

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
A01N 47/44
/(A01N47/44,53 : 00)



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 01820001. X

[45] 授权公告日 2005 年 5 月 25 日 [11] 授权公告号 CN 1202719C

[22] 申请日 2001. 10. 2 [21] 申请号 01820001. X
[30] 优先权
[32] 2000. 10. 6 [33] US [31] 60/238,485
[32] 2001. 10. 1 [33] US [31] 09/968,117
[86] 国际申请 PCT/US2001/030780 2001. 10. 2
[87] 国际公布 WO2002/030202 英 2002. 4. 18
[85] 进入国家阶段日期 2003. 6. 3
[71] 专利权人 孟山都技术有限公司
地址 美国密苏里州
[72] 发明人 J • 阿斯拉 F • C • 科恩
审查员 王莉敏

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 温宏艳 徐雁漪

权利要求书 2 页 说明书 26 页

[54] 发明名称 用除虫菊酯/拟除虫菊酯和氯硫尼定的联合处理种子的方法

[57] 摘要

本发明涉及一种防止害虫损害种子和/或植株的枝和叶的方法，包括用含有氯硫尼定和至少一种除虫菊酯或合成的拟除虫菊酯的联合的组合物处理长成植株的种子。 对没有播种的种子实施该项处理。 在另一个实施方案中，所述种子是带有至少一种编码具有抗第一种害虫的杀虫活性的蛋白质表达的异源基因的转基因种子，并且所述组合物具有抗至少一种第二种害虫的活性。 还提供了处理过的种子。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种保护种子和/或由该种子长成的植株的枝和叶免受害虫损害的方法,该方法包括用含有氯硫尼定和至少一种除虫菊酯或合成的拟除虫菊酯的杀虫剂联合处理没有播种的种子,所述除虫菊酯或合成的拟除虫菊酯选自 苧氯菊酯,七氯菊酯,氟氯氟菊酯, β 氟氯氟菊酯, λ 格林奈,联苯菊酯 和它们的混合物,其中两种杀虫剂的重量比是 1:1000 至 1000:1.
2. 权利要求 1 阐述的方法,其中所述合成的拟除虫菊酯是七氯菊酯.
3. 权利要求 1 阐述的方法,其中所述杀虫剂联合包含在种子包衣中.
4. 权利要求 1 阐述的方法,其中拟除虫菊酯中的至少一种是系统杀虫剂.
5. 权利要求 1 阐述的方法,其中在用氯硫尼定处理的同时用拟除虫菊酯处理种子.
6. 权利要求 1 阐述的方法,其中在用氯硫尼定处理的不同时间用拟除虫菊酯处理种子.
7. 权利要求 1 阐述的方法,其中所述种子选自玉米,大豆,棉花,稻,高粱,甜菜,小麦,大麦,黑麦,向日葵,番茄,甘蔗,烟草,油菜籽和燕麦.
8. 权利要求 1 阐述的方法,其中所述种子选自玉米,大豆和棉花种子.
9. 权利要求 1 阐述的方法,其中所述种子是玉米种子.
10. 一种处理没有播种的种子的组合物,含有氯硫尼定和至少一种除虫菊酯或合成的拟除虫菊酯,所述除虫菊酯或合成的拟除虫菊酯选自 苧氯菊酯,七氯菊酯,氟氯氟菊酯, β 氟氯氟菊酯, λ 格林奈,联苯菊酯 和它们的混合物,其中两种杀虫剂的重量比是 1:1000 至 1000:1.
11. 权利要求 10 阐述的组合物,其中所述除虫菊酯或拟除虫菊酯是七氯菊酯.
12. 权利要求 1 阐述的方法,其中该种子具有至少一种编码对第一种害虫有抵抗活性的蛋白质的表达的异源基因,且其中该种子用含有

氯硫尼定和至少一种除虫菊酯或合成的拟除虫菊酯的杀虫剂联合处理，所述除虫菊酯或合成的拟除虫菊酯选自苧氯菊酯、七氟菊酯、氟氯菊酯、 β 氟氯菊酯、 λ 格林奈、联苯菊酯和它们的混合物，其中组合物以有效对植株的枝和叶提供保护作用以抵抗至少一种第二害虫的损害的量存在。

13. 权利要求 12 阐述的方法，其中至少一种异源基因编码有杀虫活性的蛋白质的表达。

14. 权利要求 13 阐述的方法，其中所述基因来自选自芽孢杆菌属，根瘤菌属，假单胞菌属，沙雷氏菌属，木霉属，Glomus，胶霉属和菌根真菌的微生物。

15. 权利要求 14 阐述的方法，其中所述蛋白质有抗玉米根蠕虫活性。

16. 权利要求 15 阐述的方法，其中所述蛋白质有抗欧洲玉米钻孔虫活性。

17. 权利要求 16 阐述的方法，其中所述基因是来自芽孢杆菌属微生物的基因。

18. 权利要求 17 阐述的方法，其中所述基因是来自苏云金芽孢杆菌的基因。

19. 权利要求 18 阐述的方法，其中所述基因是编码产生修饰的Cry3Bb δ -内毒素的基因。

用除虫菊酯/拟除虫菊酯和氯硫尼
定的联合处理种子的方法

5 相关专利和专利申请的交叉参考

本申请是 2000 年 10 月 6 日申请的美国临时专利申请登记号 No. 60/238,485 的非临时申请, 并且要求它的优先权。

发明背景

(1) 发明领域

10 一般来说, 本发明涉及对植物害虫的防治, 更具体地涉及通过使用杀虫剂的联合处理植物种子提供抵抗昆虫对种子和植物部分的损害的保护作用; 特别地, 本发明涉及通过用氯硫尼定和除虫菊酯和/或合成的拟除虫菊酯的联合处理植物种子来控制昆虫对种子和植物部分的损害。

15 (2) 相关领域的描述

昆虫和有节肢动物每年都在美国破坏估计 15% 的农作物, 在发展中国家更甚。当植物病原体, 昆虫和其他这样的土壤生害虫在播种之后损害种子时就发生一些这样的损伤。在玉米生产中, 其他大部分损害由以植物根部为食或者损害植物根部的昆虫害虫即根部蠕虫引起; 或者由切根虫, 欧洲玉米钻孔虫, 和以植物的地上部分为食或者损害植物的地上部分的其他害虫引起。害虫对农作物损害的类型和机理的一般性描述参见, 例如 Metcalf, Destructive and Useful Insects, (1962); 和 Agrios, Plant Pathology, 第三版, Academic Press (1988)。

25 种子萌芽, 植物的抽芽和最初的生长期是特别关键的, 因为生长着的植物的根和枝都小, 甚至少量损害就能够杀死整个植株。此外, 一些天然植株防御在该阶段没有完全发育, 植株易受到损害。在意料之中地, 在植株生长早期阶段防治攻击种子和植株地上部分的害虫在农业领域得以充分发展。

30 近来, 对攻击出苗后农作物的害虫的防治主要包括对土壤或者通过对叶子喷雾而对生长着的植株施用合成的有机杀虫剂。因为关注化学杀虫剂对公共健康和环境健康的影响, 人们尽了很大努力来减少使用

的化学杀虫剂量。这样的努力有很多集中在开发转基因作物，这些作物经工程处理而表达来自微生物的昆虫毒素。例如，美国专利 No. 5,877,012，Estruch 等，公开了在植物中克隆和表达来自芽孢杆菌（*Bacillus*），假单胞菌，棍状杆菌和根瘤菌等微生物的蛋白质，获得对象黑切根虫，粘虫，一些钻孔虫和其他昆虫害虫等有抗性的转基因植物。Privalle 等公开的 WO/EP97/07089 教导了用编码过氧化物酶的重组 DNA 序列转化单子叶植物例如玉米来保护植株不受玉米钻孔虫，螟蛉和切根虫的摄食。Jansens 等，*Crop Sci.*, 37(5):1616-1624 (1997)，报道了包含编码来自苏云金芽孢杆菌（Bt）的晶体蛋白的基因的转基因玉米的生产，所述晶体蛋白防止欧洲玉米钻孔虫的产生。Koziel 等人的美国专利 No. 5,625,136 和 5,859,336 报道用来自苏云金芽孢杆菌的编码 δ -内毒素的基因转化玉米，得到对欧洲玉米钻孔虫有改良的抗性的转基因玉米。

Armstrong 等人，*Crop Science*, 35(2):550-557 (1995) 中提供了表达来自苏云金芽孢杆菌的杀虫蛋白的转基因玉米大田试验的综合报道。

但是，在植物细胞工程现状下，转基因作物一般只是抵抗那种作物的具体的害虫，例如表达 Bt 毒素的转基因玉米抗玉米根蠕虫。常常需要对这样的转基因植株施用合成杀虫剂来防治其它害虫的损害。

当在合适的时间用合适的方法施用，杀昆虫剂例如合成的拟除虫菊酯，有机磷酸酯和氨基甲酸酯类；杀真菌剂例如唑类和苯胺并嘧啶类；和杀螨剂例如吡唑类；等等抵抗一些地上植物害虫是非常有效的。合适的杀虫剂可以在播种时在表面带，“T”-带，或犁沟中施用，但是这些应用要求在播种种子的同时施用杀虫剂的附加操作。这使得播种操作复杂化，并且需要耗资购买施用杀虫剂需要的附加设备，并且在使用期间要求维护和注意。此外，一定要小心地将杀虫剂适当地掺入到顶端土壤层中以发挥最佳活性。（参见，例如，Zeneca Ag Products, Wilmington, Del. (1998) 出版的标题是 Force 3G Insecticide 的小册子中描述的使用七氟菊酯的施用要求和注意事项）。

播种时犁沟施用的杀虫剂活性通常针对种子或植株根的保护。但是对于已知系统地用杀虫剂这样的处理报道过抗地上害虫例如玉米钻孔虫的一些保护作用。Keaster 和 Fairchild, *J. Econ. Entomol.*,

61(2): 367-369 (1968)。因为这样的杀虫剂化学品是复杂分子, 制备, 购买和使用昂贵, 所以期望它们的活性不会被湿气渗流或蒸发作用稀释或者从期望的作用地点迁移而丧失。

5 植株从土壤中出苗之后, 最常使用将杀虫剂叶喷雾来防治攻击植株的枝和叶的那些害虫。但是, 为了具有最有益的效果, 一定要在与害虫的存在和活性相一致的某一时间实施叶喷雾。如果, 例如, 天气条件限制进入大田, 则在这种时间施用可能是困难的或不可能的。此外, 为了在害虫最脆弱的时候施用杀虫剂, 必须密切监测植株以发现害虫活动的早期信号。

10 发现在播种时作为叶喷雾或者作为表面掺入颗粒施用时, 合成的拟除虫菊酯极好地防治鳞翅目害虫, 例如切根虫。但是, 因为这类杀昆虫剂对鱼有着非常高的毒性, 必需极端小心以限制杀昆虫剂从颗粒或喷雾流向表面水。此外, 一定要在几乎没有风的时候实施叶喷雾, 使用合适的设备, 使用期间小心监控。

15 发现在某些情况下使用特殊杀虫剂和施用技术, 两种或多种这样的杀虫剂以特定联合使用时比单独使用这样的杀虫剂的任何一种效力要大。有这样好处的联合的杀虫剂报道过亚胺硫磷和伏虫脲的组合 (美国专利 No. 4, 382, 927); 二硫代磷酸 0-乙基-0-[4-(甲硫基)-苯基]-S-丙酯和 N'-(4-氯-邻-甲基)-N, N-二甲基甲脒的组合 (美国专利 No. 4, 053, 595); 苏云金芽孢杆菌和克死螨的联合 (美国专利 No. 3, 937, 813); 如果需要, 溴氢菊酯和敌敌畏与残杀威的联合 (美国专利 No. 4, 863, 909); 氰戊菊酯和亚胺硫磷的联合 (美国专利 No. 4, 263, 287); 以及伏杀磷和马拉硫磷的联合 (美国专利 No. 4, 064, 237)。但是, 这些联合中的每一个如上所述以喷雾或粉剂形式对生长着的植株直接施用, 或者以例如颗粒的形式对植株周围的土壤施用。

25 W09740692 公开了几种噁二嗪衍生物中的任何一种与许多其它杀昆虫剂中的一种的联合。尽管该申请提到这些联合可以对植物繁殖材料施用用于其保护, 以及对植株枝和叶施用, 但是没有提供实施例证明所列出的联合中的任何一种是实际有效的。美国专利 Nos. 4, 415, 561, 5, 385, 926, 5, 972, 941 和 5, 952, 358 中描述了更多的联合。但是, 在现有技术中, 几乎没有或者没有发现哪些杀虫剂联合会导致这样的出

人意料的卓越的药效哪些则不能的预测方法的指示。

通过直接对植物种子施加杀昆虫剂防治昆虫是公知的。例如，美国专利 No. 5,696,144 公开了与从没有处理的种子长成的对照植株相比，欧洲玉米钻孔虫对以每公担种子 500 克的比例用 1-芳基吡唑化合物处理过的种子长成的玉米植株的摄食损害要小。另外，Turnblad 等的美国专利 No. 5,876,739 (及其母专利美国专利 No. 5,849,320) 公开了土壤生昆虫的防治方法，包括用含有一种或多种聚合物粘合剂和一种杀昆虫剂的包衣处理种子。该篇文献提供了鉴定为在这种包被中使用的候选者的杀昆虫剂名单，并且给出了很多可能的目标昆虫的名字。但是，虽然 5,876,739 专利陈述用含有特殊杀昆虫剂的包衣处理的玉米种子保护玉米根不受玉米根蠕虫的损害，但是没有指出或者提示用杀昆虫剂的特定联合处理玉米种子对种子或植株提供增效保护作用，或者带来任何其它意料之外的好处。

因此，虽然保护植物的枝和叶以及种子和根不受害虫损害领域正在快速发展，但是仍然存在一些问题。例如，提供防治害虫对植物的枝和叶的损害而不需要在播种种子时施加杀虫剂的方法将是有用的，或者作为表面掺入带，或者犁沟施用，或者例如要求在植物生长期间后期大田施用杀虫剂。如果害虫防治方法减少了对植物提供一定水平保护作用所要求的杀虫剂的量，则它也是有用的。此外，如果这样一种方法与转基因植物生物杀虫活性联合，或者与其它活性材料的杀虫活性联合，提供比转基因元件或者单独的杀虫活性物质提供的保护作用更广泛范围的保护作用，则它也是有用的。

发明概述

因此，简要地说，本发明涉及防止害虫损害种子和/或由该种子长成的植株的枝和叶的新的方法，该方法包括用含有氯硫尼定和至少一种除虫菊酯或合成的拟除虫菊酯的组合物处理没有播种的种子。还提供了这种方法处理过的种子。

本发明还涉及含有氯硫尼定和至少一种除虫菊酯或合成的拟除虫菊酯的用于处理没有播种的种子的新的组合物。

本发明还涉及被保护抵抗多种害虫的新的种子，包括带有至少一种编码对第一种害虫有抵抗活性的蛋白质表达的异源基因，并且另外附

着一种含有氯硫尼定和至少一种除虫菊酯或合成的拟除虫菊酯的组合物的种子,其中组合物以对植株的枝和叶提供保护作用抵抗至少一种第二害虫的损害的有效量存在。

5 本发明还涉及处理没有播种的种子防止害虫对种子和/或种子长成的植株的枝和叶的损害的新的方法,该方法包括使没有播种的种子接触含有氯硫尼定和至少一种除虫菊酯或合成的拟除虫菊酯的组合物。

发现本发明实现的好处中可以注意的是提供一种防治害虫损害种子和/或种子长成的植株的枝和叶而不要求在播种种子时施加杀虫剂,或者作为表面掺入带,或者犁沟施用,或者要求在植物生长期间后期
10 大田施用杀虫剂之方法;提供减少对植株提供一定程度保护作用所要求的杀虫剂的量的害虫防治方法;和提供可以与转基因植物的生物杀虫活性联合,以便选择性拓宽对转基因植物的枝和叶提供的保护作用的范围的方法。

15 优选实施方案的详细描述

根据本发明,发现使用包括杀虫剂的特定联合的组合物处理没有播种的植物种子不仅保护种子本身,还令人惊奇地提供以植物的枝和/或叶为食或者损伤植物的枝和/或叶的害虫的萌芽后控制。发现达到这样的结果的杀昆虫剂的联合是除虫菊酯或合成的拟除虫菊酯和氯
20 硫尼定的联合。

在优选的实施方案中,本发明的杀昆虫剂联合出人意料地提供卓越的保护作用,杀昆虫剂的联合提供比分别施用各个成分提供的保护作用预计的,以本领域目前状况为基础的保护水平卓越的对种子和/或植株的保护作水平。这种协同活性降低了提供一定水平保护作用所
25 要求的杀虫剂的总量。除了使用更经济之外,对于给定水平的保护作用使用减少量的杀虫剂是有利的,这是因为用减少量的杀昆虫剂处理种子比分开使用杀昆虫剂对种子的植物毒性小。

所述新的处理的另一个好处是它可以使用具有在种子长成的转基因植物中编码杀虫蛋白表达的异源基因这种类型的种子。用杀虫剂处
30 理这样的种子提供了用转基因性状抵抗一种害虫的能力,并且令人吃惊地提供了提高的抵抗相同害虫的保护作用,和/或用本发明的杀昆虫剂联合抵抗另一种害虫的能力。

如这里使用的, 术语"杀虫作用"和"杀虫活性"指与未处理种子长成的植物相比导致对处理过的种子和它长成的植株的根, 枝和叶的摄食损害减小的对目标害虫的任何直接的或间接的作用。术语"抗(一种或多种)害虫活性", 也具有相同的意义。这样的直接或间接作用包括诱导害虫死亡, 从植物种子, 根, 枝和/或叶排斥害虫, 抑制害虫在植物种子, 根, 枝和/或叶上摄食, 或产卵, 抑制或防止害虫繁殖。术语"杀昆虫活性"和杀虫活性具有相同的意义, 除了限定害虫是昆虫的那些情况。当这里使用术语"杀虫剂"时, 其意思不是包括用杀虫剂处理过的特定种子或者特定种子长成的植物产生的杀虫剂。

如这里使用的, 植物的"枝和叶"理解是芽, 茎, 枝, 叶和种子萌芽之后植株的茎和枝的其它附件, 但是不包括植物的根。植株的枝和叶的优选理解是种子长成的植株的没有根的并且距发芽产生它们的种子至少有1英寸的距离的那些部分(种子区域之外), 更优选地, 是土壤表面或表面之上植物的非根部分。如这里使用的, "种子区域"理解是种子大约1英寸之内的范围。

适合在本发明中使用的杀虫剂包括除虫菊酯和合成的拟除虫菊酯和氯硫尼定。有关除虫菊酯和合成的拟除虫菊酯和氯硫尼定的信息可以参见 The Pesticide Manual, 11 版, C. D. S. Tomlin, 编著, British Crop Protection Council, Farnham, Surrey, UK (1997)。

本发明组合物中使用的拟除虫菊酯包括除虫菊酯和合成的拟除虫菊酯。优选在本发明方法中使用的除虫菊酯包括但不限于, 2, 2-二甲基-3-(2-甲基丙烯基)-环丙烷羧酸, 和/或(2-甲基-1-丙烯基)-2-甲氧基-4-氧代-3-(2-丙烯基)-2-环戊烯-1-基酯的 2-烯丙基-4-羟基-3-甲基-2-环戊烯-1-酮酯和它们的顺式和反式异构体的混合物 (Chemical Abstracts Service Registry Number ("CAS RN") 8003-34-7)。

本发明中优选使用的合成的拟除虫菊酯包括 4-氯- α -(1-甲基乙基)苯乙酸(s)-氟基(3-苯氧基苯基)甲酯(氟戊菊酯; CAS RN 51630-58-1); (S)-4-氯- α -(1-甲基乙基)苯乙酸(S)-氟基(3-苯氧基苯基)甲酯(高氟戊菊酯; CAS RN 66230-04-4); (+)顺-反-3-(2, 2-二氯乙烯基)-2, 2-二甲基环戊烷羧酸(3-苯氧基苯基)甲酯(苄氟菊酯; CAS RN 52645-53-1); (+)-顺, 反-3-(2, 2-二氯乙烯基)-2, 2-二甲基环戊烷

- 羧酸(±) α-氰基-(3-苯氧基苯基)甲酯(氯氰菊酯; CAS RN 52315-07-8); (β-氯氰菊酯; CAS RN 65731-84-2); (θ-氯氰菊酯; CAS RN 71697-59-1); (±) -顺/反-3-(2,2-二氯乙基)-2,2-二甲基环戊烷羧酸 S-氰基(3-苯氧基苯基)甲酯(ζ-氯氰菊酯; CAS RN 52315-07-8);
- 5 (1R, 3R)-3-(2,2-二溴乙基)-2,2-二甲基环丙烷羧酸(s)-α-氰基-3-苯氧基苄酯(溴氰菊酯; CAS RN 52918-63-5); 2,2,3,3,-四甲基环丙烷羧酸 α-氰基-3-苯氧基苄酯 (甲氰菊酯; CAS RN 64257-84-7); (R)-2-[2-氯-4-(三氟甲基)苯胺基]-3-甲基丁酸 (RS)-α-氰基-3-苯氧基苄酯(氟胺氰菊酯; CAS RN 102851-06-9); (2,3,5,6-四氟-4-甲基苯基)-甲基-(1α, 3α)-(Z)-(±)-3-(2-氯-3,3,3-三氟-1-丙烯基)-2,2-二甲基环丙烷羧酸酯 (七氟菊酯; CAS RN 79538-32-2);
- 10 (±)-4-(二氟甲氧基)-α-(1-甲基乙基)苯乙酸 (±)-氰基(3-苯氧基苯基)甲酯 (氟氰戊菊酯; CAS RN 70124-77-5); 3-[2-氯-2-(4-氯苯基)乙烯基]-2,2-二甲基环丙烷羧酸氰基(4-氟-3-苯氧基苯基)甲酯(氟氯苯菊酯; CAS RN 69770-45-2); 3-[2,2-二氯乙基]-2,2-二甲基环丙烷羧酸氰基(4-氟-3-苯氧基苯基)甲酯(氟氯氰菊酯; CAS RN 68359-37-5); (β 氟氯氰菊酯; CAS RN 68359-37-5); (四氟菊酯; CAS RN 118712-89-3); (Z)-(1R-顺)-2,2-二甲基-3-[2-(2,2,2-三氟-三氟甲基-乙氧羰基)乙烯基]环丙烷羧酸 (S)-α -氰基-3-苯氧基苄酯
- 20 (氟丙菊酯; CAS RN 101007-06-1); α -氰基-3-苯氧基苄基-3-(2,2-二氯乙基)-2,2-二甲基环丙烷羧酸酯(1R 顺) S 和 (1S 顺) R 对映体异构体对 (α- 氯 氰 菊 酯 ; CAS RN 67375-30-8); [1R, 3S] 3 (1' RS) (1', 2', 2', 2'-四溴乙基)]-2,2-二甲基环丙烷羧酸 (s)- α -氰基-3-苯氧基苄酯(四溴菊酯; CAS RN 66841-25-6); 2,2-氯-1-(4-乙氧基苯基)环丙烷羧酸氰基-(3-苯氧基苯基)甲酯(乙氟菊酯; CAS RN 63935-38-6); 3-(2-氯-3,3,3-三氟-1-丙烯基)-2,2-二甲基环丙烷羧酸[1α, 3α(Z)]-(±)-氰基-(3-苯氧基苯基)甲酯(格林奈; CAS RN 68085-85-8); [1α(s), 3α(z)]-氰基(3-苯氧基苯基)甲基-3-(2-氯-3,3,3-三氟-1-丙烯基)-2,2-二甲基环丙烷羧酸酯(λ 格林奈; CAS RN 91465-08-6); 3-(2-氯-3,3,3-三氟-1-丙烯基)-2,2-二甲基-环丙烷羧酸(2-甲基[1,1'-联苯基]-3-基)甲酯(联苯菊酯; CAS RN 82657-04-3); 5-1-苄基-3-呋喃基甲基-d-顺(1R, 3S, E) 2,2-

二甲基-3-(2-氧代-2,2,4,5-四氢硫代亚苯基甲基)环丙烷羧酸酯(噻恩菊酯, RU 1 5525; CAS RN 58769-20-3); 2,2-二甲基-3-(2-甲基-1-丙烯基)环丙烷羧酸 [5-(苯基甲基)-3-呋喃基]-3-呋喃酯(苧呋菊酯; CAS RN 10453-86-8); 2,2-二甲基-3-(2-甲基-1-丙烯基)环丙烷羧酸(1R-反式)-[5-(苯基甲基)-3-呋喃基]甲酯(右旋反灭虫菊酯; CAS RN 28434-01-7); 3,4,5,6-四氢-苯二甲酰亚氨基甲基-(1RS)-顺-反-菊酸酯(胺菊酯; CAS RN 7696-12-0); 3-苯氧基苧基-d,1-顺,反 2,2-二甲基-3-(2-甲基丙烯基)环丙烷羧酸酯(苯氧司林; CAS RN 26002-80-2); (烯炔菊酯; CAS RN 54406-48-3); (苯醚氰菊酯; CAS RN 39515-40-7); (炔酮菊酯; CAS RN 23031-36-9); (咪炔菊酯; CAS RN 72963-72-5); (RS)-3-烯丙基-2-甲基-4-氧环戊烯-2-烯基-(1A,3R; 1R,3S)-2,2-二甲基-3-(2-甲基丙-1-烯基)环丙烷羧酸酯(丙烯菊酯; CAS RN 584-79-2); (反丙烯菊酯; CAS RN 584-79-2); 和(ZXI8901; CAS RN 160791-64-0)。相信本发明中也可以使用上述合成的拟除虫菊酯的一种或几种的混合物。

在本发明的实施方案中,优选的拟除虫菊酯包括λ-格林奈,七氟菊酯,氟胺氰菊酯,氟氯苯菊酯,反式-氟氯氰菊酯,噻恩菊酯,右旋反灭虫菊酯,胺菊酯,苯氧司林,烯炔菊酯,苯醚氰菊酯,炔酮菊酯,咪炔菊酯,丙烯菊酯和反丙烯菊酯。

本发明组合物中使用的除虫菊酯和合成的拟除虫菊酯可以是符合除虫菊酯和合成的拟除虫菊酯商业要求的任何级别或纯度。本发明组合物中可以含有在商售制剂中可以作为杂质伴随除虫菊酯和合成的拟除虫菊酯的其它物质,只要这样的其它材料不会使组合物不稳定或者显著降低或破坏任何杀昆虫剂成分抗目标害虫的活性。杀昆虫剂生产领域技术人员容易鉴定那些杂质是允许的和哪些杂质是不允许的。

氯硫尼定(Clothianidin),化学文摘命名是(E)-N-[(2)-氯-5-噻唑基)甲基-N'-甲基-N''-硝基胍; IUPAC命名是(E)-1-(2-氯-1,3-噻唑-5-基甲基)-3-甲基-2-硝基胍;化学文摘登记号是210880-92-5,它构成本发明杀昆虫剂联合之一。氯硫尼定的开发代码是TI-435。

本发明组合物中使用的氯硫尼定可以是符合氯硫尼定商业要求的任何级别或纯度。本发明组合物中可以含有在商售制剂中可以作为杂

质伴随氯硫尼定的其它物质，只要这样的其它材料不会使组合物不稳定或者显著降低或破坏任何杀昆虫剂成分抗目标害虫的活性。杀昆虫剂生产领域技术人员容易鉴定那些杂质是允许的和哪些杂质是不允许的。

- 5 当这里描述一种杀昆虫剂时，应该理解这样的描述意在包括与描述的杀虫剂形式具有相同的杀虫活性的杀虫剂的盐的形式以及杀虫剂的所有异构体和/或互变异构体形式。

10 本发明的一个实施方案包括用含有至少一种除虫菊酯或合成的拟除虫菊酯和氯硫尼定的组合物处理种子。播种之前对种子施加处理以使播种操作简化。在这种方式中，例如在中心位置处理种子，然后分散。这使得播种种子的人免去操作和使用杀虫剂—其中一些杀虫剂可能是有毒的，并且只是以对于常规的没有处理种子的常规方式操作和种植处理过的种子。优选地，在一些联合中拟除虫菊酯和氯硫尼定中至少一种是系统杀虫剂。

- 15 在本发明方法的一个实施方案中，可以用氯硫尼定和表1中列出的任何一种杀虫剂的联合处理种子。事实上，表1中列出的杀虫剂的两两种或几种可以与氯硫尼定联合使用。

表1：相信提供协同杀虫活性的可以与氯硫尼定联合使用的杀虫剂^a。

20	<u>组合物编号</u>	<u>拟除虫菊酯</u>
	1	λ-格林奈
	2	七氟菊酯
	3	氟氟菊酯
	4	联苯菊酯
25	5	氟戊菊酯
	6	高氟戊菊酯
	7	苄氟菊酯
	8	氟氟菊酯
	9	β-氟氟菊酯
30	10	ξ-氟氟菊酯
	11	δ-溴氟菊酯
	12	甲氟菊酯

	13	氟胺氰菊酯
	14	氟氰戊菊酯
	15	氟氯苯菊酯
	16	β -氟氯氰菊酯
5	17	反式-氟氯氰菊酯
	18	氟丙菊酯
	19	α -氯氰菊酯
	20	四溴菊酯
	21	乙氰菊酯
10	22	噻恩菊酯
	23	苧呋菊酯
	24	右旋反灭虫菊酯
	25	胺菊酯
	26	苯氧司林
15	27	烯炔菊酯
	28	苯醚氰菊酯
	29	炔酮菊酯
	30	咪炔菊酯
	31	丙烯菊酯
20	32	反丙烯菊酯

注释:

a. 组合物含有氯硫尼定和组合物编号相同行上给出的杀虫剂。

还发现当种子具有至少一种编码对第一种害虫有抵抗活性的蛋白质表达的异源基因，并且另外附着一种含有氯硫尼定和至少一种除虫菊酯或合成的拟除虫菊酯的组合物时，转基因种子能够被保护而抵抗多种害虫。优选地，含有杀虫剂协同联合的组合物以对植株的枝和叶提供保护作用以抵抗至少一种第二种害虫的损害的有效量存在。更优选地，组合物以提供协同作用的有效量存在。

当转基因种子具有至少一种编码对第一种害虫有抵抗活性的蛋白质的表达的异源基因时，可以用杀虫剂联合处理该种子，所述联合具有抗至少一种第二种害虫的活性。当第一种害虫和第二种害虫相同时可以使用本发明方法，为此目的，例如，获得对特殊耐药性 or 高损害

害虫的有效控制。但是在另一个实施方案中,转基因性状保护种子和/或植物不受第一种害虫损害,并且选择杀虫剂联合的组合物来控制与第一种害虫不同的第二种害虫。当被表达的转基因提供能保护转基因植物不受第一种害虫损害但是对抗不同的第二种害虫没有活性时,该方法特别有益。在这种情况下,可以选择对抗第二种害虫有活性的本发

5 明的杀虫剂联合,这样对种子和植株提供免受两种害虫损害的保护作用。为了解释,当这里提到"第一种"害虫和"第二种"害虫时,应该理解是各术语只包括一种害虫,或者可以包括两种或多种害虫。

本发明方法能够被用来在大田,饲料,种植园,温室,桔园或葡萄

10 园作物,装饰植物,大农场或森林保护种子,根和/或地上部分。本发明中使用的种子可以是所有植物物种的种子。但是,优选是农业上重要的植物物种的种子。特别地,种子可以是玉米,花生 canola/油菜籽,大豆, curcubits, 十字花科植物,棉花,甜菜,稻,高粱,甜菜,小麦,大麦,黑麦,向日葵,番茄,甘蔗,烟草,燕麦,以及各种其它植物

15 和叶农作物的种子。优选种子是玉米,大豆,棉花种子;更优选种子是玉米种子。

在本发明的一个实施方案中,如上所述,种子是能够长出转基因植物的转基因种子。本发明的转基因种子经工程处理表达期望的特征,并且特别地,具有至少一种编码具有杀虫活性特别是具有杀昆虫活性的蛋白质的表达的异源基因。本发明的转基因种子中的异源基因可以

20 来自微生物,例如芽孢杆菌属,根瘤菌属,假单胞菌属,沙雷氏菌属,木霉属,棍状杆菌属, Glomus, 胶霉属和菌根真菌。特别地,相信当异源基因是来自芽孢杆菌属微生物的基因,并且该蛋白质有抗玉米根蠕虫活性时本发明的方法特别有益。也相信当异源基因是来自芽孢杆菌属

25 微生物的基因,并且该蛋白质有抗欧洲玉米钻孔虫活性时本发明的方法特别有益。优选的芽孢杆菌属微生物是苏云金芽孢杆菌。当异源基因编码来自苏云金芽孢杆菌的修饰的 Cry3Bb δ -内毒素,例如如美国专利 No. 6,063,597 所述,是特别优选的。

本发明的目标害虫是任何昆虫或以本发明方法要保护的植物的种子,根和/或枝和叶为食的其它害虫的成虫或幼虫。这样的害虫包括但

30 不限于:

来自鳞翅目 (Lepidoptera), 例如,

- 长翅卷蛾 (*Accleris* spp.), 褐带卷蛾 (*Adoxophyes* spp.), 透翅蛾 (*Aegeria* spp.), 夜蛾 (*Agrotis* spp.), 棉叶波纹夜蛾 (*Alabama argillaceae*), *Amylois* spp., 黎豆夜蛾 (*Anticarsia gemmatalis*), 黄卷蛾 (*Archips* spp.), 带卷蛾 (*Argyrotaenia* spp.), 纹夜蛾
- 5 (*Autographa* spp.), 玉米蛀茎褐夜蛾 (*Busseola fusca*), 干果斑螟 (*Cadra cautella*), *Carposina nipponensis*, 二化螟 (*Chilo* spp.), 色卷蛾 (*Choristoneura* spp.), *Clysia ambiguella*, 纵卷叶野螟 (*Cnaphalocrocis* spp.), 卷蛾 (*Cnephasia* spp.), 细卷蛾 (*Cochylis* spp.), 鞘蛾 (*Coleophora* spp.), *Crocidolomia binotalis*, 苹果
- 10 异形小卷蛾 (*Cryptophlebia leucotreta*), 小卷蛾 (*Cydia* spp.), 灰杆草螟 (*Diatraea* spp.), 展叶松夜蛾 (*Diparopsis castanea*), 实蛾 (*Earias* spp.), 干果斑螟 (*Ephestia* spp.), 白小卷蛾 (*Eucosma* spp.), *Eupoecilia ambiguella*, 茶黄毒蛾 (*Euproctis* spp.), 切根虫 (*Euxoa* spp.), 小食心虫 (*Grapholita* spp.), *Hedya nubiferana*,
- 15 夜蛾 (*Heliothis* spp.), 菜心野螟 (*Hellula undalis*), 美国白蛾 (*Hyphantria cunea*), 茄茎麦蛾 (*Keiferia lycopersicella*), 旋纹潜蛾 (*Leucoptera scitella*), 细蛾 (*Lithocollethis* spp.), *Lobesia botrana*, 毒蛾 (*Lymantria* spp.), 潜蛾 (*Lyonetia* spp.), 天幕毛虫 (*Malacosoma* spp.), 甘蓝夜蛾 (*Mamestra brassicae*), 烟
- 20 草天蛾 (*Manduca sexta*), 尺蠖蛾 (*Operophtera* spp.), 玉米螟 (*Ostrinia Nubilalis*), 超小卷蛾 (*Pammene* spp.), 褐卷蛾 (*Pandemis* spp.), 小眼夜蛾 (*Panolis flammea*), 红铃麦蛾 (*Pectinophora gossypiella*), 马铃薯麦蛾 (*Phthorimaea operculella*), 小菜粉蝶日本亚种 (*Pieris rapae*), 毛连菜 (*Pieris* spp.), 菜蛾 (*Plutella xylostella*), 巢蛾 (*Prays* spp.), 白螟
- 25 (*Scirpophaga* spp.), 大螟 (*Sesamia* spp.), 长须卷蛾 (*Sparganothis* spp.), 夜蛾 (*Spodoptera* spp.), 猛透翅蛾 (*Synanthedon* spp.), 带蛾 (*Thaumetopoea* spp.), 卷叶蛾 (*Tortrix* spp.), 粉纹夜蛾 (*Trichoplusia ni*) 和巢蛾 (*Yponomeuta* spp.);
- 30 来自鞘翅目 (*Coleoptera*), 例如,
- 金针虫 (*Agriotes* spp.), 花象甲 (*Anthonomus* spp.), 甜菜隐食甲 (*Atomaria linearis*), 甜菜茎跳甲 (*Chaetocnema tibialis*),

- 象甲(*Cosmopolites* spp.), 栗象(*Curculio* spp.), 皮 (*Dermestes* spp.), 叶甲(*Diabrotica* spp.), 豆瓢虫(*Epilachna* spp.), *Eremnus* spp., 马铃薯叶甲 (*Leptinotarsa decemlineata*), 稻象 (*Lissorhoptrus* spp.), 鳃角金龟 (*Melolontha* spp.),
 5 *Orycaephilus* spp., 草莓根象甲(*Otiorhynchus* spp.), *Phlyctinus* spp., 弧丽拔(*Popillia* spp.), 跳甲 (*Psylliodes* spp.), 谷蠹 (*Rhizopertha* spp.), 金龟甲科(*Scarabeidae*), 米象(*Sitophilus* spp.), 麦蛾 (*Sitotroga* spp.), 粉虫 (*Tenebrio* spp.), 拟古谷 (*Tribolium* spp.)和皮蠹 (*Trogoderma* spp.);
- 10 来自直翅目 (*Orthoptera*), 例如,
 螞 (*Blatta* spp.), 小螞 (*Blattella* spp.), 蝼蛄 (*Gryllotalpa* spp.), 马德拉蜚螞 (*Leucophaea maderae*), 飞蝗 (*Locusta* spp.), 大螞 (*Periplaneta* spp.), 和蚱蜢 (*Schistocerca* spp.);
- 来自等翅目 (*Isoptera*), 例如,
 15 犀白蚁 (*Reticulitermes* spp.);
- 来自啮虫目 (*Psocoptera*), 例如,
 书虱 (*Liposcelis* spp.);
- 来自虱目 (*Anoplura*), 例如,
 血虱 (*Haematopinus* spp.), 长颚虱 (*Linognathus* spp.), 虱
 20 (*Pediculus* spp.), 天疱疮 (*Pemphigus* spp.) 和根瘤蚜 (*Phylloxera* spp.);
- 来自食毛目 (*Mallophaga*), 例如
Damalinea spp. 和啮毛虱 (*Trichodectes* spp.);
- 来自缨翅目 (*Thysanoptera*), 例如,
 25 花蓟马 (*Franklinella* spp.), 条蓟马 (*Hercinothrips* spp.), 带蓟马 (*Taeniothrips* spp.), 蓟马 (*Thrips palmi*), 烟蓟马 (*Thrips tabaci*) 和 非洲桔硬蓟马 (*Scirtothrips aurantii*);
- 来自异翅亚目 (*Heteroptera*), 例如,
 臭虫 (*Cimex* spp.), 可可瘤盲蝽 (*Distantiella theobroma*),
 30 蛇莓 (*Dysdercus* spp.), *Euchistus* spp., 扁盾蝽 (*Eurygaster* spp.), 稻缘蝽 (*Leptocorisa* spp.), 绿蝽 (*Nezara* spp.), 网蝽 (*Piesma* spp.), 长红猎蝽 (*Rhodnius* spp.), 可可褐盲蝽

(*Sahlbergella singularis*), 黑蝽 (*Scotinophara* spp.) 和 锥蝽 (*Triatoma* spp.);

来自同翅目 (*Homoptera*), 例如,

绵粉虱 (*Aleurothrixus floccosus*), *Aleyrodes brassicae*, 圆
5 盾蚧 (*Aonidiella* spp.), 蚜科 (*Aphididae*), 蚜 (*Aphis* spp.),
圆盾蚧 (*Aspidiotus* spp.), 团扇芥 (*Bemisia tabaci*), 蜡蚧
(*Ceroplaster* spp.), 茶褐圆蚧 (*Chrysomphalus aonidium*),
蔷薇软蚧 (*Chrysomphalus dictyospermi*), 褐软蚧 (*Coccus
hesperidum*), 微叶蝉 (*Empoasca* spp.), 苹果绵蚜 (*Eriosoma
10 larigerum*), 斑叶蝉 (*Erythroneura* spp.), *Gascardia* spp., 飞
虱 (*Laodelphax* spp.), *Lacanium comi*, 牡蛎盾蚧 (*Lepidosaphes*
spp.), 长管蚜 (*Macrosiphus* spp.), 瘤蚜 (*Myzus* spp.), *Nehoteftix*
spp., 飞虱 (*Nilaparvata* spp.), *Paratoria* spp., 瘦绵蚜
(*Pemphigus* spp.), 粉蚧 (*Planococcus* spp.), 白蚧
15 (*Pseudaulacaspis* spp.), 粉蚧 (*Pseudococcus* spp.), 木虱
(*Psylla* spp.), *Pulvinaria aethiopica*, 圆盾蚧
(*Quadraspidiotus* spp.), 缢管蚜 (*Rhopalosiphum* spp.), 蝥
蚧 (*Saissetia* spp.), 叶蝉 (*Scaphoideus* spp.), 二叉蚜
(*Schizaphis* spp.), *Sitobion* spp., 温室粉虱 (*Trialeurodes
20 vaporariorum*), *Trioza erytreae* 和 桔盾蚧 (*Unaspis citri*);

来自膜翅目 (*Hymenoptera*), 例如,

Acromyrmex, 切叶蚁 (*Atta* spp.), 茎锯蜂 (*Cephus* spp.),
叶蜂 (*Diprion* spp.), 锯节叶蜂科 (*Diprionidae*), 云杉叶蜂
(*Gilpinia polytoma*), 实蜂 (*Hoplocampa* spp.), 黑蚁 (*Lasius
25 spp.*), *Monomorium pharaonis*, 锯角叶蜂 (*Neodiprion* spp.), 水
蚁 (*Solenopsis* spp.) 和 胡蜂 (*Vespa* spp.);

来自双翅目 (*Diptera*), 例如,

伊蚊 (*Aedes* spp.), *Antherigona soccata*, *Bibio hortulanus*,
红头丽蝇 (*Calliphora erythrocephala*), 蜡实蝇 (*Ceratitis* spp.),
30 金蝇 (*Chrysomya* spp.), 库蚊 (*Culex* spp.), 黄蝇 (*Cuterebra*
spp.), 大实蝇 (*Dacus* spp.), 果蝇 (*Drosophila melanogaster*),
厕蝇 (*Fannia* spp.), 胃蝇 (*Gastrophilus* spp.), 舌蝇 (*Glossina*

spp.), 皮蝇 (Hypoderma spp.), Hyppobosca spp., 潜叶蝇 (Liriomyza spp.), 绿蝇 (Lucilia spp.), 潜蝇 (Melanagromyza spp.), 舍蝇 (Musca spp.), 狂蝇 (Oestrus spp.), Orseolia spp., 瑞典麦秆蝇 (Oscinella frit), 黎泉蝇 (Pegomyia hyoscyami), 麦
5 蝇 (Phorbia spp.), 苹果实蝇 (Rhagoletis pomonella), 潭蝇 (Sciara spp.), 螫蝇 (Stomoxys spp.), 虻 (Tabanus spp.), Tannia spp. 稻大蚊 (Tipula spp.),

来自蚤目 (Siphonaptera), 例如,

角叶蚤 (Ceratophyllus spp.) 和东方鼠蚤 (Xenopsylla
10 cheopis) 和来自婴尾目 (Thysanura), 例如,

西洋衣鱼 (Lepisma saccharina) 。

在本发明的各实施方案中, 以有效量对种子施用一种或几种杀昆虫剂的联合; 即, 足以对种子和/或从种子长成的植株的枝和叶提供保护作用的量。如这里使用的, 与未处理的种子或未处理种子长成的植株
15 相比, 对于处理的种子或处理过的种子长成的植株来说, 如果害虫侵染 (DAI) 之后第十天对种子和/或枝和叶的摄食损害被减小, 则实现了 "保护作用"。在优选的实施方案中, 本发明的组合物的出人意料的优点是组合物杀虫剂成分协同作用。如这里使用的, 当说到证明其联合有 "协同作用", 意思是本发明的方法 (使用杀虫剂联合) 处理种子对种子
20 和/或从种子长成的植株的枝和叶提供保护作用的程度好于以分别施用组合物各成分提供的保护作用为基础预期的保护作用的程度。

实施例中详细描述了计算特定杀虫剂联合是否提供协同程度的抗害虫的保护作用的方法。但是, 简要地说, 可以根据 Colby, Robert. S., Weeds, 15(1): 20-22 (1967) 所述计算杀虫剂联合物是否提供抗切根
25 虫损害的保护作用的协同作用。联合的协同作用的阈值 (以占对照的百分比表示) 计算为 $= (\text{处理 A 占对照的百分比}) * (\text{处理 B 占对照的百分比}) / 100(n-1)$; 其中 n = 组合物中活性成分数。比计算的阈值小测定的占对照的百分比表明组合物的协同作用。

当这里提到 "保护作用的程度" 时, 意思是包括相对于对未处理种子
30 和植物引起损害的量来说目标害虫对用给定量杀虫剂处理过的种子 (和从中萌芽的植株) 引起的损害的量。但是 "保护作用的程度" 也可以指受处理影响的目标害虫的不同类型的数目和保护作用的时间长

度。换句话说, 保护作用程度的协同包括在降低水平的活性成分下出人意料的保护作用, 以及抵抗出人意料宽范围各种害虫的保护作用, 或者出人意料长时间 (或者特别有效的) 的保护作用。

对植物枝和叶提供保护作用的本发明杀虫剂组合物的量取决于特定杀虫剂联合, 组合物中活性成分的浓度, 施用的制剂的性质, 种子类型, 和目标害虫。如这里使用的, 有效对种子和/或植物的枝和叶提供保护作用以抵抗害虫损害的组合物是提供这样的保护作用的所述杀虫剂的最低量。假设组合物由 100% 活性成分组成, 则, 一般情况下, 使用的本发明的组合物的量范围是种子重量的大约 0.005% - 25%, 更优选大约 0.01 % 至大约 10%。更优选范围是活性成分相对种子重量是 0.01 % - 1 %, 甚至更优选范围是 0.05% - 0.5%。

本发明的组合物各自由至少两种杀虫剂化合物组成, 例如表 1 中及其附近的文字中描述的组合物。当使用两种成分时, 两种杀虫剂的重量比是 1:1000 至 1000:1。但是优选两种杀虫剂重量比范围是 1:100 至 100:1, 更优选范围是 1:10 至 10:1, 还有更优选是 1:3 至 3:1。

在本发明方法中, 对转基因玉米种子施加杀虫剂的联合。尽管相信本发明方法可以适用任何生理状态的转基因玉米种子, 但是优选种子处于一个足够耐受的状态, 在处理过程中不蒙受损害。典型地, 所述种子是从大田收获的种子; 离开植物的; 和离开玉米穗、茎、外壳、和包围的果肉, 或者其它非种子植物材料。种子还优选生物学稳定性达到处理对种子不引起生物学损伤的程度。在一个实施方案中, 例如, 对收获的经清理的干燥后含湿量低于大约 15 重量%的玉米种子施加处理。在另一个实施方案中, 种子可以是干燥之后用水和/或其它材料处理, 然后在用杀虫剂处理之前或期间再次干燥的种子。在上述限度之内, 相信处理适用于种子收获和种子播种期间任何时间的种子。如这里使用的, 术语"没有播种的种子" 意在包括种子收获和为植物的发芽和生长而在地中播种期间任何时间的种子。

当说到用杀虫剂 "处理" 没有播种的种子时, 这样的处理不包括对土壤而不是对种子施用杀虫剂的那些操作。例如, 在播种种子的同时在区域, "T"-区, 或者犁沟中施用杀虫剂这样的处理不认为是包括在本发明中。

包含杀虫剂的联合的组合物可以以其本身施用, 即, 没有任何稀释

成分或附加成分存在。但是,组合物一般以杀虫剂制剂形式对种子施用。这种制剂可以含有一种或多种其它期望的成分,包括但不限于液体稀释剂,作为杀虫剂的基质的粘合剂,在应激条件下保护种子的填料,提高包衣的柔性,粘合力和/或扩散能力的增塑剂。另外,对于含有极少或者不含填料的油性杀虫剂制剂,可能会期望向制剂加入干燥剂,例如碳酸钙,高岭土或膨润土粘土,珍珠岩,硅藻土或者任何其它吸附材料。在种子处理中使用这样的成分是本领域公知的。参见,例如美国专利 No. 5,876,739。技术人员根据要处理的种子的类型和选择的特殊杀虫剂,容易选择在杀虫剂制剂中使用的期望的成分。另外,可以使用已知杀虫剂的容易购得的商售制剂,如下面实施例中证明的。

可以用下面成分的一种或多种处理种子:其它杀虫剂,包括只在地下作用的化合物;杀真菌剂,例如克菌丹,福美双,甲霜灵,咯菌腈,恶霜灵,和各种所述物质的异构体等,除草剂,包括选自氨基甲酸酯类,硫代氨基甲酸酯类,乙酰胺类,三嗪类,二硝基苯胺类,甘油醚类,吡啶酮类,尿嘧啶类,苯氧基化合物类,脲类,和苯甲酸类的化合物;除草安全剂,例如氧氟杂萘,二苯甲基衍生物,N,N-二丙烯基二氯乙酰胺,各种二卤代酰基,恶唑烷基和噻唑烷基化合物,乙烷酮(ethanone),萘二甲酸酐化合物,和胍衍生物;肥料;和生物控制剂,例如天然存在的或重组细菌和来自根瘤菌属,芽孢杆菌属,假单胞菌属,沙雷氏菌属,木霉属,球菌属,胶球菌属和菌根真菌的真菌。这些成分可以作为分开的层加到种子上或者可以作为杀虫剂组合物的一部分加入。

优选地,种子处理中使用的新的组合物或其它成分的量应该不抑制种子的发芽,或者对种子引起抑制植物生长的损害。

本发明的组合物可以是下面的形式:混悬剂;乳剂;含水介质(例如水)中颗粒浆液;可湿润粉末剂;可湿润颗粒剂(干燥可流动的);和干燥颗粒。如果配制成混悬剂或浆液,制剂中活性成分的浓度优选是大约 0.5 重量%至大约 99 重量% (w/w), 优选 5-40%。

如上所述,可以向制剂中掺入其它常规无活性或惰性成分。这样的惰性成分包括但不限于:常规粘着剂,分散剂例如甲基纤维素(Methocel A15LV 或 Methocel A15C,例如,作为用于种子处理的混合

的分散剂/粘着剂), 聚乙烯醇(例如, Elvanol 51-05), 卵磷脂(例如, Yelkinol P), 聚合物分散剂(例如, 聚乙烯吡咯烷酮/乙酸乙烯酯 PVP/VA S-630), 增稠剂(例如, 提高粘度并且减少颗粒悬浮液的沉积的粘土增稠剂例如 Van Gel B), 乳液稳定剂, 表面活性剂, 抗冻化合物(例如, 尿素), 颜料, 着色剂, 等等。本发明中使用的其它惰性成分可以参见 McCutcheon's, vol. 1, "Emulsifiers and Detergents," MC Publishing Company, Glen Rock, N. J., U. S. A., 1996。本发明中使用的附加惰性成分可以参见 McCutcheon's, vol. 2, "Functional Materials," MC Publishing Company, Glen Rock, N. J., U. S. A., 1996。

通过任何标准的种子处理方法可以对种子施用本发明的杀虫剂、杀虫剂联合的组合物和制剂, 包括但不限于在容器(例如瓶子或袋)中混合, 机械施用, 鼓转, 喷雾, 和浸渍。任何常规活性或惰性材料可以用于使本发明的杀虫剂与种子接触, 例如常规包膜材料, 包括但不限于例如 Sepiret (Seppic, Inc., Fairfield, N.J.) 和 Opacoat (Berwind Pharm. Services, Westpoint, Pa.) 这样的水基包膜材料。

本发明的杀虫剂可以作为种子包衣的成分对种子施用。当通过加入本发明的杀虫剂的混合物的实施方案之一予以改变时, 本领域公知的种子包被方法和组合物是有用的。用于其应用的所述包被方法和设备公开于, 例如, 美国专利 Nos. 5, 918, 413, 5, 891, 246, 5, 554, 445, 5, 389, 399, 5, 107, 787, 5, 080, 925, 4, 759, 945 和 4, 465, 017。种子包被组合物公开于, 例如, 美国专利 Nos. 5, 939, 356, 5, 882, 713, 5, 876, 739, 5, 849, 320, 5, 834, 447, 5, 791, 084, 5, 661, 103, 5, 622, 003, 5, 580, 544, 5, 328, 942, 5, 300, 127, 4, 735, 015, 4, 634, 587, 4, 383, 391, 4, 372, 080, 4, 339, 456, 4, 272, 417 和 4, 245, 432。

有用的种子包衣含有一种或多种粘合剂和至少一种本发明的杀虫剂混合物。

本发明中使用的粘合剂优选包括可以是天然的或合成的并且对要包被的种子没有抑制植物生长作用的粘合剂聚合物。粘合剂可以选自聚乙酸乙烯酯; 聚乙酸乙烯酯共聚物; 乙烯乙酸乙烯酯共聚物(EVA); 聚乙烯醇; 聚乙烯醇共聚物; 纤维素, 包括乙基纤维素, 甲基纤维素,

羟甲基纤维素,羟丙基纤维素和羧甲基纤维素;聚乙烯吡咯烷酮;多糖,包括淀粉,改性的淀粉,糊精,麦芽糊精,藻酸盐和壳多糖;脂肪;油;蛋白质,包括明胶和玉米醇溶蛋白;阿拉伯胶;虫胶;亚乙烯基氯和亚乙烯基氯共聚物;木素磺化钙;丙烯酸共聚物;聚丙烯酸乙酯;聚环氧乙烷;丙烯酰胺聚合物和共聚物;聚丙烯酸羟乙酯,甲基丙烯酰胺单体;和聚氯丁烯。

优选选择粘合剂使得其可以作为本发明杀虫剂联合的基质。上面公开的粘合剂都可以用作基质,具体的粘合剂取决于杀虫剂组合的性质。这里使用的术语"基质"意思是一种或几种粘合剂化合物的连续固相,本发明一种或多种杀虫剂通过该连续固相分布为不连续相。任选地,基质中也可以存在填料和/或其它成分。术语基质理解是包括可以被看作是基质体系,贮存体系或微胶囊体系。一般情况下,基质体系由本发明的杀虫剂和不均匀分布在聚合物中的填料组成,而贮存体系由包括本发明杀虫剂的分开的相。(其物分散在周围环境中,限速。)和聚合物相组成。微胶囊包括小颗粒或液滴包衣,还有固相基质中的分散物。

包衣中粘合剂的量可以变化,但是在种子重量的大约 0.01 至大约 25%范围内,更优选大约 0.05 至大约 15%,甚至更优选大约 0.1%至大约 10%。

如上所述,基质可以任选地包括填料。填料可以是吸收剂或惰性填料,例如本领域公知的,并且可以包括木屑,粘土,活性炭,糖,硅藻土,谷粉,细谷粒无机固体,碳酸钙,等。可以使用的粘土和无机固体包括膨润土钙,高岭土,中国粘土,滑石,珍珠岩,云母,蛭石,硅酸盐,石英粉,蒙脱石及其混合物。可以使用的糖包括糊精和麦芽糊精。谷粉包括小麦粉,燕麦粉和大麦粉。

选择填料使得其为种子提供合适的微环境,例如使用填料提高活性成分装载比例和调节活性成分的控制释放。填料有助于包被种子的生产和对种子包被的过程。填料的量可以不同,但一般填料成分的重量是在种子重量的大约 0.05 至大约 75%的范围内,更优选大约 0.1 至大约 50%,甚至更优选大约 0.5% 至 15%。

包衣中使用的杀虫剂是这里描述的那些杀虫剂。用于处理种子的杀虫剂的量根据种子的类型和活性成分的类型而不同,但是处理包括使

种子接触杀虫有效量的杀虫剂。当昆虫是目标害虫时,该量是杀昆虫有效量的杀虫剂的量。如这里使用的,杀昆虫有效量意思是杀死生长的幼虫或蛹状态的昆虫害虫,或者持续降低或延迟昆虫害虫产生的损害的量的杀虫剂的量。一般情况下,包衣中杀虫剂的量范围是种子重量的大约 0.005 至大约 50%。杀虫剂更优选的范围是大约 0.01 至大约 40%;更优选是大约 0.05 至大约 20%。

本领域技术人员容易确定包衣中含有的杀虫剂联合的精确量,并且根据要包被的种子的尺寸而改变。包衣的杀虫剂一定要不抑制种子发芽,并且应该在目标昆虫对种子或植株引起损害的目标昆虫生长周期的那段时间内对保护种子和/或植物是有效的。一般情况下,播种之后大约 0-120 天包衣是有效的。

在允许高杀虫剂负荷量下包衣是特别有效的,这要求处理典型的顽固性害虫,例如玉米根蠕虫,而且同时防止了由于提高的杀虫剂负荷量带来的不可接受的植物毒性。

任选地,在包衣制剂中可以使用增塑剂。一般使用增塑剂使包衣层形成的膜更有柔顺性,来提高粘着性和扩散性,来提高加工速度。提高的膜的柔顺性对于将,贮存、处理或播种过程期间的破碎、破坏或剥落最小化是重要的。可以使用很多增塑剂,但是有用的增塑剂包括聚乙二醇,甘油,邻苯二甲酸丁基苄酯,苯甲酸乙二醇酯和相关的化合物。包衣层中增塑剂的范围在大约 0.1 至大约 20%重量比范围内。

当包衣中使用的杀虫剂是油型制剂并且存在极少或不存在的填料时,通过将制剂干燥来加快干燥过程是有用的。任选的步骤可以通过本领域公知的方法来完成,并且可以包括添加碳酸钙,高岭土或膨润土粘土,珍珠岩,硅藻土,或者优选与杀虫剂包衣层一起加入的吸收油或过量湿度的吸收材料。有效提供干燥包衣所需要的碳酸钙或相关化合物的量在种子重量的大约 0.5 至大约 10% 范围内。

与杀虫剂的联合形成的包衣优选是能通过从基质扩散或移动到周围介质中而有效延缓杀虫剂释放速度的类型。

包衣几乎可以对这里描述的所有的作物种子施用,包括谷物,蔬菜,装饰植物和水果。

除了包衣层之外,可以用下面成分的一种或几种处理种子:其它杀虫剂,包括杀真菌剂和除草剂;除草安全剂;肥料和/或生物控制剂。

这些成分可以作为分开的层加入，或者可以在杀虫剂包衣层中加入。

应用常规包被技术和机器可以对种子施用杀虫剂制剂，例如流化床技术，滚轴研磨方法，旋转式种子处理机，和转筒包被机。也可以使用其它方法，例如喷射床。可以在包被之前将种子按大小分开。包被之后，一般将种子干燥后转移到用于筛分的筛分机。这样的过程是本领域公知的。

也可以用一层膜在双重包被杀虫剂处理过的种子以保护杀虫剂包衣。这样的双重包被是本领域公知的并且可以应用流化床和转筒膜包被技术来实施。

在本发明的另一个实施方案中，利用固体基质填充可以将杀虫剂加到种子上或导入种子中。例如，一定量的杀虫剂可以与固体基质材料混合，然后使种子接触固体基质材料一段时间对种子引入杀虫剂。然后任选地将种子与固体基质材料分开并且贮存或使用，或者固体基质材料加种子的混合物可以被贮存或者直接播种。本发明中使用的固体基质材料包括聚丙烯酰胺，淀粉，粘土，二氧化硅，矾土，土壤，沙子，聚脲，聚丙烯酸酯，或者能吸收或吸附杀虫剂一段时间并且将杀虫剂释放到种子中或种子上的任何其它材料。确定杀虫剂与所述固体基质材料彼此兼容是有用的。例如，应该选择固体基质材料 使得其能够以合理的速度释放杀虫剂，例如经过几分钟，几小时或几天。

本发明进一步实施了作为用杀虫剂处理种子的另一种方法的抑制。例如，植物种子可以与在溶剂例如水中含有大约 1 重量%至大约 75 重量%的杀虫剂的溶液混合一段时间。优选地，该溶液浓度是大约 5 重量%至大约 50 重量%，更优选大约 10 重量%至大约 25 重量%。种子与溶液混合期间，种子吸收（浸渗）了一部分杀虫剂。任选地，可以例如通过振荡，旋转，上下颠倒或其它方式搅拌植物种子和溶液的混合物。浸渗之后，从溶液中分出种子并且任选地干燥，例如通过轻拍或风干。

在另一个实施方案中，粉末化杀虫剂可以直接与种子混合。任选地，可以使用粘着剂让粉末粘附种子表面。例如，一定量的种子可以混合粘着剂，并且任选地剧烈搅拌以利于用粘着剂对种子均匀涂层。然后将粘着剂包被的种子与粉末杀虫剂混合。可以例如通过上下颠倒来搅拌混合物，以利于粘着剂接触粉末杀虫剂，从而使得粉末杀虫剂粘附于种子。

本发明还提供了通过上述方法处理过的种子。

本发明的处理过的种子可以以和常规处理过的玉米种子一样的方式用于玉米植株的繁殖。可以以任何其它杀虫剂处理过的种子一样的方式保存，处理，播种和耕种处理过的种子。采用合适的安全性量
5 度来限制处理过的种子接触人，食物或饲料，水和鸟以及野生或家养动物。

下面的实施例描述了本发明的优选实施方案。考虑到这里公开的本发明的说明书或实施方案，权利要求书范围内的其它实施方案对于本领域技术人员是显而易见的。说明书和实施例的目的只是举例说明性的，
10 实施例后面的权利要求书指明本发明的范围和精神。

参考实施例 1

该实施例比较了使用 λ -格林奈(CAS# 91465-08-6)的种子处理和使用七氟菊酯(CAS# 79538-32-2)土壤颗粒处理抵抗黑切根虫幼虫对
15 枝和叶摄食损害的效力。

通过用作为载体的水稀释含有作为活性成分的 11.4% λ -格林奈的 WARRIOR®T 杀虫剂(Zeneca Ag Products, Wilmington, Del.)来制备 λ -格林奈种子处理制剂。以每 100 千克种子 125 g, 250 g 或 500 g 活性成分(AI)的比例在旋转式种子处理机中在室温下用该制剂处理
20 25 克 Pioneer 玉米种子(Cultivar PN3394) 1 分钟。在播种之前使处理过的种子敞口放置 4 小时至 24 小时。

在 6 组小盆(20 英寸长×15 英寸宽×8 英寸深)中在 Dupo 淤泥土壤, 30% Perlite, 20%粗沙(WB-10 级)组成的土壤混合物中种植处理的和没有处理的种子(Pioneer 杂交种 PN3394)。每个小盆种植 12 个种
25 子,对每一种处理方案种植三个小盆。对两组含未处理种子的小盆土壤施用 FORCE®3GR, 其含有 3% 七氟菊酯颗粒作为活性成分。或者在犁沟中施用 FORCE 3GR 或者在播种时将 FORCE 3GR 掺入到土壤表面的 5 英寸带中。从上灌溉小盆直到植物侵染了黑色切根虫幼虫。

以每公顷活性成分的克数为单位(g/ha)报告 FORCE 3GR 施用比
30 例,同时以每 100 千克种子活性成分克数为单位(g/100 kg)报告对种子施用 WARRIOR T 的比例。虽然这些单位之一向另一种的转换将根据使用的种子的类型,种子的大小和重量,使用的播种密度等不同,可

- 以如下进行玉米种子的大致转换。假设 λ -格林奈对种子的施用比例是，例如，125 g/100 kg 种子，并且播种密度是 15 lbs 种子/ac，大约 14.7 英亩播种 100 kg 种子。这是每英亩大约 8.5 g λ -格林奈的有效施用比例。在 2.47 ac/ha 下，125 g/ 100 kg 种子处理水平
- 5 大约等于大约 21 g/ha 表面带处理。

播种之后 (DAP) 第 12 天但是在侵染之前，通过观察出苗情况，高度和外观将每一株植株的总的健康状况分等级。活力的分级是种子或土壤处理的所有植物毒性的指征。等级 1 表示非常低的活力，而 10 是最高活力等级。

- 10 在 12 DAP，相当于晚生长期 V1，通过在接近植株基底的土壤表面上放置两个 3/4 龄黑切根虫幼虫使玉米植株被侵染。在侵染之后第 3, 7 和 10 天 (DAI) 通过被切植株的数目以及叶摄食的损害对植株分级。通过被切植株数目除以侵染时存在的植株的数目计算由于植株被切导致的站立减少百分数。使用 1 = 没有损害和 10 = 完全落叶的分级
- 15 标准评价叶摄食损害。下面的表 2 给出了对于每一个处理方案三个小盆的平均结果。

表 2

 λ -格林奈种子处理抵抗黑切根虫对玉米的摄食损害的功效

处理方案	第12DAP时的活力	第3DAI站立减少百分数%	第3DAI时植株落叶	第7DAI站立减少百分数%	第7DAI时植株落叶	第10DAI时站立减少百分数%	第10DAI时植株落叶
无	8.0	72.8	9.0	94.4	9.3	100.0	10.0
λ -格林奈种子 125g/100kg	9.0	13.9	4.3	16.7	5.0	19.4	3.3
λ -格林奈种子 250g/100kg	8.3	3.0	3.7	3.0	2.7	3.0	1.7
λ -格林奈种子 500g/100kg	8.3	0.0	2.0	0.0	2.3	0.0	1.0
七氟菊酯犁沟 30g/ha	9.0	33.9	5.0	48.0	6.0	48.0	5.3
七氟菊酯带 30g/ha	8.7	0.0	1.7	0.0	1.7	0.0	0.3

这些结果表明在播种之前用λ-格林奈处理种子对玉米植株提供显著的抵抗芽/叶被黑切根虫摄食损害的保护作用。例如,使用试验最低比例(125 g/kg 种子)在 7 DAI 时,发现植物切断(种子处理的是 16.7%,未处理对照是 94%)和叶摄食损害(种子处理是 5.0,未处理对照是 9.3 等级)显著减少。另外,以 250 和 500 g/100 kg 种子的比例处理过的种子种植小盆基本上没有出现因为植物切断的站立减少(对于 250 和 500 g 情况分别是 3% 和 0%),并且只有低水平的叶损伤(对于 250 和 500 g 情况分别是 2.7 和 2.3 等级)。这样的保护水平等于七氟菊酯土壤带处理,并且优于七氟菊酯犁沟处理。在第 10 DAI 对小盆评价时,植物切断没有增加,只是与第 7 DAI 时的评价相比较,用λ-格林奈种子处理观察到稍高等级的叶摄食损害。相反,没有处理的对照小盆在第 10 DAI 时表现出 100%植株切断和完全落叶。

实施例 2

该实施例详细说明用七氟菊酯和氯硫尼定的联合处理玉米种子抵抗黑切根虫对植物的损害的效力

用含有 26.8% 七氟菊酯的 RAZE®2.5 FS 制剂(从 Wilbur-Ellis Co. 购得),和氯硫尼定, (E)-(N-[(2-氯-5-噻唑基)甲基]-N'-甲基-N''-硝基胍; CAS 登记号 210880-92-5, 制备种子处理制剂。另外,各自单独用每一种杀虫剂制备分开的种子处理制剂。根据参考实施例 1 的描述制备并处理玉米种子,除了活性成分对种子的处理水平参见表 3。如实施例 1 所述在小盆中播种处理过的和没有处理的种子并栽植。从上灌溉小盆直到植株侵染了黑色切根虫幼虫。

根据参考实施例 1 所述,在第 12 DAP 时玉米植株被侵染,侵染之后(DAI)10 天根据切断植株数目对植物评价等级。通过切断植株数目除以感染时存在的植株数目计算由于植株切断的站立减少百分数。表 3 给出了各处理方案的平均结果。

根据 Colby, Robert. S., Weeds, 15(1):20-22 (1967) 所述计算杀虫剂联合物是否提供抗切根虫损害的保护作用的协同作用。联合的协同作用的阈值(以占对照的百分比表示)计算为 $\text{阈值} = (\text{处理 A 占对照的百分比}) * (\text{处理 B 占对照的百分比}) / 100(n-1)$; 其中 n =组合物中活性成分数。比计算的阈值小测定的占对照的百分比表明组合物的协同作

用。对表 3 的每一种组合物计算协同作用的阈值,表 4 给出了各种水平的活性成分组合物的协同作用的阈值。

表 3: 使用七氟菊酯,氯硫尼定和两者的联合处理种子使玉米植物
5 抵抗黑色切根虫损害的保护作用

处理	七氟菊酯 (gm/100 kg 种子)	氯硫尼定 (gm/100 kg 种子)	站立减少(第 10 天的%)	占对照的 百分比	协同 作用
RAZE	100		93.75	93.8	
RAZE	200		95.8	95.8	
RAZE	300		87.5	87.5	
氯硫尼定		50	61.15	61.2	
氯硫尼定		100	34.38	34.4	
RAZE/CL	100	50	43.75	43.8	有
RAZE/CL	200	50	28.58	28.6	有
RAZE/CL	300	50	25	25	有
RAZE/CL	100	100	9.38	9.4	有
RAZE/CL	200	100	25	25	有
RAZE/CL	300	100	15.63	15.6	有
未处理的对照	0	0	100		

表 4: 联合的协同作用阈值矩阵(占对照的百分比)

	RAZE, 100	RAZE, 200	RAZE, 300
氯硫尼定, 50	57.3	58.6	53.5
氯硫尼定, 100	32.2	32.9	30.1

10

在试验的每一联合水平下,RAZE/氯硫尼定的联合表现出抵抗黑切根虫对植株损害的协同作用。比预计阈值小的作为对照的百分比的站立减少值指示这一结果。例如,对于 100/100 RAZE/CL (七氟菊酯/

氯硫尼定)联合(两者的量度都是以每 100 千克种子的活性成分的克数报告), 作为对照的百分比的实际站立减少是 9.4%, 而以各杀虫剂分别提供的保护作用程度为基础预计的值是 32.3%。因此, 该水平的两种杀虫剂表现强度协同作用。

- 5 综上所述, 可以看到, 实现了本发明的几个优点, 获得了其它有益结果。

不超出本发明的范围在上述方法和组合物中可以进行各种各样的变化, 上面的描述和附图所示所有的内容只是为了详细说明而不是限制的意思。

- 10 这里对参考的讨论只是概述它们的作者的主张, 没有主张任何参考文献构成现有技术。申请人保留对引述的参考文献的精确性和相关性怀疑的权利。