

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101500414 B

(45) 授权公告日 2013.02.20

(21) 申请号 200780030009.5

(22) 申请日 2007.06.18

(30) 优先权数据

60/815,197 2006.06.19 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009.02.12

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2007/071467 2007.06.18

(87) PCT申请的公布数据

W02007/149817 EN 2007.12.27

(73) 专利权人 加利福尼亚大学董事会

地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 J·O·贝克尔

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 张敏

(51) Int. Cl.

A01N 25/26 (2006.01)

A01N 25/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 1360829 A, 2002.07.31, 全文.

US 2005147633 A1, 2005.07.07, 全文.

CN 1439263 A, 2003.09.03, 全文.

周春娜等. 浅谈植物寄生线虫生物防治研究  
进展.《中国植保导刊》.2004,(第08期),全文.

审查员 田瑞增

权利要求书 3 页 说明书 24 页 附图 1 页

(54) 发明名称

生物控制剂与杀线虫种子包衣的组合

(57) 摘要

本发明提供至少一种生物控制剂和至少一种  
杀线虫剂的组合以增强植物保护对抗害虫和病原  
体。

1. 处理植物的方法,所述方法包括将包含杀线虫剂的农药组合物应用至植物繁殖材料,其中所述杀线虫剂是阿维菌素类;并且将至少一种选自巴斯德菌属 (*Pasteuria* spp.) 的对抗线虫的生物控制剂施用至植物繁殖材料或植物的种植媒介。

2. 改善植物的移栽健康的方法,包括对植物繁殖材料应用包含至少一种杀线虫剂的农药组合物,其中所述杀线虫剂是阿维菌素类;并且在移栽植物之前将至少一种对抗线虫的生物控制剂施用至植物繁殖材料或植物的种植媒介,其中所述生物控制剂选自巴斯德菌属 (*Pasteuria* spp.)。

3. 权利要求 1 或 2 的方法,其中对植物繁殖材料应用农药组合物的步骤包括用所述农药组合物处理所述植物的种植媒介。

4. 权利要求 1 或 2 的方法,其中对所述植物繁殖材料应用农药组合物的步骤包括使用农药组合物处理所述植物繁殖材料。

5. 权利要求 1 或 2 的方法,其中所述阿维菌素类为阿维菌素。

6. 根据权利要求 1 或 2 的方法,其中所述植物繁殖材料为种子。

7. 根据权利要求 1 或 2 的方法,其中应用至少一种生物控制剂的步骤包括在种植前使用至少一种生物控制剂处理所述植物繁殖材料。

8. 根据权利要求 1 或 2 的方法,其中应用至少一种对抗线虫的生物控制剂的步骤包括用所述至少一种生物控制剂接种所述植物的种植媒介。

9. 权利要求 8 的方法,其中使用至少一种生物控制剂接种种植媒介的步骤在种植所述植物繁殖材料之前进行。

10. 权利要求 8 的方法,其中使用生物控制剂接种所述种植媒介的步骤在种植所述植物繁殖材料时进行。

11. 根据权利要求 1 或 2 的方法,进一步包括应用第二种生物控制剂。

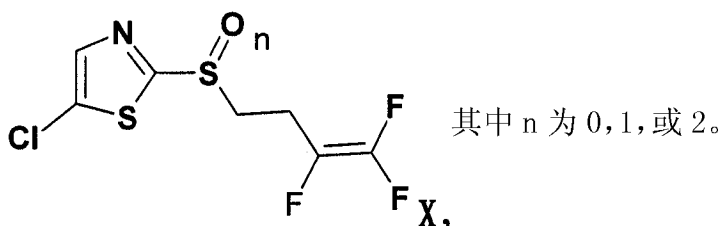
12. 权利要求 11 的方法,其中所述第二种生物控制剂为一种内寄生真菌。

13. 权利要求 11 的方法,进一步包括应用第二种细菌作为第二种生物控制剂。

14. 根据权利要求 1 或 2 的方法,其中农药组合物包含所述至少一种生物控制剂对其有抗性的至少一种杀真菌剂。

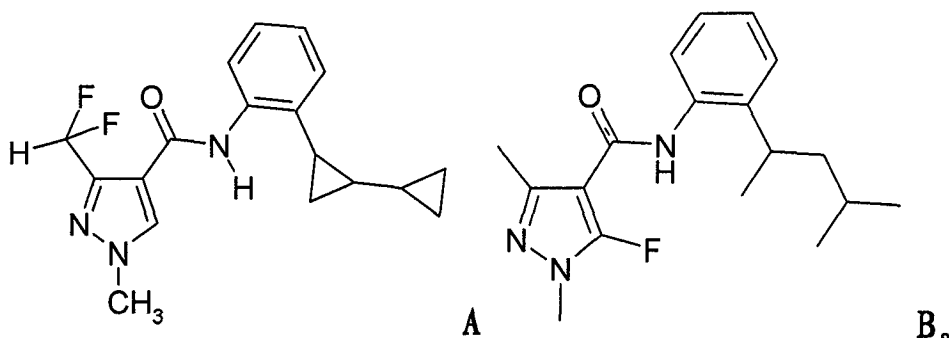
15. 根据权利要求 1 或 2 的方法,其中所述农药组合物包含至少一种额外的杀虫剂、杀线虫剂、杀螨剂或杀螺剂。

16. 权利要求 15 的方法,其中所述至少一种额外的杀虫剂、杀线虫剂、杀螨剂或杀螺剂选自涕灭威、thiadicarb、杀线威、灭多虫、氰亚胺、啉虫脒、硝基亚甲基烯啉虫胺、噻虫胺、乐果、呋虫胺、氟虫腈、虱螨脲、吡丙醚、噻虫啉、氟草肟、吡虫啉、噻虫嗪、 $\beta$  氟氯氰菊酯、苯氧威、 $\lambda$  氯氟氰菊酯、丁醚脲、吡蚜酮、二嗪农、乙拌磷、丙溴磷、呋线威、灭蝇胺、氯虫酰胺 (Rynaxapyr)、氯氟菊酯、 $\tau$ -氟胺氰菊酯、七氟菊酯、苏芸金杆菌产物和式 X 的化合物



17. 权利要求 15 的方法,其中所述农药组合物进一步包含至少一种额外的杀真菌剂。

18. 权利要求 17 的方法, 其中所述额外的杀真菌剂选自嘧菌酯、苯醚甲环唑、咯菌腈、氟嘧菌酯、肟醚菌胺、烯炔菌酯、甲霜灵、R- 甲霜灵、精甲霜灵、腈菌唑、克菌丹、涕必灵、甲基硫菌灵、福美双、苯并噻二唑、啉氧菌酯、肟菌酯、式 A 的化合物和式 B 的化合物, 或下式代表的各化合物互变异构体:



19. 包含农药控制剂的联合组合物, 所述农药控制剂包括有效量的至少一种杀线虫剂, 其中所述杀线虫剂是阿维菌素类, 和有效量的至少一种选自巴斯德菌属 (*Pasteuria* spp.) 的生物控制剂。

20. 权利要求 19 的联合组合物, 其中所述阿维菌素类为阿维菌素。

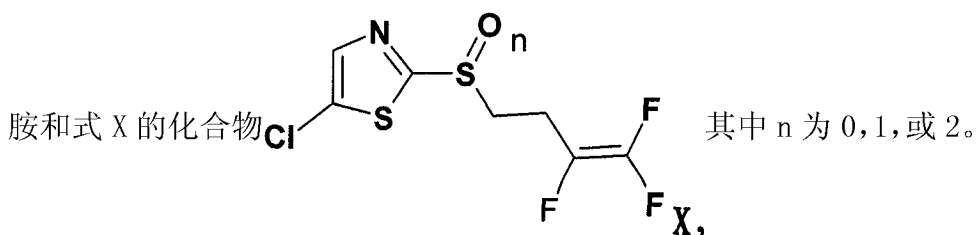
21. 根据权利要求 19 或 20 的联合组合物, 其中所述至少一种生物控制剂为对抗线虫的生物控制剂。

22. 根据权利要求 19 的联合组合物, 进一步包含已经被施用农药控制剂和生物控制剂的植物。

23. 权利要求 22 的联合组合物, 进一步包含种植媒介, 其中所述组合物包含在容器中。

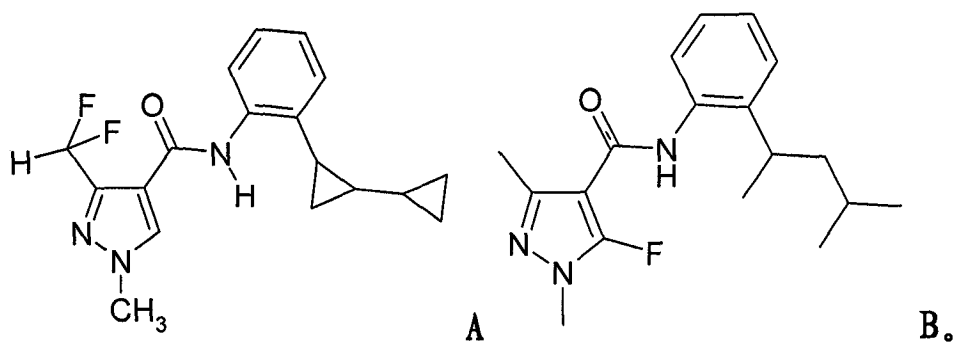
24. 根据权利要求 19 的联合组合物, 其中所述农药组合物包含至少一种额外的杀虫剂、杀线虫剂、杀螨剂或杀螺剂。

25. 权利要求 24 的的联合组合物, 其中所述至少一种额外的杀虫剂、杀线虫剂、杀螨剂和 / 或杀螺剂选自涕灭威、thiadicarb、杀线威、灭多虫、氰亚胺、啉虫脒、硝基亚甲基烯啉虫胺、噻虫胺、乐果、呋虫胺、氟虫腈、虱螨脲、吡丙醚、氯虫酰胺 (Rynaxapyr)、噻虫啉、氟草肟、吡虫啉、噻虫嗪、 $\beta$  氟氯氰菊酯、苯氧威、 $\lambda$  氯氟氰菊酯、丁醚脲、吡蚜酮、二嗪农、乙拌磷、丙溴磷、呋线威、灭蝇胺、氯氰菊酯、 $\tau$ - 氟胺氰菊酯、七氟菊酯、苏芸金杆菌产物、氯虫酰胺



26. 根据权利要求 19 的联合组合物, 其中所述农药组合物进一步包含至少一种额外的杀真菌剂。

27. 权利要求 26 的联合组合物, 其中所述额外的杀真菌剂选自嘧菌酯、苯醚甲环唑、咯菌腈、氟嘧菌酯、肟醚菌胺、烯炔菌酯、甲霜灵、R- 甲霜灵、精甲霜灵、腈菌唑、克菌丹、涕必灵、福美双、苯并噻二唑、啉氧菌酯、肟菌酯、式 A 的化合物和式 B 的化合物, 或下式代表的各化合物互变异构体:



28. 根据权利要求 19 的联合组合物,进一步包含至少一种额外的生物控制剂。
29. 根据权利要求 19 的联合组合物,进一步包含至少一种额外的对抗线虫的生物控制剂。
30. 权利要求 29 的联合组合物,其中所述至少一种额外的对抗线虫的生物控制剂为一种内寄生真菌。
31. 权利要求 29 的联合组合物,其中所述至少一种额外的生物控制剂为第二种细菌。

## 生物控制剂与杀线虫种子包衣的组合

[0001] 本申请要求 2006 年 6 月 19 日的 U. S. 临时申请 no. 60/815, 197 的权利, 该申请在这里通过引用引入。

[0002] 植物寄生线虫在许多农业和园艺作物中造成严重的植物生产限制。内寄生线虫例如某些根结线虫或胞囊线虫的严重侵染可以导致 10% 至 50% 的产量损失。由于植物寄生线虫造成的全世界作物损失据估计已经达到每年大约为 \$800 亿。

[0003] 目前防治线虫的有害生物治理可选方案是非常有限的。土壤熏蒸剂和有效的非熏蒸杀线虫剂, 尤其是氨基甲酸酯和有机磷酸酯化合物, 由于其对用户、消费者和环境潜在的不期望影响而愈加处于受控制压力之下。其它减少植物寄生线虫数量的有效方法, 例如通过蒸汽处理使受侵染土壤接受加热, 在技术上难以应用并且田间应用成本昂贵。

[0004] 某些拌种剂具有显著的抗植物寄生线虫活性。例如, 阿维菌素类拌种剂已经表明能够有效地保护幼苗的根抵抗多种植物有害生物, 包括植物寄生线虫。与阿维菌素类保护的植物相比, 未受保护的根系表现出发育迟缓, 并且在根结线虫 (*Meloidogyne* spp.) 的情况下表现出更严重的虫瘿。这些地下的差异反映在枝条的有效高度和干重的差异上。然而, 拌种剂防止线虫入侵经常只持续相对短的时期。因此需要研制出一种制剂, 能够延长保护周期, 例如用于长生长季作物和发生多代例如线虫的有害生物的环境中。

[0005] 植物寄生线虫和其它有害生物的生物防治已经被认为是化学治理的潜在替代方法 (参见, 例如, Kerry, 1987 *Biological Control. In: Principles and practice of nematode control in crops*, R. H. Brown and B. R. Kerry, eds., pp. 233-263, Academic Press, London., 1987; 和 Stirling, *Biological control of plant parasitic nematodes*. CAB International, Wallingford, UK, 1991)。食线虫真菌是这些应用中特别令人感兴趣的。食线虫真菌通常分为两种类别: a) 产生机械或粘着陷阱的捕线虫真菌, 和 b) 通过菌丝穿透或当其分生孢子 (孢子) 被摄食或粘附在线虫表皮上时侵染线虫的内寄生真菌。过去, 在无菌土壤中施用食线虫真菌的尝试是几乎无效的。在国际市场上市售的少数产品通常具有性能差的记录。

[0006] 近年来, 研究的焦点已经从诱捕真菌转移到雌性寄生和卵寄生真菌。这些真菌或者是线虫的专性寄生物, 或者是兼性捕食者, 能够定殖在根表面和根的表皮 / 外皮组织, 但是不会对植物引起明显的伤害。它们的靶标寄主包括经济上最重要的根结线虫 (*Meloidogyne* spp.), 和胞囊线虫 (异皮线虫属 (*Heterodera* spp.), 球形胞囊线虫属 (*Globodera* spp.))。施用这些真菌作为潜在的生物防治生物体的尝试也进行了较好的文献记录 (例如, Kerry, B. R. *Journal of Nematology* 22 :621-631, 1990; Stirling, 1991, *supra*; 和 Jaffee, B. A. *Canadian Journal of Microbiology* 38 :359-364, 1992)。然而, 结果经常令人失望, 因为这些真菌一般不能保护幼苗的根抵抗内寄生线虫的二龄幼虫 (second-stage juveniles) 的侵入。

[0007] 鉴于上文所述, 需要防治线虫和其它植物害虫和病原体的改善的方法。

[0008] 本发明的实施方案包括关于增强保护植物对抗害虫 / 病原体和改善植物健康的方法和联合药剂。所述方法可以用于任何植物上, 但是在某些实施方案中, 所述方法可能特

别地用于处理苗期植物或生长在容器中的植物,例如在移栽前。

[0009] 一方面,本发明包括使用包含一种或多种杀线虫剂,例如阿维菌素类,和一种或多种生物控制剂的组合药剂处理植物的方法。因此,在一个实施方案中,本发明包括在植物中增强抗虫性的方法,所述方法包括对植物繁殖材料,例如种子,施用包含杀线虫剂的农药组合物,所述杀线虫剂例如阿维菌素类,例如而非限制,阿维菌素,并且施用至少一种生物控制剂。所述生物控制剂可以是对抗线虫的生物控制剂。

[0010] 本发明的实施方案还涉及方法,包括 (i) 使用一种或多种杀线虫剂处理植物繁殖材料,例如种子,(ii) 通常在步骤 (iii) 之前,施用一种或多种生物控制剂至植物繁殖材料的所在地,(iii) 种植或播种处理过的繁殖材料,和 (iv) 获得植物繁殖材料、植物的部分和/或由处理过的繁殖材料长成的植物的增强的抗虫性。

[0011] 在一些实施方案中,施用生物控制剂的步骤包括使用生物控制剂接种植物繁殖材料所种植(或被种植)的土壤或植物媒介。该接种的步骤可以在植物繁殖材料种植前,种植繁殖材料同时,或种植之后进行。施用生物控制剂的步骤可以包括在种植前、或种植同时,使用生物控制剂处理植物繁殖材料,例如种子,所要播种的土壤或植物媒介。例如,在其它实施方案中,施用生物控制剂至繁殖材料的步骤可能包括施用生物控制剂处理繁殖材料。已经用生物控制剂处理过的种子还可以具有包括额外杀虫组合物的处理。

[0012] 在某些实施方案中,施用农药组合物至植物繁殖材料例如种子的步骤,包括将农药组合物施用至植物繁殖材料所要种植的土壤或植物媒介。所述处理可以在种植过程的任何时候进行,包括种植繁殖材料之前,繁殖材料种植同时,或繁殖材料种植之后;并且可以施用一次或多次。

[0013] 在某些实施方案中,施用农药组合物至植物繁殖材料的步骤包括使用农药组合物处理植物繁殖材料,例如种子,优选在植物繁殖材料,例如种子,播种或种植前。

[0014] 至少一种生物控制剂可被用于本发明中。在各种实施方案中,生物控制剂可以选自一种或多种真菌、细菌、或其它药剂。通常,使用抗线虫细菌或抗线虫真菌生物控制剂。在特别的实施方案中,生物控制剂可以是内寄生真菌,例如,选自壶菌纲 (Chytridiomycetes)、卵菌纲 (Oomycetes)、接合菌纲 (Zygomycetes)、半知菌纲 (Deuteromycetes) 和担子菌纲 (Basidiomycetes) 的真菌。

[0015] 在本发明其它实施方案中,抗线虫生物控制真菌可以为选自链支菌属 (Catenaria)、漆斑菌属 (Myrothesium)、串孢壶菌属 (Myzocytium)、芽孢杆菌属 (Bacillus)、Haptoglossa、顶裂霉属 (Meristacrum)、指隔孢属 (Dactylella)、拟青霉属 (Paecilomyces)、头孢属 (Cephalosporium)、梅里属 (Meria)、钩丝孢属 (Harposporium)、毒虫霉属 (Nematoctonus)、Rhopalomyces、轮枝孢菌属 (Verticillium)、普可尼亚属 (Pochonia)、水霉属 (Saprolegnia)、柱孢属 (Cylindrocarpon)、Nematophthora、被毛孢属 (Hirsutella) 和单顶孢属 (Monoacrosporium) 等属的真菌。作为非限制性实例,生物控制剂可以为厚垣孢普可尼亚菌 (Pochoniachlamydosporia) (同厚垣轮枝孢菌 (Verticilliumchlamydosporium))、疣孢漆斑菌 (Myrothesium verrucaria)、Dactylella oviparasitica、尖镰孢菌 (Fusarium oxysporum)、淡紫拟青霉菌 (Paecilomyces lilacinus)、Plectosphaerellacucumerina、洛斯里被毛孢 (Hirsutella rhossiliensis)、圆锥掘氏梅里霉 (Drechmeria coniospora)、串孢壶菌属 (Myzocytium spp.)、链壶菌属

(Lagenidium spp.)、链枝菌 (*Catenaria anguillulae*)、*Nematophora gynophila* 及其他。

[0016] 本发明还提供一些实施方案,其中生物控制剂可以是细菌,例如,但不限于根圈细菌 (rhizobacterial) 种类或者与昆虫病原线虫有关的种类。在特殊的实施方案中,生物控制剂可以是选自巴斯德菌属 (*Pasteuria* spp.)、假单孢菌属 (*Pseudomonas* spp.)、杆菌属 (*Bacillus* spp.)、棒状杆菌属 (*Corynebacterium*)、土壤杆菌属 (*Agrobacterium* spp.) 和类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus* spp.) 中的种类。作为非限制性实例,细菌生物农药可以是巴斯德菌属 (*Pasteuria*) 的内生细菌,例如穿刺巴斯德杆菌 (*Pasteuriapenetrans*)、坚强芽孢杆菌 (*Bacillus firmus*)、洋葱假单孢菌 (*Pseudomonas cepacia*)、微代谢棒状杆菌 (*Corynebacterium paurometabolum*)、多刺巴斯德氏芽菌 (*P. thornei*)、*P. nishizawae*、*Candidatus Pasteuria usgae* sp. nov. 或 *Candidatus Pasteuria* sp. strain HG。

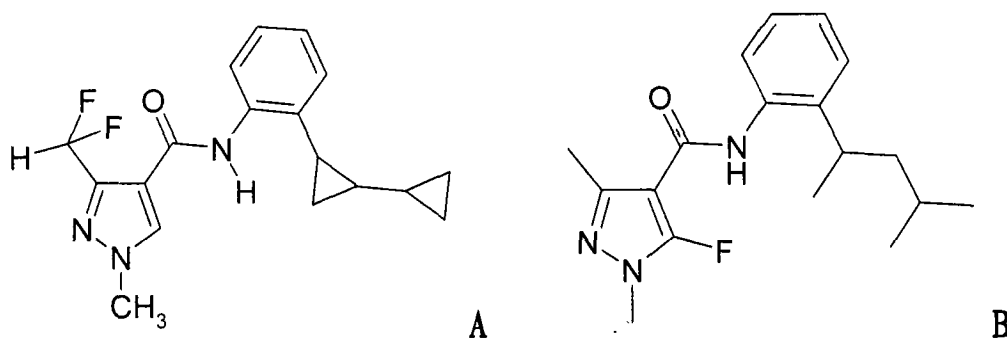
[0017] 在本发明的一些实施方案中,所述方法可以进一步包含应用第二种生物控制剂。所述第二种生物控制剂可以是不同类型的生物控制剂。例如,而非限制,如果第一种生物控制剂是细菌制剂,那么第二种生物控制剂可以是真菌;或者可以是同种类型的生物控制剂,但是来自不同的科、属、种、或菌株,例如第一和第二种生物控制剂可以都是真菌,但是可以是不同种。第二种生物控制剂可以在一种或多种杀线虫剂和一种或多种第一种生物控制剂首次施用的同时应用,或者可以在联合处理之前或之后应用。

[0018] 在本发明的某些方法中,例如而限于那些第一种生物控制剂可以为内寄生真菌,第二种生物控制剂还可以是不同于第一种的内寄生真菌的方法。

[0019] 本发明还包括其中的农药组合物包含额外的农药制剂作为混合成分的方法。例如而限于,至少一种杀虫剂、杀线虫剂、杀螨剂或杀螺剂可以与农药组合物混合。所述额外的农药制剂可以选自,例如氰亚胺 (cyanoimine) 定虫脒、硝基亚甲基类烯啉虫胺、噻虫胺、呋虫胺、氟虫腓、虱螨脲、吡丙醚、噻虫啉、氟草肟;吡虫啉、噻虫嗪、 $\beta$  氟氯氰菊酯、苯氧威、 $\lambda$  氯氟氰菊酯、丁醚脲、吡蚜酮、二嗪农、乙拌磷、丙溴磷、呋线威、灭蝇胺、氯氰菊酯、 $\tau$ -氟胺氰菊酯、七氟菊酯、苏芸金杆菌产品和氯虫酰胺。

[0020] 在某些实施方案中,用于本发明的方法中的农药组合物可以额外与至少一种选自啉菌酯、苯醚甲环唑、咯菌腈、氟啉菌酯、甲霜灵、R-甲霜灵、精甲霜灵、腈菌唑、克菌丹、肟菌酯、烯肟菌酯 (enestrobin)、涕必灵、福美双、苯并噻二唑、肟菌酯、式A的化合物和式B的化合物或下式代表的各化合物的互变异构体的杀真菌剂混合。

[0021]



[0022] 当处理包括生物控制剂也就是真菌时,可以选择上述杀真菌剂,生物控制真菌可以抵抗杀真菌剂。

[0023] 特别地优选的混合成分为甲霜灵、甲霜灵-M、噻虫嗪、苯醚甲环唑、咯菌腈、啉菌

酯、脲菌酯、苯并噻二唑、硅噻菌胺、七氟菊酯、吡虫啉、噻虫胺、脲菌唑和涕必灵。

[0024] 在另一个实施方案中,本发明提供在植物中增强抗虫性的联合组合物。由此,本发明还提供包含农药制剂的联合组合物,所述农药制剂包含有效量的一种或多种杀线虫剂,例如阿维菌素类,例如阿维菌素,和有效量的至少一种生物控制剂,例如,抗线虫生物控制剂。

[0025] 本发明的联合组合物还可能包含至少一种额外的杀虫剂、杀线虫剂、杀螨剂或杀螺剂,例如而不仅限于,氰亚胺 (cyanoimine)、啉虫脒、硝基亚甲基类烯啉虫胺、噻虫胺、呋虫胺、氟虫腈、虱螨脲、吡丙醚、噻虫啉、氟草肟;吡虫啉、噻虫嗪、 $\beta$  氟氯氰菊酯、苯氧威、 $\lambda$  氯氟氰菊酯、丁醚脲、吡蚜酮、二嗪农、乙拌磷;丙溴磷、呋线威、灭蝇胺、氯氰菊酯、 $\tau$ -氟胺氰菊酯、氯虫酰胺 (Rynaxapyr)、七氟菊酯和苏芸金杆菌产品。

[0026] 在额外的实施方案中,本发明的联合组合物可以进一步包含至少一种额外的杀真菌剂,例如嘧菌酯、肟醚菌胺、烯肟菌酯、苯醚甲环唑、咯菌腈、氟嘧菌酯、甲霜灵、R-甲霜灵、精甲霜灵、脲菌唑、涕必灵、脲菌酯、如上提供的式 A 的化合物和式 B 的化合物。当存在于本发明组合物中的真菌生物控制剂可以抵抗杀真菌剂时选择上述杀真菌剂。

[0027] 在特别的实施方案中,包含在组合物中的至少一种生物控制剂可以是内寄生真菌,或者选自链支菌属 (Catenaria)、串孢壶菌属 (Myzocyttium)、Haptoglossa、顶裂霉属 (Meristacrum)、指隔孢属 (Dactylella) 拟青霉属 (Paecilomyces)、头孢属 (Cephalosporium)、梅里属 (Meria)、钩丝孢属 (Harposporium)、毒虫霉属 (Nematocytus)、Rhopalomyces、轮枝孢属 (Verticillium)、普可尼亚属 (Pochonia)、水霉属 (Saprolegnia)、柱孢属 (Cylindrocarpon)、Nematophthora、被毛孢属 (Hirsutella)、漆斑菌属 (Myrothecium) 和 Monoacrosporium。在特别的实施方案中,存在于本发明组合物中的至少一种生物控制真菌为厚垣孢普可尼亚菌 (Pochonia chlamydosporia)。

[0028] 在其它实施方案中,至少一种生物控制剂可以是细菌制剂,例如而不仅限于根圈细菌,或者选自巴斯德菌属 (Pasteuria)、假单孢菌属 (Pseudomonas)、棒状杆菌属 (Corynebacterium) 和杆菌属 (Bacillus) 的种类。

[0029] 本发明的联合组合物还可能包含第二种生物控制剂,其中第二种生物控制剂可以与第一种是同样类型的制剂,但是来自不同的属、种或菌株。在其它实施方案中,第一种和第二种生物控制剂可以为不同类型的制剂。在特别的实施方案中,联合组合物可以包含至少两种抗线虫生物控制剂,例如而不仅限于,两种抗线虫真菌生物控制剂。作为非限制性实例,两种抗线虫真菌生物控制剂可以为两种内寄生真菌。

[0030] 在其它实施方案中,第二种生物控制剂可以是细菌制剂。第二种制剂可以与另一种细菌生物控制剂一起使用,或者与不同类型的生物控制剂,例如而不仅限于真菌一起使用。

[0031] 本发明还提供杀线虫剂/生物控制剂植物繁殖材料组合物,例如阿维菌素类/生物控制剂植物繁殖材料组合物,其中杀线虫剂/生物控制剂联合组合物进一步包含植物繁殖材料,例如种子。本发明的一般实施方案包括包含阿维菌素处理过的植物繁殖材料,例如种子,和至少一种生物控制剂的组合物。在特别的实施方案中,拌种剂可以包含阿维菌素和生物控制剂。在这方面,植物繁殖材料具有杀线虫剂和生物控制剂粘附其上。因此,本发明还提供使用包含一种或多种杀线虫剂和一种或多种生物控制剂的组合物处理过的植物繁殖材料。



[0032] 在其它实施方案中,本发明的植物繁殖材料组合物可以额外包含用一种或多种生物控制剂接种的土壤或其它植物媒介,和容器如也就是适于在苗圃中种植植物或移栽植物的容器。在这方面,本发明提供容器,所述容器中具有一定量的土壤,其中植物或植物的部分是由处理过的植物繁殖材料长成的,其中植物的植物繁殖材料,例如种子,是用包含一种或多种杀线虫剂的农药组合物处理过的,并且或者 (i) 种子也用一种或多种生物制剂处理过,或者一种或多种生物制剂被用于土壤或者 (ii) 使用相同或不同的生物制剂处理种子和用于土壤。

[0033] 在另一方面,本发明提供改善植物生长的方法,包括 (i) 施用包含一种或多种杀线虫剂,例如阿维菌素类,例如阿维菌素,至植物繁殖材料,例如种子, (ii) 施用一种或多种生物控制剂至植物繁殖材料或其所在地, (iii) 种植或播种处理过的植物繁殖材料, (iv) 使经处理植物繁殖材料萌芽,并 (v) 将幼苗移栽至另一位置,上述另一容器或户外土壤苗床。

[0034] 因此,本发明提供改善植物的移栽健康的方法,包括对植物、植物繁殖材料,例如,种子,或在最初种植后的某一阶段将要移栽的植物部分,或者对其所在地施用包含一种或多种杀线虫剂,例如阿维菌素类,例如,阿维菌素,和一种或多种生物控制剂。上述处理方法可以根据所述方法的实施方案来处理植物以增强对害虫的抗性,如上所述。

[0035] 附图描述

[0036] 图 1 提供了来自试验的示范数据摘要,显示对应于单一和联合施用阿维菌素和生物控制剂的植物生长。图例:对角线,3 星期高度;交叉影线,8 星期葡萄树长度。

[0037] 本发明的进一步描述

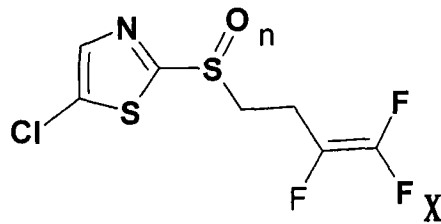
[0038] 术语“生物控制剂”指抑制或减少植物侵染和 / 或植物病原体如病原真菌、细菌和线虫的生长,以及节肢动物如昆虫、蛛形纲动物、蜈蚣、马陆的生长,或者抑制植物侵染和 / 或植物病原体的组合生长的生物体。

[0039] 术语“抗线虫生物控制剂”作为在这里使用,指抑制线虫活性、生长或繁殖,或减少植物中线虫病的生物体。

[0040] “线虫生长的抑制”指减少植物中线虫病的任何方面,包括但不限于,延缓线虫生长;减少繁殖、孵化、交配和发现寄主;和杀死线虫。

[0041] 术语“杀线虫剂”指对农业相关线虫有效的化合物,例如减少由线虫引起的损害。实例包括阿维菌素类(例如,阿维菌素)、氨基甲酸酯杀线虫剂(例如,涕灭威、thiadicarb、克百威、丁硫克百威、杀线威、涕灭砒威、灭克磷、灭多虫、苯菌灵、棉铃威)、有机磷杀线虫剂(例如,克线磷(克线磷 fenamiphos)、丰索磷、特丁甲拌磷、噻唑磷、乐果、磷虫威、氯线磷、isamidofos、丁硫环磷、氯唑磷灭克磷、硫线磷、特丁甲拌磷、毒死蜱、氯线磷、速杀硫磷、isamidofos、甲基灭蚜磷、甲拌磷、虫线磷、三唑磷、diamidafos、丁硫环磷、磷胺),和某些杀真菌剂,例如克菌丹、甲基硫菌灵和涕必灵。还包括的杀线虫剂为式 X 的化合物,

[0042]



[0043] 其中  $n$  为 0, 1 或 2 并且噻唑环可被任选地取代。阿维菌素、涕灭威、thiadicarb、乐果、灭多虫、式 X 的化合物和杀线威是用于本发明的优选的杀线虫剂。

[0044] 术语“阿维菌素类”指阿维菌素类的化合物中的任何成员，例如在 U.S. 专利 Nos. 4, 310, 519 ; 和 4, 427, 663 中所公开的米尔贝霉素和阿维菌素类。阿维菌素类是本领域技术人员公知的。它们是一组在结构上密切相关的杀虫活性化合物，是通过微生物除虫链霉菌 (*Streptomyces avermitilis*) 的菌株的发酵而获得的。阿维菌素类的衍生物可以通过常规的化学合成获得。“阿维菌素”是阿维菌素 B<sub>1a</sub> 和阿维菌素 B<sub>1b</sub> 的混合物，并且在例如 *The Pesticide Manual*, 10. sup. th Ed. (1994), *The British Crop Protection Council*, London, 第 3 页中描述。名称“阿维菌素”和“阿维菌素类”包括衍生物。用于本发明中的可接受的阿维菌素类包括，例如，伊维菌素、多拉菌素、塞拉菌素、埃玛菌素和阿维菌素。

[0045] 可以理解术语“植物繁殖材料”表示植物的所有生殖部分，例如能够用于植物的繁殖的种子，和营养体植物材料例如插枝和块茎（例如马铃薯、甘蔗）。因而可以提及的有，例如，种子（严格意义上）、根、果实、块茎、鳞茎、根茎或植物的其他部分。例如，在萌发或在从土壤中萌芽后将移栽的发芽植物和秧苗，也可称为植物繁殖材料。这些秧苗也可以在移栽前通过整体或部分处理来进行保护，所述处理是通过以这里描述的组合物对植物繁殖材料的浸泡来进行的。

[0046] 在稍后长成的植物的部分和植物器官是由植物繁殖材料如种子发育而成的植物的任何部分。植物的部分、植物器官和植物也会受益于致病性损伤和 / 或虫害保护，所述保护是通过在植物繁殖材料上的本发明的联合处理的应用而获得的。在实施方案中，在稍后时间点长成的某些特定植物部分和某些特定植物器官也可以被认为是植物繁殖材料，它们本身可以用所述组合应用（或处理）；并且因此，由处理过的植物部分和处理过的植物器官发育而来的植物、进一步的植物部分和进一步的植物器官也会受益于致病性损伤和 / 或虫害保护，所述保护是通过向某些植物的部分和某些植物器官上施用的本发明的联合处理而获得的。

[0047] 术语“应用农药组合物”指使用药剂处理植物、植物的部分、或土壤、或植物种植（或将要种植）其中的其它种植媒介的任何方法，所述药剂抑制植物的害虫侵入和 / 或害虫生长，或者限制植物中由害虫或病原体引起的病害。

[0048] 将杀虫活性成分组合物和其混合物施用或处理到植物繁殖材料，尤其是种子上的方法在本领域中是已知的，并且包括拌种、包衣、丸化和繁殖材料的浸泡施用方法。

[0049] 活性成分可以使用常规的处理技术和机械施用于种子上，例如流化床技术、滚筒碾磨机、转子定子拌种器和鼓式涂布机。其它方法，例如喷雾床也可以使用。种子可以在包衣前预先筛分。在包衣之后，通常将种子干燥并且随后转移到径选机上筛分。所述筛分和处理方法在本领域中是已知的。

[0050] 在一个实施方案中，可以通过不会诱导萌发的方法将组合应用或处理到植物繁殖

材料上；通常浸种诱导萌发，因为结果得到的种子的含水量太高。因此，应用（或处理）如种子的植物繁殖材料的适合方法的实例是拌种、种子包衣或种子丸化等等。

[0051] 在一般实施方案中，植物繁殖材料是种子。虽然相信本发明的方法可以在任何生理状态下用于种子，但优选种子处于足够耐久的状态，以使其不会在处理过程中遭受损伤。一般地，种子是已经从田间收获的种子；从植物上移除；并且与任何穗轴、秆、外皮和周围的果肉或其它非种子植物材料分开。种子优选地在生物学上稳定，达到处理不会对种子造成生物损伤的程度。据信可以在种子收获和种子播种之间的任何时间或者在播种过程期间（种子直接应用）对种子应用处理。还可以在处理前或处理后，通过本领域技术人员了解的技术对种子进行整理（primed）。

[0052] 在繁殖材料处理期间要求活性成分的均匀分布并且粘附到种子上。处理可以为如种子的植物繁殖材料上的包含活性成分的制剂薄膜（涂敷），其中原始尺寸和/或形状到中间状态（例如包衣）是可辨认的，并且随后到具有不同材料（例如载体，例如，粘土；不同的制剂，例如其它活性成分；聚合物；和染料）的许多层的厚膜（例如小丸），其中种子的原始形状和/或大小不再可辨认，在上述范围内变化。

[0053] 种子处理发生在未播种的种子上。术语“未播种的种子”意味着包括在种子的收获和种子在地面中播种之间的任何时期的种子，所述播种是为了植物的萌发和生长。

[0054] 对未播种的种子的处理不意味着包括那些将活性成分施用于土壤中的操作，但是包括在种植过程中任何将种子作为目标的应用操作。

[0055] 优选地，处理在种子的播种前进行，因此播种的种子已经使用本发明的联合处理预先处理过了。特别地，种子包衣或种子丸化在这里描述的组合物处理中是优选的。作为处理的结果，将组合中的活性成分粘附到种子表面，并且因此获得害虫和/或病害防治。

[0056] 处理过的种子可以与任何其它活性成分处理的种子一样存储、处理、播种和耕种。

[0057] 将农药组合物应用到土壤中的方法可以通过任何能够保证药剂渗入土壤中的适合方法。例如但不限于，苗圃盘应用、沟施、土壤浸润、土壤注入、滴灌、通过洒水器或中央喷灌系统应用、掺入土壤（播撒或带内（in band））被归入上述的适合方法。

[0058] 术语“接种土壤”作为这里使用，指将孢子或生物控制生物体的某些部分加入到种植基质中的过程。接种土壤的过程并不意味着生物控制剂已经是有活性的，而是仅仅意味着生物体的某些部分已经被放入种植媒介中。

[0059] 术语“抗性”在生物控制剂对如杀真菌剂的农药的抗性的背景范围内，指在农药存在下，抗性生物控制剂生长和/或繁殖或者保持代谢活性的能力。作为这里使用，当生物控制剂对农药活性免疫时，它具有“抗性”。

[0060] 术语“改善植物的移栽健康”指与没有使用本发明的组合药剂处理过的植物相比，增强植物在移栽后的生长能力。许多端点反映增强的植物生长能力，包括在植物外观上的改善以及植物生长的实际测量，例如株高等的增加。植物的生长（或发育（growth））特征的改善，例如在改善的移栽健康方面的反映，通过与未经处理的植物相比，显示于一种或多种观测植物特性方面的改善。例如，可以体现于改善植物的产量和/或活力或者从植物收获的产品质量方面，所述改善可能与病害和/或害虫的防治不相关。增强的植物特性的实例包括，但不限于，增加的茎围、早开花、同步开花、减少倒伏、延迟或消除作物的纠缠（tie-up）、增强的抗病性、提高的水利用率，包括但不限于减少的灌溉和/或较少的频繁灌

溉、较高的产量、较高的质量 / 较健康的植物外观,包括但不限于更好的色泽、更强的可运输性、减少的昆虫伤害、和较小的植冠。

[0061] “增强植物抗虫性”指与未经处理的植物相比,经本发明组合药剂处理过的植物改善的生长特性和 / 或产量,和 / 或减少发病率。

[0062] 作为这里使用,措辞“提高植物的产量”指与在同样条件下,但没有使用本发明方法,植物产生的相同产品的产量相比,通过可测量的数量表示的植物产品的产量的增加。优选产量增加至少约 0.5%,更优选产量增加至少约 1%,甚至更优选约 2%,并且仍然更优选约 4%,或以上。产量可以通过在一定基础上植物产品的重量或体积数量的方式表示。所述基础可以用时间、种植面积、植物出产的重量、使用原料的量等方式表示。

[0063] 作为这里使用,措辞“提高植物的活力”指与在同样条件下,但没有使用本发明方法,植物产生的相同产品的产量相比,通过可测量的或显著的数量表示的增强或提高活力等级、或定植数目(每单位面积植物的数目)、或株高、或植冠、或外观(例如更绿的叶色)、或生根率、或萌发、或蛋白质含量、或增加的分蘖、或较大的叶片、或较少的死亡基生叶、或更强壮的分蘖、或需要较少肥料、或需要较少种子、或更多有效分蘖、或更早开花、或更早的谷物成熟、或较少的植物倒伏(verse)(倒伏)、或增加的枝条生长、或更早的萌芽、或这些因素中的任意组合、或本领域技术人员所熟知的任何其它优点。

[0064] 因此,本发明还提供通过这里定义的方法步骤改善植物的生长特性的方法。

[0065] 术语“种植媒介”或“媒介”或“生长媒介”作为这里使用,指任何能够支持植物生长的媒介。该术语包括土壤,以及例如岩石、毛纤维(wool)、蛭石等的媒介。在本发明方法的习惯中术语“土壤”或“植物种植环境”指用于植物培养的载体,并且尤其是根将要生长其中的载体。该术语并不限制材料性质,而是包括任何可能使用的材料,只要植物能够在其中生长。例如,所谓的各种土壤、育苗盘(seedling mat)、带、水或营养栽培溶液等也可以使用。构成土壤或栽培载体的材料的特殊实例包括,但不限于,沙、泥炭藓、珍珠岩、蛭石、棉花、纸、硅藻土、琼脂、凝胶材料、聚合材料、石棉、玻璃棉、木材碎片、树皮、浮石等等。

[0066] 本发明实施方案的组合物和方法可以在整理和未整理的种子上使用。整理(priming)是本领域已知的基于水的方法,作用在种子上以增加从生长媒介或土壤中萌发和出芽的一致性,从而增进植物定植。通过将本发明的组合物结合到整理过程中,或通过至少一种植物生长调节剂结合到整理过程中并且在出芽后应用至少一种植物激活剂,可以获得最佳的种子萌发、最佳的生长和发育、花期的同步时间、开花的一致、作物成熟的一致、收获作物果实或其它植物部分的提高的产量和改善的品质等益处。在第一个和最后一个幼苗出芽之间的时间间隔可以比仅仅使用整理方法的时间间隔缩短。正如使用整理方法一样,本发明的组合物和方法与整理方法的结合也会提高出苗率,所以植物自身定植更快,确保在收获时每英亩作物的最大产量(cartons)。幼苗出芽的广泛分布减少了每英亩可收获植物的数量,对商业种植者来说是不受欢迎的情况。

[0067] 作为这里使用,“容器”指具有确定空间的构造,可以包含一定量的土壤或其它媒介,可供植物或植物的部分,例如种子,种植其中。一般地,植物或植物的部分在移栽到如另一个容器或户外土床的另一位置之前,种植在容器中,例如苗圃中。

[0068] 本发明的实施方案提供关于减少植物病害和 / 或害虫 / 病原体对植物的伤害或保护植物对抗害虫 / 病原体伤害如线虫病的方法和组合。所述方法因此包含杀线虫剂处

理,所述杀线虫剂例如阿维菌素类,例如阿维菌素,连同生物控制剂处理,与使用单独药剂处理相比,上述组合产生改善的植物生长或健康。在典型的实施方案中,生物控制剂可以抑制线虫或它们引起的病害。

[0069] 本发明的组合处理可用于控制由任何种类的害虫,包括线虫、节肢动物等引起的伤害。所述处理可以通过使用至少一种杀线虫剂,例如阿维菌素,和至少一种生物控制剂处理种子、秧苗或植物的任何部分来进行。上述的植物处理可以通过直接地应用至少一种杀线虫剂,例如阿维菌素,和 / 或至少一种生物控制剂至植物上,或者通过处理植物或植物的部分种植其中的土壤或其它介质来进行。

[0070] 在某些实施方案中,至少一种杀线虫剂,例如但不限于阿维菌素,和 / 或至少一种生物控制剂用于防治由线虫引起的病害。可以通过使用上述处理方法抑制的植物寄生线虫包括根结、胞囊、潜穴、剑形、矛形、针形、肾形、斑痕、环形、螺旋、刺形、粗短、矮化、茎和球茎、种瘿和叶部线虫。特别地,下列种类的线虫可以使用本发明的组合处理进行控制:异皮线虫属 (*Heterodera* spp.), 例如,甜菜胞囊线虫 (*H. schachtii*)、燕麦胞囊线虫 (*H. avenae*)、*H. glycines*、*H. carotae*、*H. goettingiana*、*H. zea* 和三叶草胞囊线虫 (*H. trifolii*);球异皮线虫属 (*Globodera* spp.), 例如,马铃薯球异皮线虫 (*G. rostochiensis*)、马铃薯白线虫 (*G. pallida*);根结线虫属 (*Meloidogyne* spp.), 例如,南方根结线虫 (*M. incognita*)、爪哇根结线虫 (*M. javanica*)、北方根结线虫 (*M. hapla*)、花生根结线虫 (*M. arenaria*)、哥伦比亚根结线虫 (*M. chitwoodi*)、禾本科根结线虫 (*M. graminis*)、*M. mayaguensis*、法拉克斯根结线虫 (*M. fallax*)、纳西根结线虫 (*M. naasi*);穿孔线虫属 (*Radopholus* spp.), 例如,相似穿孔线虫 (*Radopholus similis*)、*R. citrophilus*;短体线虫属 (*Pratylenchus* spp.), 例如,螺旋短体线虫 (*P. neglectans*)、斯克里布纳短体线虫 (*P. scribneri*)、索式短体线虫 (*P. thornei*)、短小短体线虫 (*P. brachyurus*)、咖啡短体线虫 (*P. coffeae*)、玉米短体线虫 (*P. zea*)、和穿刺短体线虫 (*P. penetrans*);半穿刺线虫 (*Tylenchulus semipenetrans*);*Paratrichodorus minor*、长针线虫属 (*Longidorus* spp.)、假强壮螺旋线虫 (*Helicotylenchus pseudorobustus*)、帽状纽带线虫 (*Hoplolaimus galeatus*)、矛状线虫 (*H. columbus*)、垫刃型纽带线虫 (*H. tylenchiformis*)、最近矛刺线虫 (*Trichodorus proximus*)、标准剑刃线虫 (*Xiphinema index*)、美洲剑刃线虫 (*X. americanum*)、鳞球茎茎线虫 (*Ditylenchus dipsaci*)、马铃薯茎线虫 (*D. destructor*)、异常珍珠线虫 (*Nacobbus aberrans*)、短环长针线虫 (*Longidorus breviannulatus*)、非洲长针线虫 (*L. africanus*)、*Mesocriconema xenoplax*、水稻干尖线虫 (*Aphelenchoides besseyi*)、草莓滑刃线虫 (*A. fragariae*)、*Zygotylenchus guevarai*、水平对刺线虫 (*Belonolaimus longicaudatus*)、细小刺线虫 (*B. gracilis*)、小麦粒线虫 (*Anguinatritici*)、肾状线虫属 (*Rotylenchulus* spp.)、小麦根瘿线虫 (*Subanguina* spp.)、根结线虫属 (*Criconemella* spp.)、拟环线属 (*Criconemoides* spp.)、锥线虫属 (*Dolichodorus* spp.)、半轮线虫属 (*Hemicriconemoides* spp.)、鞘线虫属 (*Hemicycliophoraspp.*)、潜根线虫属 (*Hirschmaniella* spp.)、*Hypsoperine* spp.、大节片线虫属 (*Macroposthonia* spp.)、*Melinius* spp.、斑皮线虫属 (*Punctodera* spp.)、五沟线虫属 (*Quinisulcius* spp.)、盾线虫属 (*Scutellonema* spp.) 和短体线虫属 (*Tylenchorhynchus* spp.)。

[0071] 用于本发明的阿维菌素类和阿维菌素类的衍生物是已知的。对本发明特别有用的用于线虫防治的阿维菌素和阿维菌素拌种制剂在例如 U. S. 专利 No. 6, 875, 727 中公开。农业化学方面适合的盐类是, 例如, 无机和有机酸类, 特别是盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、高氯酸、磷酸、甲酸、乙酸、三氟乙酸、草酸、丙二酸、甲苯磺酸或苯甲酸的酸加成盐。可用于本发明方法中的阿维菌素类化合物的制剂实例, 即溶液、颗粒剂、粉尘剂、可喷雾粉剂、乳油、包衣颗粒剂和悬浮剂已经在例如 EP-A-580 553 中描述。

[0072] 阿维菌素类衍生物或阿维菌素可以通过常规的化学合成而获得。例如, 在某些实施方案中可以使用埃玛菌素, 其为 U. S. 专利 No. 4, 874, 749 中已知的 4'' - 脱氧 - 4'' - epi-N- 甲基氨基阿维菌素 B<sub>1b</sub>/B<sub>1a</sub>。埃玛菌素的农用化学方面有用的盐类另外在例如 U. S. 专利 No. 5, 288, 710 中描述。

[0073] 用于本发明的阿维菌素可以施用于可包含要繁殖种子或植物的部分的土壤或其它生长媒介中, 或者其它实施方案中, 阿维菌素可以配制成拌种杀虫组合物。上述包含阿维菌素的制剂在本领域中是已知的 (参见例如 U. S. 专利 No. 6, 875, 727)。

[0074] 存在 (或粘附) 于种子上的杀线虫剂的量可以根据例如作物的种类, 和植物繁殖材料的种类而改变。然而, 含量应该达到至少一种杀线虫剂有效量, 其提供要求的增强作用并且可以通过常规试验和田间试验确定。如果杀线虫剂为阿维菌素, 存在于种子包衣中的活性阿维菌素成分的量在 0.002 至 1.2mg/ 种子的范围之内, 一般地至少 0.1mg/ 种子, 往往至少 0.2mg/ 种子。通常, 阿维菌素以 0.3mg 或以上每种子的水平存在。

[0075] 杀线虫剂, 例如阿维菌素应用到植物上的方法在下面更详细的描述。本领域普通技术人员可以理解, 杀线虫剂, 例如阿维菌素的量的确定取决于许多因素, 包括将要处理的植物材料的大小, 例如种子的尺寸。本领域普通技术人员根据本领域的教导和已知试验可以容易的确定使用的杀线虫剂, 例如阿维菌素的量, 所述已知试验用来确定使用杀线虫剂的效果, 例如, 在下面部分实施例中所描述的试验。

[0076] 许多生物控制剂都可以使用。一般药剂包括细菌、真菌和其它药剂。可以应用的细菌种类包括巴斯德菌 (Pasteuria)、假单孢菌 (Pseudomonas)、棒状杆菌 (Corynebacterium) 和杆菌 (Bacillus) 属中的细菌种类, 以及根圈细菌、菌根, 例如抗线虫菌根和细菌寄生药剂。

[0077] 在某些实施方案中, 可以与杀线虫剂一起应用的生物控制剂可以为抗线虫生物控制剂, 例如抗线虫真菌、细菌或其它药剂。抗线虫细菌包括土壤杆菌 (Agrobacterium sp)、杆菌 (Bacillus sp)、漆斑菌 (Myrothecium sp.) 和假单孢菌 (Pseudomonas sp) 的分离菌。这些细菌的作用方式是不同的, 但是包括对卵孵化、交配和寻找寄主和线虫活动性的直接效果, 以及间接效果, 例如减少根部侵入。

[0078] 寄生菌也可用作抗线虫生物控制剂。这些包括, 例如, 巴斯德菌属 (Pasteuria) 的种, 例如, 穿刺巴斯德杆菌 (P. penetrans)、P. nishizawae、索雷巴斯德杆菌 (P. thornei)、Candidatus Pasteuriausgaesp. nov.、露湿漆斑菌 (Myrothecium verrucaria)、Candidatuspasteuria sp. strain HG 和其它种。这些寄生菌可以附着在线虫的表皮上。

[0079] 在本发明的某些实施方案中, 可以使用抗线虫真菌。所述真菌包括捕线虫真菌和作为线虫的幼虫、雌虫、雄虫和卵的寄生菌的寄生真菌。捕线虫真菌包括例如少孢节丛孢菌 (Arthrobotrys oligospora)、圆锥节丛孢菌 (A. conoides)、弯孢节

丛孢菌 (*A. musiformis*)、多孢节丛孢菌 (*A. superba*)、*A. thaumasia*、指状节丛孢菌 (*A. dactyloides*)、*A. haptotyla*、*Monoacrosporium psychrophilum*、*M. gephyropagum*、椭圆单顶孢 (*M. elipsosporum*)、坚粘孢单顶孢 (*M. haptotylum*)、*M. doedycoides*、厚皮单顶孢 (*M. eudermatum*)、*Duddingtonia flagrans*、纺锤隔指孢菌 (*Dactylellinaellipsospora*)、*Dactylella oxyspora*、*D. leptospora*、*D. rhopalota*、醋线虫钩丝孢 (*Harposporium anguillulae*)、*Meristacrum* sp.、厚皮单顶孢 (*Monacrosporium eudermatum*)、*Nematoctonusleiosporus* 和梗虫霉属 (*Stylopage* sp.) 的种类。

[0080] 举例来说,内寄生菌包括圆锥掘氏梅里霉 (*Drechmeriaconiospora*)、洛斯里被毛孢 (*Hirsutella rhossiliensis*) 和 *Verticillium balanoides*。这些真菌产生能够附着在线虫表皮上的孢子。固定的幼年期、雌虫、雄虫和 / 或卵的寄生菌包括厚垣孢普可尼亚菌 (*Pochonia chlamydosporia*)、淡紫拟青霉菌 (*Paecilomyceslilacinus*)、*Dactylella oviparasitica*、烟草尖镰孢 (*Fusariumoxysporum*) 和 *Plectosphaerella cucumerina*。用于本发明的真菌的实例包括下列属的种类:链支菌属 (*Catenaria*)、串孢壶菌属 (*Myzocytium*)、*Haptoglossa*、顶裂霉属 (*Meristacrum*)、指隔孢属 (*Dactylella*)、拟青霉属 (*Paecilomyces*)、头孢属 (*Cephalosporium*)、梅里属 (*Meria*)、钩丝孢属 (*Harposporium*)、毒虫霉属 (*Nematoctonus*)、*Rhopalomyces*、轮枝孢属 (*Verticillium*)、普可尼亚属 (*Pochonia*)、水霉属 (*Saprolegnia*)、柱孢属 (*Cylindrocarpon*)、*Nematophthora*、被毛孢属 (*Hirsutella*) 和单顶孢属 (*Monoacrosporium*)。

[0081] 本发明的方法和组合,尤其是组合物,可以包括额外的对生物控制剂显示刺激或生长促进活性的农药组分(例如,营养素、肥料、微量营养素供体、接种菌、抗生素),或者对其它有害生物有抑制活性的农药组分,例如,杀虫剂、杀螨剂、杀真菌剂、其它杀线虫剂或杀螺剂。适于加入的杀昆虫、杀螨、杀线虫或杀螺活性成分包括,例如但不限于,上述所列的杀线虫剂和下列活性成分种类的代表:有机磷酸酯化合物、硝基酚及其衍生物、甲脒、三嗪衍生物、硝基烯胺衍生物、硝基-和氰基胍衍生物、尿素、苯甲酰胺类、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯、氯化烃类、苯并咪唑和苏芸金杆菌产品。组合物中特别优选的组分包括氰亚胺、啉虫脒、硝基亚甲基烯啉虫脒、噻虫胺、乐果、呋虫胺、氟虫腈、虱螨脲、吡丙醚、噻虫啉、氟草肟;吡虫啉、噻虫啉、 $\beta$  氟氯氰菊酯、苯氧威、 $\lambda$  氯氟氰菊酯、丁醚脲、吡蚜酮、二嗪农、乙拌磷;丙溴磷、呋线威、灭蝇胺、氯氰菊酯、 $\tau$ -氟胺氰菊酯、七氟菊酯、氯虫酰胺或苏芸金杆菌产品,非常特别地氰亚胺啉虫脒、硝基亚甲基烯啉虫脒、噻虫胺、呋虫胺、乐果、 $\lambda$  氯氟氰菊酯、氟虫腈、噻虫啉、吡虫啉、噻虫啉、 $\beta$  氟氯氰菊酯、氯虫酰胺和七氟菊酯。

[0082] 适合加入的杀真菌活性成分包括,例如但不限于,下列活性成分种类的代表:甲氧基丙烯酸酯、三唑、邻-环丙基-苯胺基甲酰衍生物、苯吡咯和系统性杀真菌剂。适合加入的杀真菌活性成分的实例包括,但不限于,下列化合物:啞菌酯;苯并噻二唑、双苯三唑醇;萎锈灵; $\text{Cu}_2\text{O}$ ;霜脲氰;环丙唑醇;啞菌环胺;苯氟磺胺;苯醚甲环唑;烯唑醇;氟环唑;拌种咯;咯菌腈;氟啞菌酯、氟啞唑;氟硅唑;粉唑醇;呋霜灵;双胍辛乙酸盐;己唑醇;恶霉灵;抑霉唑;亚胺唑;种菌唑;醚菌酯;代森锰锌;甲霜灵;R-甲霜灵;叶菌唑;腈菌唑、恶酰胺、稻瘟酯;戊菌唑;纹枯脲;啉氧菌酯;丙氯咪;丙环唑;咯啞酮;SSF-109;螺环菌胺;戊唑醇;七氟菊酯;涕必灵;福美双、tolifluamide;咪唑啉;三唑酮;三唑醇;肟菌酯、氟菌唑;灭菌唑和烯效唑。特别优选的杀真菌活性试剂包括啞菌酯、苯并噻二唑、苯醚甲环唑、咯菌腈、甲

霜灵、R-甲霜灵、腈菌唑、涕必灵、式 A 化合物、式 B 化合物和肟菌酯。

[0083] 对适用于本发明的额外的农药可以选择生物控制剂耐受的农药试剂。例如当使用生物控制真菌时,可能包含在处理中的额外杀真菌剂可以选择使用那些不会抑制生物控制真菌生长的种类。

[0084] 在一些通过处理土壤或其它媒介施用杀线虫剂例如阿维菌素和 / 或生物控制剂的实施方案中,所述杀线虫剂和 / 或生物控制剂施用于植物或植物的部分已经或将要播种的地点。例如,杀线虫剂或生物控制剂可以在播种前施用至播种沟或种植或播种繁殖材料的地点周围区域,这样杀线虫剂或生物控制剂能够有效地抑制线虫孵化、生长、寻找寄主或配偶和 / 或保护植物组织对抗线虫摄食。还可以在种植期间或种植后能够有效控制线虫生长的时期施用药剂。

[0085] 如已经提到的,在某些实施方案中,植物或植物的部分可以使用杀线虫剂和 / 或生物控制剂处理。可以使用各种已知方法进行处理,例如,通过将组合物喷雾、雾化、涂粉或分散在繁殖材料上或通过刷涂或浇泼或其它方法使组合物和繁殖材料接触,或者如果是种子,通过包衣、形成胶囊或其它方法处理种子。

[0086] 对于作为拌种剂的农药组合物的应用,至少一种杀线虫剂,例如阿维菌素类,单独或与额外的农药制剂一起被施用至种子,一般在播种前或正当种植时,将活性物质分布在种子上。上述拌种剂的特别实施方案包括,例如将种子浸入液体组合物、使用固体组合物包被种子或将活性成分渗透入种子,例如通过将组合物加入到用于预浸泡种子的水中。农药组合物的施用量可以根据例如使用类型、作物种类、农药组合物中的特殊活性成分和植物繁殖材料的类型而变化,但是组合物中活性成分应该是有效量,其能够提供要求的增强作用的并且能够通过常规经验性的试验确定。组合物种子一般的施用量可以是,例如,从 0.1 至 1000g 的活性成分每 100kg 的种子;特别是,1 至 600g/100kg 的种子;优选 1 至 400g/100kg 的种子;并且尤其是 1 至 200g/100kg 的种子。

[0087] 在其它实施方案中,植物种子可以使用杀线虫剂处理,优选使用包含如包含阿维菌素的阿维菌素类 (avermectin) 的杀虫剂,将杀线虫剂应用至种子种植的土壤或其它媒介中,例如用于苗圃种植的容器中的种植媒介。可以使用任何已知方法施药,例如,通过喷雾、分散、浇泼等。施用量可以在很宽范围内变化,并且取决于土壤组成、用药类型(叶部施用;播种沟中施用)、植物、所要防治的害虫 / 病原体、在各种情况下流行的气候环境和其它由用药类型决定的因素、用药时期和靶标作物。施用阿维菌素,每公顷的施用量通常为 1 至 2000g 阿维菌素每公顷;特别是 10 至 1000g/ha;优选 10 至 500g/ha;尤其优选 10 至 200g/ha。在某些实施方案中,可以使用 1 至 100g/ha,例如,1 至 50g/ha,或 1 至 25g/ha。

[0088] 本发明的方法另外可以包括在生物控制剂减少了对如植物寄生线虫的害虫或病原体的敏感度的情况下,将至少一种或多种生物控制剂应用到植物、植物种子、土壤或其它围绕植物的媒介。使用至少一种或多种生物控制剂与杀线虫剂,例如阿维菌素类(例如阿维菌素),结合还提供了增进植物生长和改善植物活力的方法。

[0089] 将至少一种生物控制剂直接施用至植物上可以使用其中所有或部分植物直接被处理的方法进行。一般地,处理植物种子,但是植物的其它部分如繁殖材料也可以直接进行处理。适合的施用方法包括高压或低压喷雾、浸润和注射。在其它实施方案中,当种子正在播种时可以将生物控制剂加至种子(或土壤或其它种植媒介)。可以理解植物可能进一步



使用其它杀线虫剂处理,例如,阿维菌素、涕灭威等,并且在种子已经种植之后使用至少一种生物控制剂处理。因而,本发明包括实施方案,其中一次或多次使用至少一种生物控制剂和至少一种杀线虫剂处理植物,用以为植物提供增强的抗虫性和 / 或增进植物生长。

[0090] 根据本发明可以将生物控制剂单独或与其它化合物,例如包含阿维菌素的农药组合物,混合施用至植物或植物繁殖材料,如种子。或者,可以单独将至少一种生物控制剂应用至植物,并且在不同时期应用其它化合物如包含阿维菌素的组合物。

[0091] 可以将至少一种生物控制剂直接应用至植物繁殖材料,例如种子,在其播种到田间之前。在其最简单的形式中,可以使用包含抗线虫真菌菌株和 / 或细菌菌株和 / 或其它生物控制剂的液体培养物通过喷雾或浸渍如种子的植物繁殖材料来完成。

[0092] 根据本发明,适于处理植物或植物繁殖材料,例如种子的组合物往往在载体中含有生物控制剂。因而,至少一种生物控制剂可以与其它常规种子制剂和药物和处理材料一起应用于植物繁殖材料,例如种子。适合的助剂包括缓冲剂、润湿剂、包衣剂、多糖和研磨剂。示范性载体包括水、液体溶液、浆液、固体和干燥粉末(例如,泥炭、小麦、糠、蛭石、粘土、消毒土壤、碳酸钙的多种形式、白云石、各种等级的石膏、皂土和其它粘土矿物、磷酸岩和其它磷化合物、二氧化钛、腐殖质、滑石、海藻酸盐和活性碳。本领域技术人员已知的任何农业方面适合的载体都是可接受的,并且都预期在本发明中使用。

[0093] 在某些实施方案中,例如,当使用细菌或真菌生物控制剂时,可以包括粘着剂将包含细菌的繁殖体粘附到种子上。上述粘着剂在本领域中是已知的。示范性制剂包括胶液和树胶,例如植物或微生物来源的明胶、糖等等。

[0094] 本领域普通技术人员都能理解,应该选择作为载体包含的药剂以不会负面影响生物控制剂或植物生长。

[0095] 在替代实施方案中,为了在播种前直接处理种子,也可以将生物控制剂引入种子将要种植其中的土壤或其它媒介。一般地,载体也可以用于这些实施方案中。载体何以是固体或液体,正如上面提到的。在某些实施方案中,通用的方法是使用泥炭悬浮在水中作为生物控制剂的载体,并且将混合物喷雾进土壤或种植媒介和 / 或当种子种植时在其上喷雾。可以用于应用生物控制剂至土壤中(或种子上,当种子种植时)的固体农业接种体的其它实例为颗粒剂,其包括使用细菌肉汤或包含真菌的肉汤或其它相似的生物控制剂肉汤喷雾的硫酸钙半水化物和羧甲基纤维素。用至少一种生物控制剂接种的泥炭或土壤也是可被用于应用至少一种生物控制剂至土壤或当植物繁殖材料种植时应用其上的材料的实例。

[0096] 在某些实施方案中,至少一种生物控制剂可以施用至幼苗,例如,可以加入幼苗播种后正在生长其中的土壤或其它生长培养基。

[0097] 至少一种杀线虫剂,例如阿维菌素,和至少一种生物控制剂的联合处理能够以足以覆盖预期观察到线虫生长的地区的密度使用。例如,包含至少一种生物控制剂的制剂能够以约 0.1 加仑每英亩至约 300 加仑每英亩的量施用于土壤,其中制剂为约  $10^4$  至约  $10^{12}$  个孢子或 cfu 每 ml 的浓度作为液体制剂,或者以约  $10^4$  至约  $10^{12}$  个孢子或 cfu 每克作为固体制剂。

[0098] 包含至少一种杀线虫剂的组合物和至少一种生物控制剂能够以“杀虫有效”量施用。杀虫有效量被认为是联合处理提高农药效力和 / 或持续时间和 / 或改善植物生长的量。应该理解,有效量的制剂本质上也许不减少害虫 / 病原体的数量,例如线虫卵,但是有效减

少由害虫 / 病原体例如线虫导致的对植物的损害。因此,处理的效果可以通过任何直接或间接端点进行评价。例如,与未处理的那些相比,杀虫有效量可以减少经过处理的植物的种子、根、芽或叶的虫害。

[0099] 在优选的实施方案中,至少一种杀线虫剂和至少一种生物控制剂的联合处理,有或没有额外农药,可以使用两种制剂足以控制线虫引起的植物病害的量。“控制线虫引起的植物病害”指本发明的联合处理影响线虫虫口密度和 / 或它们的活性以致足以减少或阻止线虫对周围植物生长的不利影响的能力。“控制”线虫引起的植物病害没有必要要求根除范围内所有的线虫。如果植物显示的线虫相关的病害症状与那些没有使用组合处理的对照植物的症状相比减轻,线虫虫口密度和 / 或活性就被有效地抑制了。

[0100] 根据本发明的实施方案,可以被处理的植物包括单子叶和双子叶植物种类,包括谷物,例如大麦、黑麦、高粱、小黑麦、燕麦、稻、小麦、大豆、玉米;甜菜(例如糖用甜菜和饲用甜菜);葫芦科植物包括黄瓜、甜瓜、美国甜瓜、南瓜和西瓜;甘蓝类作物包括椰菜、卷心菜、花椰菜、白菜(bok choi),和其它多叶绿色植物,其它的蔬菜包括番茄、胡椒、莴苣、菜豆、豌豆、洋葱、大蒜和花生;油料作物包括芸苔、花生、向日葵、油菜和大豆;茄科植物包括烟草;块茎和块根作物包括马铃薯、薯蓣、萝卜、甜菜、胡萝卜和白薯;果实包括草莓;纤维作物包括棉花、亚麻和大麻;其它植物包括包括咖啡、花坛植物、多年生植物、木本观赏植物、草皮和切花包括康乃馨和玫瑰;甘蔗;用集装箱装的木本作物;常绿树包括冷杉和松树;落叶树包括枫树和橡树;和水果和坚果果树包括樱桃、苹果、梨、杏、桃、胡桃和柑桔。通常,任何对植物病害和 / 或虫害(例如昆虫或线虫伤害)敏感的并且对本发明的组合有反应的植物都可以根据本发明进行处理。

[0101] 在某些实施方案中,包含优选阿维菌素类如阿维菌素的杀线虫剂的组合物和至少一种生物控制剂可被用于将要移栽和 / 或将要在苗圃中种植的植物繁殖材料,例如种子或其它植物材料。所述植物一般地种植在容器中。因而,在某些实施方案中,至少一种生物控制剂可以方便地施用于容器内的土壤或其它种植媒介。在实施方案中,包含阿维菌素的农药组合物可以直接应用到植物或植物的部分,例如种子。或者,包含阿维菌素的组合物可被用于植物将要生长的容器中的土壤或其它种植媒介中。在某些实施方案中,植物可能接受阿维菌素和 / 或至少一种生物控制剂的多次处理。另外,植物可能使用额外的药剂处理,例如,第二种生物控制剂或其它杀线虫剂、农药、杀真菌剂等等。

[0102] 使用本发明的联合处理对苗圃植物,例如种子或秧苗,进行处理,由于减少的害虫或病原体,例如线虫造成的伤害,导致植物改善的生长。在容器中开始生长之后,植物可以转移到另一个容器或户外苗床。在某些实施方案中,植物在移栽后或移栽期间可以更进一步接受阿维菌素和 / 或生物控制剂的处理。

[0103] 本发明因此还涉及包含容器、土壤或其它种植媒介、植物、阿维菌素和至少一种生物控制剂的组合物。上述组合物一般地是具有已经引入至少一种生物控制剂并且已经种植一个或多个阿维菌素处理过的种子的土壤或其它植物媒介的容器。在某些实施方案中,至少一种生物控制剂可以通过使用药剂处理种子而引入。

[0104] 本发明因此设想使用包含一种或多种杀线虫剂农药组合物处理植物繁殖材料,并且将一种或多种生物控制剂应用到植物繁殖材料的位点;使用农药联合组合物处理植物繁殖材料;使用一种或多种生物控制剂处理植物繁殖材料,并且将包含一种或多种杀线虫剂

的农药组合物应用到植物繁殖材料的位点；或者将农药联合组合物应用到植物繁殖材料的位点。

[0105] 提供下列实施例仅作为举例说明而非作为限制。那些本领域普通技术人员可以容易地确认可以变化或修改的各种不重要的参数，以获得本质上相似的结果。

[0106] 实施例

[0107] 这些实施例在黄瓜和番茄的试验中，对阿维菌素种子处理与消灭线虫的真菌组合进行了评估。

[0108] 在实施例 1-3 中，使用了消灭线虫的真菌菌株厚垣孢普可尼亚菌 (*Pochonia chlamyosporia*)。该真菌种，原名称为 (*Verticilliumchlamyosporium*)，已经进行了广泛的内寄生线虫的生物防治研究 (参见，例如 Kerry and Bourne, A manual for research on *Verticilliumchlamyosporium*, a potential biological control agent for root-knot nematodes, IOBC/OILB, Druckform GmbH, Darmstadt, Germany, 2002)。

[0109] 实施例 1. 黄瓜温室试验

[0110] 盆 (10cm 直径) 中装入 250g (干重) 蒸汽-巴氏杀菌的河底沙。准备了十种处理，每种 6 次重复 (表 1)。真菌拮抗体厚垣孢普可尼亚菌 (*Pochonia chlamyosporia*) 在高压灭菌的湿润黍种上，在 22°C 下培养三个星期。真菌定殖的黍在层流净化罩中干燥，并且在无菌条件下在 4°C 储存，直到使用。用于土壤接种时，厚垣孢普可尼亚菌 (*P. chlamyosporia*) 定殖的黍彻底与沙子混合。真菌的种群密度为约 2000 厚垣孢子 /cc 土壤的用量 1 和 4000 厚垣孢子 /cc 土壤地用量 2。

[0111] 表 1. 温室试验处理列表

[0112]

处理编号	Rk- 线虫	厚垣孢普可尼亚菌 ( <i>P. chlamyosporium</i> )	阿维菌素
1	无	无	无
2	有	无	无
3	有	用量 1	无
4	有	用量 2	无
5	有	无	0.1mg/ 种子
6	有	用量 1	0.1mg/ 种子
7	有	用量 2	0.1mg/ 种子
8	有	无	0.3mg/ 种子
9	有	用量 1	0.3mg/ 种子
10	有	用量 2	0.3mg/ 种子

[0113] 线虫接种体在温室中的番茄植物 (*Lycopersicon esculentum* cv. Tropic) 上在前三个月期间培养。通过标准漂白 / 筛取获得线虫卵。除第一处理之外, 各盆使用约 30000 个南方根结线虫 (*M. incognita*) 卵侵染。这是杀线虫剂试验的一般侵染程度, 导致高的病害压力 (预期 8 星期时未处理对照的虫瘿率约为 0-10 等级中的 7 级 (Zeck, Pflanzenschutz-Nachrichten, Bayer AG, 24 : 141-144, 1971))。黄瓜种子 (*Cucumis sativus* L. cv. Straight Eight, Burpee Seed Co.) 用 0.1mg 或 0.3mg 阿维菌素 / 种子包被, 或不接受进一步处理。每个盆接受推荐用作番茄生产用途的长效肥料 (Osmocote Vegetable and Bedding Plant Food, 14-14-14, The Scotts Company)。盆在温室中约  $24 \pm 3^\circ\text{C}$  和环境照明条件下, 以随机完全区组设计方式排列。需要每天进行灌溉。在播种植物三星期和八星期之后, 确定高度和主蔓长度。播种之后八星期终止试验, 并且切去植物顶端。将它们放入干燥箱中过夜, 并且确定它们的重量。将根放入 eryoglaucin 溶液中过夜, 并且计数染色的根结线虫的卵块。根瘿按照 0-10 的等级分级 (0 = 没有虫瘿)。重复试验一次。

[0114] 结果

[0115] 黄瓜种子包衣试验 1

[0116] 试验是高质量的。在试验中没有发现其它病害出现。观察并记录处理之间早期生长的差异 (表 2)。阿维菌素的低用量并没有显示对作物有利, 因为既没有改善植物生长, 也没有显著减少根瘿 (表 2)。同样, 普可尼亚菌 (*Pochonia*) 的低用量对植物生长和虫瘿也没有任何显著影响。普可尼亚菌 (*Pochonia*) 单独的高用量就生长促进或虫瘿减少而言并没有更好。相反, 与未处理对照植物相比, 通过 0.3mg / 种子的阿维菌素用量产生的对线虫攻击的保护, 在早期植物生长以及试验中止后在植物干重和主蔓长度方面上引起显著增加。阿维菌素的用量和普可尼亚菌 (*Pochonia*) 的高用量的组合在几乎所有参数中都优于其它处理, 并且在植物表现方面, 没有显著不同于无线虫防治 (表 2)。联合处理结果的分析显示在图 1 中。线虫数量用卵块的方式表示。未处理对照具有最多的卵块, 并且所有处理均导致卵块显著的减少。然而, 由于卵块数量方面的较大不定性, 在处理之间没有发现显出差异 (表 2)。

[0117] 表 2. 在黄瓜试验 1 期间植物生长和线虫数量的确定

[0118]

处理	植物高度 (mm) <sup>@</sup> 3 星期 <sup>a</sup>	植物干重 (g) <sup>@</sup> 8 星期 <sup>a</sup>	主蔓长度 (cm) <sup>@</sup> 8 星期 <sup>a</sup>	卵块 / 根 <sup>a</sup> 数目	根瘤 <sup>@</sup> 8 星期 <sup>a</sup>
1. nt, n-inf. 对照	101.0 ± 6.1c	7.4 ± 0.2d	164.0 ± 6.7f	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0a
2. nt, rkn 对照	64.2 ± 7.2a	4.1 ± 0.8a	92.0 ± 13.6ab	139.3 ± 46.2b	6.0 ± 0.4 cde
3. nt+Pc1, rkn	64.3 ± 3.7a	3.8 ± 0.7a	89.0 ± 8.4a	85.4 ± 12.1ab	6.8 ± 0.6e
4. nt+Pc2, rkn	77.2 ± 8.0ab	4.9 ± 0.5ab	116.2 ± 8.4bcd	93.2 ± 14.4ab	5.6 ± 0.4cde
5. aba0.1, rkn	70.8 ± 2.3a	4.2 ± 0.4a	100.7 ± 8.8ab	108.2 ± 14.0ab	6.3 ± 0.6de
6. aba0.1+Pc1, rkn	67.8 ± 5.4a	4.3 ± 0.4a	108.2 ± 11.0abc	76.7 ± 16.2a	6.5 ± 0.6e
7. aba0.1+Pc2, rkn	97.3 ± 4.3c	6.9 ± 0.2cd	150.8 ± 7.7ef	106.2 ± 20.9ab	4.5 ± 0.3bc
8. aba0.3, rkn	90.8 ± 7.1bc	5.7 ± 0.4bc	127.8 ± 11.9cde	85.8 ± 12.8ab	5.8 ± 0.4cde
9. aba0.3+Pc1, rkn	94.0 ± 6.0c	6.0 ± 0.3bc	138.7 ± 9.0de	86.5 ± 14.4ab	5.0 ± 0.5bcd
10. aba0.3+ Pc2, rkn	105.2 ± 6.1c	6.3 ± 0.3cd	141.7 ± 11.2ef	74.2 ± 17.5a	4.0 ± 0.7b

[0119] nt = 没有种子处理; n-inf. = 没有 rkn (根结线虫, 南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita* 种 1)); Pc1 = 厚垣孢普可尼亚菌 (*Pochoniachlamydosporia*) 用量 1 (2000 厚垣

孢子 /g 土壤) ;Pc2 = 厚垣孢普可尼亚菌 (*P. chlamydosporia*) 用量 2(4000 厚垣孢子 /g 土壤) ;aba = 0.1 或 0.3mg/ 种子的阿维菌素种子包衣)。

[0120] <sup>a</sup> 带标准误差的平均值 ( $P = 0.05$ )。同一栏中相同字母表明结果没有显著性差异。

[0121] 黄瓜种子包衣试验 2

[0122] 第二次试验的质量是良好的。没有发现其它病害的发生、结果与第一次试验类似。与未处理对照相比,早期防治根结线虫导致明显和显著的植物生长差异(表 3)。所有处理的植物干重和蔓长度比未处理对照都增加了(表 3)。与第一次试验相同,卵块数量在处理之间没有很大差别。这主要是由于在未处理对照中,矮化的植株生长和瘦弱的根系没有为线虫提供充足的进食位点(处理 2)。因此,在季节末尾,受到线虫保护并且因此得到较大根系的植株的线虫数量也许比对照多。高用量的阿维菌素和高用量的厚垣孢普可尼亚菌(*P. chlamydosporia*) 的联合再次导致最低的虫瘿率(表 3)。

[0123] 表 3. 在黄瓜试验 2 期间植物生长和线虫数量的确定

[0124]

处理	植物高度 (mm)@ 3 星期	植物干重 (g)@ 8 星期	主蔓长度 (cm)@ 8 星期	卵块 / 根系数目 @ 8 星期	根瘿 @8 星期 (等级 0-10)
1. nt, n-inf. 对照	108.5 ± 5.5de	7.5 ± 0.2d	174.8 ± 2.3d	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0a
2. nt, rkn 对照	58.0 ± 8.2a	4.1 ± 0.4a	104.0 ± 9.6a	44 ± 8.3ab	8.2 ± 0.5d
3. nt+Pc1, rkn	93.8 ± 3.9bc	5.1 ± 0.4b	117.7 ± 6.3ab	80.8 ± 18.0b	5.8 ± 0.2bc
4. nt+Pc2, rkn	82.5 ± 6.6b	5.6 ± 0.4bc	133.2 ± 9.6bc	59.2 ± 14.3ab	6.7 ± 0.5c
5. aba0.1, rkn	96.2 ± 6.4bcd	6.4 ± 0.5c	146.2 ± 9.8c	80.8 ± 27.8b	5.3 ± 0.2abc
6. aba0.1+Pc1, rkn	102.5 ± 5.3cde	5.5 ± 0.3bc	131.7 ± 4.3bc	52.2 ± 9.5ab	5.0 ± 3.0ab
7. aba0.1+Pc2, rkn	99.0 ± 6.0cde	6.0 ± 0.4bc	149.5 ± 11.0c	35.3 ± 10.5a	5.5 ± 0.3bc
8. aba0.3, rkn	105.8 ± 5.3cde	6.0 ± 0.3bc	131.3 ± 6.2bc	36.7 ± 4.0a	5.0 ± 0.4ab
9. aba0.3+Pc1, rkn	108.0 ± 3.0cde	6.1 ± 0.4c	146.7 ± 7.3c	34.5 ± 9.3a	5.0 ± 0.7ab
10. aba0.3+ Pc2, rkn	111.3 ± 4.7e	6.4 ± 0.4c	144.0 ± 7.3c	44.8 ± 10.7ab	4.0 ± 0.8a

[0125] nt = 没有种子处理; n-inf. = 没有 rkn (根结线虫, 南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita* 种 1)); Pc1 = 厚垣孢普可尼亚菌 (*Pochoniachlamydosporia*) 用量 1 (2000 厚垣孢子/g 土壤); Pc2 = 厚垣孢普可尼亚菌 (*P. chlamydosporia*) 用量 2 (4000 厚垣孢子/g 土壤); aba = 0.1 或 0.3mg/ 种子的阿维菌素种子包衣)。

[0126] <sup>a</sup> 带标准误差的平均值 (P = 0.05)。同一栏中相同字母表明结果没有显著不同。

## [0127] 实施例 2. 番茄温室试验

[0128] 温室试验在装满蒸汽巴氏灭菌沙 (250cm<sup>3</sup>) 的纸粕盆 (10cm 直径) 中进行。生物防治生物体 (BCO) 厚垣孢普可尼亚菌 (*P. chlamydosporia*) 如上所述进行培养。冲洗接种厚垣孢普可尼亚菌 (*P. chlamydosporia*) 的黍种 (1 : 2 重量 / 体积黍种和无菌蒸馏水, 在电动搅拌器中摇动 2min) 并且通过 100 网目筛以从真菌厚垣孢子中出去黍种。这些作为接种体, 并且使用计数池 (Fuchs-Rosenthal) 计数。将厚垣孢子与沙彻底混合。真菌种群密度约为 2000 厚垣孢子 /g 土壤的用量 1 和 4000 厚垣孢子 /g 土壤的用量 2 (表 1)。番茄种子 (*Lycopersicon esculentum* cv. Tiny Tim) 使用 0.1mg 或 0.3mg 阿维菌素 / 种子进行包衣, 或者没有受到进一步处理 (表 1)。将番茄种子播种进具有商业幼苗基质的幼苗托盘中, 并且在 2 星期后将植物移栽入 10cm 纸粕盆中。除第一处理之外, 各盆使用约 30000 个南方根结线虫 (*M. incognita*) 的卵进行侵染。在 26°C 5 天后, Baerman 漏斗上, 卵孵化率为约 10%。每个盆接受长效肥料 (Osmocote Vegetable and Bedding Plant Food, 14-14-14, The Scotts Company)。盆在温室中约 24±3°C 和环境照明条件下, 以随机完全区组设计方式排列, 每个处理重复 6 次。需要每天灌溉植物。确定株高并且在试验结尾切断枝条。将枝条放入干燥箱中, 在 69°C 保持 72h 并且确定每株植物的重量。在 0-10 级水平上评价根瘿的程度 (Zeck, 1971, 参见前文)。

[0129] 通过计数卵块 (= 受孕雌虫数)、卵和第二期幼虫 (J2) 确定线虫数量。将根放入 eryoglaucin 溶液中过夜使根结线虫的卵块染色, 从而能够计数 (Omweaga 等人, 1988)。通过改善的漂白 / 筛取技术从卵块中释放卵 (Hussey and Barker, 1973)。每星期, 摘掉成熟 (红色) 的番茄果实, 并且记录数目和重量。持续摘取果实直到果实生产停止。重复试验一次。所有数据都使用 SuperANOVA 进行变化的分析 (Abacus Concepts, 1989, Berkeley, CA)。如果合适, 使用 Fisher's Protected 最低有效差异 (Least Significant Difference) (LSD) 在 P = 0.05 水平上分离平均数。

## [0130] 结果

[0131] 两次试验质量都是出色的并且结果相似。因而, 将数据联合进行分析。所有处理与未处理对照相比都增加株高和干重 (表 4)。通常, 组合治疗产生最高的植物, 并且产生具有最大干重的植物。尽管侵染了非常严重的根结线虫, 高阿维菌素种子包衣用量结合高 BCO 用量产生类似于未侵染对照的干重。通过阿维菌素, 根瘿减少到对照下约两级。这是阿维菌素种子包衣一般的效力。虽然与 BCO 联合仅仅略微改善了低阿维菌素用量的效力, 但是在使用两种用量的厚垣孢普可尼亚菌 (*P. chlamydosporia*) 的联合处理中, 都显著减少了虫瘿。

[0132] 表 4. 番茄温室试验终止时番茄高度的比较 (两次试验数据结合)

[0133]

处理编号	植物高度 (cm) <sup>a</sup>	植物干重 (g) <sup>a</sup>	根瘿 <sup>a</sup>
1. nt, n-nf. 对照	28.50 ± 1.61cd	8.16 ± 0.18e	0.00 ± 0.00a
2. nt, rkn 对照	19.67 ± 1.23a	3.18 ± 0.38a	8.33 ± 0.21g



3. nt+Pc1, rkn	26.00±0.86bc	5.23±0.42b	7.33±0.33fg
4. nt+Pc2, rkn	24.00±1.29b	4.89±0.30b	6.17±0.40de
5. aba0.1, rkn	27.33±0.72cd	5.24±0.35b	6.67±0.21ef
6. aba0.1+Pc1, rkn	27.83±0.65cd	6.78±0.48cd	5.67±0.49cde
7. aba0.1+Pc2, rkn	29.67±0.96d	7.87±0.55e	5.50±0.50cd
8. aba0.3, rkn	26.17±2.14bc	6.31±0.21c	5.00±0.52c
9. aba0.3+Pc1, rkn	27.33±0.96cd	7.74±0.18de	2.17±0.17b
10. aba0.3+Pc2, rkn	29.50±1.29d	8.03±0.36e	3.00±0.63b

[0134] nt = 没有种子处理 ; n-inf. = 没有 rkn (根结线虫, 南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita* 种 1) ); Pc1 = 厚垣孢普可尼亚菌 (*Pochoniachlamydosporia*) 用量 1 (2000 厚垣孢子 /g 土壤) ; Pc2 = 厚垣孢普可尼亚菌 (*P. chlamydosporia*) 用量 2 (4000 厚垣孢子 /g 土壤) ; aba = 0.1 或 0.3mg/ 种子的阿维菌素种子包衣)。<sup>a</sup> 带标准误差的平均值 (P = 0.05)。同一栏中相同字母表明结果没有显著不同。

[0135] 由卵的数目表示的生殖雌虫的数目实质上没有差别, 标明 BCO 没有寄生发育或成熟的线虫 (表 5)。卵的数目变化很大, 并且仅仅使用高阿维菌素用量的处理具有低于对照的卵数目。通过从土壤中取出 J2 得到了相似的结果。

[0136] 表 5. 番茄温室试验终止时根结线虫的数量 (两次试验数据结合)

[0137]

处理	卵块 / 根 <sup>a</sup>	卵数量 / 根 <sup>a</sup>	J2/50ml 土壤 <sup>a</sup>
1. nt, n-inf. 对照	0.0±0.0a	0.0±0.0a	0.0±0.0a
2. nt, rkn 对照	454.2±85.5c	35913±92328d	56.5±33.3bc
3. nt+Pc1, rkn	377.5±53.5c	276800±27844cd	84.5±31.7c
4. nt+Pc2, rkn	444.2±80.2c	261266±32880cd	22.8±13.1ab
5. aba0.1, rkn	454.2±62.7c	346133±39003d	20.3±4.3ab
6. aba0.1+Pc1, rkn	418.3±69.3c	293866±33768cd	54.3±33.2bc
7. aba0.1+Pc2, rkn	475.8±89.1c	247466±35400cd	16.3±7.0ab
8. aba0.3, rkn	381.7±120.3c	205867±66056bc	7.2±5.4ab

[0138]

9. aba0.3+Pc1, rkn	147.5±24.0ab	100800±23468ab	3.0±2.9ab
10. aba0.3+Pc2, rkn	315.0±97.9bc	193600±39476bc	3.5±1.9ab

[0139] nt = 没有种子处理 ;n-inf. = 没有 rkn (根结线虫, 南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita* 种 1) );Pc1 = 厚垣孢普可尼亚菌 (*Pochoniachlamydosporia*) 用量 1(2000 厚垣孢子/g 土壤) ;Pc2 = 厚垣孢普可尼亚菌 (*P. chlamydosporia*) 用量 2(4000 厚垣孢子/g 土壤) ;aba = 0.1 或 0.3mg/ 种子的阿维菌素种子包衣)。<sup>a</sup> 带标准误差的平均值 ( $P = 0.05$ )。同一栏中相同字母表明结果没有显著不同。

[0140] 与未处理对照相比, 所有处理增加了每株植物上果实的数目、果实的总重量以及果实的平均重量 (表 6)。阿维菌素和厚垣孢普可尼亚菌 (*P. chlamydosporium*) 的高用量的组合具有最多的果实和最高的果实总重量。

[0141] 表 6. 温室试验中番茄的产量 (两次试验数据结合)

[0142]

处理	果实数目 / 植株 <sup>a</sup>	果实总重量 / 植株 (g) <sup>a</sup>	果实重量 (g) <sup>a</sup>
1. nt, n-inf. 对照	58.2±3.9f	313.2±23.9e	5.42±0.38bc
2. nt, rkn 对照	9.5±2.3a	42.1±10.7a	3.72±0.80a
3. nt+Pc1, rkn	21.5±5.7ab	106.6±27.3ab	5.05±0.29bc
4. nt+Pc2, rkn	28.0±3.9bc	142.6±16.8b	5.16±0.13bc
5. aba0.1, rkn	31.0±4.6bcd	160.3±22.8bc	5.19±0.18bc
6. aba0.1+Pc1, rkn	34.2±5.9cd	160.7±28.0bc	4.65±0.17ab
7. aba0.1+Pc2, rkn	41.8±3.7de	217.7±23.2cd	5.24±0.38bc
8. aba0.3, rkn	40.5±1.5cde	243.3±11.8d	6.00±0.14c
9. aba0.3+Pc1, rkn	41.2±3.8de	218.9±33.7cd	5.19±0.39bc
10. aba0.3+Pc2, rkn	47.8±6.6ef	259.6±30.2de	5.59±0.36bc

[0143] nt = 没有种子处理 ;n-inf. = 没有 rkn (根结线虫, 南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita* 种 1) );Pc1 = 厚垣孢普可尼亚菌 (*Pochoniachlamydosporia*) 用量 1(2000 厚垣孢子/g 土壤) ;Pc2 = 厚垣孢普可尼亚菌 (*P. chlamydosporia*) 用量 2(4000 厚垣孢子/g 土壤) ;aba = 0.1 或 0.3mg/ 种子的阿维菌素种子包衣)。<sup>a</sup> 带标准误差的平均值 ( $P = 0.05$ )。同一栏中相同字母表明结果没有显著不同。

[0144] 实施例 3. 番茄小块场地田间试验

[0145] 九个小块场地 (3m 直径, 12cm 深) 各自装入约 350000-cm<sup>3</sup> 田间土壤 (砂壤

土, pH7.2), 所述土壤来自临近农田并且没有明显的植物寄生线虫的侵染。番茄秧苗 (*Lycopersicon esculentum* cv. Tiny Tim) 由阿维菌素处理的种子 (0.3mg a. i. / 种子) 或 Apron/Maxim 处理的种子长成。将种子播种进具有商用移栽基质 (Sunshine mix) 的秧苗托盘中。基质未经或经过厚垣孢普可尼亚菌 (*P. chlamydosporia*) 修改 (4000 厚垣孢子 / cm<sup>3</sup> 基质)。在温室中三星期之后, 将秧苗移栽进 9 个小块场地。每块场地为随机区组, 含 4 个处理并且每个处理三株植物。通过将 10,000 个南方根结线虫 (*M. incognita*) 种 1 的卵分布至每株移栽植物约 5cm 处的三个 5cm 深的洞中而对每个种植区进行侵染。通过低压灌溉对场地进行灌溉, 并且按照本地标准施肥。在约 10 星期之后植物座果并且在随后三星期期间收获三次。计算果实数目和重量。所有数据进行方差分析并使用 Fisher's LSD 分离平均值 ( $P = 0.05$ )。

#### [0146] 结果

[0147] 试验质量极好。杀线虫种子包衣和 BCO 都显著增加产量 (表 7)。每株植物上果实的平均数和果实平均总重量都响应处理而增加。与早期试验相比, 在产量方面 BOC 与化学处理没有差别。然而, 厚垣孢普可尼亚菌 (*P. chlamydosporia*) 和阿维菌素的组合处理优于两种单独应用。与温室试验相比, 收获时组合处理的卵数量最高。这可能表明在天然田间土壤中其他微生物的作用, 常常促进根结线虫寄生的根的破坏。受到保护的根一般具有最大并且最健康的根系, 因此为线虫提供了大量的摄食位点。

#### [0148] 表 7. 小块场地田间试验中番茄产量

#### [0149]

处理	果实数量 / 植株 <sup>a</sup>	果实总重量 / 植株 <sup>a</sup>	收获时根 瘿 <sup>a</sup>	南方根结线虫 ( <i>M. incognita</i> ) 卵 / 植株 <sup>a</sup>
未处理对照	55.8 ± 5.5a	214.7 ± 23.9a	8.1 ± 0.3a	134,500 ± 30,300a
厚垣孢普可尼亚菌	70.7 ± 4.1b	271.5 ± 17.4b	5.8 ± 0.5b	216,600 ± 34,700ab
阿维菌素 0.3mg/ 种子	69.0 ± 3.2b	290.6 ± 12.6b	4.5 ± 0.2c	171,400 ± 37,100a
厚垣孢普可尼亚菌 + 阿维菌素 0.3mg/ 种子	81.4 ± 2.9c	321.8 ± 20.6c	4.7 ± 0.3c	306,300 ± 46,000b

[0150] <sup>a</sup> 指标准误差 ( $P = 0.05$ )。同一栏中相同字母表明结果没有显著不同。

[0151] 这些实施例中出现的结果表明阿维菌素种子包衣与线虫消灭真菌厚垣孢普可尼亚菌 (*P. chlamydosporia*) 的组合是利用两种体系的力量而有助于克服它们单独的缺点的成功的新策略。

#### [0152] 实施例 4. 根结线虫试验

[0153] 在这个设计中我们评估了阿维菌素种子包衣和 Pasteuriapenetrans 土壤施用的组合在对抗根结线虫的效力的潜在益处和对植物生产的潜在益处。

[0154] 阿维菌素包被 (0.3mg a. i. / 种子) 和未处理番茄种子 (cv. Kirby) 由 Syngenta Crop Protection 提供。将处理过的种子播种入各秧苗盘。在温室中 25 ± 2°C 条件下培育 3 星期之后, 将秧苗移栽入包含测试土壤的 1500cm<sup>3</sup> 盆中。土壤从位于 Irvine 的 UC South Coast Research and Extension Center 的田间收集 (San Emigdio 砂壤土, 12.5% 砂, 12%

粘土,75.4%淤泥,0.45 OM, pH7.4)。为了改善土壤通风和灌溉用水排水,2/3的土壤与1/3(v/v)的灰泥砂(plaster sand)。土壤进行巴氏杀菌并且使用根结线虫侵染。在温室栽培中,在番茄栽培品种 UC 82 上培养南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*) 种 3 约三个月。通过改良的漂白/筛分法从根系收获线虫卵 (Hussey and Barker, Plant Disease Reporter, 57:1025-1028 (1973)), 并且以 1000 个南方根结线虫 (*M. incognita*) 种 3 的卵每 100cm<sup>3</sup> 用于侵染测试土壤。从加利福尼亚大学河岸线虫学真菌保藏 (University of California Riverside Nematology culture collection) 获得 *Pasteuria penetrans*。在根结线虫侵染的番茄植株上培养接种体。在巴斯德菌 (*Pasteuria*) 处理中,使用约  $1 \times 10^5$  个内生孢子/g 土壤修正土壤。按照完全随机区组安排试验,进行 6 次重复并且在  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  条件下伴随环境照明在温室中培养。所有盆都使用 Osmocote 14-14-14 (番茄生产的商标用量) 进行施肥。需要进行灌溉。在移栽两个月之后,于土壤水平切断植物顶端,烘干并且称重。按照 0-10 的虫瘿等级对根进行分级 (Zeck, Bayer AG, Pflanzenschutz-Nachrichten, 24:141-144 (1971))。所有数据进行方差分析并且,如果合适,使用 Fisher's LSD 分离平均值 (SuperANOVA, Abacus, Berkeley, CA)。

#### [0155] 结果

[0156] 在测试的侵染水平,在未处理对照中的根结虫瘿是严重的 (表 8)。阿维菌素种子包衣减少虫瘿约两个分类等级,这在一般观察的效力范围之内。生物控制剂仅略微减少根瘿。与对照相比,阿维菌素和生物控制剂 *P. penetrans* 的组合导致最低的虫瘿率,并且显著增加植物顶端重量。此外,这是在试验结束时显著降低根结线虫数量水平的唯一处理。结果证明了阿维菌素种子包衣和细菌的联合使用的协同作用。

[0157] 表 8. 水平在试验终止时根瘿、植物重量和土壤中根结线虫的数量

[0158] 处理	根瘿等级 (0-10)	植物顶端干重 (g)	J2/50cc 土壤
[0159] 未处理对照	5.8 ± 0.5c	29.5 ± 2.4a	155 ± 75b
[0160] 阿维菌素 *	3.3 ± 0.3ab	31.3 ± 1.8ab	95 ± 15b
[0161] <i>P. penetrans</i> **	5.2 ± 0.4bc	33.2 ± 1.2ab	135 ± 32b
[0162] 阿维菌素 * + <i>P. penetrans</i> **	2.3 ± 0.5a	36.9 ± 0.6b	44 ± 16a

[0163] \* 种子包衣 (0.3mg a. i. / 种子)

[0164] \*\* 结合土壤 ( $1 \times 10^5$ /g 土壤)

[0165] 平均值 ± 标准误差;相同字母指根据 Fisher's Protected LSD (0.01) 没有显著差异

[0166] 平均值 ± 标准误差;相同字母指在  $\log(x+1)$  转换后根据 Fisher's Protected LSD (0.01) 没有显著差异

[0167] 在本说明书中引用的所有刊物和专利申请在这里通过引用引入,如同明确地并单独地指出每个单独刊物或专利申请通过引用引入。

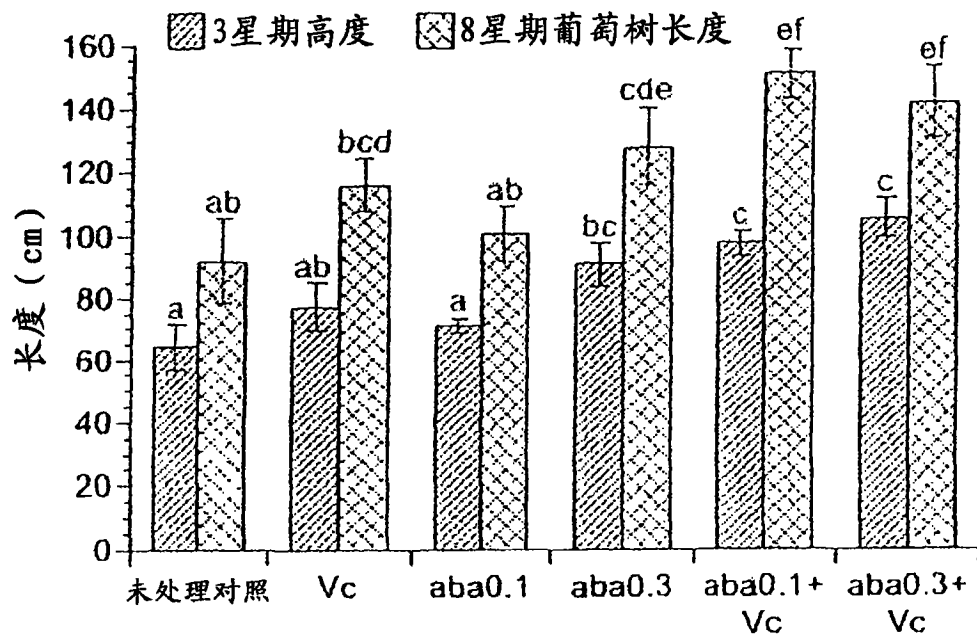


图 1