

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200510107079.9

[51] Int. Cl.

A01C 1/06 (2006.01)

C12N 5/04 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009 年 10 月 14 日

[11] 授权公告号 CN 100548105C

[22] 申请日 2005.9.27

[21] 申请号 200510107079.9

[30] 优先权

[32] 2004.9.27 [33] US [31] 60/613,604

[73] 专利权人 韦尔豪泽公司

地址 美国华盛顿

[72] 发明人 威廉·C·卡尔松

杰西·L·韦茨巴格尔

杰弗里·E·哈特尔

[56] 参考文献

US2005045089A1 2005.3.3

US2005114919A1 2005.5.26

US5701699A 1997.12.30

US2003101643A1 2003.6.5

审查员 徐 利

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责
任公司

代理人 杨 青 樊卫民

权利要求书 2 页 说明书 8 页 附图 3 页

[54] 发明名称

具有活动端封的人造种子的制备方法

[57] 摘要

本发明提供了人造种子(20)。人造种子包括种皮(24)，置于种皮内的限制器(30)。限制器包含大小以及构造适于其中容纳胚(42)的腔(34)。人造种子还包含置于种皮表面上的密封件，并且密封件也包括至少初级端封(44)，二级端封(21)以及三级密封件(60)。

1. 人造种子的制备方法，包括：
 - (a)提供种皮；
 - (b)将限制器置于种皮内，其中所述限制器具有容纳胚的腔；
 - (c)将初级端封附着于种皮一端；
 - (d)将二级端封置于初级端封上；以及
 - (e)将三级密封件附着于二级端封上，其中当暴露于预定环境条件时三级密封件结构降解。
2. 权利要求1的人造种子的制备方法，其中三级密封件在水合时膨胀。
3. 权利要求1的人造种子的制备方法，其中三级密封件由选自水溶性胶合剂，蜡以及聚合物胶合剂的材料制成。
4. 权利要求1的人造种子的制备方法，其中三级密封件包含填料。
5. 权利要求1的人造种子的制备方法，其中的三级密封件适于作为杀虫剂的载体。
6. 权利要求1的人造种子的制备方法，其中的三级密封件包含抗微生物剂。
7. 权利要求6的人造种子的制备方法，其中当胚萌发时将抗微生物剂施用于胚。
8. 权利要求1的人造种子的制备方法，其中当胚萌发并且从种皮显露出来时三级密封件保持为抗微生物密封件。

9. 权利要求6的人造种子的制备方法，其中三级密封件包裹种皮的侧壁。

10. 权利要求9的人造种子的制备方法，其中的三级密封件由水溶性胶合剂制成。

11. 权利要求9的人造种子的制备方法，其中的三级密封件由蜡制成。

12. 权利要求9的人造种子的制备方法，其中的三级密封件由聚合物胶合剂制成。

13. 权利要求12的人造种子的制备方法，其中的三级密封件包含选自活性炭，粉末木质素，细砂以及滑石的填料。

14. 权利要求9的人造种子的制备方法，其中当胚萌发并且从种皮显露出来时三级密封件保持为抗微生物密封件。

具有活动端封的人造种子的制备方法

发明领域

本发明涉及人造的种子，尤其是涉及附着于人造种子的活动端封的敷层。

技术背景

植物的无性繁殖对于某些种而言已经显示出能够产生大量遗传一致的胚，每个胚都能够发育成正常的植物体。这种胚常常必须在实验室的条件下进行进一步的培养直到它们达到自养“幼苗阶段”，这个阶段的特征在于能够通过光合成产生它们自己的养料，能够抵抗干燥，能够产生穿透土壤的根以及能够抵御土壤微生物。一些研究者已经对被称为人造种子的人工种子的产生进行了试验，其中单个的植物体细胞或者合子胚包裹在种皮中。这种人造种子的例子公开在授权给Carlson等人的美国专利5,701,699中，其公开在这里特意引入作为参考。

典型的人造种子包括种皮，合成的配子体以及植物胚。不包括植物胚的人造种子在本领域称作“种子坯料”。种子坯料通常为具有封闭端以及开口端的圆柱形被膜。将合成的配子体置于种皮内将种皮内部基本上填满。称作子叶限制器的纵向伸展的坚硬多孔插入件可以位于种皮的一端的中心，由合成配子体包围，并且包括部分延伸穿过子叶限制器纵向的位于中心的腔。

腔的大小可以满足在其中容纳植物胚。众所周知的植物胚包括胚根端以及子叶端。植物胚首先放置在子叶端子叶限制器的腔内。然后将植物胚由端封密封在种子坯料内。在端封中有弱化点，可以使植物胚的胚根端穿透端封。

过去，端封由拉伸蜡基膜，诸如Parafilm®或者形成蜡封附于人造种子从而将胚封入人造种子内。尽管这种端封可以将胚成功封入人造种子内，它们还存在自身的问题。作为非限制的实例，这种端封在实验室条件下正常工作但是当放入更严峻的处理环境下时诸如农业播种机的环境下可以过早地破裂。另外，为了防止微生物的侵入，这种端封用tribiotic油膏处理。这种处理可以进一步降低端封的强度。因此，需要存在用于人造种子的三级端封从而保护二级端封。

发明概述

本发明提供了人造种子。人造种子包括种皮，置于种皮内的限制器以及置于限制器腔内的胚。人造种子还包括附着于种皮一端的初级端封以及位于初级端封上的二级端封。还包括附着于二级端封的三级密封件。在本发明的一个实施方案中，三级密封件包括抗微生物剂。在本发明另一实施方案中，三级密封件包裹着种皮的侧壁。

根据本发明的不同实施方案形成的人造种子有几个优于现有人造种子的优点。在这方面，三级密封件发挥在种子处理以及播种期间保护二级端封的作用。因为当暴露于预定环境条件时三级密封件结构降解，(例如当水合时膨胀)，可以使三级密封件变得可穿透，由此促进胚萌发穿过初级端封以及二级端封。另外，三级密封件适合于作为杀虫剂的载体，在发芽之前以及期间进一步保护胚。当萌发穿过三级密封件时，随着三级密封件被穿透杀虫剂保持了原来的功能。

附图说明

本发明的上述方面以及许多伴随的优点通过参考下列结合附图的详细描述可以更清楚地理解，其中：

图1是具有根据本发明的一个实施方案形成的人造种子的截面侧视图，显示了具有初级端封，二级端封以及三级密封件的人造种子；以及

图2是图1的人造种子的部分截面侧视图，显示了当胚萌发穿透过二级端封以及三级密封件时将抗微生物剂施加于萌发胚；以及

图3是图1的人造种子的另外的实施方案的侧视图，显示了施加于二级端封以及人造种子侧壁的三级密封件。

优选实施方案的详细说明

图1图解了具有根据本发明的一个实施方案构建的三级密封件60的人造种子20。人造种子20包括cylcap 22，种皮24，营养液26，诸如配子体以及固定的端封28。种皮24由管状材料的一段形成的。在一个实施方案中，种皮24是一段纤维材料杆，诸如纸。杆段可以用合适的涂料诸如蜡预处理。

在其他的实施方案中，种皮24由可生物降解的塑性材料的管状段形成。一种这样的材料是利用的聚乳酸(“PLA”)并由加利福尼亚洛杉矶的NAT-UR销售。这种可生物降解的塑料管被类似切割成用于人造种子的适当长度。此外，这种可生物降解的塑料管不需要蜡质敷层，因为这种管已经对环境要素有抗性了。很显然虽然优选切割管，其他诸如获得用于人造种子的合适大小的管的实施方案也在本发明的范围内。

cylcap 22又名限制器由多孔材料制成，所述多孔材料具有足够强的硬度可以抵抗胚萌发的穿孔或者破碎，诸如陶器或者瓷器材料，并且包括端封部分30以及子叶限制器部分32。子叶限制器部分32与端封部分30形成整体或者整合。cylcap 22还包括纵向延伸的腔34，延伸穿过端封部分30并且部分地穿过子叶限制器部分32的一端。腔34的开口端称作子叶限制器开口36。腔34的大小为可以在其中容纳植物胚42。

在某些实施方案中，因为cylcap 22由多孔材料制成，也许需要用隔离材料包裹cylcap 22减少水分流失的速率以及限制或者减少微生物的侵入。这种隔离材料包括蜡，聚氨酯，釉，指甲油以及由Airproducts

Airfiex 4514销售的敷层。

端封部分30当在顶面角度观察时为圆形的并且包括侧壁。虽然圆形是端封部分30的优选实施方案，其他的实施方案以及形状，诸如多边形，正方形，三角形，椭圆形及其他形状也在本发明的范围内。

在图1的实施方案中，侧壁38由端封部分30的厚度限定并且具有基本上等于种皮24内径的直径。在某些实施方案中，cylcap 22经过加热与种皮24连接。作为非限制性实例，在制造期间，cylcap 22可被加热到预定温度，从而使得种皮24以及cylcap 22共连接时，在cylcap 22以及种皮24之间的热传递引起种皮24，cylcap 22或者两者熔化由此将它们粘合起来。其他连接cylcap 22与种皮24的方法，诸如蜡粘合或者热胶熔化也在本发明的范围内。

侧壁38可以包括锥形部分40。锥形部分40可以为端封部分30一端的削角。制造期间锥形部分40参与cylcap 22与种皮24的装配。虽然优选锥形部分40，其它诸如cylcap不包括锥形部分的实施方案也在本发明的范围内。胚42置于腔34内并且在那里由活动端封43将其密封其中。

活动的端封43包括初级端封44以及二级端封21。初级端封44由如上所述的PLA材料形成并且包括位于中心的开口50。开口50的大小对应于cylcap 22的腔34的直径从而可以使萌发胚42从其中穿过。初级端封44与端封部分30经过多种方法粘合，包括胶或者热粘合。

作为非限制性实例，初级端封44与预热cylcap 22配合使得开口50位于腔34以上。将初级端封44与cylcap 22热焊接或者粘合。很显然初级端封44可以在cylcap 22与种皮24粘合前后与cylcap 22粘合。同样，如果种皮24由PLA制成，希望但不必需使初级端封44以及种皮24的熔融温度相仿。

将初级端封44与cylcap 22粘和的另一非限制性实例包括粘合垫片。在本实例中，初级端封44与cylcap 22热密封或者粘合使得开口50与腔34共轴向平行。在本工序中，一种形式是用于将初级端封44的边缘围绕着cylcap 22端封部分30的周长弯曲。如果初级端封44以及种皮24的熔融温度不同，那么轻敷层氰基丙烯酸酯就被用作粘合垫片将初级端封44以及种皮22粘合。

用胶合剂后施加热，这样做的目的在于经过熔化不均一使粘合密封件变薄，所述不均一通常发生在制造种皮24以及形成粘合接头时。其后，将包括初级端封44的cylcap与种皮24粘合。如上所述，这种方法同样适于已经粘合了种皮24的cylcap 22。最后，上述粘合初级端封44到种皮24的方法可用来加热焊接相容或者不相容的材料。

现在将更详细描述二级端封21。关于这方面，二级端封21由众所周知的密封材料诸如Parafilm®形成。通过众所周知的方法形成次级二级端封21并与初级端封44粘合，包括胶或者热粘合。二级端封21还包括预定爆破强度可以使萌发胚42穿透活动端封44。

仍然参照图1，现在将详细描述三级密封件60。本发明实施方案所用的三级密封件60以及活动端封43分别固定了外封闭层以及内封闭层。虽然活动端封43已经描述为包括初级端封44以及二级端封21，很显然本发明并不受此限制。作为非限制性实例，活动端封43可以仅仅包括二级端封21，因此这种实施方案也在本发明的范围内。

三级密封件60以及活动端封43的组合形成了密封面，其中由三级密封件60限定的封闭层由预定材料制成，所述预定材料在预定暴露于环境条件后结构完整性降低。三级密封件60还作为抗微生物密封剂，当胚萌发并且从种皮24显露出来时密封以及保护胚以及保护子叶限制器腔。合适的用于制造三级密封件60的材料包括水溶性的材料，蜡，可环境降解的材料以及可生物降解的材料。因此，这种材料以及结构

以及特性相当的材料也在本发明的范围内。

如果用于制造三级密封件60的材料溶于水。它可以包含抗微生物剂。例如，具有粒状长效抗微生物剂的水溶性胶合剂可以施用于二级端封21。在胶合剂内悬浮液中的具有流动或者可湿性粉剂杀虫剂的水溶性胶合剂也在本发明的范围内。在另一实施方案中，胶合剂可以包含其上吸附杀虫剂的吸附剂或者载体(例如，炭或者木质素)。同时，无抗微生物剂的水溶性胶合剂也在本发明的范围内。

如果蜡用作三级密封件，最好蜡是在播种温度呈固态并且当暴露于预定温度，诸如正午种子区温度25℃-35℃熔化的类型。另一实例，三级密封件60可以由聚合物胶合剂制成。诸如H.B. Fuller PD 120，填料或者长效脱模剂分散其中。本发明范围内的这种填料包含活性炭，粉末木质素，细砂以及滑石。

三级密封件60还可以由羟丙基甲基纤维素制成。其他类型的亲水材料以及基于纤维素的敷层包含苯二甲酸醋酸纤维素，羟丙基乙基纤维素，乙基纤维素，甲纤维素，微晶纤维素以及角叉菜胶。这种材料具有当干燥时结构相对完整，并且当暴露于环境条件诸如水时结构完整性下降的所需特性。

在某些实施方案中，需要添加抗微生物剂，诸如Thiram 50WP。在所需浓度基本上无植物毒性的任一抗微生物剂也在本发明的范围内。如以下更具体的描述，用抗微生物剂处理的三级密封件60适于作为杀虫剂的载体保护发芽之前以及期间的胚42。

三级密封件60的穿破强度是所使用聚合物的功能并且其数值用于制造三级密封件60。作为非限制的实例，利用由用Thiram 50WP作为抗微生物剂处理的羟丙基甲基纤维素(HPMC)制成的三级密封件60检验穿破强度。进行确定不同混合物的穿破强度的试验。如下所述，总共6

组处理被用于试验穿破强度。制备2.64 g的HPMC 120以及0.36 g HPMC 4000的混合物用于处理1和2。

处理1利用0.91 g HPMC混合0.4823 g Thiram以及8.61ml的水，产生按重量计算9.1% 的HPMC混合物。

处理2利用1.25g HPMC混合0.4823 g Thiram以及8.27ml的水，产生按重量计算12.5%的HPMC混合物。

处理3包含0.91 g HPMC 4000加0.4823 g Thiram以及8.61ml的水，产生按重量计算9.1% 的HPMC 4000。

处理4利用0.86 g HPMC 4000加0.4823 g Thiram以及8.66 ml的水。

处理5利用粘合种子的机械干扰盖。

处理6利用附着于种子的机械干扰盖然后涂有tribiotic油膏并且在试验以前放置24小时。在这种情况下，二级端封用磨损垫片洗涤器些微搅动一下使得三级密封件与初级端封粘合。

处理1-4在处理6制造的种子上面进行。

包裹并且干燥后每处理试验12颗种子，用水重新湿润后用另外12颗种子试验1到1.5小时。下表1列出了结果。

表1

处理	1干燥	1湿润	2干燥	2湿润	3干燥	3湿润	4干燥	4湿润	5	6
平均穿破强度 (g)	45.50	1.23	454.10	1.84	575.16	1.87	567.08	2.07	16.06	1.3
标准偏差	5.06	0.14	45.3	0.60	8.34	0.27	15.7	0.73	2.23	0.15

参考图2可以看出，当胚42萌发时，其穿破活动端以及三级密封件

60。因为三级密封件60包含抗微生物剂，当胚42穿透三级密封件60时，抗微生物剂的残余物在发芽期间至少涂覆胚42的侧面。

当处理以及播种人造种子20时，三级密封件60保护活动端密封件43免于与这种活动相关的损害。播种后三级密封件60在灌溉期间软化使得活动密封件43于发芽期间在所需的水平破裂。当由于用于制造三级密封件60的材料的亲水特性，受潮时三级密封件60软化。结果，当暴露于不同的环境条件时，三级密封件60的结构完整性降低，同时在处理以及播种期间最初保持了其结构完整性。

参考图3，下面将更详细描述图1以及2的人造种子的其它实施方案。图3的人造种子120在材料与操作方面与如上所述第一个实施方案相同，除了将与用于形成三级密封件160的相同材料用于人造种子的整个周长。在这方面，人造种子装配后，第一实施方案的如上所述的亲水材料层可用于人造种子120的整个外表面。此外，亲水材料可以包含诸如如上所述的那些抗微生物剂。

虽然已经示出并描述了本发明的优选实施例，但是应当明白，在不脱离本发明精神实质和范围的情况下可以进行各种改变。

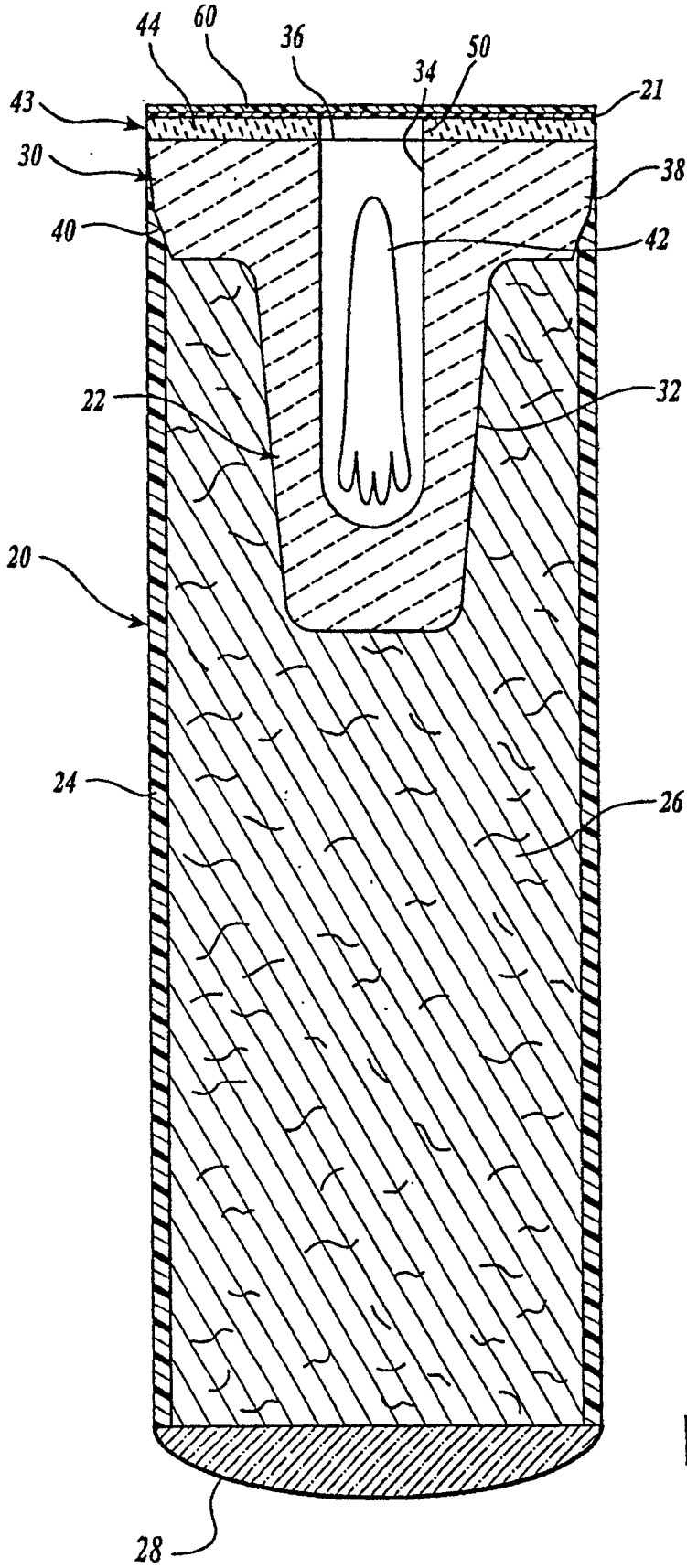


图1

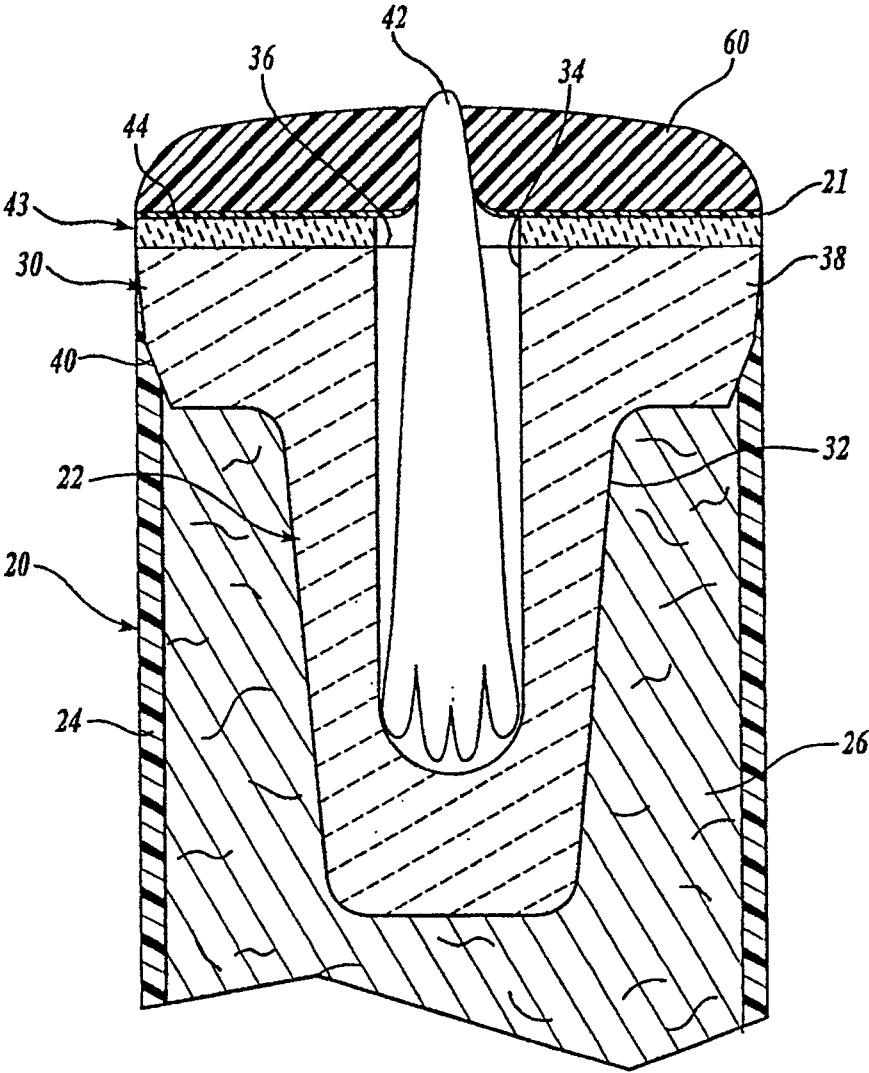


图2

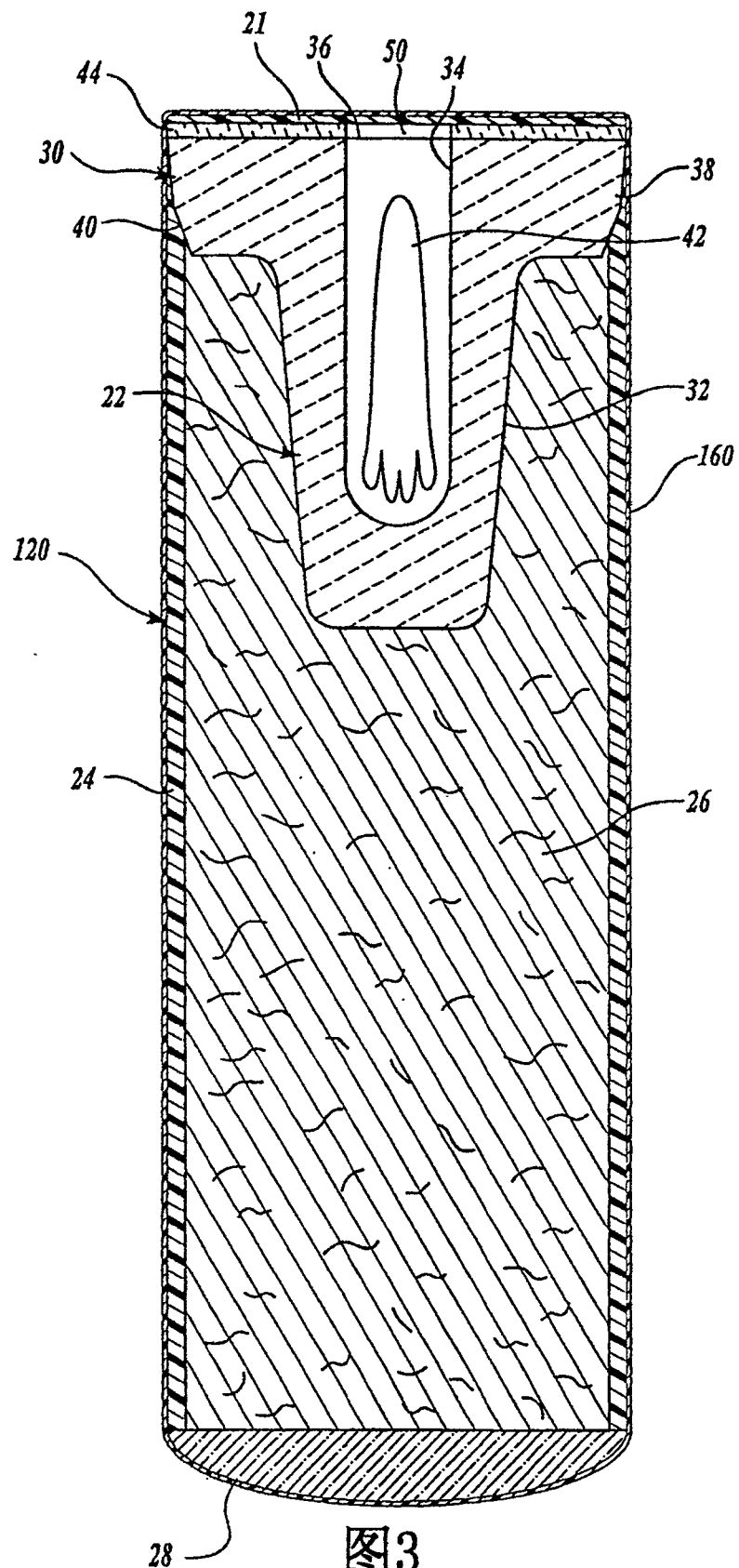


图3