

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl.⁴

A01N 25/00

A01N 63/00



[12] 发明专利申请公开说明书

[11] CN 86 1 00206 A

CN 86 1 00206 A

[43]公开日 1986年7月16日

[21]申请号 86 1 00206

[22]申请日 86. 1. 17

[30]优先权

[32]85. 1. 18 [33]日本(JP) [31]7147/85

[71]申请人 花王石硷株式会社

地址 日本东京都

[72]发明人 岩崎徽治 日置祐一

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利

代理部

代理人 唐 跃 穆德俊

[54]发明名称 生物杀伤剂的增强

[57]摘要

在施用生物杀伤剂之前或者在施用生物杀伤剂的同时,将酯酶施用于植物茎、叶或昆虫,以此方法增强生物杀伤剂的效力。

242/8601422/12

北京市期刊登记证第1405号

权 利 要 求 书

- 1.一种增强生物杀伤剂的方法，该方法包括如下步骤：对植物的茎、叶或昆虫在施用上述生物杀伤剂之前或与上述生物杀伤剂一起施用酯酶。
- 2.权利要求1 所述的方法，其中所述的酯酶为来源于植物芽孢杆菌 (plant bacilli) 的脂肪酶或角质酶 (cut inase)。
- 3.一种生物杀伤剂组合物，其中含有一种生物杀伤剂和一种酯酶。
- 4.权利要求3 所述的生物杀伤剂组合物，其中所述的酯酶为来源于植物芽孢杆菌的脂肪酶或角质酶。

生物杀伤剂的增强

本发明涉及一种生物杀伤方法和一种生物杀伤剂组合物。本发明采用一种增效剂，例如某特定的酶与常用生物杀伤剂一起使用的方法改进常用生物杀伤剂的生物效力。

用来增强生物杀伤剂效力的增效剂也称为佐剂，它主要由表面活性剂组成。它同农业上(或园艺上)所用的，尤其是用于植物茎、叶上有效的各种生物杀伤剂，例如除莠剂、杀菌剂、杀虫剂或杀螨剂一起施用。农业上(或园艺上)所用的生物杀伤剂如果经常使用，会或多或少地造成环境污染。如果它们同某种相对地说来对环境无害的表面活性剂一起使用，它们的施用量和施用次数可以减少，而且它们所保留的生物效力还会得到改进。但是，主要用作增效剂的各种表面活性剂必须谨慎地从其种类和浓度等方面加以选择，因为它们在某种情况下往往会招致药物引起的危害。

本发明的发明人认真地研究了怎样来弥补常用增效剂的不足之处并发现，将酯酶与农业上(或园艺上)用的生物杀伤剂一起施用，对于杂草、杆菌和昆虫，不论它们的种类如何，它都能显示出一种极好的提高生物效力的活性。本发明就是在此发现的基础上完成的。

因此，本发明提供一种生物杀伤方法，该方法包括将生物杀伤剂施用于植物的茎以及叶或昆虫，其特征在于，在施用生物杀伤剂之前，先在植物的茎、叶上或者对昆虫施用一种酯酶，或者将该酯酶同生物杀伤剂一起使用。本发明还提供一种生物杀伤剂用的增效剂，这种增效剂的特征是含有一种酯酶。

此外，本发明提供一种增强生物杀伤剂的方法，该方法包括如下步骤：在施用上述生物杀伤剂之前，先对植物的茎、叶或者对昆虫施用某种酯酶，

或者将酯酶与上述生物杀伤剂一起施用。而且，本发明还涉及一种含有生物杀伤剂和酯酶的生物杀伤剂组合物。

本发明所施用的酯酶包括脂肪酶和角质酶(cutinase)。脂肪酶是一种来源于动物、植物或者微生物的酶，从价格和活性的角度考虑，以来源于微生物的脂肪酶为佳。例如，脂肪酶的来源包括来源于假丝酵母属(*genera Candida*)、假单胞菌、根霉、曲霉以及毛霉的那些脂肪酶源。其中以来源于假单胞菌属的那些为最佳。商业上可得到的脂肪酶产品可以用来达到本发明的目的。角质酶以那些来源于植物芽孢杆菌的为佳。

在实施本发明时，可以在施用生物杀伤剂之前，通过用酯酶水溶液喷洒植物茎及叶或昆虫的方法将酯酶在施用生物杀伤剂前施用于植物的茎及叶或昆虫。酯酶水溶液的浓度至少应为0.1ppm，以至少1ppm为佳。不必规定随后喷洒生物杀伤剂的时间，此时间可以根据酯酶水溶液的浓度以及这种酶是否会被生物杀伤剂消除其活性来适当选定。然而为了保险起见，后续喷洒一般需要经过至少6小时的时间间隔后才能进行。

如果酯酶不会被生物杀伤剂消除其活性，就可以在喷洒酯酶水溶液后立即喷洒生物杀伤剂，或者也可以将它们以含有酯酶和生物杀伤剂的组合物形式一起喷洒。

用于本发明的生物杀伤剂包括拟除虫菊酯类杀虫剂，例如腈氯苯苯醚菊酯(2-(4-氯苯基)-3-甲基戊酸 α - 氰基-3- 苯氧基苄酯)和 Baythroid ((3-(2,2-二氯乙烯基)-2,2-二甲基环丙羧酸氰基(4- 氟-3- 苯氧基苯基)甲酯)，有机磷杀虫剂，例如敌敌畏(磷酸2,2-二氯乙烯基二甲基酯)、杀螟松(硫代磷酸- 二甲基-4- 硝基- 间甲基苯基酯)、马拉松(Malathion (硫羟硫代磷酸 S- (1,2-双(乙氧基羰基)乙基)二甲基酯)、哀尔桑(硫羟硫代磷酸 S- (α (乙氧基羰基)苄基)二甲基酯)、乐果(硫羟硫代磷酸二甲基- S-(N- 甲基氨基甲酰基甲基)酯)和稻丰散(硫代磷酸 O, O- 二甲基 O-(3-甲基-4- 甲基巯苯基)酯)，福美铁杀虫

剂，例如丁苯威(氨基甲酸 O- 丁基苯基甲基酯)、速灭威(氨基甲酸间甲基苯基甲基酯)、灭杀威(氨基甲酸3,4-二甲基苯基- N- 甲基酯)和西维因(N- 甲基氨基甲酸1-萘基酯)，以及其它杀虫剂，例如灭多虫(N- 甲基氨基甲酸 O- (1-(甲硫基)乙亚胺基)酯)和巴丹(1,3- 双(氨基甲酰硫基)-2-(N, N- 二甲基氨基)丙烷盐酸盐)。

杀螨剂包括，例如：Sumite(2-(对- 叔丁基苯氧基)异丙基-2- 氯乙基硫醚)、乐杀螨(二甲基丙烯酸2,4-二硝基-6- 仲丁基苯基酯)、丙酯杀螨醇(α , α - 双(对氯苯基)乙醇酸异丙酯)、乙酯杀螨醇(α , α - 双(对氯苯基)乙醇酸乙酯)、三氯杀螨醇(1,1- 双(对氯苯基)-2, 2,2-三氯乙醇)、苯螨特(O- 苯甲酰基-3- 氯-2,6- 二甲氧基苯基异羟肟酸乙酯)、三环锡(三环己锡氢氧化物)以及克螨特(亚硫酸2-(对叔丁基苯氧基)环己基-2- 炔丙基酯)。

杀菌剂包括，例如：有机磷杀菌剂，如代森锌(亚乙基1,2-双二硫代氨基甲酸锌)、代森锰(亚乙基双1,2-二硫代氨基甲酸锰)和福美双(双(二甲基氨基硫代甲酰)化二硫)，以及其它杀菌剂如苯菌灵(1-(丁基氨基甲酰)-2-苯并咪唑氨基甲酸甲酯)、敌菌丹(N- 四氯乙硫基环己-4-烯-1,2-二甲酰亚胺)、百菌清(四氯间苯二腈)、氯唑灵(5- 乙氧基-3- 三氯甲基-1,2,4- 噻二唑)、甲基托布津(1,2- 双(3- 甲氧羰基-2- 硫脲基)苯)、四氯苯醚(4,5,6,7- 四氯-2- 苯并(c) 呋喃酮)、异稻瘟净(硫代磷酸 O, O- 二异丙基 S- 苯甲基酯)、克瘟散(二硫代磷酸 O- 乙基 S, S- 二苯基酯)、布罗苯唑(Brobenazol)(3- 烯丙氧基-1,2- 苯并噻唑-1,1- 二氧化物)。

除莠剂包括，例如：敌稗(3,4- 二氯丙酰苯胺)、萨丹(Satan)(S-(4-氯苯甲基)- N, N- 二乙基硫代氨基甲酰酯)、杂草灵(2- 氯-2', 6'- 二乙基- N-(甲氧甲基) 乙酰苯胺)、草甘膦(N-(磷酰甲基) 甘氨酸异丙胺盐)、敌草隆(3-(3,4-二氯苯基)-1,1-二甲基脲)和对草快(二

氯化1,1'-二甲基-4,4'-联吡啶噻吩)。

植物生长控制剂包括，例如：抑芽丹(马来酰肼)和乙烯利(2-氯乙基膦酸)。

生物杀伤剂的状态不需要加以规定，例如可以是乳化液、水合物或流动性制剂。生物杀伤剂可以同某种表面活性剂一起施用，该表面活性剂作为增效剂是有效的且没有药物引起的危害，这样，生物杀伤剂的效力就显著地增强了。

本发明的生物杀伤方法能够产生显著生物杀伤效果的原因可用下述可信的机制予以解释。

植物或者昆虫的表皮上覆盖着一层蜡质层，例如由高级脂肪酸与醇所生成的酯，其作用是保护植物或昆虫的组织不受外界的物理和化学的刺激。当喷洒生物杀伤剂后，只有不超过20~30%的生物杀伤剂渗透到植物或昆虫的内部组织中。而且，所喷洒的生物杀伤剂容易因为外界条件变化，例如下雨，而被冲洗掉，从而不能发挥作用。

在本发明中，作为增效剂掺入生物杀伤剂的酯酶起着分解植物叶蜡或昆虫表皮蜡的作用，从而破坏了蜡层结构，使生物杀伤剂渗透得越来越多，并使它不致由于外界条件的变化，例如下雨，而被冲洗掉，生物杀伤效果也就得以提高。

现在用下列实施例来说明本发明所涉及的增加生物效力的活性。

实施例1

将粉末状脂肪酶(来源于假单胞菌)溶解在水中，直到其浓度分别达到10、100及1,000ppm，并将每种溶液喷洒到已长到四叶期的带蓝色的苋属杂草(livid amaranth weeds)(高度为6厘米)上。二十四小时后，将80%敌草隆(DCMU, Karmex D)水合物的400倍稀溶液喷洒到杂草上，每盆中喷洒的有效成分的量相当于20克/公亩。十天后，对已长出地面的杂草称重，除莠能力由已枯萎杂草对生长在未喷洒区的杂草的百分比

来表示。结果如表1 所

表1

		脂肪酶浓度 (ppm)			
		0	10	100	1000
80% 敌草隆水合物 的400 倍稀释液	0	0	0	0	0
	20克/ 公亩 (有效成分)	48.5	90.7	95.7	98.0

表中各数据表示除莠能力，其单位是%。

实施例2

将粉末状脂肪酶(来源于假单胞菌)按10、100 和1000ppm 的浓度溶于水中。将80% 敌草隆水合物用上述溶液稀释400 倍。将稀释液喷洒到已长至四叶期的带蓝色的苋属杂草上(高度为6 厘米)，使有效成分的用量为20克/ 公亩和40克/ 公亩。十天后，对已长出地面的杂草进行称重，并用已枯萎杂草对生长在未喷洒区的杂草的百分比表示除莠能力。结果如表2 所示。

表2

		脂肪酶浓度 (ppm)			
		0	10	100	1000
80% 敌草隆水合物 的400 倍稀释液	0	0	0	0	0
	20克/ 公亩 (有效成分)	48.0	91.0	95.4	98.2
	40克/ 公亩 (有效成分)	67.9	100	100	100

表中数据表示除莠能力，其单位为%。

实施例3

将来源于炭疽细菌(colletotrichum bacteria) 的角质酶(cut inase)

溶解在水中，直到浓度分别达到1、10和100ppm，并用上述溶液将50% 二氯苯基二甲基氮双环己二酮水合物稀释1500倍。随后将所得溶液喷洒到四叶期黄瓜的茎和叶上，用量为每盆10毫升。喷洒后，立即以及过二十四小时再喷洒在灰霉孢子的悬浮液使其感染，并测定杀灭率。另外在喷洒上述稀释液后立即和喷洒上述稀释液后过二十四小时对植物进行人工降雨(20毫米)。人工降雨后，喷洒灰霉孢子的悬浮液进行侵染，并对掌握茎、叶上出现的斑点进行计数并计算这些斑点对未喷洒区所产生斑点的百分比，以此测定杀灭率。结果表3 所示。

表3

	孢子悬浮液喷洒的时间	角质酶浓度 (ppm)			
		0	1	10	100
无人工降雨	喷洒溶液后立即喷洒	81	90	100	100
	喷洒溶液后24小时喷洒	79	92	100	100
人工降雨 (20 毫米)	喷洒溶液后立即进行 人工降雨并随之喷洒孢子悬浮液	48	50	56	60
	喷洒溶液后24小时进行人工降雨 并随之喷洒孢子悬浮液	65	82	92	97

表格数据表示每10盆的平均杀灭率 (%)。

实施例4

将粉末状脂肪酶(来源于肠细菌)溶解于水中，直至其浓度到达1、10和100ppm，并将50% 三环锡水合物用上述酶溶液稀释2000倍。将稀释液以每盆20毫升的量喷洒到已长到六叶期或七叶期的菜豆属植物上。喷洒后十二小时，将30只雌性叶螨(tetranychus mite)成虫移植到每株植物上。三天以后，数出残存螨的个数并与未喷洒区上的活螨数进行对比，测出杀灭率。结果如表4 所示。

表4

		脂肪酶浓度(ppm)			
		0	1	10	100
50% 三环锡水合物	0	0	0	0	0
的2000倍稀释溶液	喷洒 20毫升/盆	48	78	90	100

表中各数据表示相对于未喷洒区的杀螨率(%)。

实施例5

将粉末状角质酶(来源于葡萄孢菌)溶解于水中,直至其浓度达到1、10和100ppm,并将40%杀螟松水合物用上述溶液稀释1000倍。将稀释溶液以20毫升的量喷洒到50只大青稻叶蝉上,这些大青稻叶蝉被置于昆虫繁育箱内。两天后,数出死虫数,与未喷洒区对比算出杀虫率(%)、结果如表5所示。

表5

		角质酶 浓度			
		0	1	10	100
40% 杀螟松水合物	0	0	0	0	0
的1000倍稀释溶液	20毫升	64	90	95	100

表中各数据表示与未喷洒区相比的杀虫率(%)。

实施例6

将40份重量的敌草隆原体、4份重量来源于炭疽细菌的角质酶粉末、8份重量的聚氧乙烯烷基磷酸的二乙醇胺盐和48份重量的粘土互相混合,形成敌草隆的一种水合物。将它用水稀释400倍,然后以每公亩20克有效成分的用量喷洒到已长至6厘米高的带蓝色的苋属杂草上。十天后,测量地面上的活草重量。用已枯萎杂草对未处理杂草的百分比来表示除莠能力。用一种80%的敌草隆(以商品名 Karmex D出售)作为对比组。结果如表6所示。

表6

	稀释倍数	除莠能力
实施例6(本发明)	×400	90.4
对比组	×800	37.2

实施例7

将45.5克敌草隆 (Karmex D)(一种常用除莠剂)、4.5 克甲醛与苯磺酸缩合物(缩合度为4)的钠盐、50克水和180 克玻璃珠(介质)互相混合,玻璃珠对悬浮液的体积比为50:50。将混合物用容积为400 毫升的砂磨机,以6 米/秒的盘周线速度在20~25℃的温度下研磨3 小时。用压滤法得到68克 Karmex D细粉。

所得细碎 Karmex D(即敌草隆, DCMU)的粒度分布如表7 所示,表明有95%(重量比)的粉末,其粒度不大于0.5 微米。

表7

粒度	分布(%, 重量比)
大于0.5 微米	5
0.5 ~0.2	84
0.2 ~0.1	10
0.1 ~0.005	1
小于0.005	0

实施例8

将来源于假单胞菌的脂肪酶粉末溶解在水中,浓度分别为10和100ppm。继而将敌草隆(DCMU)分散液分别用上述脂肪酶溶液稀释。将所制得的稀释液喷洒到已长至四叶期的带蓝色的苋属杂草上(高度为6 厘米),喷洒量相当于20克/公亩有效成分。十天后,将杂草露出地面的部分称重,并与未处理过的杂草相比较,计算出除莠能力。结果如表8 所示。

表8

		脂肪酶含量 (ppm)		
		0	10	100
DCMU细碎粉末	0	0	0	0
	10克/ 公亩	69.4	91.4	100
DCMU水合物	10克/ 公亩	30.2	62.1	87.3
(粒度20微米)				