



(12) Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) DD (11) 266 955 A5

4(51) A 01 N 43/40

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) APA 01 N / 312 070 8
(31) 011111(22) 06.01.88
(32) 07.01.87(44) 19.04.89
(33) US

(71) siehe (73)

(72) Lee, Len Fang; Spear, Kerry L.; Ruminski, Peter G.; Dhingra, Oin P., US

(73) MONSANTO COMPANY, 800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, Missouri 63167, US

(74) Patentanwaltsbüro Berlin, Frankfurter Allee 286, Berlin, 1130, DD

(54) Verfahren zur selektiven Sterilisierung der männlichen Gameten einer Pflanze

(55) Verfahren, selektive Sterilisierung, Gameten, 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-hydroxypyridin, 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-hydroxypyridin, 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-(organischer Esterrest)pyridin

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur selektiven Sterilisierung der männlichen Gameten einer Pflanze, bei dem erfindungsgemäß auf den Standort der Pflanze eine Verbindung aufgebracht wird, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus:

- a) 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-hydroxypyridin
- b) 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-hydroxypyridin
- c) 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-(organischer Esterrest)pyridin

Patentansprüche

1. Verfahren zur selektiven Sterilisierung der männlichen Gameten einer Pflanze, dadurch gekennzeichnet, daß man auf den Standort der Pflanze eine Verbindung aufbringt, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus:

- (a) 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-hydroxypyridin;
- (b) einem für landwirtschaftliche Zwecke verträglichen Salz von 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-hydroxypyridin und/oder
- (c) 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-(organischer Esterrest)pyridin, das zum 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-hydroxypyridin hydrolysierbar ist.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Salz das Diisopropylaminsalz ist.

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Salz das Natriumsalz ist.

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der organische Esterrest ein Carbonyloxyesterrest ist.

5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der organische Ester 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-(methoxycarbonyl)-4-acetyloxypyridin ist.

6. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der organische Ester 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-(methoxycarbonyl)-4-(4'-trifluormethylbenzoyloxy)pyridin ist.

7. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der organische Ester 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-(methoxycarbonyl)-4-(phenoxycarbonyloxy)pyridin ist.

8. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der organische Ester, 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-(methoxycarbonyl)-4-(4'-methylphenylsulfonyloxy)pyridin ist.

9. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der organische Ester 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-(methoxycarbonyl)-4-(diethoxyphosphinyloxy)pyridin ist.

10. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung auf den Standort der Pflanze zu einem Zeitpunkt nach Beginn der geschlechtlichen Entwicklung der Pflanze, aber vor Erlangung ihrer geschlechtlichen Reife aufgebracht wird.

11. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Pflanze einkeimblättrig ist.

12. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Pflanze Weizen ist.

13. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung in einer Aufwandmenge von ca. 1,1 - ca. 23,5 kg/ha (ca. 1-ca. 20 lb/a) auf den Pflanzenstandort aufgebracht wird.

Verfahren zur selektiven Sterilisierung der männlichen Gameten einer Pflanze

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur selektiven Sterilisierung der männlichen Gameten einer Pflanze.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Ein wirksames Gametozid ist eine chemische Verbindung, die, auf eine Pflanze während ihrer geschlechtlichen Entwicklung aufgebracht, die männlichen Gameten dieser Pflanze zu sterilisieren vermag, wobei die weiblichen Gameten oder wenigstens ein erheblicher Teil davon unberührt bleibt und diese der Kreuzbestäubung unter nachfolgender Erzielung hoher Ausbeuten an fertilen lebensfähigen hybriden Samen zugänglich sind. Die Verwendung von Gametoziden betrifft das Gebiet der Hybridisierung von Pflanzen. Durch Bestäubung einer Varietät einer Pflanzenart durch eine andere Varietät derselben Art erhält man eine hybride Pflanze. Durch sorgfältige Selektion der Eltern können Hybride mit spezifischen Kombinationen wünschenswerter Eigenschaften wie Wuchshöhe, Getreideertrag, Krankheitswiderstandsfähigkeit, Herbizidverträglichkeit und Klimaanpassung erzielt werden. Zur Herstellung kommerziell verwertbarer hybrider Mais- und Weizensamen kann man sich der Kreuzung unter Ausnutzung der zytoplasmatischen männlichen Sterilität bedienen. Bei diesen Techniken kann es jedoch Jahre dauern, bis man die Zuchtlinien so weit entwickelt hat, daß man mit ihnen kommerziell verwertbare Mengen an hybriden Samen erzeugen kann. Durch die Verwendung eines wirk-

samen Gametozids kann der für die Entwicklung erforderliche Zeitraum erheblich verkürzt werden.

Bestimmte Pflanzen, wie z.B. Mais, können auch ohne die Verwendung von Gametoziden leicht gekreuzt werden, da das die männlichen Gameten enthaltende Organ offen daliegt und ohne weiteres entfernt werden kann. Auf diese Weise sind dann die weiblichen Gameten für die Kreuzbestäubung zugänglich.

Dies gilt jedoch nicht für Pflanzen, die von Natur aus Selbstbestäuber sind, wie z.B. Weizen. Die männlichen und weiblichen Gameten befinden sich bei Weizen nämlich innerhalb derselben Blüte, die bis zur Freigabe des Pollens durch die Staubbeutel auf die weiblichen Gameten zum Zwecke ihrer Bestäubung geschlossen bleibt, das heißt, wenn sich die Blüte öffnet, ist die Bestäubung gewöhnlich bereits abgeschlossen. Ein für Weizen in Frage kommendes Gametozid müßte daher die männlichen Gameten sterilisieren und eine Störung der Öffnung der Blüte, sobald die weiblichen Gameten für die Bestäubung bereit sind, verhindern.

Aus den US-PS'n Nr. 4.115.101 und 4.345.934 sind substituierte Pyridone und Pyridazine als Gametozide bekannt.

Es besteht nach wie vor ein Bedarf an einem wirksameren Gametozid, das die männlichen Gameten wirksam sterilisiert, wobei die weiblichen Gameten der Kreuzbestäubung unter nachfolgender Erzielung hoher Ausbeuten an fertilen lebensfähigen hybriden Samen zugänglich bleiben.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, diesem Mangel abzuhelpen und ein den Forderungen der Praxis genügendes Verfahren der eingangs genannten Art bereitzustellen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur selektiven Sterilisierung der männlichen Gameten einer Pflanze, das darin besteht, daß auf die Pflanze eine Verbindung, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus (a) 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-hydroxypyridin, (b) einem für landwirtschaftliche Zwecke verträglichen Salz von (a) und/oder (c) einem organischen Ester von (a), der zu (a) hydrolisierbar ist, aufgebracht wird.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann für die Herstellung von hybriden Pflanzen einschließlich einkeimblättriger Pflanzen, wie z.B. Weizen, Gerste und Reis, verwendet werden. Eine eingehendere Darlegung des erfindungsgemäßen Verfahrens findet sich in der nachfolgenden ausführlichen Beschreibung.

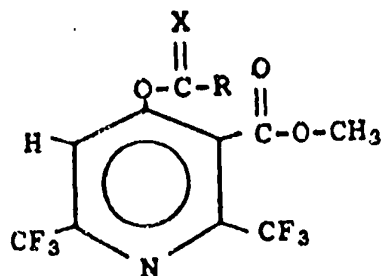
Für landwirtschaftliche Zwecke verträgliche Salze, die für das erfindungsgemäße Verfahren verwendet werden können, sind solche, die (i) in Wasser zu 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-hydroxypyridin dissoziieren und bei denen (ii) das salzbildende Fragment, das durch Ionenbindung an das Pyridin zur Bildung des Salzes gebunden ist, keinerlei ökologisch annehmbare Auswirkungen für die Pflanze, den Boden oder die Umwelt überhaupt hat.

Die Hydroxygruppe des 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-hydroxypyridins ist eine Säuregruppe und kann ein anorganisches oder organisches Salz bilden, wenn sie mit einer anorganischen oder organischen Base in Berührung gebracht wird. Die Verwendung eines Salzes, insbesondere eines solchen, das durch Umsetzung mit einer Base gebildet worden ist, wird bevorzugt, da derartige Salze im allgemeinen eine höhere Wasserlöslichkeit aufweisen als das entsprechende Pyridin. Dies erleichtert erheblich die praktische Anwendung der Verbindung. Außerdem wird angenommen, daß das 4-Hydroxypyridinsalz weniger flüchtig ist und daher eine gleichmäßigere Aktivität unter unterschiedlichen Umweltbedingungen gewährleistet. Bevorzugte Salze sind solche mit einem Alkalimetallkation oder mit Ammonium- oder organischen Ammoniumkationen. Andere für das erfindungsgemäße Verfahren in Frage kommende Salze des 4'-Hydroxypyridins sind dem Fachmann bekannt.

Für das erfindungsgemäße Verfahren kommt eine große Zahl organischer Ester in Frage, die zum 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-hydroxypyridin oder Salzen davon hydrolysierbar sind. Jeder dieser organischen Ester hat dann die Struktur 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-esterrest-pyridin. Der Esterrest ist zum 4-Hydroxypyridin und zur entsprechenden organischen Säure hydrolysierbar. So z.B. ist der 4-Methylcarbonyloxyesterrest zum 4-Hydroxypyridin und zur entsprechenden organischen Säure, der Essigsäure, hydrolysierbar. Geeignete organische Ester sind solche, bei denen der Säureanteil des Ausgangsesters für die betreffende Pflanze, den Boden bzw. die Umwelt überhaupt keine ökologisch inakzeptablen Auswirkungen hat. Geeignete Ester sind Hydroxyester (Carbonyloxyester), Thioester, Carbonate, Carbamate, Thiocarbamate, Sulfonyl-, Sulfinyl-, Phosphat-, Phosphonat-, Phosphinat-, Phosphit- und Orthoester. Geeig-

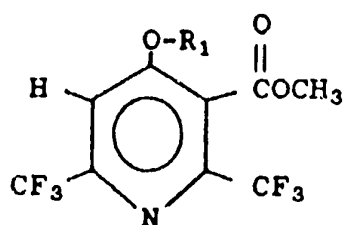
nete Carbonyloxyester haben einen Esterrest in 4'-Stellung des Pyridins wie z.B. Alkylcarbonyloxy, Cycloalkylcarbonyloxy, Arylcarbonyloxy oder Alkoxycarbonyloxy.

Geeignete Hydroxy- und Thioester haben die Formel

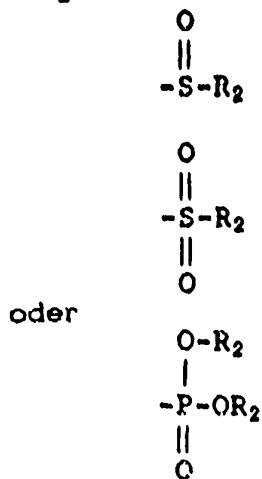


in welcher X S oder O bedeutet und R ein geeigneter organischer Rest wie z.B. Hydrido, ein unverzweigter, verzweigter oder cyclischer aliphatischer Kohlenwasserstoff, Aryl, Alkylamino, Dialkylamino, Alkylphenylamino, Diphenylamino, Alkthio, Alkoxy, Phenoxy oder gesättigte oder ungesättigte heterocyclische Reste mit einem oder mehreren Heteroatomen, ausgewählt aus N, O oder S, wie z.B. die Reste Thienyl, Pyrrolyl, Imidazolyl, Pyrazolyl, Furyl, Pyranyl, Isothiazolyl, Isoxazolyl, Pyrrolidinyl, Pyrrolinyl und Morpholinyl, wobei jeder dieser organischen Reste unsubstituiert oder mit einer oder mehreren Halo-, Hydroxy-, Cyano-, Alkoxy-, Nitro- oder ähnlichen Gruppen substituiert sein kann.

Geeignete Sulfonyl-, Sulfinyl- und Phosphatester haben die Formel

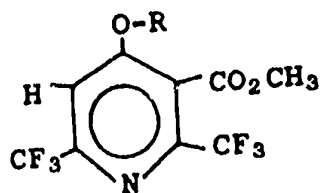


in welcher R_1 ausgewählt ist aus den Gruppen



wobei $R_2 -\text{C}(\text{R})_3$ bedeutet und jedes R von einander unabhängig ausgewählt ist aus geeigneten organischen Resten. Andere für das erfindungsgemäße Verfahren geeignete organische Ester sind dem Fachmann bekannt und können leicht an das Verfahren angepaßt werden.

Für das erfindungsgemäße Verfahren bevorzugte organische Ester haben die Formel

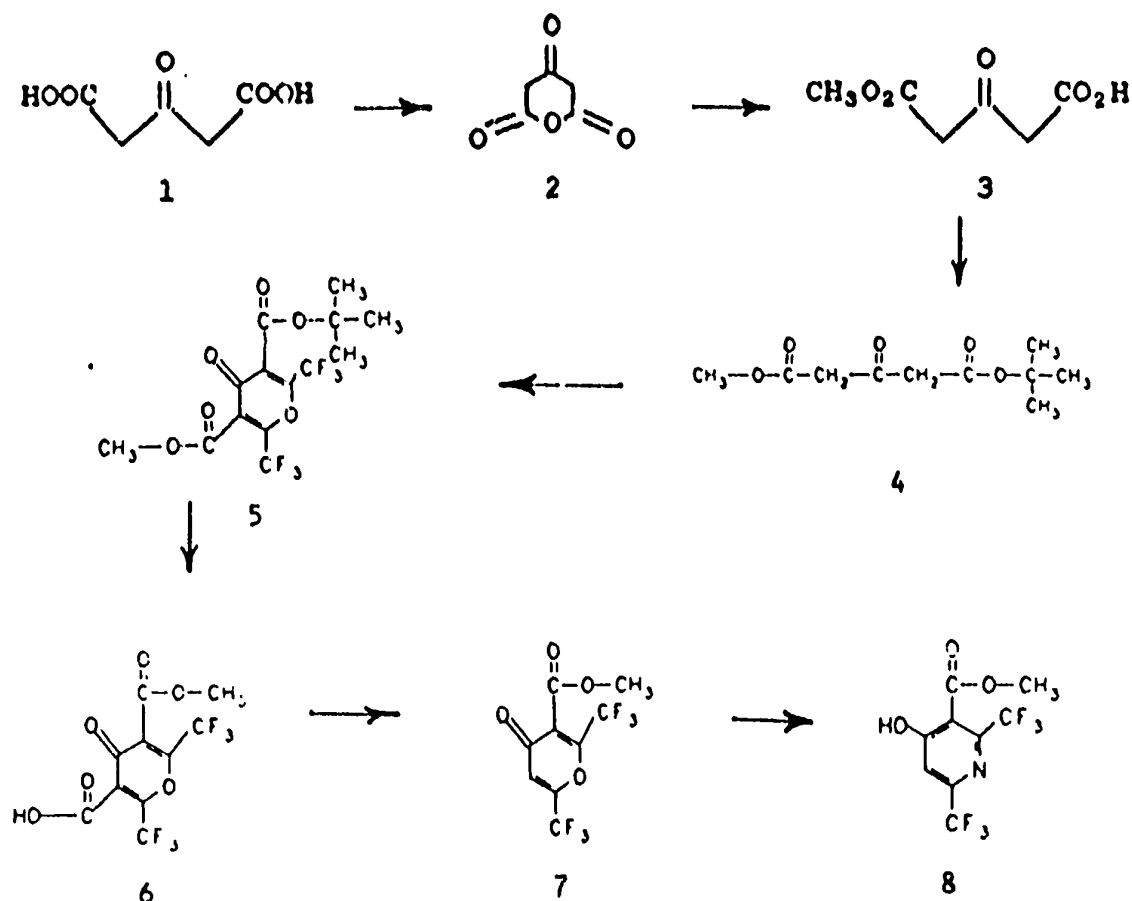


in welcher R Tosyl, Dialkoxyposphinyl oder $-\overset{\text{X}}{\underset{||}{\text{C}}}-\text{R}_1$ bedeutet, worin X S oder O ist, und R_1 Alkyl, Cycloalkyl, Phenyl, halo- oder haloalkylsubstituiertes Phenyl, Alkylamino, Dialkylamino, Alkylphenylamino, Diphenylamino, Pyrrolidinyl, Alkoxy, Alkylthio oder Phenoxy bedeutet.

Das nachfolgend angeführte Reaktionsschema A beschreibt eine Methode, bei der die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren

verwendete substituierte Pyridinverbindung aus bekannten Verbindungen hergestellt werden kann. Bei dieser Methode wird die Acetondicarbonsäure 1 zum entsprechenden Anhydrid 2 durch Umsetzung mit Acetanhydrid cyclisiert. Das Anhydrid 2 wird in Methanol gelöst und bis zur Bildung des Acetondicarbonsäuremonomethylesters 3 gerührt. Dieser wird dann mit Isobutylen in einer Säure und einem geeigneten organischen Lösungsmittel bis zur Bildung des t-Butyl-methylacetondicarboxylats 4 umgesetzt. Dieses wird nachfolgend mit Magnesiumchlorid in einem geeigneten organischen Lösungsmittel und mit Trifluoressigsäureanhydrid bis zur Bildung von Methyl-t-butyl-diesterpyron 5 umgesetzt. Dieses wird nachfolgend mit Trifluoressigsäure bis zur Bildung des Pyrondicarbonsäuremonoesters 6 umgesetzt. Letzterer wird dann unter Rückflußbedingungen in einem geeigneten organischen Lösungsmittel zur Entfernung des Säureanteils und zur Bildung des Methylesterpyrons 7 erwärmt. Dieses wird dann durch Zugabe von Methanol und Ammoniak zur Bildung des 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-(methoxycarbonyl)-4-hydroxypyridins 8 aminiert.

Reaktionsschema A



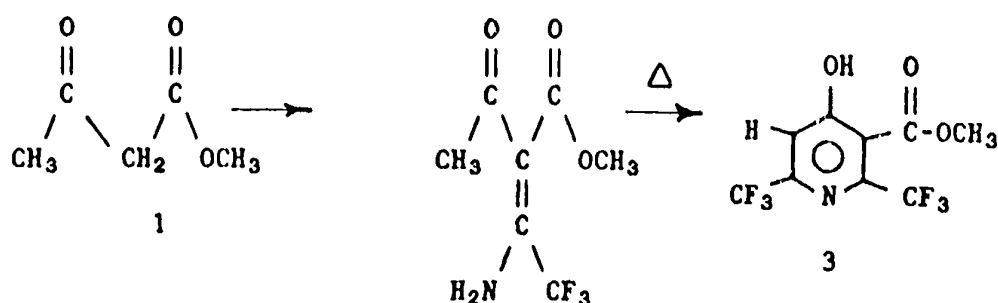
Ein alternatives Verfahren zur Herstellung der Verbindungen, die für das erfindungsgemäße Verfahren verwendet werden, wird in der EPA 85870152.7, die am 5. November 1985 veröffentlicht wurde, beschrieben und ist im nachfolgenden Reaktionsschema B dargestellt.

In Reaktionsschema B wird ein 3-Ketoester (1) der angegebenen Formel mit Trifluoracetonitril in Anwesenheit einer Base umgesetzt. Beispiele für geeignete Basen sind Kalium-*t*-but-

oxid, Natriumdimethoxyethan, Natriumacetat u. dgl. Das Reaktionsergebnis ist ein 2-Alkanoyl-3-amino-2-alkenoatester (2), d.h. eine Enaminverbindung.

Die so erhaltene Enaminverbindung (2) wird dann mit 2 - 2,5 Äquivalenten einer starken Base, geeigneterweise mit Lithiumdiisopropylamid, umgesetzt, um in situ ein Dianion zu erzeugen, das dann mit einem Ester der Trifluormethylcarbonsäure umgesetzt wird. Das Reaktionsprodukt ist ein Gemisch eines substituierten 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-(methoxycarbonyl)-4-(hydroxy)pyridins und eines substituierten 2,3-Dihydro-2-hydroxy-4-pyridons, das bei Erwärmung leicht dehydratisiert und 2,6-Bis(trifluormethyl)-3-(methoxycarbonyl)-4-(hydroxy)-pyridin (3) bildet.

Reaktionsschema B



(Enamin)

2

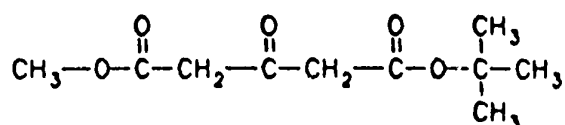
Die für das erfindungsgemäße Verfahren geeigneten Salze können durch Umsetzung des 4-Hydroxypyridins mit einer entsprechenden Base in einem geeigneten Lösungsmittel hergestellt werden. Die organischen Ester können im allgemeinen durch Umsetzung des 4-Hydroxypyridins mit den entsprechenden

Reagentien, wie z.B. Säurehalogenid, Carbamylchlorid, Alkyl- oder Arylchlorformiate oder Alkylcyanat hergestellt werden.

Ausführungsbeispiele

Die nachfolgenden Beispiele 1 - 12 enthalten eine detaillierte Beschreibung der Methoden zur Herstellung der für die Durchführung der vorliegenden Erfindung geeigneten Verbindungen. Diese detaillierte Beschreibung fällt in den Anspruchsumfang und dient zur Veranschaulichung der oben ganz allgemein beschriebenen Methode. Die Beispiele haben lediglich illustrierenden Charakter und sind nicht als Einschränkung des Erfindungsumfangs gedacht. Sämtliche Teile bedeuten, wenn nichts anderes angegeben ist, Gewichtsteile.

Beispiel 1



5-Oxo-pentandionsäure-1-(1,1-dimethylethyl)-5-methylester

350 ml Essigsäureanhydrid werden bei 0°C langsam während einer halben Stunde unter starkem Rühren mit 200 g (1,37 Mol) Acetondicarbonsäure versetzt. Nach dreistündigem Rühren wird der gebildete weiße Feststoff abfiltriert und mit 100 ml Ether gewaschen. Nach Trocknen des Feststoffs während drei Stunden bei 50°C (0,1 mm) erhält man 149 g Acetondicarbonsäureanhydrid mit einem Schmelzpunkt von 134-136°C.

20 g des frisch hergestellten Acetondicarbonsäureanhydrids werden in 80 ml Methanol gelöst, wodurch eine exotherme Reaktion ausgelöst wird. Nach Rühren während 1,5 Stunden

wird der Inhalt im Vakuum eingeengt, wonach der erhaltene Rückstand im Hochvakuum getrocknet wird, wodurch man ein hellbraunes Öl erhält. Es handelt sich um 24,0 g Acetondicarbonsäuremonomethylester.

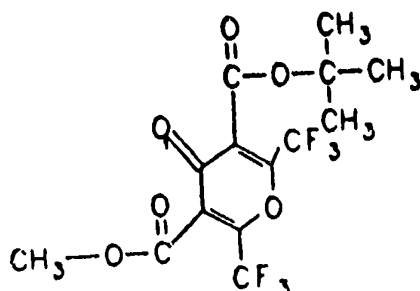
24,0 g des frisch hergestellten Acetondicarbonsäuremonomethylesters werden mit 20 ml Ether, 1 ml konz. H_2SO_4 und 35 g kondensiertem Isobutylen in einer 500 ml-Druckflasche gemischt. Die Flasche wird dann verschlossen und 20 Stunden in einem Parr-Hydrierapparat mechanisch geschüttelt. Nach Freisetzen des überschüssigen Isobutylen wird der Inhalt der Flasche mit 150 ml Ether verdünnt und mit Wasser (2 x 25 ml), gesättigter wässriger $NaHCO_3$ (4 x 25 ml), Wasser (2 x 25 ml) und Salzlösung (1 x 50 ml) gewaschen. Die Etherschicht wird über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum getrocknet, wodurch man ein bernsteinfarbendes Öl erhält. Dieses wird bei $103-105^\circ C$ (2,6 mm) destilliert, wodurch man 21,1 g (63 %) eines farblosen Öls erhält.

Elementaranalyse für $C_{10}H_{16}O_5$:

Berechnet: C - 55,55 H - 7,46

Gefunden: C - 55,58 H - 7,46

Beispiel 2



2H-3,5-dicarbonsäure-2,6-bis(trifluormethyl)-3-methyl-5-(1,1-dimethylethyl)ester

10,8 g (0,05 Mol) Pentandionsäurediester nach Beispiel 1,

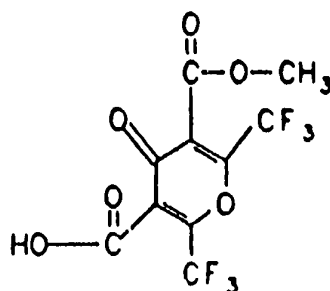
4,8 g (0,05 Mol) wasserfreies Magnesiumchlorid und 8 ml Pyridin werden in 15 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gemischt und während einer Stunde unter Rückflußbedingungen erwärmt. Nach Abkühlung des Inhalts auf -5°C werden während 15 Minuten, wobei die Temperatur unter 0°C gehalten wird, 28,7 ml (0,2 Mol) Trifluoressigsäureanhydrid zugetropft. Nach Rühren während einer Stunde bei $0 - 5^{\circ}\text{C}$ wird der Inhalt im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand, ein öliges Feststoff, wird in CH_2Cl_2 aufgenommen und mit 2×500 ml Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und im Vakuum eingeeengt, wodurch man 16,8 g eines hellgelben Feststoffs erhält. Der Feststoff wird zweimal aus Cyclohexan umkristallisiert, wodurch man 8,8 g (49 %) eines weißen Feststoffs mit einem Schmelzpunkt von $114-117^{\circ}\text{C}$ erhält.

Elementaranalyse für $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{F}_6\text{O}_6$:

Berechnet: C - 43,09 H - 3,10

Gefunden: C - 43,09 H - 3,05

Beispiel 3



2H-pyran-3,5-dicarbonsäure-4-oxo-2,6-bis(trifluormethyl)-3-methylester

21,1 g (0,054 Mol) des Esters nach Beispiel 2 und 25 ml Trifluoressigsäure werden 2 Stunden mit einem Magnetrührer gerührt. Der Inhalt wird dann im Vakuum eingeeengt und der Rückstand unter Hochvakuum gehalten, um die letzten Spuren der Trifluoressigsäure zu entfernen. Dann wird der Rückstand

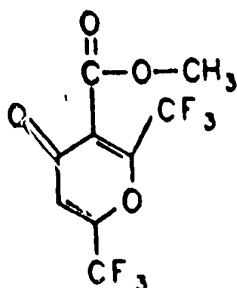
mit CH_2Cl versetzt und der erhaltene Feststoff abfiltriert. Durch Umkristallisieren aus Toluol erhält man 14,0 g (78 %) eines weißen Feststoffs mit einem Schmelzpunkt von $160-163^\circ\text{C}$.

Elementaranalyse für $\text{C}_{10}\text{H}_4\text{F}_6\text{O}_6$:

Berechnet: C - 35,47 H - 1,34

Gefunden: C - 35,50 H - 1,30

Beispiel 4



4H-pyran-3-carbonsäure-4-oxo-2,6-bis(trifluormethyl)-methyl-ester

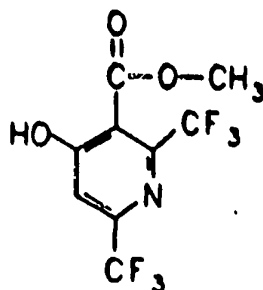
5 g (0,015 Mol) des Esters aus Beispiel 3 werden in 100 ml Xylol während 3 Stunden unter Rückflußbedingungen erwärmt. Nach Abkühlung wird der Inhalt im Vakuum eingeeengt, wonach der Rückstand, ein hellgelbes Öl, durch Kugelrohrdestillation bei 50°C (0,15 mm) gereinigt wird, wodurch man 3,5 g (80 %) eines weißen Feststoffs mit einem Schmelzpunkt von $36 - 38^\circ\text{C}$ erhält.

Elementaranalyse für $\text{C}_9\text{H}_4\text{F}_6\text{O}_4$:

Berechnet: C - 37,26 H - 1,39

Gefunden: C - 37,25 H - 1,48

Beispiel 5



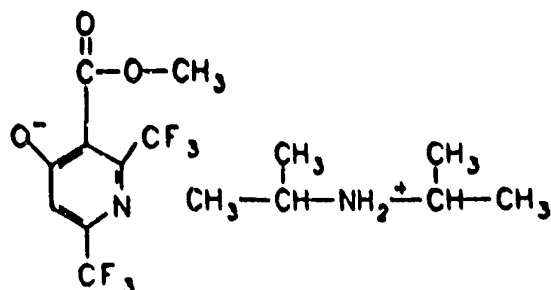
2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-hydroxypyridin

Zu 28,5 g (0,1 Mol) des Esters aus Beispiel 4 werden ca. 100 ml einer Lösung von wasserfreiem Ammoniak in Methanol zugegeben, wodurch eine exotherme Reaktion und die sofortige Lösung des Esters hervorgerufen werden. Nach halbstündigem Rühren wird das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird in 200 ml Wasser gelöst und mit Ether extrahiert. Die wässrige Phase wird mit 2 N HCl auf einen pH-Wert von 7,0 eingestellt und dann nochmals mit Ether extrahiert. Die wässrige Phase wird noch weiter bis auf pH 2,0 angesäuert und dann mit Ether extrahiert. Dieses zuletzt erhaltene Etherextrakt wird über $MgSO_4$ getrocknet und im Vakuum eingeeengt, wodurch man 25,3 g eines Feststoffs erhält. Dieser wird aus Hexan umkristallisiert und ergibt 24,0 g (83 %) des Endprodukts in Form eines weißen Feststoffs mit einem Schmelzpunkt von 62- 75°C.

Elementaranalyse für $C_9H_5F_6NO_3$:

Berechnet:	C - 37,38	H - 1,74
Gefunden:	C - 37,35	H - 1,74

Beispiel 6



2,6-Bis(trifluormethyl)-3-(methoxycarbonyl)-4-hydroxypyridin-diisoprylaminsalz

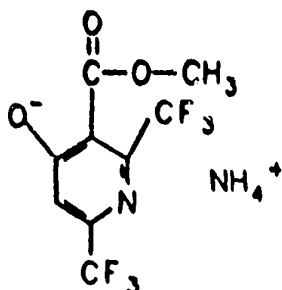
Zu einer gerührten Lösung von 1,5 g (5 mMol) des Esters nach Beispiel 5 in 15 ml Ether werden 0,5 g (5 mMol) Diisopropylamin zugetropft. Nach 10-minütigem Rühren wird das Reaktionsgemisch in Vakuum eingeeengt, wodurch man einen weißen Feststoff erhält. Dieser wird aus Ether-Hexan umkristallisiert und ergibt 1,6 g (82 %) des Endprodukts in Form eines weißen Feststoffs mit einem Schmelzpunkt von 94-104°C.

Elementaranalyse $C_{15}H_{20}F_6N_2O_3$:

Berechnet: C - 46,16 H - 5,16

Gefunden: C - 46,22 H - 5,25

Beispiel 7



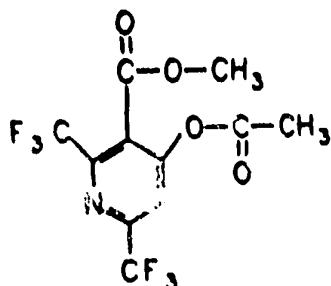
2,6-Bis(trifluormethyl)-3-methoxycarbonyl-4-hydroxypyridin-ammoniumsalz

45 g (0,135 Mol) des Esters nach Beispiel 3 in 100 ml Xylol werden 4 Stunden lang unter Rückflußbedingungen erwärmt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur und Rühren des Gemisches über Nacht werden 400 ml CH_3OH zugesetzt. Danach werden 5 bis 6 g (2,5 - 3 Äquivalente) NH_3 durch die Lösung geperlt. Danach wird die Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Dann werden die Lösungsmittel unter Vakuum entfernt und CH_2Cl_2 zugegeben, wonach das Gemisch 1 Stunde gerührt wird. Der gebildete Niederschlag wird abfiltriert und getrocknet, wodurch man 38,5 g (93 %) des Endprodukts in Form eines hellgelben Feststoffs mit einem Schmelzpunkt von $187-189^\circ\text{C}$ erhält.

Elementaranalyse für $\text{C}_9\text{H}_8\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_3$:

Berechnet:	C - 35,31	H - 2,63	N - 9,15
Gefunden:	C - 35,36	H - 2,62	N - 9,12

Beispiel 8



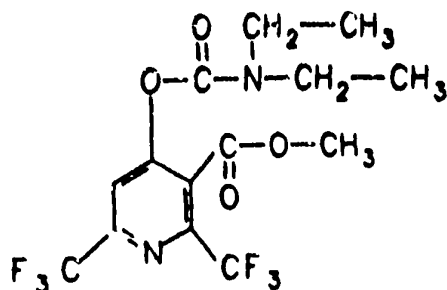
2,6-Bis(trifluormethyl)-3-(methoxycarbonyl)-4-(acetyloxy)-pyridin.

4 g (0,0138 Mol) Pyridin aus Beispiel 5, gelöst in 60 ml Ether, werden mit 1,4 g (0,0138 Mol) Triethylamin versetzt. Danach werden 1,09 g (0,0138 Mol) Acetylchlorid in 10 ml Ether dem Reaktionsgemisch bei 0°C (Bildung eines weißen Niederschlags) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird dann über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Salze werden abfiltriert und der Ether aus dem Filtrat im Vakuum entfernt. Der erhaltene erstarrte Rückstand wird aus Cyclohexan umkristallisiert, wodurch man 3,6 g (80 %) eines weißen Feststoffes mit einem Schmelzpunkt von 63-64°C erhält.

Elementaranalyse für $C_{11}H_7F_6NO_4$:

Berechnet:	C - 39,89	H - 2,13	N - 4,23
Gefunden:	C - 39,89	H - 2,14	N - 4,19

Beispiel 9

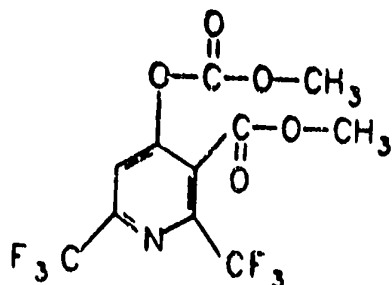


2,6-Bis(trifluormethyl)-3-(methoxycarbonyl)-4-(diethylcarbamoyloxy)pyridin

2 g (0,0069 Mol) des Pyridins nach Beispiel 5 in 20 ml CH_3CN werden mit 0,7 g (0,0069 Mol) Triethylamin versetzt. Danach werden 0,94 g (0,069 Mol) Diethylcarbamylochlord zugegeben und über das Wochenende bei Raumtemperatur und danach 5 Stunden unter Rückflußbedingungen gerührt. Danach wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der ungereinigte Feststoff aus Cyclohexan umkristallisiert (kristallisiert erst nach ca. 1 Woche vollständig aus). Das umkristallisierte Produkt wird auf einer porösen Platte und dann im Vakuum getrocknet und ergibt 1,2 g (45 %) eines weißen Feststoffes mit einem Schmelzpunkt von 47-49°C.

Elementaranalyse für $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_4$:

Berechnet:	C - 43,31	H - 3,63	N - 7,21
Gefunden:	C - 43,41	H - 3,64	N - 7,19

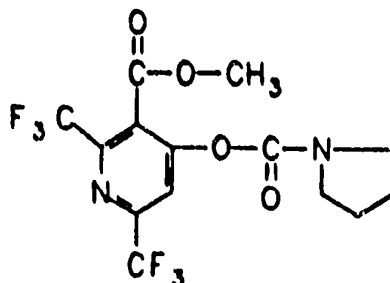
Beispiel 10

2,6-Bis(trifluormethyl)-3-(methoxycarbonyl)-4-(methoxycarbonyloxy)pyridin

1,63 g (0,0173 Mol) Methylchlorformiat und 10 ml Ether werden bei 0°C 5 g (0,0173 Mol) einer Lösung des Pyridins aus Beispiel 5 und 2,41 ml Triethylamin in 50 ml Ether zuge-
tropft. Nach 24-stündigem Rühren wird der Niederschlag ab-
filtriert und das Filtrat im Vakuum eingeeengt, wobei ein
Feststoff zurückbleibt, der in Cyclohexan umkristallisiert
und im Vakuum getrocknet wird, wodurch man 4,57 g weiße
feuchtigkeitssempfindliche Kristalle (76 %) mit einem
Schmelzpunkt von 61-63°C erhält.

Elementaranalyse für $C_{11}H_7F_6NO_5$:

Berechnet:	C - 38,06	H - 2,03	N - 4,03
Gefunden:	C - 38,04	H - 2,04	N - 4,00

Beispiel 11

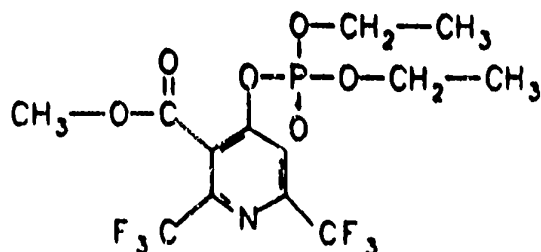
2,6-Bis(trifluormethyl)-3-(methoxycarbonyl)-4-(1-pyrrolidinyl)-
dincarbonyloxy)pyridin

2 g (0,0069 Mol) des Pyridins aus Beispiel 5, gelöst in 20 ml CH_2CN , werden mit 0,7 g (0,0069 Mol) Triethylamin versetzt. Dann werden 0,92 g (0,0069 Mol) 1-Pyrrolidincarbonylchlorid zum Reaktionsgemisch zugegeben und dieses dann über Nacht bei Raumtemperatur und danach 6 Stunden unter Rückflußbedingungen gerührt. Danach werden die Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Ether aufgeschlämmt. Die gebildeten Salze werden abfiltriert und der Ether vom Filtrat im Vakuum entfernt. Der Rückstand, der über Nacht im Vakuum gehalten wird, erstarrt und dieses Rohprodukt wird aus Cyclohexan umkristallisiert und auf einer porösen Platte und dann im Vakuum getrocknet, wodurch man 1,80 g (68 %) eines weißen Feststoffes mit einem Schmelzpunkt von 73 - 75°C erhält.

Elementaranalyse für $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_4$:

Berechnet:	C - 43,53	H - 3,13	N - 7,25
Gefunden:	C - 43,61	H - 3,18	N - 7,22

Beispiel 12



4-(Diethoxyphosphinyl)oxy/-2,6-bis(trifluormethyl)-3-pyridinecarbonsäuremethylester

4 g (0,014 Mol) des Esters aus Beispiel 5 in 60 ml Ether werden mit 1,4 g (0,014 Mol) Triethylamin versetzt, wonach der Inhalt auf 0°C abgekühlt wird. Danach wird eine Lösung von 2,4 g (0,014 Mol) Diethylchlorphosphat in 10 ml Ether bei 0°C zugetropft, wodurch ein weißer Niederschlag gebildet wird. Nach Rühren bei Zimmertemperatur während 3,5 Stunden wird der Niederschlag abfiltriert. Das Etherfiltrat wird nacheinander mit 1 N HCl, drei Mal mit 0,5 N NaOH und 2 Mal mit einer Salzlösung gewaschen, dann über MgSO₄ getrocknet und im Vakuum eingeeengt, wodurch man man 5,3 g (90 %) des Produktes in Form eines hellgelben Öls mit einem Siedepunkt von 120°C (0,2 mm) erhält.

Elementaranalyse für C₁₃H₁₄N₁O₆P₁F₆:

Berechnet: C - 36,72 H - 3,32

Gefunden: C - 36,86 H - 3,35

Verwendet man die entsprechenden Ausgangsstoffe und verfährt man generell so, wie in den Beispielen 6 bis 12 angegeben, so erhält man die nachfolgenden Verbindungen.

Tabelle I

Beispiel Verbin- dung Nr.	Name	Struktur	Analyse (%)		Schm. P. / Siedep. °C
			Ber.	Gef.	
13	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (hydroxy)pyridin- isopropylaminsalz		C 41,39 H 4,05	41,45 4,08	152- 154
14	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (hydroxy)pyridin- cyclohexylaminsalz		C 46,40 H 4,67	46,41 4,71	135- 137
15	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (hydroxy)pyridin- t-butylaminsalz		C 43,10 H 4,45	43,13 4,48	141- 143
16	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (hydroxy)pyridin- dicyclohexylamin- salz		C 53,61 H 6,00	53,71 5,91	183- 185
17	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (hydroxy)pyridin- natriumsalz		C 34,74 H 1,30	34,68 1,34	272- 273
18	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(methoxy- carbonyl)-4-(t-bu- tylcarbonyloxy)- pyridin		C 45,05 H 3,51	44,91 3,52	

Tabelle 1 (Fortsetzung)

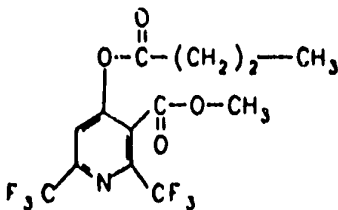
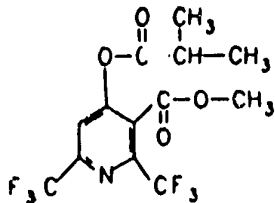
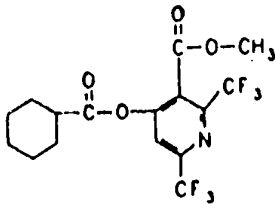
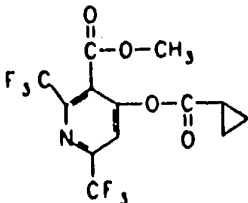
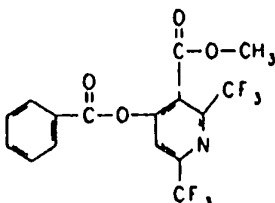
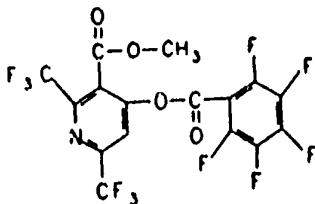
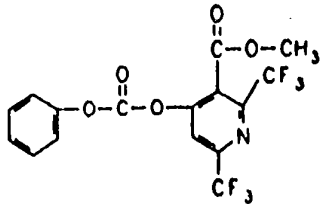
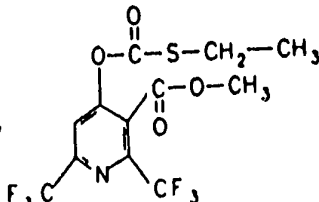
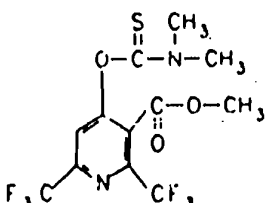
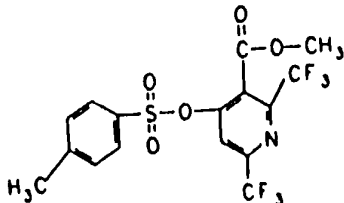
Beispiel Verbin- dung Nr.	Name	Struktur	Analyse (%)		Schm. P. / Siedep. °C
			Ber.	Gef.	
19	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (propylcarbonyl- oxy)pyridin		C 43,47 H 3,09	43,40 3,13	
20	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (isopropylcarbo- nyloxy)pyridin		C 43,47 H 3,09	43,45 3,11	
21	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (cyclohexylcar- bonyloxy)pyridin		C 48,13 H 3,79	48,24 3,79	
22	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (cyclopropylcar- bonyloxy)pyridin		C 43,71 H 2,54	43,77 2,55	71- 72
23	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (benzoyloxy)pyridin		C 48,87 H 2,31	48,95 2,34	121- 122
24	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (pentafluorbenz- oxy)pyridin		C 39,77 H 0,83	39,71 0,97	55- 57

Tabelle I (Fortsetzung)

Beispiel Verbin- dung Nr.	Name	Struktur	Analyse (%)		Schm. P. / Siedep. °C
			Ber.	Gef.	
25	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (4'-trifluor- methylbenzoyl- oxy)pyridin		C 44,27 H 1,75	44,12 1,74	79- 81
26	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (dimethylcarba- myloxy)pyridin		C 40,01 H 2,80	40,07 2,81	58- 59
27	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (dipropylcarbamyl- oxy)pyridin		C 46,16 H 4,36	46,21 4,38	62- 64
28	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (phenylmethyl- carbamoyloxy)pyri- din		C 48,35 H 2,86	48,42 2,97	60- 63
29	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (diisopropylcar- bamoyloxy)pyridin		C 46,16 H 4,36	46,09 4,40	59- 61
30	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (diphenylcarba- myloxy)pyridin		C 54,55 H 2,91	54,69 3,02	114- 116

Tabelle I (Fortsetzung)

Beispiel Verbin- dung Nr.	Name	Struktur	Analyse (%)		Schm. P. / Siedep. °C
			Ber.	Gef.	
31	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (phenoxycarbonyl- oxy)pyridin		C 46,96 H 2,22	47,00 2,26	93- 94
32	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (ethylthiocarbo- nyloxy)pyridin		C 38,20 H 2,40	38,23 2,41	50- 52
33	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (dimethylamino- carbonothioxyloxy)- pyridin		C 38,30 H 2,68	38,33 2,69	76- 79
34	2,6-Bis(trifluor- methyl)-3-(meth- oxycarbonyl)-4- (4'-methylphenyl- sulfonyloxy)pyri- din		C 43,35 H 2,50	43,48 2,64	38- 40

Beim erfindungsgemäßen Verfahren sollte eine sterilisierend wirkende Menge des Gametozids vorzugsweise nach Beginn der geschlechtlichen Entwicklung (z.B. Ährenbildung) jedoch vor der Geschlechtsreife, d.h. bevor der Pollen aus den Staubbeuteln freigesetzt wird, aufgebracht werden. Im allgemeinen sollte das Gametozid im Falle von Weizen dann aufgebracht werden, wenn die Ährenlänge ca. 1 - 9 cm, vorzugsweise ca. 3 - 7 cm und insbesondere ca. 5 cm beträgt. Bei anderen Pflanzen sollte die Aufbringung insbesondere dann erfolgen, wenn sie einen entsprechenden Grad an Geschlechtsreife erreicht haben. Es wurde festgestellt, daß es dann, wenn die Verbindung früh am Morgen aufgebracht wird, ganz allgemein einerseits die Gametozidaktivität höher ist, andererseits jedoch auch die Pflanzenschädigung größer ist. Daher wird im allgemeinen die Verbindung bevorzugt später am Tage auf die Pflanze aufgebracht.

Beim erfindungsgemäßen Verfahren sterilisiert das Gametozid den Hauptanteil der männlichen Gameten, wobei ein erheblicher Teil der weiblichen Gameten unbeeinflusst bleibt, sodaß diese bestäubt werden können. Außerdem hat das Gametozid nur eine minimale Wirkung auf die übrige Pflanze (z.B. Kleinwüchsigkeit, Chlorose usw.).

Beim erfindungsgemäßen Verfahren wird das Gametozid zu einem geeigneten Zeitpunkt bei einer Aufwandmenge von ca. 1,1 - ca. 23,5 kg/ha (ca. 1 - ca. 20 lbs/a), vorzugsweise ca. 7,9 bis 13,5 kg/ha (ca. 7 - ca. 12 lbs/a) aufgebracht. Dem Fachmann ist klar, daß die optimale Aufwandmenge für das Gametozid von einer Reihe von Faktoren abhängt, wie vom Pflanzen- und Bodentyp, von der Fruchtbarkeit, den Umweltbedingungen u.ä. Ein Fachmann auf dem vorliegenden Gebiet kann aufgrund der hier beschriebenen Beispiele und seiner Erfahrung leicht die optimale Aufwandmenge ermitteln. Das Sprayvolumen kann sich innerhalb eines weiten Bereichs bewegen, wie z.B. zwischen

280 und 28,04 hl/ha (30 - 300 gal/a), ohne daß die Aktivität der Verbindungen spürbar beeinträchtigt würde. Es wird angenommen, daß die Wirksamkeit der für das erfindungsgemäße Verfahren verwendeten organischen Ester teilweise dadurch bedingt ist, daß sie leicht zu 4-Hydroxypyridin zu hydrolysieren sind.

Beim erfindungsgemäßen Verfahren wird die Verbindung zu einem geeigneten Zeitpunkt auf den Standort der Pflanze aufgebracht. Die Aufbringung auf den Standort der Pflanze umfaßt die Aufbringung auf die Blätter und das Wachstumsmedium der Pflanze wie z.B. auf den Boden, um eine Aufnahme des Präparats in die im Wachstum begriffene Pflanze zu ermöglichen. Die erfindungsgemäßen Verbindungen können zusammen mit Zusätzen in flüssiger oder fester Form verwendet werden. Die Zusammensetzungen werden durch Vermischen der Verbindungen mit einem Zusatz, der Verdünnungsmittel, Streckmittel, Träger und Konditionierungsmittel umfaßt, hergestellt, wodurch man Zusammensetzungen in Form von feinverteilten Feststoffen, Granulaten, Pellets, Lösungen, Dispersionen oder Emulsionen erhält. Somit können die Verbindungen mit einem Zusatz, wie einem feinverteilten Feststoff, einer Flüssigkeit organischer Herkunft, Wasser, einem Netzmittel, einem Bindemittel, einem Träger oder irgendeiner geeigneten Kombination derselben verwendet werden.

Die Verbindungen können auch in Form von Flüssigkeiten oder Spritzpulvern verwendet werden. Diese enthalten vorzugsweise als Konditionierungsmittel ein oder mehrere oberflächenaktive Mittel in Mengen, die so bemessen sind, daß eine bestimmte Verbindung in Wasser oder Öl leicht dispergiert werden kann. Die Einarbeitung eines oberflächenaktiven Mittels in die Zusammensetzung kann deren Wirkungsgrad verstärken. Unter der Bezeichnung "oberflächenaktives Mittel" sind Netzmittel, Dispergatoren, Suspendierungsmittel und Emulgatoren zu ver-

stehen. Anionische, kationische und nicht-ionische Mittel können ebenfalls verwendet werden.

Geeignete Netzmittel sind Alkylbenzol und Alkyl-naphthalin-sulfonate, sulfonierte Fettalkohole, Amine oder Säureamide, langkettige Säureester von Natriumisothionat, Ester von Natriumsulfosuccinat, sulfatierte oder sulfonierte Fettsäureester, Petroleumsulfonate, sulfonierte pflanzliche Öle, di-tertiäre Acrylenglycole, Polyoxyethylenderivate von Alkylphenolen, vor allem Isooctylphenol und Nonylphenol und Polyoxyethylenderivate mono-höherer Fettsäureester von Hexitanhydriden (z.B. Sorbitan). Bevorzugte oberflächenaktive Mittel sind der Dihexylester von Natriumsulfobernsteinsäure, POE 20 Sorbitanmonolaurat und Octylphenoxypolyethoxyethanol.

Spritzpulver oder dispergierbare Granulate sind in Wasser dispergierbare Zusammensetzungen, die einen oder mehrere aktive Wirkstoffe, ein inertes festes Streckmittel und ein oder mehrere Netz- und Dispergiermittel enthalten. Die inertesten festen Streckmittel sind gewöhnlich mineralischer Herkunft, wie die natürlichen Tone, Diatomeenerde, Salze und synthetische, von Siliziumdioxid abgeleitete Minerale und dergleichen. Beispiele für derartige Streckmittel sind Kaolinite, Attapulgiton und synthetisches Magnesiumsilikat.

Wässrige Suspensionen oder Emulsionen können so hergestellt werden, daß ein wässriges Gemisch eines wasserunlöslichen Wirkstoffs und eines Emulgators bis zur gleichmäßigen Verteilung gerührt und dann homogenisiert wird, wodurch man eine beständige Emulsion oder Suspension aus sehr fein verteilten Partikeln erhält. Die daraus resultierende konzentrierte wässrige Suspension ist durch ihre extrem geringe Teilchengröße gekennzeichnet, so daß nach Verdünnen und Aufspritzen ein sehr gleichmäßiger Überzug erzielt wird.

Bei Konzentraten handelt es sich gewöhnlich um Lösungen der Wirkstoffe in mit Wasser nicht oder teilweise nicht mischbaren Lösungsmitteln in Verbindung mit einem oberflächenaktiven Mittel. Geeignete Lösungsmittel für die erfindungsgemäßen Wirkstoffe sind dem Fachmann bekannt.

Granulate sind physikalisch beständige feinverteilte Zusammensetzungen mit Wirkstoffen, die an einer Basismatrix eines inerten feinverteilten Streckmittels haften oder darin verteilt sind. Zur Unterstützung des Auslaugens des Wirkstoffs aus dem feinverteilten Material kann eines der obengenannten oberflächenaktiven Mittel in der Zusammensetzung vorhanden sein. Natürliche Tone, Pyrophyllite, Illit, Gips und Vermiculit sind Beispiele für brauchbare Klassen feinverteilter mineralischer Streckmittel. Die bevorzugten Streckmittel sind poröse absorptionsfähige vorgeformte Teilchen, wie vorgeformter und gesiebter feinverteilter Attapulgit und durch Hitze expandierter (geblähter) feinverteilter Vermiculit und die feinverteilten Tone, wie Kaolintone, hydratisierter Attapulgit oder Bentonittone. Diese Streckmittel werden mit dem Wirkstoff zur Bildung der Herbizidgranulate gespritzt oder vermischt.

Zur Vermeidung von zeitraubenden Feldversuchen für die Überprüfung einer großen Zahl von chemischen Verbindungen auf ihre mögliche Wirkung als Gametozide wurden von Fachleuten auf diesem Gebiet verschiedene Bioaktivitätstests zur Ermittlung von Verbindungen mit gametozider Aktivität entwickelt.

Ein erster derartiger Test zur Verwendung bei Weizen umfaßt die Aufbringung einer chemischen Verbindung auf eine Pflanze zum geeigneten Zeitpunkt, und zwar dann, wenn die Ährenlänge des Primärsprosses etwa 1 - 9 cm, vorzugsweise etwa 3 - 7 cm und insbesondere etwa 5 cm erreicht hat, sowie durch Beob-

achtung der Reaktion der Pflanze. Eine mögliche gametozide Aktivität läßt sich an der weiten Öffnung der Blüten erkennen, die gewöhnlich erst nach Freigabe des Pollens durch die männlichen *Staubblatt* auf die weiblichen Gameten erfolgt. Dies ist bekannt unter der Bezeichnung "open head morphology". Außerdem darf die Verbindung nur eine geringfügige Kleinwüchsigkeit der Pflanze bewirken.

Die chemischen Verbindungen, welche eine geeignete Öffnungsweite der Blüten im ersten Test zeigen, werden dann einem zweiten Test unterzogen, der gewöhnlich die Aufbringung der Verbindung auf die Weizenpflanze, wenn die Ähre die entsprechende Länge erreicht hat, und das Abdecken eines Teils der Ähren mit Säckchen umfaßt. Sobald die Samen groß genug sind, um wahrgenommen werden zu können, werden die Ähren beurteilt, wobei die Zahl der Samen festgestellt wird. Die nachfolgenden Beispiele dienen der Illustration der Erfindung.

Beispiel 35

Das erfindungsgemäße Verfahren wird durch Testen der Gametozide entsprechend den Beispielen F - 34 unter Verwendung der unten beschriebenen allgemeinen Methode illustriert. Rotkörniger harter Grannensommerweizen der Sorte Anza wird in einer Wachstumskammer bei geringer Feuchtigkeit (70 %) und einer Temperatur von 19°C bzw. 17°C (Tag- bzw. Nachttemperatur) bei einer 16 Stunden-Lichtperiode und einer Beleuchtungsstärke von 40000 lx gezüchtet. In jeden Topf mit einem Durchmesser von 15 cm (6") werden in ein bodenfreies Medium aus Metro-Mix 200, versetzt mit 93 g Dünger des Typs Osmocote (14-14-14) Controlled Release Fertilizer, 93 g Dünger des Typs Peters (14-7-7) Slow Release Fertilizer und 17 g Mikronährstoffe des Typs Micromax pro 28 dm³ (1 cub. foot) Gemisch Metro-Mix200 sieben Samen gesteckt. Etwa 10

bis 14 Tage nach der Aussaat werden die Töpfe auf 6 Pflanzen pro Topf ausgedünnt. Die Behandlung erfolgte durch Aufbringen der Verbindungen auf die Blätter mit Hilfe eines geschlossenen Raupenzerstäubers. Dieser besteht aus einem mit einer Vorrichtung zur Handsteuerung der Spritzgeschwindigkeit und einer Feldspritzdüse ausgestatteten Druckluftbehälter. Durch diese Methode wird die unter praktischen Bedingungen übliche Feldspritztechnik simuliert. Der Test besteht darin, daß man an einem bestimmten Tag die betreffende chemische Verbindung in einer Trägerlösung aus 50 % Aceton, 50 % Wasser und 0,2 % Tween 20 bei drei verschiedenen Geschwindigkeiten und einer Aufwandmenge von ca. 28,04 hl/ha (300 gal/a) spritzt. Zum Spritztermin beträgt die durchschnittliche Ährenlänge der Primärsprosse ca. 4 - 5,5 cm. Zu Vergleichszwecken werden beim Test auch Kontrollpflanzen mitberücksichtigt, die lediglich mit einer Trägerlösung behandelt werden. Nach erfolgter Ährenbildung, jedoch vor Beginn der Blüte werden pro Topf ca. 12 bis 15 Ähren mit Pergaminsäckchen abgedeckt, um eine Selbstbestäubung zu verhindern. Wenn die Samen eine Länge erreicht haben, bei der man sie leicht ausnehmen kann (ca. 4 Wochen nach der Ährenbildung), werden die mit Säckchen bedeckten Ähren bewertet, wobei die Zahl der Samen gezählt wird. In den meisten Fällen sind die angegebenen Werte Durchschnittswerte, die durch zwei- oder mehrfache Wiederholung des Versuchs erhalten werden. In allen Test waren die Kontrollpflanzen ausnahmslos fertil.

Beispiel

Spritzgeschwindigkeit

Nr. 1 2 3
(Sterilität in %)

5	65	91	61*
	71	100	100***
6	79	99	99*
	85	99	94*
7	67	90	90***
8	61	100	83***
9	55	69	70**
10	59	70	58*
11	64	84	82**
12	53	94	96*
13	99	99	100**

Aufwandmengen, kg/ha (lb/a)

1	2	3
*3,47 (3,1)	10,42 (9,3)	17,36 (15,5)
**4,48 (4)	8,96 (8)	13,44 (12)
***5,80 (5)	11,2 (10)	16,8 (15)

Beispiel

Spritzgeschwindigkeit

Nr.

1 2 3
(Sterilität in %)

14	100	100	100**
15	99	99	100**
16	100	96	100**
17	87	99	99**
18	19	62	85***
19	61	100	92***
20	-	93	97***
21	64	92	100***
	80	94	97**
22	52	87	92***
23	30	53	46***
24	60	81	91*
25	68	97	94*
26	50	74	74**
27	27	0	52**
28	82	86	84**
29	35	65	75**
30	30	15	24**
31	91	89	96*
32	53	74	65*
33	48	57	75**
34	76	87	99*

Aufwandmenge kg/ha (lb/a)

1	2	3
*3,47 (3,1)	10,42 (9,3)	17,36 (15,5)
**4,48 (4)	8,96 (8)	13,44 (12)
***5,60 (5)	11,2 (10)	16,8 (15)

Beispiel 36

Die Verbindung aus Beispiel 6 wurde an Sommergrannengerste der Sorte Steptoe im großen und ganzen nach dem Verfahren von Beispiel 35 bei einer Lichtperiode von 12 Stunden getestet, wobei folgende Resultate erzielt wurden.

Spritzen-termin	Ährenlänge (cm)	Aufwandmengen kg/ha (lb/a)			
		5,60 (5)	8,4 (7,5)	11,2 (10)	14 (12,5)
		(Sterilität in %)			
D1	1,65	54*	61	58	40*
D2	3,02	78	84	86	82
D3	4,82	67	75	71	81
D4	6,14	67	70	86	81

*Nur bei einem der zwei Wiederholungstests zeigte sich Sterilität.

Zur Illustration der vorliegenden Erfindung wurden Weizenpflanzen nach dem erfindungsgemäßen Verfahren behandelt. Sie wurden der Selbstbestäubung unterzogen und die dabei erhaltenen hybriden Samen wurden nach dem unten beschriebenen Verfahren auf ihre Keimfähigkeit getestet:

Die Verbindungen wurden unter Feldbedingungen an Winterweizen getestet. Die Länge der Versuchsparzellen betrug 1,2 m (4 feet) und die Breite 7 Reihen mit Samen männlicher und weiblicher Pflanzen ("männliche und weibliche Reihen"). Dabei befanden sich die drei "weiblichen Reihen", die gespritzt werden sollten, in der Mitte und umfaßten eine Sorte begranneten Winterweizen (B393) und eine Sorte grannenlosen Winterweizen (Caldwell), die entweder das Kleinwüchsigkeitsgen Rht1 oder Rht2 enthielten. Die "weiblichen Reihen" waren von zwei

"männlichen Reihen" begrenzt, die als Pollenquelle dienten. Sie enthielten ein Samengemisch, das sich hinsichtlich des Blühdatums und des Grannentyps unterschied. Die Samen enthielten keine Kleinwüchsigkeitsgene. Sie wurden mit Hilfe einer Getreidesämaschine vom Typ Marliss in einer annähernden Menge von 3700 Samen/ha (1,5 Mill. Samen/acre), d.h. in einer Menge von ca. 1,1 hl/ha (ca. 1,3 Bushel/acre), was die Norm darstellt für Feld- und Vegetationsbedingungen, ausgesät. Dünger, Insektizide und Fungizide wurden gewöhnlich entsprechend der allgemein üblichen landwirtschaftlichen Praxis eingesetzt.

Die Wahl des Zeitpunkts für die Ausbringung des Gametozids wurde ermittelt anhand der Ährenlänge in einem Bereich von 1,0 - 7,0 cm, ausgehend von der Knotenbildung bis zum letzten Stadium der Stengelbildung. Die Ähren wurden dann von den reifsten Sprossen in regelmäßigen Abständen abgetrennt, wobei die Länge der Ähren als Kontrolle für ihre Entwicklung diente.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen wurden auf die Blätter des Weizens der "weiblichen Reihen", unter Verwendung einer auf einem Traktor mit hoher Bodenfrequenz montierten Stangenspritze mit einer einzigen Spritzdüse aufgebracht, und zwar unmittelbar über den zu besprühenden Reihen. Die Verbindungen verwendete man in Form von Zusammensetzungen in Wasser oder Aceton und Wasser. Alle Formulierungen enthielten 0,2 % Tween20 als Tensid. Die Aufbringung erfolgte mit einem Lösungsmittelvolumen, das ca. 7,5 l/ha (ca. 80 gallons/acre) entsprach.

Zur Ermittlung des Grades der männlichen Sterilität wurden 20 - 25 Ähren pro Parzelle mit Pergaminsäckchen abgedeckt. Die Abdeckung der Ähren mit den Säckchen wurde nach erfolgter Ährenbildung, jedoch vor Beginn der Blüte (Ausstoß der

Staubbeutel) durchgeführt. Ca. 4 Wochen nach Erreichen der Phase der weich-harten Wachsreife wurden die mit Säckchen abgedeckten Ähren geerntet und auf Samenbildung hin beurteilt.

Die Getreideausbeute wurde durch nachfolgendes Abernten der gesamten "weiblichen Parzelle" mit Hilfe eines Garbenbinders vom Typ Yanmar und Dreschen mit einem Drescher vom Typ Vogel ermittelt. Zur Feststellung der Bildung hybrider Samen wurde in einem Standard-Gibberellin (GA3)-Test eine Getreideprobe verwendet. Beim GA3-Test wurden 75 Samen von jeder Parzelle in Kunststofftöpfe gesteckt, die das bodenfreie Medium Metro-mix-200 enthielten. Jeder Topf enthielt entweder eine männliche Kontrolle (auf Gibberellinsäure-GA3 reagierend) oder eine weibliche Kontrolle (auf GA3 nicht reagierend). Die Pflanzen wurden auf Grund Ihrer Reaktion auf GA3 ca. 2 Wochen (15 - 16 Tage) nach der Aussaat durch Vergleich der Wuchshöhe im Stadium der Bildung des zweiten Blattknotens mit reagierenden (männlichen) oder nicht reagierenden (weiblichen) Kontrollpflanzen bewertet. Aus den Hybridsamen, die durch Kreuzbestäubung steriler Narben mit Pollen erhalten wurden, der aus den Pflanzen der männlichen Reihen stammte, würden sich bei Behandlung mit einer GA3-Lösung Sämlinge mit verlängerten Internodien entwickeln.

Nachfolgend ist die Korrelation zwischen dem Datum des Aufspritzens des Gametozids und der Ährenlänge angegeben:

<u>Spritzdatum</u>	<u>Ährenlänge (cm)</u>
Sorte B393	
D1	1,7
D3	3,3
D5	4,5
D7	8,0

<u>Spritzdatum</u>	<u>Ährenlänge (cm)</u>
Sorte Caldwell	
D1	1,4
D3	3,7
D5	4,2
D7	8,0

Beispiel 37

Die Verbindung aus Beispiel 5 wurde nach dem oben beschriebenen Verfahren getestet, wobei folgende Ergebnisse erhalten wurden:

C a l d w e l l

B 3 9 3

Behandlungs- zeitpunkt	Aufwand- menge kg/ha (lb/A)	Sterilität %	Getreide- ausbeute hl/ha (bu/A)	Hybrid- Samen %	Gekeimte Samen %	Sterilität %	Getreide- ausbeute hl/ha (bu/A)	Hybrid- Samen %	Gekeimte Samen %
1) Kortroile		0	68.36 (78.5)	0.0	81.3	0	65.57 (75.3)	0.1	88.0
2) D1	2.8 (2.5)	28	44.5 (51.1)	7.0	78.7	44	54.25 (62.3)	9.0	86.2
D1	5.6 (5.0)	51	38.75 (44.5)	9.3	82.7	62	44.24 (50.8)	7.0	86.7
D1	8.4 (7.5)	30	46.94 (53.9)	4.0	77.8	50	40.49 (46.5)	5.0	87.6
D1	11.2 (10.0)	46	35.96 (41.3)	5.0	81.3	64	33.7 (38.7)	14.0	80.4
D1	14.0 (12.5)	49	36.75 (42.2)	11.3	83.1	60	35.73 (41.1)	15.7	84.4
3) D3	2.8 (2.5)	40	48.15 (55.3)	7.3	83.1	68	53.55 (61.5)	10.7	88.4
D3	5.6 (5.0)	53	35.88 (41.2)	11.0	70.7	71	45.43 (52.2)	17.0	91.6
D3	8.4 (7.5)	83	25.51 (29.3)	20.0	79.6	53	39.36 (45.2)	14.0	87.1
D3	11.2 (10.0)	97	18.81 (21.6)	32.7	70.2	66	39.53 (45.4)	18.7	90.2
D3	14.0 (12.5)	72	24.73 (28.4)	12.0	84.4	71	36.75 (42.2)	16.3	80.0

266955

1 38 1

C a l d w e l l

B 3 9 3

Behandlungs- zeitpunkt	Aufwand- menge kg/ha (lb/A)	Sterilität C%	Getreide- ausbeute hl/ha (bu/A)	Hybrid- Samen C%	Gekeimte Samen C%	Sterilität C%	Getreide- ausbeute hl/ha (bu/A)	Hybrid- Samen C%	Gekeimte Samen C%
4) D5	2,8 (2,5)	20	53,73 (61,7)	3,0	77,8	49	50,85 (58,4)	16,3	87,1
D5	5,6 (5,0)	45	37,71 (43,3)	8,7	76,9	84	43,80 (50,3)	28,0	85,8
D5	8,4 (7,5)	55	30,0 (34,4)	11,0	70,7	83	35,79 (41,1)	32,3	81,8
D5	11,2 (10,0)	48	32,13 (36,6)	10,0	76,4	98	35,01 (40,2)	29,3	79,6
D5	14,0 (12,5)	49	21,77 (25,0)	24,7	53,3	96	27,52 (31,6)	42,0	77,8
5) D7	2,8 (2,5)	17	49,37 (56,7)	7,0	87,4	64	32,83 (37,7)	19,7	88,4
D7	5,6 (5,0)	32	35,44 (40,7)	20,5	82,7	48	30,85 (35,2)	22,0	90,2
D7	8,4 (7,5)	32	31,17 (35,8)	15,7	85,3	49	32,22 (37,0)	24,3	85,8
D7	11,2 (10,0)	30	28,56 (32,8)	16,7	75,6	40	29,43 (33,8)	20,0	81,8
D7	14,0 (12,5)	19	33,87 (38,9)	13,0	74,5	37	29,30 (32,5)	19,3	83,3

188. 480387

Beispiel 38

Die Verbindung nach Beispiel 6 wurde entsprechend dem Verfahren nach Beispiel 37 getestet.

266955

C a l d w e l l				B 3 9 3					
Behandlungs- zeitpunkt	Aufwand- menge kg/ha (lb/A)	Sterilität %	Getreide- ausbeute hl/ha (bu/A)	Hybrid- Samen %	Gekeimte Samen %	Sterilität %	Getreide- ausbeute hl/ha (bu/A)	Hybrid- Samen %	Gekeimte Samen %
Kontrolle		0	68,36 (78,5)	0,0	81,3	0	65,57 (75,3)	0,1	88,0
D1	2,8 (2,5)	24	49,29 (56,6)	2,3	80,0	53	58,52 (67,2)	12,0	86,9
D1	5,6 (5,0)	71	35,96 (41,3)	12,7	83,6	58	40,32 (46,3)	17,0	83,6
D1	8,4 (7,5)	69	29,08 (33,4)	14,3	87,1	85	37,36 (42,9)	27,3	80,4
D1	11,2 (10,0)	69	26,56 (30,5)	18,7	78,2	78	39,01 (44,8)	17,7	84,0
D1	14,0 (12,5)	81	23,68 (27,2)	19,7	85,8	96	28,65 (32,9)	34,3	80,9
D3	2,8 (2,5)	20	52,95 (60,8)	2,7	85,3	27	59,21 (68,0)	3,0	86,0
D3	5,6 (5,0)	56	35,79 (41,1)	20,0	78,7	94	46,33 (53,2)	15,3	85,8
D3	8,4 (7,5)	83	22,12 (25,4)	27,7	71,1	89	36,75 (42,2)	24,7	83,6
D3	11,2 (10,0)	99	13,67 (15,7)	24,3	69,3	99	32,48 (37,3)	47,7	73,8
D3	14,0 (12,5)	89	18,55 (21,3)	26,3	74,2	98	26,39 (30,3)	45,0	82,2

Caldwell

Behandlungs- zeitpunkt	Aufwand- menge kg/ha (lb/A)	Sterilität				B 3 9 3			
		(%)	Getreide- ausbeute hl/ha (bu/A)	Hybrid- Samen (%)	Gekeimte Samen (%)	Sterilität (%)	Getreide- ausbeute hl/ha (bu/A)	Hybrid- Samen (%)	Gekeimte Samen (%)
D5	2.8 (2.5)	9	58.26 (66.9)	4.5	69.0	46	50.51 (59.0)	17.0	80.2
D5	5.6 (5.0)	39	40.41 (46.4)	10.3	80.0	93	33.87 (38.9)	33.3	85.3
D5	8.4 (7.5)	69	26.39 (30.3)	16.7	76.4	93	28.74 (33.0)	48.7	81.8
D5	11.2 (10.0)	73	18.64 (21.4)	41.7	64.9	97	25.78 (29.6)	38.3	78.2
D5	14.0 (12.5)	86	14.72 (16.9)	38.0	78.2	99	20.99 (24.1)	56.7	80.4
D7	2.8 (2.5)	13	51.29 (58.9)	15.0	80.0	63	37.79 (43.4)	43.7	79.6
D7	5.6 (5.0)	45	28.56 (32.8)	18.0	73.4	79	25.08 (28.8)	47.0	77.3
D7	8.4 (7.5)	86	14.19 (16.3)	53.7	78.7	82	20.81 (23.9)	30.0	78.7
D7	11.2 (10.0)	68	15.15 (17.4)	34.0	74.7	83	17.59 (20.2)	40.7	77.8
D7	14.0 (12.5)	67	17.59 (20.2)	16.0	77.3	81	15.94 (18.3)	37.3	84.0

266955

Beispiel 39

Die Verbindung nach Beispiel 21 wurde entsprechend dem Verfahren nach Beispiel 37 getestet.

C a l d w e l l

B 3 9 3

Behandlungs- zeitpunkt	Aufwand- menge kg/ha (lb/A)	Sterilität (%)	Getreide- ausbeute hl/t. (bu/A)	Hybrid- Samen (%)	Gekeimte Samen (%)	Sterilität (%)	Getreide- ausbeute hl/ha (bu/A)	Hybrid- Samen (%)	Gekeimte Samen (%)
Kontrolle		0	68.36 (78.5)	0.0	81.3	0	65.57 (75.3)	0.1	88.0
D1	2.8 (2.5)	30	46.76 (53.7)	6.0	82.7	37	51.20 (58.8)	9.0	87.1
D1	5.6 (5.0)	42	31.52 (36.2)	3.7	78.7	53	45.89 (52.7)	5.0	89.3
D1	8.4 (7.5)	56	35.09 (40.3)	4.7	81.3	79	42.87 (49.0)	6.3	82.7
D1	11.2 (10.0)	60	31.17 (35.8)	10.0	78.7	81	36.14 (41.5)	26.3	89.3
D1	14.0 (12.5)	86	23.16 (26.6)	14.3	72.0	92	38.14 (43.8)	22.7	87.1
D3	2.8 (2.5)	46	44.32 (50.9)	10.7	80.0	44	54.42 (62.5)	2.3	93.3
D3	5.6 (5.0)	62	29.35 (33.7)	16.3	79.6	65	41.89 (48.1)	10.7	90.2
D3	8.4 (7.5)	52	22.29 (25.6)	21.3	77.3	79	37.44 (43.0)	23.0	89.3
D3	11.2 (10.0)	84	19.42 (22.3)	16.0	79.6	85	34.14 (39.2)	15.0	86.2
D3	14.0 (12.5)	85	15.50 (17.8)	22.3	65.3	86	31.26 (35.9)	30.7	87.1

266955

C a l d w e l l

B 3 9 3

Behandlungs- zeitpunkt	Aufwand- menge kg/ha (lb/A)	Sterilität C%	Getreide- ausbeute hl/ha (bu/A)	Hybrid- Samen C%	Gekeimte Samen C%	Sterilität C%	Getreide- ausbeute hl/ha (bu/A)	Hybrid- Samen C%	Gekeimte Samen C%
D5	2.8 (2.5)	40	37.36 (42.9)	10.7	79.1	66	44.85 (51.5)	16.7	88.9
D5	5.6 (5.0)	63	33.18 (38.1)	18.7	70.1	82	36.66 (42.1)	31.7	83.8
D5	8.4 (7.5)	53	22.47 (25.8)	22.7	71.1	88	25.34 (29.1)	43.0	78.7
D5	11.2 (10.0)	74	18.72 (21.5)	23.3	68.9	88	26.65 (30.6)	51.0	79.1
D5	14.0 (12.5)	76	20.90 (24.0)	27.7	75.1	75	30.91 (35.5)	26.3	83.1
D7	2.8 (2.5)	18	43.37 (49.8)	16.5	84.0	43	41.45 (47.5)	23.3	86.2
D7	5.6 (5.0)	24	30.30 (34.8)	28.5	86.0	69	24.38 (28.0)	29.0	91.3
D7	8.4 (7.5)	43	22.73 (26.1)	11.3	84.9	57	29.78 (34.2)	19.7	84.4
D7	11.2 (10.0)	31	23.95 (27.5)	18.7	68.4	70	20.03 (23.0)	44.3	93.6
D7	14.0 (12.5)	62	19.68 (22.6)	21.3	80.4	63	20.29 (23.3)	51.7	84.0

266955

1 45 1

Obwohl die Erfindung unter Bezugnahme auf verschiedene konkrete Ausführungsformen beschrieben wurde, so sind deren Einzelheiten nicht als Einschränkungen anzusehen, sondern es dürfte deutlich sein, daß verschiedene andere Ausführungsformen, Abänderungen und Modifikationen ohne Abweichung von Geist und Inhalt der Erfindung möglich sind, so daß derartige äquivalente Ausführungsformen hier miteinbezogen sind.