



(21) 申请号 202310047759.4

A01P 21/00 (2006.01)

(22) 申请日 2018.03.29

A01G 7/06 (2006.01)

A01G 17/02 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 115777699 A

(56) 对比文件

(43) 申请公布日 2023.03.14

US 2010317529 A1, 2010.12.16

US 2013267570 A1, 2013.10.10

(30) 优先权数据

62/479,540 2017.03.31 US

US 9040460 B2, 2015.05.26

C. Bailly等. "The effects of abscisic acid and methyl jasmonate on 1-aminocyclopropane 1-carboxylic acid conversion to ethylene in hypocotyl segments of sunflower seedlings, and their control by calcium and calmodulin". *Plant Growth Regulation*. 1992, 第11卷第349-355页.

(62) 分案原申请数据

201880013031.7 2018.03.29

(73) 专利权人 瓦伦特生物科学有限责任公司

地址 美国伊利诺斯州

KIVA APELBAUM2等. "Some Characteristics of the System Converting 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic Acid to Ethylene". *Plant Physiol.*. 1980, 第67卷第80-84页.

(72) 发明人 P·沙玛 M·笹川

F·P·希尔弗曼 B·A·贝尔金德

审查员 江笑丹

(74) 专利代理机构 北京世峰知识产权代理有限公司

11713

专利代理师 王建秀 卑莹

权利要求书1页 说明书8页

(51) Int. Cl.

A01N 25/02 (2006.01)

A01N 25/22 (2006.01)

A01N 53/00 (2006.01)

(54) 发明名称

1-氨基-1-环丙烷羧酸制剂

(57) 摘要

本发明涉及稳定的1-氨基-1-环丙烷羧酸制剂及其使用方法。

1. 一种稳定农业制剂,包含1-氨基-1-环丙烷羧酸ACC、水、氯化钙和5-氯-2-甲基-1,2-异噻唑-3-酮和2-甲基-2H-异噻唑-3-酮,其中ACC与氯化钙的摩尔比为1.59:1至1:2.27,其中ACC以所述制剂的约5重量%至约40重量%的浓度存在,并且其中“约”被定义为所修饰值的 $\pm 10\%$ 。
2. 根据权利要求1所述的制剂,还包含乙二胺四乙酸。
3. 根据权利要求1所述的制剂,其中ACC以所述制剂的约5重量%至约25重量%的浓度存在。
4. 一种降低木本多年生植物的作物负荷的方法,所述方法包括将根据权利要求1所述的制剂施用于植物。
5. 根据权利要求4所述的方法,其中所述植物是核果树。
6. 根据权利要求5所述的方法,其中所述核果树选自油桃树、桃树和李树组成的组。
7. 根据权利要求4所述的方法,其中所述植物是苹果树。
8. 一种增强葡萄着色的方法,所述方法包括将根据权利要求1所述的制剂施用于葡萄植物。
9. 根据权利要求8所述的方法,其中所述葡萄植物是酿酒葡萄。
10. 一种降低木本多年生植物的作物负荷的方法,所述方法包括将根据权利要求2所述的制剂施用于植物。
11. 根据权利要求10所述的方法,其中所述植物是核果树。
12. 根据权利要求11所述的方法,其中所述核果树选自油桃树、桃树和李树组成的组。
13. 根据权利要求10所述的方法,其中所述植物是苹果树。
14. 一种增强葡萄着色的方法,所述方法包括将根据权利要求2所述的制剂施用于葡萄植物。
15. 根据权利要求14所述的方法,其中所述葡萄植物是酿酒葡萄。

1-氨基-1-环丙烷羧酸制剂

[0001] 本申请是申请号为201880013031.7、申请日为2018年3月29日、发明名称为“1-氨基-1-环丙烷羧酸制剂”的中国发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及稳定的1-氨基-1-环丙烷羧酸制剂及其使用方法。

背景技术

[0003] 1-氨基-1-环丙烷羧酸(“ACC”)在植物中由ACC合酶合成并作为乙烯生物合成的前体。乙烯已被证明参与多种植物应答,包括胁迫、坐果、叶子脱落和开花。由于ACC作为乙烯前体的作用,其已经在农业中用于诱导乙烯应答事件。

[0004] ACC尚未显示出在溶液中以高浓度稳定。因此,对于特定的农业用途,高浓度ACC必须作为固体储存并在应用前溶解在液体溶剂中。由于最终用户制备液体组合物所需的时间和制备期间可能产生的差错,这个额外步骤可能导致最终用户的成本增加。因此,本领域中需要稳定的高浓度液体ACC制剂。

发明内容

[0005] 本发明涉及包含1-氨基-1-环丙烷羧酸(“ACC”)、水和氯化钙的稳定农业制剂。

[0006] 本发明还涉及降低木本多年生植物的作物负荷的方法,所述方法包括将本发明的制剂施用于植物。

[0007] 本发明还涉及增强葡萄着色的方法,所述方法包括将本发明的制剂施用于植物。

[0008] 本发明包括以下方案:

[0009] 1.一种包含1-氨基-1-环丙烷羧酸ACC、水和氯化钙的稳定农业制剂,其中ACC与氯化钙的摩尔比为约1.59:1至约1:2.27。

[0010] 2.根据方案1所述的制剂,其中所述ACC以所述制剂的约5重量%至约25重量%的浓度存在。

[0011] 3.根据方案2所述的制剂,其中所述ACC以所述制剂的约10重量%至约25重量%的浓度存在。

[0012] 4.根据方案1所述的制剂,其中所述氯化钙以所述制剂的约3.5重量%至约75重量%的浓度存在。

[0013] 5.根据方案2所述的制剂,其中所述氯化钙以所述制剂的约7重量%至约75重量%的浓度存在。

[0014] 6.根据方案1所述的制剂,还包含螯合剂。

[0015] 7.根据方案6所述的制剂,其中所述螯合剂以所述制剂的约0.1重量%至约0.2重量%的浓度存在。

[0016] 8.根据方案1所述的制剂,还包含防腐剂。

[0017] 9.根据方案8所述的制剂,其中所述防腐剂以所述制剂的约0.25重量%至约1重

量%的浓度存在。

[0018] 10.一种稳定的农业制剂,包含:

[0019] 约10%w/w至约25%w/w的ACC;

[0020] 约7%w/w至约75%w/w的氯化钙;和

[0021] 水;

[0022] 其中ACC与氯化钙的摩尔比为约1.59:1至约1:2.27并且其中w/w表示所述制剂的重量比。

[0023] 11.根据方案10所述的制剂,还包含以约0.1%w/w至约0.2%w/w的浓度存在的乙二胺四乙酸(EDTA)。

[0024] 12.一种稳定的农业制剂,包含:

[0025] 约10%w/w的ACC;

[0026] 约10%w/w的氯化钙;

[0027] 约0.2%w/w的乙二胺四乙酸;和

[0028] 约79%w/w的水,

[0029] 其中w/w表示所述制剂的重量比。

[0030] 13.根据方案12所述的制剂,还包含约0.25%w/w的5-氯-2-甲基-1,2-异噻唑-3-酮/2-甲基-2H-异噻唑-3-酮。

[0031] 14.根据方案12所述的制剂,其中所述制剂的pH为约4至约5.2。

[0032] 15.一种降低木本多年生植物的作物负荷的方法,所述方法包括将根据方案1所述的制剂施用于植物。

[0033] 16.根据方案15所述的制剂,其中所述植物是核果树。

[0034] 17.根据方案16所述的制剂,其中所述核果树选自由油桃树、桃树和李树组成的组。

[0035] 18.根据方案15所述的制剂,其中所述植物是苹果树。

[0036] 19.一种增强葡萄着色的方法,所述方法包括将根据方案1所述的制剂施用于葡萄植物。

[0037] 20.根据方案19所述的制剂,其中所述葡萄植物是酿酒葡萄。

具体实施方式

[0038] ACC在水中在高浓度下不稳定,因为ACC从溶液中沉淀出来。令人惊讶的是,氯化钙当以特定的ACC与氯化钙之比存在时,防止了ACC从水中沉淀。该结果是出乎意料的,因为多种其他盐,包括已知的稳定剂,未能防止ACC在水中沉淀。参见下面的实施例1。

[0039] 在一个实施方式中,本发明涉及包含ACC、水和氯化钙的稳定农业制剂,其中ACC与氯化钙的摩尔比为为约1.59:1至约1:2.27。

[0040] 在另一个实施方式中,ACC以约5%w/w至约40%w/w或约5%w/w至约25%w/w或约5%w/w至约15%w/w或约10%w/w至约25%w/w的浓度存在。

[0041] 在另一个实施方式中,氯化钙以约3.5%w/w至约75%w/w或约3.5%w/w至约35%w/w或约7%w/w至约75%w/w的浓度存在。

[0042] 在另一个实施方式中,本发明的制剂还包含螯合剂,优选乙二胺四乙酸(“EDTA”),

其优选浓度为约0.1%w/w至约0.2%w/w。

[0043] 在一个优选的实施方式中,本发明涉及稳定的农业制剂,其包含:

[0044] 约5%w/w至约25%w/w,优选约10%w/w至约25%w/w的ACC;

[0045] 约3.5%w/w至约75%w/w,优选约7%w/w至约90%w/w的氯化钙;

[0046] 水;

[0047] 可选地,约0.1%w/w至约0.2%w/w的螯合剂;和

[0048] 可选地,约0.25%w/w至约1%w/w的防腐剂,

[0049] 其中ACC与氯化钙的摩尔比约1.59:1至约1:2.27,优选约1:1.1。

[0050] 在一个更优选的实施方式中,本发明涉及稳定的农业制剂,其包含:

[0051] 约10%w/w的ACC;

[0052] 约10%w/w的氯化钙;

[0053] 约79%w/w的水;

[0054] 可选地,约0.2%w/w的EDTA;

[0055] 可选地,约0.25%w/w的Kathon®CG/ICP;和

[0056] 可选地,约0.6%w/w至约0.9%w/w的2N盐酸,

[0057] 其中制剂可选地具有pH为 2.5 ± 0.3 至 5.3 ± 0.3 。

[0058] 在另一个实施方式中,本发明涉及一种降低木本多年生植物的作物负荷的方法,所述方法包括将本发明的制剂施用于植物,优选地,木本多年生植物是核果树或苹果树,更优选是油桃树、桃树或李树。

[0059] 核果树,包括但不限于桃树、油桃树、李树、杏树和樱桃树。

[0060] 在另一个实施方式中,本发明还涉及增强葡萄着色的方法,所述方法包括将本发明的制剂施用于葡萄植物,优选地,所述葡萄植物是酿酒葡萄(*Vitis vinifera*)。

[0061] 适用于本发明制剂的防腐剂包括但不限于, Kathon®CG/ICP(5-氯-2-甲基-1,2-异噻唑-3-酮/2-甲基-2H-异噻唑-3-酮;Kathon是Rohm and Haas Company的注册商标并且Kathon CG/ICP可得自DOW Chemicals)、苯甲酸盐、柠檬酸、抗坏血酸、对羟基苯甲酸酯、山梨酸钾及其组合。

[0062] 适用于本发明制剂的螯合剂包括但不限于,EDTA、EDTA盐、乙二醇-双(β -氨基乙基醚)-N,N,N',N'-四乙酸("EGTA")、柠檬酸盐、葡萄糖酸盐,及其组合。

[0063] 在一些实施方式中,组合物可包括另外的表面活性剂,晶体生长抑制剂,粘着剂,展布剂,叶渗透剂,分散剂,系统获得性抗性诱导剂,消泡剂,防腐剂,pH调节剂,增溶剂,保湿剂,染料,U.V.(紫外线)保护剂,介质或促进生产、储存稳定性、产品处理应用和生物功效的其他组分。

[0064] 本发明提供了用于叶面喷洒、淋洗、犁沟内和种子处理应用的非常稳定的含水制剂。

[0065] 在整个申请中,不含具体数量指示的指称物包括复数指称物,除非上下文另有明确规定。

[0066] 用在本文中时,与定义为“约”或“大约”各特定值的量、重量百分比等相关的所有数值表示该特定值的加或减10%。例如,措辞“约10%w/w”应理解为包含9%w/w至11%w/w的值。因此,在所要求保护的值的10%以内的量包括在本发明的范围内。

[0067] 本发明通过以下代表性实施例说明。提供这些实施例仅作为说明,而不是作为限制。

[0068] 实施例

[0069] 实施例1.ACC沉淀和结晶试验

[0070] 方法

[0071] 发现在水中的10%w/w ACC游离酸的制品在室温和/或5°C沉淀。为了克服这个问题,将盐分别添加到10%w/w ACC水溶液中。将这些溶液在室温下储存并分析沉淀物形成。然后将那些在室温下不沉淀的溶液在5°C温育过夜并在第二天分析沉淀物形成。

[0072] 表1.筛选抑制ACC沉淀的盐

盐	沉淀 (室温)	沉淀 (5 °C)
CaCl ₂ *	否	否
MgCl ₂	否	是
BaCl ₂	否	是
[0073] Mg(NO ₃) ₂	否	是
Ca(NO ₃) ₂	否	是
KNO ₃	是	是
KCl	是	是
NH ₄ Cl	是	是
NH ₄ NO ₃	是	是
CaSO ₄	是	是
[0074] Al ₂ (SO ₄) ₃	是	是
(CH ₃ CH(OH)COO) ₂ Ca · 5H ₂ O*	是	是
柠檬酸铁(III)水合物*	是	是
AgNO ₃ *	是	是

[0075] *表示由环境保护局惰性物清单(Environmental Protection Agency Inert List)列为稳定剂的盐

[0076] 结果

[0077] 如表1所见,惊讶地发现只有氯化钙防止在室温和5°C二者下的沉淀。该结果是出乎意料的,因为其他盐,包括已知为稳定剂的其他盐,未能防止沉淀。

[0078] 此外,制备ACC和氯化钙的制剂以确定产生稳定剂的摩尔比范围。这些进一步的试验证明,含有ACC与氯化钙之比高达1.59:1且低至1:2.27的制剂防止ACC在室温和5°C二者下的沉淀。

[0079] 实施例2.ACC制剂的防腐剂选择

[0080] 方法

[0081] 将多种防腐剂添加到在水中含有10%w/w ACC和10%w/w氯化钙的制剂中。这些防腐剂包括ProxelTM(1,2-苯并异噻唑啉-3-酮的20%含水二丙二醇溶液)、柠檬酸、Kathon® CG/ICP、抗坏血酸、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸甲酯与苯甲酸酯的组合、对羟苯甲酸丙酯与苯甲酸酯和山梨酸钾的组合。然后将这些制剂在5°C和54°C储存

两周。

[0082] 结果

[0083] 发现Kathon®CG/ICP产生最稳定的制剂。然后将Kathon®CG/ICP以0.25%w/w至1%w/w的浓度范围添加到在水中含有10%w/w ACC和10%w/w氯化钙的制剂中。这些制剂中的每一种在5°C和54°C储存两周后是稳定的。

[0084] 实施例3. 颜色变化抑制

[0085] 方法

[0086] 发现在水中含有10%w/w ACC、10%w/w氯化钙和Kathon®CG/ICP的制剂当在54°C储存两周时经历了颜色变化。具体而言,颜色从Gardner标度上的透明或1变为Gardener标度上4-5的黄色。参见ASTM D1544-04 (2010)、透明液体颜色的标准测试方法(Standard Test Method for Color of Transparent Liquids、Gardner颜色标度)、ASTM International、West Conshohocken、PA、2010、www.astm.org对Gardner标度的解释。为了克服这个问题,测试了多种方法,包括:将pH降至4.0,在氮气覆盖层下包装,添加特定的盐、螯合剂、抗氧化剂或防腐剂。

[0087] 表2. 筛选组分以抑制ACC制剂中的颜色形成

添加剂	% w/w	颜色 (Gardner 标度)
无	无	4-5
柠檬酸钠	0.2	4-5
乙酸钠	0.2	4-5
[0088] 柠檬酸	0.2	4-5
尿素	0.2	5-6
抗坏血酸	0.2	> 18
富马酸	0.2	4-5
2N 盐酸	0.6-0.9	3-4
EDTA	0.5	1-2
[0089]	0.2	1-2
	0.1	1-2

[0090] 结果

[0091] 如表2所示,只添加0.1%w/w或0.2%w/w的EDTA导致在54°C 2周后Gardner标度评分为2或更低。将这些制剂进一步在54°C再经历6周,并得以维持其透明的颜色(即,Gardener标度评分为1-2)。进一步发现,将含有0.1%w/w或0.2%w/w的EDTA的制剂保持在pH 4.0提供了最好的结果,但是pH值为5.2在54°C维持透明的颜色至少4周。

[0092] 实施例4. pH稳定性

[0093] 实施例4的ACC/CaCl₂制剂

[0094] 10%w/w的ACC;

[0095] 10%w/w的氯化钙;

[0096] 0.2%w/w的EDTA;

[0097] 0.25%w/w的Kathon®CG/ICP;和

[0098] 可选地,用稀盐酸调节pH,

[0099] 并用水补足余量。

[0100] 方法

[0101] 制备各种pH范围的如上制剂,并在5°C储存2周且在54°C储存2周。该研究的结果在下面的表3中示出。

[0102] 结果

[0103] 表3. 各种pH值下的稳定性

测定	初始	在 5°C 2 周		在 54°C 2 周	
	pH	测定	pH	测定	pH
10.09% ACC	4.0	9.97% ACC	4.0	10.16% ACC	4.0
10.1% ACC	3.2	10.07% ACC	3.0	10.42% ACC	3.1
10.02% ACC	2.7	10.11% ACC	2.5	10.16% ACC	2.6

[0105] 如上表3和实施例3中所示,本发明的ACC/CaCl₂制剂在理想储存条件和加速储存条件这两种条件下在2.7至5.2的pH范围内保持稳定。

[0106] 实施例5. 棉花子叶生物功效测定和豇豆叶植物毒性测定

[0107] 方法

[0108] 制备500ppm的ACC水溶液,并用CaCl₂以0ppm至5500ppm进行改性。用0.05% (v/v)的非离子表面活性剂改性所述溶液,并使用履带式喷雾器(track sprayer)喷雾施加于10日龄棉花子叶的近轴表面上。在含有ACC的溶液之外,还测试了适当的对照物。喷雾施加后两天(48小时),取出各植物的子叶,称重并在密封的玻璃小瓶中温育4-7小时。通过使用标准方法的气相色谱法测量子叶的顶部空间乙烯释放。

[0109] 将上面使用的相同喷雾溶液经叶施加于:1) 12日龄豇豆植物(使用履带式喷雾器)和2) 中熟桃枝。在喷雾施加后第3天和第7天评估植物毒性(叶片烧伤或新舒展叶片的畸形)的存在。

[0110] 表4. CaCl₂浓度对棉花子叶从ACC释放乙烯的效应

处理	摩尔比 (ACC:CaCl ₂)	乙烯 (nL/gFW/h*)
CaCl ₂ 550ppm	0:1	1.49
ACC 500ppm	1:0	39.80
ACC 500ppm+CaCl ₂ 55ppm	10:1	33.12
ACC 500ppm+CaCl ₂ 110ppm	5:1	53.97
ACC 500ppm+CaCl ₂ 550ppm	1:1	54.40
ACC 500ppm+CaCl ₂ 1100ppm	1:2	49.22
ACC 500ppm+CaCl ₂ 5500ppm	1:10	29.38

[0112] *表示每克植物鲜重(FW)每小时的纳升数

[0113] 结果

[0114] 如表4所示,将含有5:1至1:2摩尔比的ACC与氯化钙的制剂施加于棉花子叶导致增效的乙烯产生量,其大于由500ppm ACC、CaCl₂、或这两种处理之和所产生的乙烯产生量。此

外,施加含有摩尔比为10:1或1:10的ACC与氯化钙的制剂导致乙烯产生量低于单独500ppm ACC下的乙烯产生量。因此,含有本发明的特定摩尔比范围内的ACC和CaCl₂的本发明制剂增效的乙烯产生量超过单独施加ACC或CaCl₂的乙烯产生量。

[0115] 没有观察到由于任何喷雾处理导致的植物毒性。然而,喷雾处理确实最终导致叶子变黄(豇豆)或叶子脱落(桃树枝)。然而,叶片变黄或脱落是乙烯产生的已知后果,并不是由于本发明制剂的植物毒性。因此,认为本发明的ACC和氯化钙制剂对植物是安全的。

[0116] 实施例6. 棉花子叶生物功效测定

[0117] 方法

[0118] 用含有0.2%w/w的EDTA的制剂重复上述实施例5的测定。

[0119] 表5. 向ACC制剂添加EDTA对棉花子叶乙烯释放的效应

处理	乙烯 (nL/g FW/h)*
对照	1.0
ACC 500ppm	27.6
ACC 500ppm+CaCl ₂ 500ppm	35.6
ACC 500ppm+CaCl ₂ 500ppm+EDTA 10mM	36.2

[0121] *表示每克植物鲜重 (FW) 每小时的纳升数

[0122] 结果

[0123] 如表5所示,相对于在ACC与氯化钙的摩尔比为1.1:1时所见的,施加含有EDTA的本发明制剂并未减少乙烯产生量。因此,含有EDTA的本发明制剂不会对增强乙烯产生量的能力产生负面影响。

[0124] 实施例7. 植物毒性测定

[0125] 方法

[0126] 将实施例6的含有EDTA的制剂用于如实施例5的植物毒性研究中。

[0127] 结果

[0128] 实施例6的含有EDTA的制剂没有引起叶片烧伤。因此,含有EDTA的本发明的ACC和氯化钙制剂对植物是安全的。

[0129] 实施例8. 核果稀疏化

[0130] 方法

[0131] 稀释实施例4的制剂以制备300ppm和600ppm的ACC溶液。在花盛开期间将这些溶液作为叶面喷雾施加于Zee Fire油桃树、Sweet Dream桃树和Crimson Glow李树。下面的表6表明了施加实施例8的300ppm或600ppm ACC溶液对这些核果树的效应。稀疏化活性表示为每厘米枝条长度的果实数。

[0132] 结果

[0133] 表6. 核果稀疏化

	稀疏化活性		
	油桃 'Zee Fire'	桃 'Sweet Dream'	李 'Crimson Glow'
UTC (未处理对照)	0.54	0.40	0.09
300 ppm ACC+ 300 ppm CaCl ₂	0.30	0.30	0.04
600 ppm ACC + 600 ppm CaCl ₂	0.17	0.20	0.01

[0135] 如上表6所示,本发明的ACC/CaCl₂制剂在花盛开施加后对核果实产生显著的剂量

依赖性稀疏化活性。

[0136] 实施例9. 苹果稀疏化

[0137] 方法

[0138] 稀释上述实施例8的制剂,以制备200ppm和400ppm的ACC溶液。当平均果实直径为18毫米至20毫米时,将这些溶液作为叶面喷雾施加于在三个不同地点生长的Gala苹果树。下面的表7表明了施加实施例8的200ppm或400ppm的ACC溶液对这些核果树的效应。稀疏化活性表示为天然落果结束后每100个花簇的坐果数量。

[0139] 结果

[0140] 表7. 苹果稀疏化

处理	稀疏化活性		
	Geneva, NY	Parkdale, OR	Monitor, WA
UTC	106	316	56
200 ppm ACC	47	267	32
400 ppm ACC	37	194	10

[0142] 如上表7所见,本发明的ACC/CaCl₂制剂在平均果实直径18毫米至20毫米时施加后对苹果树产生多达80%的稀疏化活性。

[0143] 实施例10. 葡萄颜色增强

[0144] 方法

[0145] 稀释上述实施例4的配方,制备100ppm、200ppm和400ppm的ACC溶液。将这些溶液作为叶面喷雾施加于在转色期后第7天时在Fresno, CA附近生长的Flame无籽鲜食葡萄。转色期在本文中定义为50%的葡萄浆果出现软化的时间点。下面的表8表明了施加实施例4的100ppm、200ppm或400ppm的ACC溶液对这些葡萄的效应。颜色增强表示为每葡萄藤的可销售串数。

[0146] 表8. 葡萄颜色增强

处理	每葡萄藤的可销售串数
UTC	21
100ppm ACC+100ppm CaCl ₂	23
200ppm ACC+200ppm CaCl ₂	34
400ppm ACC+400ppm CaCl ₂	40

[0148] 如上表8中所见,本发明的ACC/CaCl₂制剂以剂量依赖性方式增强葡萄颜色,并且在400ppm ACC下每葡萄藤的可销售串数几乎翻倍。