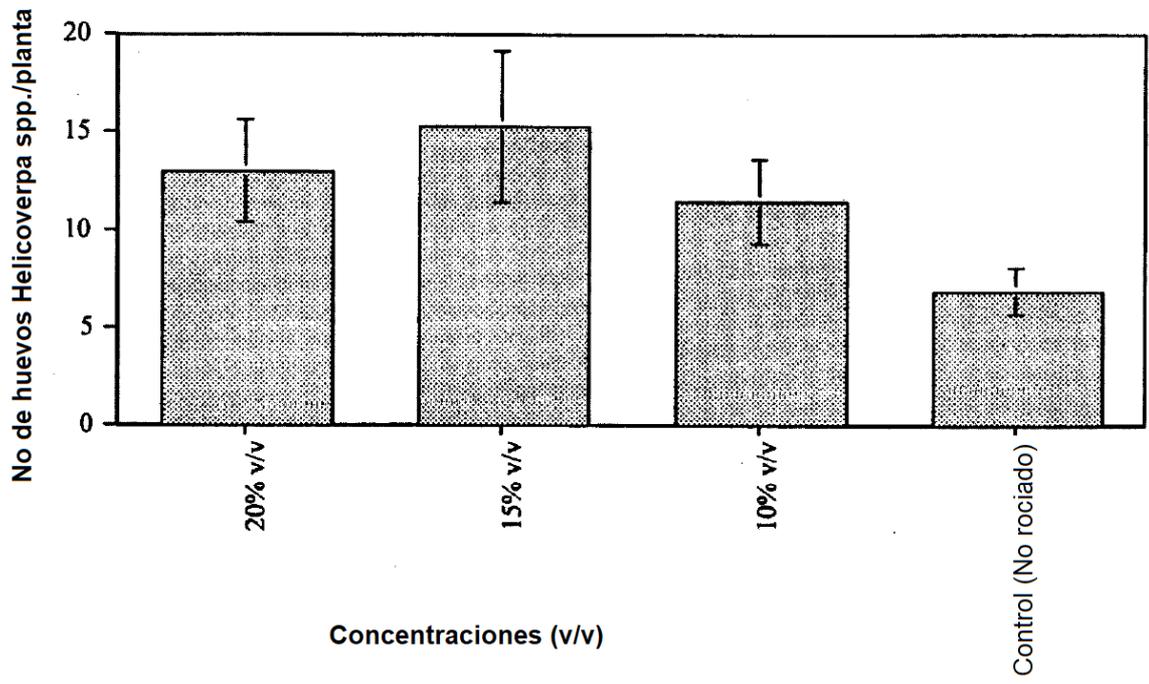


Fig. 7

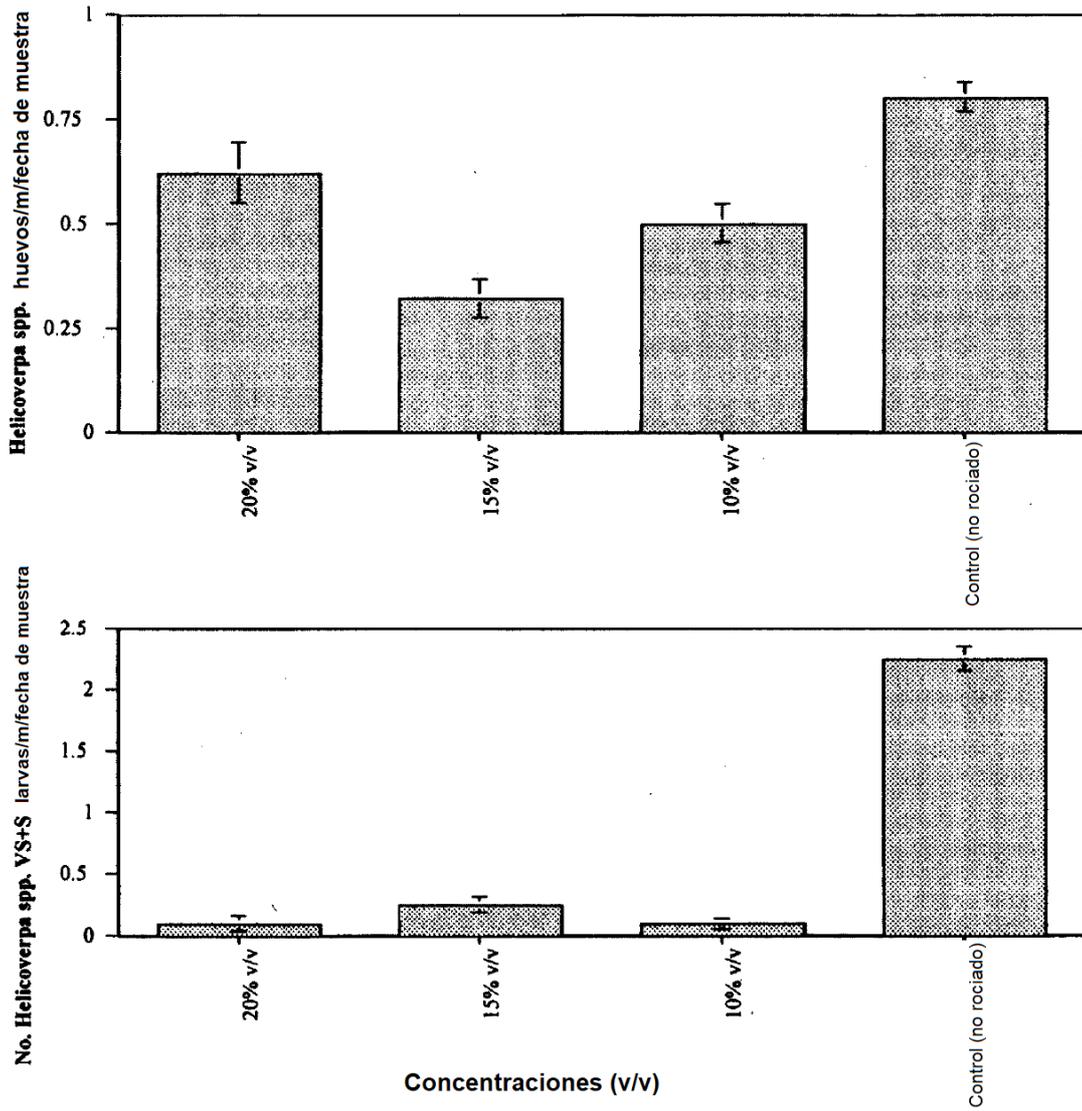


Fig.8

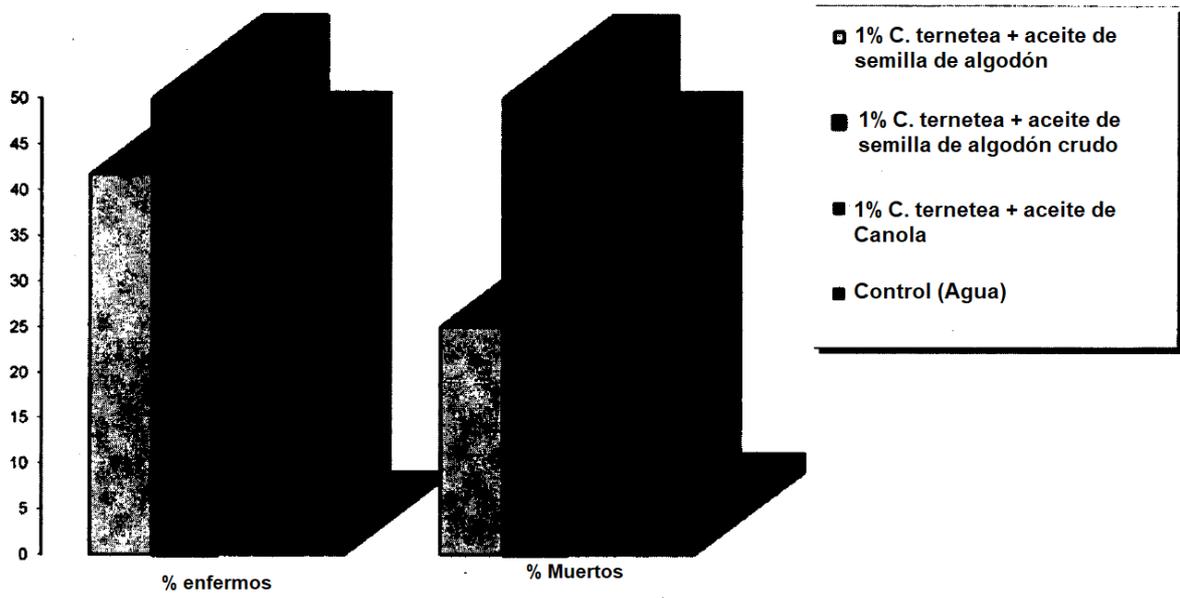
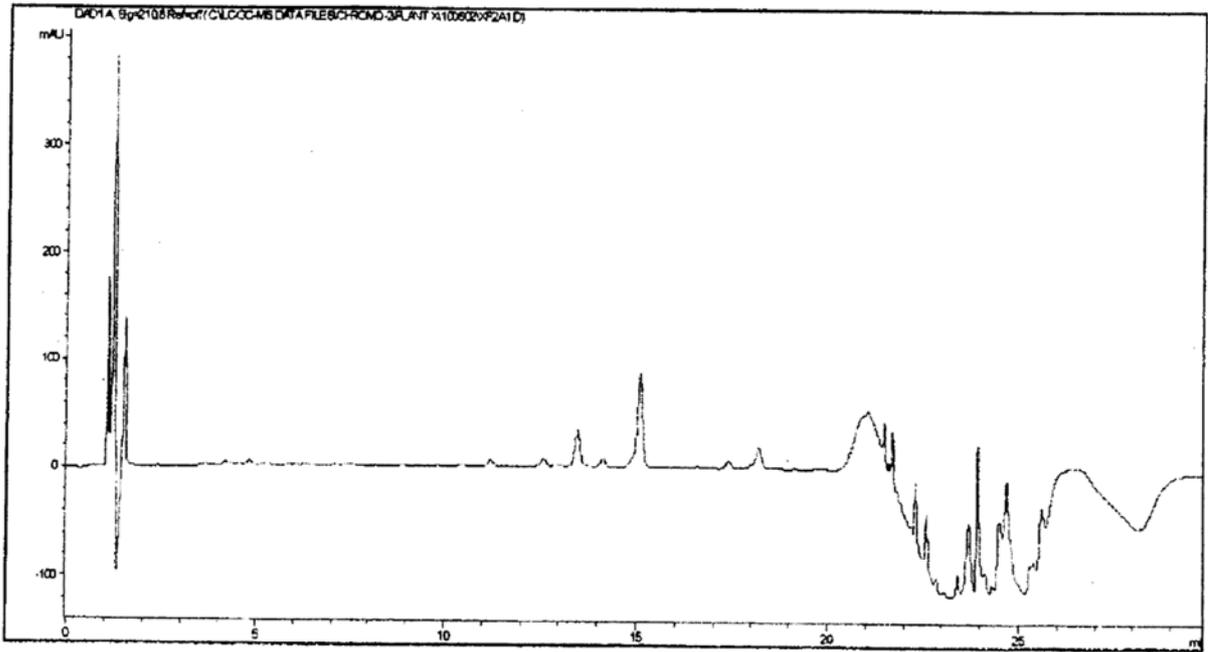


Fig.9



**Fig. 10**