(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3741720号
(P3741720)
(45)発行日　平成18年2月1日(2006.2.1)　(24)登録日　平成17年11月18日(2005.11.18)

(51)Int.Cl.　F I
A01N 37/44 (2006.01)　A01N 37/44
A01N 37/04 (2006.01)　A01N 37/04

請求項の数 25　(全 9 頁)

(21)出願番号　特願平7-522425
(86)(22)出願日　平成7年2月21日(1995.2.21)
(65)公表番号　特表平10-504797
(43)公表日　平成10年5月12日(1998.5.12)
(86)国際出願番号　PCT/US1995/002189
(87)国際公開番号　WO1995/022900
(87)国際公開日　平成7年8月31日(1995.8.31)
審査請求日　平成14年1月31日(2002.1.31)
(31)優先権主張番号　08/200,218
(32)優先日　平成6年2月23日(1994.2.23)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者
エメラルド・バイオアグリカルチャー・コーポレーション
アメリカ合衆国ミシガン州４８９１１，ランシング，ソヴリン・ドライブ　３１２５，スイート・ビー
(74)代理人
弁理士　社本　一夫
(74)代理人
弁理士　増井　忠弐
(74)代理人
弁理士　小林　泰
(74)代理人
弁理士　千葉　昭男

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＧＡＢＡを使用する植物生長の刺激方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
炭素の易代謝源の共存下でγ－アミノ酪酸を用いて植物を処理することを含む植物の生長を向上させる方法。
【請求項２】
炭素の易代謝源を有機酸、アミノ酸、単純炭水化物並びに有機酸、アミノ酸及び単純炭水化物の混合物からなる群から選択する請求項１記載の方法。
【請求項３】
有機酸をクエン酸、リンゴ酸、コハク酸及びフマル酸からなる群から選択し、アミノ酸がグルタミン酸であり、そして、単純炭水化物をスクロース及びグルコースからなる群から選択する請求項２記載の方法。
【請求項４】
コハク酸を用いて植物を処理することを更に含む請求項１記載の方法。
【請求項５】
合成コハク酸及び発酵誘導コハク酸からなる群から選択されるコハク酸を用いて植物を処理することを更に含む請求項１記載の方法。
【請求項６】
合成コハク酸を用いて植物を処理することを更に含む請求項１記載の方法。
【請求項７】
約２．５％～約５０％の範囲内のγ－アミノ酪酸及び約９７．５％～約５０％の範囲内の

コハク酸を適当なキャリア媒体と共に有する溶液を用いて植物を処理する請求項６記載の方法。
【請求項８】
適当なキャリア媒体中に約１ｐｐｍ～約５０００ｐｐｍの範囲内のγ－アミノ酪酸を有する溶液を用いて植物を処理する請求項１記載の方法。
【請求項９】
植物を水栽培により生長させる請求項１記載の方法。
【請求項１０】
処理がγ－アミノ酪酸を用いた植物の葉の処理である請求項１記載の方法。
【請求項１１】
γ－アミノ酪酸と共に炭素の易代謝源を用いて植物を処理することを更に含む請求項１０記載の方法。
【請求項１２】
炭素の易代謝源を有機酸、アミノ酸、単純炭水化物並びに有機酸、アミノ酸及び単純炭水化物の混合物からなる群から選択する請求項１１記載の方法。
【請求項１３】
有機酸をクエン酸、リンゴ酸、コハク酸及びフマル酸からなる群から選択し、アミノ酸がグルタミン酸であり、そして、単純炭水化物をスクロース及びグルコースからなる群から選択する請求項１２記載の方法。
【請求項１４】
合成コハク酸及び発酵誘導コハク酸からなる群から選択されるコハク酸を用いて植物を処理することを更に含む請求項１０記載の方法。
【請求項１５】
約２．５％～約５０％の範囲内のγ－アミノ酪酸及び約９７．５％～約５０％の範囲内のコハク酸を適当なキャリア媒体と共に有する溶液を用いて植物を処理する請求項１４記載の方法。
【請求項１６】
適当なキャリア媒体中に約１ｐｐｍ～約５０００ｐｐｍの範囲内のγ－アミノ酪酸を有する溶液を用いて植物を処理する請求項１０記載の方法。
【請求項１７】
植物を水栽培により生長させる請求項１０記載の方法。
【請求項１８】
炭素の易代謝源の共存下でγ－アミノ酪酸を用いて植物を処理することを含む植物の根の形成率を増加させる方法。
【請求項１９】
炭素の易代謝源を有機酸、アミノ酸、単純炭水化物並びに有機酸、アミノ酸及び単純炭水化物の混合物からなる群から選択する請求項１８記載の方法。
【請求項２０】
有機酸をクエン酸、リンゴ酸、コハク酸及びフマル酸からなる群から選択し、アミノ酸がグルタミン酸であり、そして、単純炭水化物をスクロース及びグルコースからなる群から選択する請求項１９記載の方法。
【請求項２１】
合成コハク酸及び発酵誘導コハク酸からなる群から選択されるコハク酸を用いて植物を処理することを更に含む請求項１８記載の方法。
【請求項２２】
約２．５％～約５０％の範囲内のγ－アミノ酪酸及び約９７．５％～約５０％の範囲内のコハク酸を適当なキャリア媒体と共に有する溶液を用いて植物を処理する請求項２１記載の方法。
【請求項２３】
適当なキャリア媒体中に約１ｐｐｍ～約５０００ｐｐｍの範囲内のγ－アミノ酪酸を有す

る溶液を用いて植物を処理する請求項１８記載の方法。
【請求項２４】
植物を水栽培により生長させる請求項１８記載の方法。
【請求項２５】
適当なキャリア中のγ－アミノ酪酸を生長条件下にある種に施用することを含む種及び藩種の生長率を増加させる方法。
【発明の詳細な説明】
発明の分野
本発明は、植物を有機化合物を用いて処理することによる植物生長の刺激方法に関する。特に、本発明は、ＧＡＢＡを含む有機化合物を植物の葉、茎及び／又は根に施用することによるような方法に関する。
発明の背景
植物の生長を刺激するのに有機酸が有用であることは周知である。天然肥料のような有機肥料の作用の多くが有機酸の存在が原因となついることは理論づけられている。これらの有機酸にはクエン酸サイクルの酸やアミノ酸のようなものがある。
ＧＡＢＡ（γ－アミノ酪酸、４－アミノ酪酸）は至るところに存在する非蛋白質アミノ酸であり、植物、細菌及び動物に見いだされる。ＧＡＢＡは４０年以上前から植物中に存在することが発見されていたが、その機能には未知のものがいまだにある。Ｓａｔｙａ氏、Ｎａｒｙａｎ氏及びＮａｉｒ氏により指摘されているように（Ｒｅｖｉｅｗ Ａｒｔｉｃｌｅ Ｎｏ．５１，Ｐｈｙｔｏ－ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２９：３６７～３７５，１９９０）、ＧＡＢＡの唯一の知られている機能は動物の神経系中の抑制的神経伝達物質としてである。植物中のＧＡＢＡの可能性のある機能についての論評で、Ｃｈｕｎｇ氏等（Ｐｌａｎｔ Ｐｈｙｓｉｏｌｏｇｙ ９９：６５９～６６４，１９９２）は、「このような豊富で至るところに存在する化合物は顕著な生理的役割を果たしているであろう。」と結論づけた。従って、ＧＡＢＡの重要な役割が示唆されているけれども、この役割の本質は未だに謎である。
発明の概要
本発明では、ＧＡＢＡが植物生長促進剤として作用し、生長過程の植物に施用するときその他の利点を有することが今見いだされた。本発明は、概して、植物の根、茎及び／又は葉をγ－アミノ酪酸（ＧＡＢＡ）で処理することを含む植物の生長と生産性を向上させる方法を提供する。
本発明の好適な実施態様では、植物を更に炭素の易代謝化源をγ－アミノ酪酸（ＧＡＢＡ）と共に処理する。好適な炭素の易代謝化源は、有機酸、アミノ酸及び単純炭水化物からなる群から選択される。好適な有機酸は、クエン酸、リンゴ酸、コハク酸及びフマル酸から選択され、アミノ酸は好ましくはグルタミン酸であり、単純炭水化物は好ましくはスクロース及びグルコースからなる群から選択される。コハク酸は合成コハク酸及び発酵誘導コハク酸からなる群から選択するのが好ましい。合成コハク酸とＧＡＢＡとの混合物が、発酵誘導コハク酸とＧＡＢＡとの混合物よりも好適である。何故なら、一般的に、それは廉価でありより良好に作用するからである。
本発明の方法の別の好適な実施態様では、植物の根、茎及び葉を約２．５％～約５０％ＧＡＢＡ及び約９７．５％～約５０％コハク酸並びに適当なキヤリアー媒体を有する溶液で処理する。植物を約１ｐｐｍ～約５０００ｐｐｍのγ－アミノ酪酸の適当なキヤリアー媒体の溶液で処理しても好ましい。更に、本発明の一態様では、植物は水栽培により生長する。
本発明は、植物の根をＧＡＢＡで処理することを含む植物の生長及び生産性を向上させる方法も提供する。更に、本発明は、植物の根、茎及び／又は葉をＧＡＢＡで処理することを含む植物中の根の形成率を増加させる方法も提供する。
発明の詳細な記述
本発明の実際では、その他の炭素源を含有するまたは含有しないＧＡＢＡ溶液を植物の根、茎及び／または葉に直接施用する。ＧＡＢＡの植物への施用は、商業的に重要な収穫用

植物について収穫量の増加が見られるような生長と生産性を刺激する。更に、ＧＡＢＡの施用は根の形成率を増加し、従って、植物が土壌中で得られる栄養素をより良く利用できる。

理論により束縛されるものではないが、ＧＡＢＡが、植物が発芽条件にある場合に植物の発芽をもたらす。易代謝化炭素化合物、例えば、クエン酸サイクル上の有機酸、アミノ酸及び／又は単純炭水化物は植物を発芽の条件に置く。従って、ＧＡＢＡは易代謝化炭素源の存在なしで作用するが、それらの炭素源の存在は植物の生長を向上させるＧＡＢＡの能力と協働する。

一例として、コハク酸と共に施用したＧＡＢＡは、コハク酸単独又はＧＡＢＡ単独の施用よりも良好に作用する。更に、ＧＡＢＡは、発酵誘導コハク酸（例えば、Ｄａｔｔａ氏の米国特許第５，１４３，８３３号及びＤａｔｔａ氏等の同第５，１６８，０５５号に開示されているような）との混合物におけるよりも純粋なコハク酸との混合物における方が良好に作用することが気付かれる。

本発明により調製した溶液は、多くの手段のいずれかの一により植物に有利に施用できる。従って、当該溶液は、例えば、スプレーにより根、土壌及び／又は葉に施用できる。

植物の根、茎及び／又は葉へのＧＡＢＡの施用は、適当なキャリアと混合したとき、約１ｐｐｍ～約５，０００ｐｐｍの濃度において有効であることが見いだされている。適当なキャリアには、蒸留水及び水道水並びに肥料溶液等がある。本発明により調製したような溶液は、従って、比較的環境に対して害がない。ＧＡＢＡ溶液に添加した有機成分は土壌菌に対して適当な栄養源となり、従って、植物に用いられない場合容易に分解し得る。

本発明の理解を更に容易にするために、以下の実施例は主として本発明の一定のより具体的な詳細を例証する。

実施例　１

秋蒔き小麦の種をＧＡ７（Ｍａｇｅｎｔａ製、イリノイ州シカゴ）プラスチック容器中のロックウール中で生長させた。各ＧＡ７中に２．５平方インチ立方のロックウールを９個の小麦の種及び５０ｍｌの水道水又は５００ｐｐｍＧＡＢＡを含有する水道水溶液と共に入れた。各処理に対して４反復試験用ＧＡ７があった。ＧＡ７容器を連続光照射下に維持し、溶液が生長過程の植物により使用されつくされたとき、それらを５０ｍｌの水又はＧＡＢＡ溶液と置き換えた。２週間後生長した植物を収穫しオーブンで乾燥した。各ＧＡ７からの９植物体を合わせ、乾燥重量を測定し、結果を下記の表１に示す。

表　１

処理	植物乾燥重量／ＧＡ７－ｍｇ	平均乾燥重量　+/-ＳＤ
水コントロール	253, 229, 320, 252	263　+/-39
ＧＡＢＡ-500ppm	319, 345, 361, 362	347　+/-20

結果は、５００ｐｐｍＧＡＢＡが平均３２％の小麦の種の乾燥重量を増加させたことを示す。スチューデントのｔ検定は差が９９％の信頼性で有意であったことを示す。

実施例　２

葉の処理をしたときのＧＡＢＡの植物生長を促進するＧＡＢＡの能力を秋蒔き小麦を用いて示した。ひる石を入れ脱イオン水を給水した４インチポット中で植物を種から生長させた。植物が生長するのに足る栄養分を根より得ることができないということを確実にするよう生長条件を設定した。２週間後生長したコントロール植物（４植物体／ポットを４ポット）に脱イオン水をスプレーした。植物の別の４ポットに葉用肥料（Ｓｏｌｕ－Ｓｐｒａｙ　２０－２０－２０　@　１０ポンド／エーカー、Ｌｅｆｆｉｎｇｗｅｌｌ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏｍｐａｎｙ）をスプレーした。第三群の植物に２５０ｐｐｍのＧＡＢＡを含有する肥料溶液をスプレーした。葉に対する処理を与えた９日後植物を収穫し、各ポットの４植物体を合わせた重量を測定した。下記の表２に、各処理の４ポットの新鮮植物の平均重量＋／－標準偏差を示す。

表　2

処理	新鮮植物の平均重量(g) +/-SD	ｺﾝﾄﾛｰﾙからの変化%
コントロール	2.26 +/- 0.85	0
肥料	2.80 +/- 0.32	24
肥料＋ＧＡＢＡ	4.70 +/- 0.38	108

結果は、肥料を葉へ施用した植物は、添加栄養物を受けなかった植物よりも平均２４％増加した新鮮植物体の重量を有した。しかし、肥料とＧＡＢＡの双方を与えた植物はコントロール植物の新鮮植物体の重量の２倍よりも重かった。

実施例　３

ダイコン（Ｄａｉｋｏｎ）発芽性大根（Ｐａｒｋ　Ｓｅｅｄｓ，Ｇｒｅｅｎ－ｓｂｏｒｏ，Ｎ．Ｃ．）をプラスチック製スプルーター（ｓｐｒｏｕｔｅｒ）（Ｐａｒｋ　Ｓｅｅｄｓ）中で生長させた。湿った紙タオル上の１０”×２０”プラスチック製トレー中で播種を生長させ、播種が２日経過したときスプルーターに移した（２００播種／スプルーター）。スプルーターは水道水又はＧＡＢＡ、９４．５％発酵等級のコハク酸（ＦＳＡ）、並びにＧＡＢＡ及びＦＳＡの混合物を含有した。５日後、播種の根の長さを測定した。下記の表３に示した各の処理の結果は、各々１００大根若芽を含む、２回の反復試験用スプルーターから構成されていた。

表　3

処理	平均の根の長さ－mm
コントロール	6．7
ＦＳＡ　５０ｐｐｍ	１４．０
ＧＡＢＡ　５０ｐｐｍ	１３．４
ＦＳＡ２５ｐｐｍ＋ＧＡＢＡ２５ｐｐｍ	１４．５
ＦＳＡ４０ｐｐｍ＋ＧＡＢＡ１０ｐｐｍ	１４．６

結果は、ＦＳＡ及びＧＡＢＡは双方とも単独で播種の根の長さの二倍よりも長かったことを示す。根の生長を最も大きく刺激したのはＧＡＢＡ及びＦＳＡの混合物を用いた場合であり、最も有効な処理は５０％を超えるコハク酸を含有する混合物を用いた場合であった。

実施例　４

ウキクサ（Ｌｅｍｎａ　ｍｉｎｏｒ　Ｌ．）を、培地が１ｇ／リットルでｐＨを５．５に調整して水道水に溶解させたＳｏｌｕ－Ｓｐｒａｙ２０－２０－２０肥料であった以外は米国特許第４，８１３，９９７号（Ｋｉｎｎｅｒｓｌｅｙ等）に記載されている一般的な方法にしたがって生長させた。等モル量のＧＡＢＡ、合成コハク酸（ＳＡ）（Ｓｉｇｍａ　Ｃｈａｍｉｃａｌ）、並びにＧＡＢＡ及びコハク酸の混合物を肥料溶液に加えた。ウキクサの生長に、異なる混合物の影響を２１日の生長期間後に決定した。下記の表４の各データーは各処理の９反復試験培養の平均乾燥重量＋／－ＳＤを示す。

表　4

処理	平均乾燥重量+/-ＳＤ	コントロールからの変化（%）
コントロール	10.2 +/- 4.7	0
ＧＡＢＡ 5mM	18.6 +/- 3.6	82
ＧＡＢＡ 10mM	21.8 +/- 5.2	114
ＧＡＢＡ 15mM	24.8 +/- 5.2	143
ＳＡ 5mM	17.6 +/- 3.5	72
ＳＡ 10mM	26.1 +/- 4.9	155
ＳＡ 15mM	23.0 +/- 2.8	125
ＧＡＢＡ 7.5mM + ＳＡ 7.5mM	29.2 +/- 3.3	186
ＧＡＢＡ 5.0mM + ＳＡ 10mM	31.1 +/- 3.0	205

上記の結果は、ＧＡＢＡ及びＳＡの双方とも単独で植物の生長を刺激したことを示す。しかし、ＧＡＢＡ及びＳＡの混合物はいずれかの酸単独よりも一層有効であり、結果はこれらの２種類の酸の混合物がいずれかの酸単独（多くの酸を培地に添加したのにもかかわらず）よりもより大きな生長促進を与えることを示す。１５．０ｍＭ（ミリモル）のＧＡＢＡ、１５．０ｍＭのＳＡ、並びに５．０ｍＭのＧＡＢＡ＋１０．０ｍＭのＳＡを含有する処理の結果をスチューデントのｔ検定を使用して統計学的に分析した。これは、混合物がいずれかの酸単独よりも生長促進において有意に（ｔ＞９５％）より活性であったことを示した。全ての三処理は同数の分子（１５ｍＭ）を含有したのでこれはＧＡＢＡとＳＡとの間に相乗効果応答を示す。

実施例　５

実施例４に従いウキクサを生長させ、１，３，４及び７日後のかく培養中に生じた葉（ｌｅａｖｅ；ｆｒｏｎｄ）の数を計数することによりモニターした。１日目、３反復試験培養の各々に単一の３葉植物を接種した。その後の経過日に生じた葉の数を計数し、結果を表５に示す。

表 5

SA[a](ppm)	GABA(ppm)	SISA[b](日)				FSA[c](日)			
		1	3	4	7	1	3	4	7
--	--	9	24	32	64	9	25	28	62
1000	--	9	30	44	112	9	30	39	109
750	250	9	50	66	171	9	38	47	132
500	500	9	39	53	128	9	32	65	114
250	750	9	33	46	120	9	31	43	110
--	1000	9	34	46	112	9	30	41	97

[a]. ＳＡ　＝コハク酸

[b]. ＳＩＳＡ＝合成コハク酸（Ｓｉｇｍａ）

[c]. ＦＳＡ　＝発酵誘導コハク酸（Ｍｉｃｈｉｇａｎ　Ｂｉｏ－ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ）

結果は、植物の生長を最も大きく刺激するのはコハク酸：ＧＡＢＡ混合物中のコハク酸の量が５０％よりも大きいときであることが判明した。更に、結果は、合成コハク酸及びＧＡＢＡの混合物が発酵誘導コハク酸の匹敵する混合物よりも植物の生長の増加においてより活性であったことを示す。

実施例　６

実施例４におけると同様にしてウキクサを生長させ、合成コハク酸（Ｓｉｇｍａ）単独で及びＧＡＢＡと組み合わせて処理した（各々の量は表６ａ及び６ｂにおいて「処理」と標識した欄に示した）。表６ａで欄２は１９日後に収穫したウキクサの乾燥重量を示し、欄３はコントロールと比較した重量変化又は差（ｍｇ）を示す。欄４は欄３の重量変化でコハク酸の重量を割った比を示す。

表６ｂは、次の事項以外は表６ａと同様である。即ち、表６ｂでは、コントロールが９５０ｐｐｍのＳＡであり、欄３は第１行目（ＳＡ単独）と比較した各行のウキクサの重量変化又は重量差を示し、そして欄４は欄３の値（重量変化）でＧＡＢＡの重量を割った比率を示す。

表 6a

処理(SAの重量)	ウキクサの乾燥重量(mg)	コントロールと比較した重量変化	SA重量/重量変化
コントロール	10.2	--	--
1000 ppm SA (40 mg)	20.3	10.1	3.96
950 ppm SA (38 mg)	19.8	9.6	3.96

表　６ｂ

処理(SAの重量)	ウキクサの乾燥重量(mg)	950ppmのSA単独と比較した重量変化	GABA重量/ウキクサの乾燥重量
950 ppm SA (38 mg)	19.8	--	--
950 ppm SA + 2 mg GABA	25.0	5.2	0.38
950 mg SA + 1 mg GABA	24.1	4.3	0.23

表６ａ及び６ｂに示した結果を基準にすると、ＧＡＢＡは合成コハク酸よりも１０倍生物活性が高く、ＧＡＢＡは炭素源として作用することにより生長を促進するのではない。即ち、合成コハク酸単独を使用するとき、１．０ｍｇの重量変化をもたらすのに３．９６ｍｇの合成コハク酸が必要であるのに対し、コハク酸単独と比較して、合成コハク酸溶液中に０．２３ｍｇ～０．３８ｍｇのＧＡＢＡは１．０ｍｇの重量変化をもたらす。

従って、本発明は、有効量のＧＡＢＡを用いて植物の根、茎及び／又は葉を処理することにより植物の生長と生産性の向上方法を提供する。更に、本発明は、植物の根の形成率の向上方法を提供する。

今まで本発明の種々の好適な態様並びに幾つかの利益及び利点を記載してきたが、当業者により前述は単に例証の目的であり、請求の範囲とその精神から逸脱しないで本発明に多くの置換、再構成及び修正を為すことができることが了解されるであろう。例えば、本明細書中で記載した方法を植物の生長に固体並びに液体の施用により行うことができ、このような固体は結果的には水に溶解し、植物により吸収されることが理解される。

フロントページの続き

(74)代理人
弁理士　富田　博行
(74)代理人
弁理士　松本　謙
(72)発明者　キナースリー，アラン・ビー
アメリカ合衆国ミシガン州４８８２３，イースト・ランシング，ケンジントン　４４７

審査官　吉住　和之

(56)参考文献　特開昭４９－０９１８２９（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
A01N 37/44
CA(STN)
REGISTRY(STN)