(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 513 143**

(51) Int. CI.:

***A01N 37/20*** (2006.01)
***A01G 1/00*** (2006.01)
***A01G 7/00*** (2006.01)
***A01G 7/06*** (2006.01)
***A01N 63/00*** (2006.01)
***A01P 21/00*** (2006.01)
***A01N 37/46*** (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.2007 E 07850363 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.08.2014 EP 2103212**

(54) Título: **Regulador del crecimiento vegetal y sus usos**

(30) Prioridad:

**11.12.2006 JP 2006333635**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
**24.10.2014**

(73) Titular/es:

**JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY (100.0%)**
**1-8, Hon-cho 4-chome, Kawaguchi-shi**
**Saitama 332-0012, JP**

(72) Inventor/es:

**OGAWA, KENICHI y**
**HENMI, KENJI**

(74) Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

Regulador del crecimiento vegetal y sus usos

**Campo técnico**

La presente invención se refiere al uso de un regulador del crecimiento vegetal para regular el crecimiento de una planta y una técnica para uso del mismo. Para ser específico, la presente invención se refiere a un regulador del crecimiento vegetal capaz de aumentar el índice de cosecha mediante el uso del glutatión, y una técnica para el uso del regulador del crecimiento vegetal.

**Antecedentes de la Técnica**

Convencionalmente, las plantas están fuertemente implicadas con los seres humanos como alimentos, ornamentos, materiales industriales tales como papel y productos químicos, y combustibles. Además, recientemente, ha salido a la luz pública las plantas como energía de biomasa que sustituirá a los combustibles fósiles.

Aunque se han usado las plantas en diversos campos, sus mecanismos tales como lo formación de brotes, el crecimiento, y la antesis no se han aclarado en muchos aspectos. En consecuencia, el cultivo de las plantas se ha basado principalmente en las experiencias y la intuición, y la cosecha de las plantas se ha visto muy afectada por las condiciones naturales tales como el clima. Por lo tanto, la clarificación de los mecanismos de las plantas tales como la formación de brotes, el crecimiento, y la antesis y la regulación y el control de los mecanismos son muy importantes no solo para aumentar los rendimientos de las plantas ornamentales y las plantas comestibles tales como granos y vegetales, sino también para las maderas en crecimiento en los bosques y la energía de biomasa.

A fin de regular el crecimiento de las plantas, se han hecho intentos tales como la regulación de la antesis en ambientes artificiales tales como un invernadero, y la promoción del crecimiento mediante el uso de compuestos químicos tales como etileno. Sin embargo, la mayoría de estos intentos y regulaciones convencionales del crecimiento de las plantas están basados en experiencias y en la intuición, y no están basados en los datos que permiten la evaluación científica del crecimiento de las plantas.

A la vista de los anterior, los inventores de la presente invención han investigado los mecanismos de formación de brotes, el crecimiento, y la antesis de las plantas. En consecuencia, los inventores han mostrado que las especies reactivas de oxígeno (ROS) son esenciales no solo como sustrato para la biosíntesis sino también como un factor para controlar el crecimiento de las plantas (véase la bibliografía de Patentes 1). Específicamente, La bibliografía de Patentes 1 describe un regulador que contiene una sustancia de regulación del estado redox de las células y que regula la diferenciación de las células u órganos, un método para controlar la diferenciación y la morfogénesis de un organismo, y un organismo obtenido de esta manera.

Además, La bibliografía de Patentes 2 describe un adyuvante para regular el crecimiento de las plantas y un método para preparar plantas rediferenciadas mediante el uso del adyuvante. Específicamente, se cultiva un callo inducido a partir de una parte de una planta tal como arroz y eustoma en un medio de cultivo de rediferenciación que contiene glutatión, preferentemente glutatión oxidado (que se puede denominar a partir de ahora en el presente documento GSSG) con el fin de promover la rizogénesis, obteniendo eficazmente un cuerpo rediferenciado a partir del callo en un tiempo corto.

La bibliografía de Patentes 3 describe una composición que ayuda a la diferenciación celular para diferentes organismos, incluyendo plantas.

La bibliografía no de Patentes 1 describe una relación entre el tiempo de floración y los niveles de glutatión en *Arabidopsis thaliana*.

La bibliografía no de Patentes 2 describe el efecto del glutatión en su forma oxidada sobre la diferenciación de los elementos traqueales en las células de *Zinnia Elegans*.

La bibliografía no de Patentes 3 describe que una solución de glutatión puede producir un aumento en la longitud de la hoja de xanthium pennsylvanicum.

Bibliografía de Patentes 3

Solicitud de Patente Europea Nº 1 277 404 A1 (Fecha de publicación: 22 de enero, 20)

Bibliografía no de Patentes 1

Ogawa y col., Plant and Cell Physiology, 42(5):524-530 (Fecha de publicación: 1 de mayo de 2001)

Bibliografía no de Patentes 2

Henmi y col., Plant and Cell Physiology, 42(6):673-676 (Fecha de publicación: 1 de junio 2001)

Bibliografía no de Patentes 3

Nitsan y col., Nature, 187(2):81-82 (Fecha de publicación: 15 de enero, 2004)

Listado de referencias

Bibliografía no de Patentes 1

Publicación de Solicitud Internacional. WO01/080638 (Fecha de publicación: 22 de julio de 2003)

Bibliografía de Patentes 2

Publicación de solicitud de patente japonesa, Tokukai, Nº 2004-352679 A (Fecha de publicación: 16 de diciembre de 2004)

**Sumario de la invención**

La bibliografía de Patentes 1 describe una técnica para controlar la diferenciación y la morfogénesis de las plantas mediante el uso de una sustancia que regula el estado redox de las plantas. Sin embargo, el mecanismo de control no está aun suficientemente aclarado y no se sabe qué sustancia sirve como factor para controlar el crecimiento de las plantas. Además, aunque la bibliografía de Patentes 2 describe una técnica para preparar un cuerpo de planta rediferenciado, la técnica no es suficiente. Se requiere una nueva técnica para controlar la cantidad de biomasa, el rendimiento de las semillas, la calidad de la siguiente generación de semillas, etc.

La comprensión científica del proceso de crecimiento de las plantas, la predicción científica de la antesis, y su regulación son muy importantes no solo para las flores ornamentales y las plantas comestibles, sino también para los bosques y los recursos vegetales para la energía de biomasa. Por lo tanto, existe una fuerte necesidad de desarrollar una técnica para especificar un factor de control para las plantas y controlar eficazmente la formación de brotes, el crecimiento, la antesis, etc, de las plantas.

La presente invención se ha realizado a la vista de los anteriores problemas. Un objeto de la presente invención es proporcionar una técnica para especificar un factor de control para plantas y controlar eficazmente la formación de brotes, el crecimiento, la antesis, etc, de las plantas.

A fin de resolver los anteriores problemas, los inventores de la presente invención han estudiado con diligencia y han encontrado que el cultivo de una planta mediante el uso de glutatión permite aumentar también el número de semillas y el número de flores de la planta. Además, los inventores han encontrado que, cuando una planta tiene una mutación en su función para sintetizar una hormona vegetal (por ejemplo, giberelina) o responder a una hormona vegetal se cultiva mediante el uso de glutatión, es posible aumentar en gran medida el número de brotes laterales (brotes auxiliares), y de acuerdo con ello, aumentar el número de flores (vainas). Los inventores han completado la presente invención basándose en estos hallazgos. La presente invención se ha completado basándose en estos nuevos hallazgos e incluye las siguientes materias sujeto de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas.

1) Uso de glutatión para aumentar el índice de cosecha.
2) El uso tal como se indica en (1), donde el glutatión es glutatión oxidado.
3) El uso tal como se indica en (1) o (2), para aumentar el número de semillas y/o de flores de una planta.
4) El uso tal como se indica en (1) o (2), para aumentar el número de semillas y/o de tallos de una planta.
5) Un método para preparar una planta que tiene un índice de cosecha aumentado, que comprende la etapa de aplicar glutatión; cultivar una planta mediante el uso de glutatión; seleccionar una planta que tiene un índice de cosecha que es mayor que el índice de cosecha de una planta que no se ha tratado o de una cepa silvestre.
6) El método tal como se indica en (5), donde el glutatión es glutatión oxidado.
7) El método tal como se indica en uno cualquiera de (5)-(7), donde el glutatión se suministró a alrededor de un tiempo de transición desde el desarrollo vegetativo a reproductivo.
8) Un método tal como se indica en (5) para preparar una planta que tienen un número aumentado de semillas y/o flores.
9) El método tal como se indica en (8), donde el glutatión es glutatión oxidado.
10) Un método tal como se indica en (5) para preparar una planta que tienen un número aumentado de brotes laterales y/o tallos de una planta.
11) El método tal como se indica en (11), donde el glutatión es glutatión oxidado.
12) El método tal como se indica en (10) u (11), donde la planta tiene una mutación en una función para sintetizar una hormona vegetal y/o una función para responder a una hormona vegetal.
13) El método tal como se indica en (12), donde la hormona vegetal es giberelina.

Para una comprensión más completa de la naturaleza y las ventajas de la invención, debería hacerse referencia a la posterior descripción detallada tomada junto con los dibujos que la acompañan.

**Breve descripción de los dibujos**

Fig. 1
La Fig. 1 es un dibujo que ilustra los estados de Arabidopsis tratados con agua, una solución de GSSG, o una solución de $H_2O_2$, observados 3 o 4 semanas después de la siembra.
Fig. 2
La Fig. 2 es un dibujo que ilustra los estados de Arabidopsis tratados con agua, una solución de GSSG, o una solución de $H_2O_2$, observados 6 semanas después de la siembra.
Fig. 3
La Fig. 3 es un dibujo que ilustra los estados de Arabidopsis tratados con agua, una solución de GSSG, o una solución de $H_2O_2$, observados 7 semanas después de la siembra.
Fig. 4
La Fig. 4 es un dibujo que ilustra los estados de Arabidopsis tratados con agua, una solución de GSSG, o una solución de $H_2O_2$, observados 8 semanas después de la siembra.
Fig. 5
La Fig. 5 es un dibujo que ilustra los rendimientos y estados de las semillas obtenidas de Arabidopsis tratadas con agua, una solución de GSSG, o una solución de $H_2O_2$.
Fig. 6
La Fig. 6 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia de la concentración del glutatión oxidado sobre el crecimiento de Arabidopsis.
Fig. 7
La Fig. 7 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia de la concentración del glutatión oxidado sobre el crecimiento de Arabidopsis.
Fig. 8
La Fig. 8 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia del glutatión oxidado sobre las semillas de Arabidopsis.
Fig. 9
La Fig. 9 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia del glutatión oxidado sobre la síntesis de giberelina de un mutante de Arabidopsis.
Fig. 10
La Fig. 10 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia del tiempo de tratamiento del glutatión oxidado y la concentración de tratamiento del glutatión oxidado sobre el peso de las semillas de Arabidopsis.
Fig. 11
La Fig. 11 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia del tiempo de tratamiento del glutatión oxidado y la concentración de tratamiento del glutatión oxidado sobre el peso de las semillas de Arabidopsis.
Fig. 12
La Fig. 12 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia del tiempo de tratamiento del glutatión oxidado y la concentración de tratamiento del glutatión oxidado sobre el peso de las semillas de Arabidopsis.
Fig. 13
La Fig. 13 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia del tiempo de tratamiento del glutatión oxidado sobre el peso de las semillas de Arabidopsis.
Fig. 14
La Fig. 14 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia del tiempo de tratamiento del glutatión oxidado sobre el peso de las semillas de Arabidopsis.
Fig. 15
La Fig. 15 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia del tiempo de tratamiento del glutatión oxidado sobre el peso de las semillas de Arabidopsis.
Fig. 16
La Fig. 16 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia del tiempo de tratamiento del glutatión oxidado y la concentración de tratamiento del glutatión oxidado sobre el peso de las semillas. el peso seco, y el índice de cosecha de Arabidopsis.
Fig. 17
La Fig. 17 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia del glutatión oxidado sobre crecimiento de una rosa (variedad; Patiohit alicante).
Fig. 18
La Fig. 18 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia del glutatión oxidado sobre crecimiento de una rosa (variedad; rosa inglesa).
Fig. 19
La Fig. 19 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia del glutatión oxidado sobre crecimiento de tsaihsin que es un tipo de col.
Fig. 20
La Fig. 20 es un dibujo que ilustra las posiciones de las sojas individuales en la prueba agrícola de campo en la que se examina la influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento de la soja.

Fig. 21
La Fig. 21 es un dibujo que ilustra cómo suministrar glutatión oxidado en la prueba agrícola de campo en la que se examina la influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento de la soja.
Fig. 22
La Fig. 22 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre el peso de las semillas, la cantidad completa de biomasa, y el índice de cosecha en la prueba agrícola de campo en la que se examina la influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento de la soja.
Fig. 23
La Fig. 23 es un dibujo que ilustra los resultados del examen sobre la influencia del glutatión oxidado sobre la formación de brotes florales de maíz.
Fig. 24
La Fig. 24 es un dibujo que ilustra los resultados del examen sobre la influencia del glutatión oxidado sobre los rendimientos del cultivo de maíz.
Fig. 25
La Fig. 25 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre la influencia del glutatión oxidado sobre la cantidad de biomasa y el índice de cosecha de los frutos. partes enterradas, y porciones diferentes de las de los frutos de los maíces individuales.
Fig. 26
La Fig. 26 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre la influencia del glutatión oxidado sobre la cantidad de biomasa y el índice de cosecha de los frutos, partes enterradas, y porciones diferentes de las de los frutos de los maíces individuales.
Fig. 27
La Fig. 27 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre la influencia del glutatión oxidado sobre la cantidad de biomasa y el índice de cosecha de los frutos, partes enterradas, y porciones diferentes de las de los frutos de los maíces individuales.
Fig. 28
La Fig. 28 es un dibujo que ilustra el resultado de los exámenes sobre la influencia de un método de tratamiento del glutatión oxidado y el tiempo de tratamiento del glutatión oxidado sobre el índice de cosecha del maíz.
Fig. 29
La Fig. 29 es un dibujo que ilustra las posiciones de maíz individual en la prueba agrícola de campo en el que se examina la influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento del maíz.
Fig. 30
La Fig. 30 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre la influencia del tiempo de tratamiento del glutatión oxidado sobre la cantidad completa de biomasa por área, los rendimientos de los pistilos del cultivo por área, y el índice de cosecha en la prueba agrícola de campo en el que se examina la influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento del maíz.
Fig. 31
La Fig. 31 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre la influencia del tiempo de tratamiento del glutatión oxidado sobre las cantidades de biomasa de los frutos, partes enterradas, y otras porciones diferentes de las de los frutos de los maíces individuales en la prueba agrícola de campo en el que se examina la influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento del maíz.
Fig. 32
La Fig. 32 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre la influencia del glutatión oxidado sobre los rendimientos de los cultivos de maíz en condiciones deficientes de nitrógeno.
Fig. 33
La Fig. 33 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre la influencia del glutatión oxidado sobre las cantidades de biomasa y el índice de cosecha de los frutos. partes enterradas, y porciones diferentes de las de los frutos de los maízes individuales en condiciones deficientes de nitrógeno.
Fig. 34
La Fig. 34 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia del glutatión oxidado sobre crecimiento del brote y la antesis de una rosa (variedad; rosa púrpura)
Fig. 35
La Fig. 35 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia del glutatión oxidado sobre crecimiento del brote y la antesis de una rosa (variedad; JJ scarlet y JJ apricot).
Fig. 36
La Fig. 36 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre las influencias del glutatión oxidado y del glutatión reducido sobre el crecimiento de las raíces de eustoma.
Fig. 37
La Fig. 37 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre la influencia del glutatión oxidado sobre la inducción de brotes florales de una rosa.
Fig. 38
La Fig. 38 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre la influencia del glutatión oxidado sobre la inducción de brotes florales de una rosa.
Fig. 39
La Fig. 39 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre las influencias del glutatión oxidado y del glutatión reducido sobre el crecimiento y la multiplicación (número de estolones) de la fresa (Serie jardín Eminen

Yokubari-ichigo kurenai (SUMIKA)).

Fig. 40

La Fig. 40 es un dibujo que ilustra las posiciones de plantas individuales en cultivo y el tiempo de suministro del glutatión oxidado en una prueba en la que se examinó la influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento de transformantes de Arabidopsis en los cuales se introdujo el gen gFBA.

Fig. 41

La Fig. 41 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre la concentración del nitrato de amonio en los que los efectos del aumento del índice de cosecha, la cantidad completa de biomasa, y el peso de las semillas de Arabidopsis silvestre y de los transformantes de Arabidopsis en los cuales se introdujo el gen gFBA1 están saturados.

Fig. 42

La Fig. 42 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre la influencia del glutatión oxidado sobre el índice de cosecha, la cantidad completa de biomasa, y el peso de las semillas de los transformantes en los cuales se introdujo el gen gFBA, en una condición en la que el efecto de la fertilización del nitrógeno está saturada.

Fig. 43

La Fig. 43 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre las influencias del glutatión oxidado, el glutatión reducido, y el sulfato de amonio sobre el índice de cosecha, la cantidad completa de biomasa, y el peso de las semillas de los transformantes de Arabidopsis en los cuales se introdujo el gen gFBA, en una condición en la que el efecto de la fertilización del nitrógeno está saturada.

Fig. 44

La Fig. 44 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia de la concentración de GSSG como un fertilizante sobre los rendimientos de las semillas de transformantes en los cuales se introdujo un gen gFBA y una Arabidopsis silvestre.

Fig. 45

La Fig. 45 es un dibujo que ilustra el resultado del examen sobre la influencia de la concentración de GSSG como un fertilizante sobre el índice de cosecha de transformantes de Arabidopsis en los cuales se introdujo un gen gFBA y un Arabidopsis silvestre.

Fig. 46

La Fig. 46 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre las influencias de fertilización con GSSG, GSH, y sulfato de amonio como fuentes de sulfato sobre el campo de semillas de transformantes de Arabidopsis en los cuales se introdujo el gen gFBA.

Fig. 47

La Fig. 47 es un dibujo que ilustra los resultados de los exámenes sobre las influencias de fertilización con GSSG, GSH, y sulfato de amonio como fuentes de sulfato sobre el índice de cosecha de transformantes de Arabidopsis en los cuales se introdujo el gen gFBA.

**Descripción de las realizaciones**

Se describe a continuación una realización de la presente invención con referencia a los dibujos unidos. Señalar que la presente invención no está limitada a la realización.

Un regulador del crecimiento vegetal de la presente invención no está particularmente limitado siempre a que contenga glutatión, y los factores específicos del regulador del crecimiento vegetal tales como la densidad y otros componentes, etc, no están particularmente limitados. El glutatión puede ser glutatión reducido (que puede denominarse a partir de ahora en el presente documento como "GSH") o puede ser un glutatión oxidado (que puede denominarse a partir de ahora en el presente documento como "GSSG"), pero es preferible GSSG.

Como sabe bien un experto en la materia, GSH tiene una propiedad de fácil oxidación. En consecuencia, cuando se añade GSH como glutatión al regulador de crecimiento vegetal de la presente invención, el regulador del crecimiento vegetal no contiene generalmente una cantidad pequeña de GSSG. Esto es, el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención puede contener, como glutatión, GSH y GSSG en un estado mixto.

El regulador del crecimiento vegetal de la presente invención puede disponerse de manera que contenga GSH como glutatión y el GSH se oxida a GSSG cuando el regulador del crecimiento vegetal se almacena o se usa. Además, Se puede oxidar el GSH para ser GSSG después de suministrar el regulador del crecimiento vegetal a una planta.

El método para oxidar GSH a GSSG no está particularmente limitado. Por ejemplo, GSH puede cambiarse fácilmente a GSSG por oxidación al aire. Alternativamente, GSH puede cambiarse a GSSG mediante cualquier método artificial convencional que haya sido públicamente conocido hasta ahora.

"Glutatión oxidado" en la presente invención es una sustancia que es bien conocida por una persona experta en la materia y no requiere ninguna explicación especial. Por ejemplo, "glutatión oxidado" puede definirse como una molécula obtenida mediante dos glutationes moleculares reducidos unidos a disulfuro.

Por lo general, se sabe que la mayoría (98% o más) del glutatión en las células de un organismo es glutatión reducido. En consecuencia, una persona experta en la materia concebirá el glutatión reducido como glutatión, y por

tanto, el uso del glutatión oxidado no es general. Además, una persona experta en la materia tiene la impresión que el glutatión oxidado empeora el crecimiento de las plantas. Por lo tanto, una persona experta en la materia podría no estar motivada para el uso del glutatión oxidado para el cultivo de plantas.

En dicha situación, los inventores han encontrado que las funciones de la fructosa-1,6-bifosfato aldolasa, que es una enzima del ciclo de Calvin, están controladas mediante la unión con el glutatión. Los inventores han añadido el glutatión oxidado para la unión desde el exterior, lo que produce un fuerte aumento de la productividad y el rendimiento de la biomasa.

Esto es, los inventores de la presente invención han encontrado que el cultivo de una planta mediante el uso de "glutatión oxidado (GSSG)" que no se ha usado generalmente en el cultivo de plantas permite aumentar mucho el número de semillas de la planta y el número de flores de la planta, y de esta manera completar la presente invención. Por lo tanto, la presente invención tiene una originalidad significativa.

El regulador del crecimiento vegetal de la presente invención contiene glutatión y aumenta el índice de cosecha de las plantas.

En la presente memoria descriptiva, "índice de cosecha" indica una relación del peso de la cosecha al peso de una planta como un completo. En otras palabras, "índice de cosecha" indica una relación de la cantidad de biomasa de la cosecha a la cantidad de toda la biomasa de las plantas individuales.

En la presente memoria descriptiva, "cosecha" indica una porción de una planta que se va a ingerir. Por ejemplo, en el caso de una planta cuyo fruto se va a ingerir, la "cosecha" es el fruto. En el caso de una planta cuyo semilla se va a ingerir, la "cosecha" es la semilla. En el caso de una planta cuyo tallo se va a ingerir, la "cosecha" es el tallo. En el caso de una planta cuya raíz se va a ingerir, la "cosecha" es la raíz. En el caso de una planta cuya flor se va a ingerir, la "cosecha" es la flor. En el caso de una planta cuya hoja se va a ingerir, la "cosecha" es la hoja. Además, la "cosecha" indica una porción que no es comestible pero que contiene un producto dirigido al cultivo de una planta. Específicamente, en el caso de las plantas ornamentales, los ejemplos de la "cosecha" incluyen flores, tallos, hojas, raíces, semillas, etc, cada una de las cuales se va a apreciar.

Además, en la presente invención, "aumento del índice de cosecha" indica un efecto de aumentar el índice de cosecha en comparación con un estado en el que el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención no se suministra, e indica que la relación de la cantidad de biomasa de la cosecha a la cantidad de toda la biomasa puede estar aumentada en un estado de fertilización convencional y normalizado que está optimizado para obtener la cantidad máxima de rendimiento por área unitaria. Aunque la cantidad de rendimiento por área unitaria aumente a la vez que aumenta el índice de plantación, este efecto se satura a un determinado índice de plantación. "Aumento del índice de cosecha" en la presente memoria descriptiva indica que la relación de la cantidad de biomasa a la cantidad de toda la biomasa puede estar aumentada en dicho estado de plantación.

Debido a que el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención permite aumentar el índice de cosecha de las plantas, es posible aumentar no solo la cantidad de recursos alimenticio o biomasa producidos por área unitaria sino también contribuir mucho a una producción aumentada de plantas y cosechas aplicables industrialmente obtenidas a partir de las anteriores.

Además, es preferible que el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención aumente el número de semillas de una planta y/o el número de flores de la planta. Tal como se describe en los últimos Ejemplos mencionados, se ha demostrado claramente que el uso del regulador del crecimiento vegetal de la presente invención permite aumentar el número de semillas y el número de flores. Además, se ha demostrado también que otro comportamiento del regulador del crecimiento vegetal de la presente invención es alargar la vida de la planta, dando lugar a que la hoja sea más redondeada y más grande, acortando la longitud de la planta, y engrosando el tallo de la planta

Esto permite, por ejemplo, aumentar el rendimiento de las semillas. Por lo tanto, la aplicabilidad industrial del regulador del crecimiento vegetal es demasiado elevada no solo en el caso de vender las propias semillas sino también en el caso de semillas que contienen grasas y aceites y otros componentes eficaces debido a que los rendimientos de dichas grasas y aceites, etc, aumentan también. Además, dichos rendimientos aumentados son también útiles para la producción del material de biomasa.

Cuando se aplica el regulador del crecimiento vegetal a plantas ornamentales o árboles de sombra, el comportamiento del alargamiento de la vida de una planta permite extender el intervalo de intercambio de las plantas debido al marchitamiento de las plantas. esto reduce el engorroso trabajo de mantenimiento de las plantas ornamentales o de los árboles de sombra. Además, el comportamiento que da lugar a que una hoja sea más redonda y más grande es aplicable a la producción de plantas ornamentales únicas que tienen apariencias inusuales. Además, el comportamiento del alargamiento de la longitud de la planta y del engrosamiento del tallo de la planta es aplicable a la producción de plantas ornamentales y aumenta la durabilidad de los cultivos frente a vientos fuertes.

Además, es preferible que el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención aumente el número de brotes laterales y/ de tallos de plantas. tal como se ha explicado en los últimos Ejemplos mencionados, la presente invención se apoya en el nuevo hallazgo de que cuando una planta que tiene una mutación en la función de síntesis de una hormona vegetal (giberelina) o funciona para responder a la hormona vegetal, se cultiva mediante el uso de glutatión oxidado. el número de brotes laterales aumenta mucho. A medida que el número de brotes laterales y/o de tallos de una planta. el número de flores (vainas) aumenta.

Por lo tanto, cuando se aplica el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención a una planta tal como gramíneas cuyos tallos tienen una gran influencia sobre el rendimiento, es posible aumentar el rendimiento de las semillas.

La planta diana a la cual se va a aplicar el regulador del crecimiento vegetal es preferentemente una planta que tiene una mutación en la función de síntesis de la hormona vegetal o que responde a la hormona vegetal. Esto es debido a la aplicación del glutatión, preferentemente glutatión oxidado al mutante o un transformante que tiene la misma función que el mutante permite ejercer adicionalmente el comportamiento del glutatión oxidado.

En el presente documento, "una planta que tiene una mutación en la en la función de sintetizar una hormona vegetal o de responder a una hormona vegetal" indica una planta que tiene una mutación en al menos una de una enzima de un sistema de biosíntesis de una hormona vegetal, un receptor de una hormona vegetal, una sustancia biológica de un sistema de comunicación de una hormona vegetal, etc, y que es una planta cuta función concierne a la hormona vegetal no trabaja en comparación con una planta silvestre o que es una planta muy susceptible (adquirida) a la planta vegetal debida a una mutación. En particular, es preferible usar un mutante cuya función concierne a una hormona vegetal que es menor que la de una silvestre o cuya función que concierne a la hormona vegetal está sustancialmente perdida.

Un ejemplo de la planta es, tal como se explica en los últimos Ejemplos mencionados, un mutante en el que un fragmento de ADN tal como un ADN-T se inserta en un gen que codifica una enzima de un sistema biosintético de la hormona vegetal.

La hormona vegetal es preferentemente giberelina. Se considera que el glutatión oxidado funciona en la corriente abajo de la hormona vegetal tal como la giberelina o en corporación con la hormona vegetal.

Además, es preferible que el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención promueva el crecimiento de un brote, la inducción de un botón floral, y/o la antesis. Tal como se explica en los últimos Ejemplos mencionados, se demuestra claramente que el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención promueve el crecimiento de un brote, la inducción de un botón floral, y/o la antesis.

Esto permite acortar la longitud del cultivo de una planta y del aumento de la productividad de la planta. En el caso de una planta usada como alimento, este comportamiento contribuye a aumentar la producción de alimentos. Además, debido a que el regulador del crecimiento vegetal permite controlar la antesis del crecimiento de una planta, la aplicación del regulador del crecimiento vegetal permite la producción eficaz de una planta. esto permite regular el suministro de la planta al mercado en respuesta a la demanda del mercado.

Además, es preferible que el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención promueva el crecimiento de las raíces de una planta. Tal como se explica en los últimos Ejemplos mencionados, se demuestra claramente que el uso del regulador del del crecimiento vegetal de la presente invención promueve el crecimiento de las raíces de una planta.

Esto permite obtener un gran número de cosechas procedentes de una planta cuyas raíces son cosechadas en un tiempo corto. Por lo tanto, la aplicación del regulador del crecimiento vegetal a una planta cuyas raíces son comestibles permite aumentar la producción de raíces.

Además, es preferible que el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención evite el deterioro debido a la ausencia de nitrógeno. Se sabe que el déficit o la ausencia de una fuente de nitrógeno reduce generalmente el crecimiento de una planta. Sin embargo, tal como se explica en los últimos Ejemplos mencionados, incluso cuando una planta se cultiva en condiciones deficientes de nitrógeno, la aplicación del regulador del crecimiento vegetal de la presente invención permite evitar el crecimiento deteriorado debido a la ausencia de una fuente de nitrógeno.

Por lo tanto, incluso cuando una planta padece crecimiento deteriorado debido a la ausencia de nitrógeno, la aplicación del regulador del crecimiento vegetal a la planta permite la continuación del crecimiento de la planta.

En un caso en el que el regulador del crecimiento vegetal contiene glutatión oxidado, la cantidad de glutatión no está particularmente limitada. En el caso de Arabidopsis, la cantidad de glutatión es preferentemente de 10mM-20mM, más preferentemente 0,2mM-5mM, y adicionalmente de forma más preferente 0,5mM-2mM.

Por otra parte, en un caso en el que el regulador del crecimiento vegetal contiene glutatión reducido, la cantidad de glutatión reducido es preferentemente más grande que la de glutatión oxidado va a estar contenida en el regulador del crecimiento vegetal. Específicamente, en el caso de Arabidopsis, la cantidad de glutatión es preferentemente de 100uM-40mM, más preferentemente 0,4mM-20mM, y adicionalmente de forma más preferente 4mM-10mM.

En el caso en el que el regulador del crecimiento vegetal contiene glutatión reducido en el intervalo anterior, cuando se oxida un 50% del glutatión reducido conservando o usando a la vez el regulador del crecimiento vegetal, la concentración en el regulador del crecimiento vegetal varía al menos desde 1 mM a 2,5 mM. Estos rendimientos tienen sustancialmente el mismo efecto que cuando el regulador del crecimiento vegetal contiene 1 mM-2,5 mM de glutatión oxidado. La oxidación del 50% del glutatión reducido en el regulador del crecimiento vegetal se produce fácilmente debido a las propiedades del glutatión reducido. Esto lo puede entender fácilmente una persona experta en la materia.

En el caso de suministrar una cantidad específica de solución tal como se explica en los últimos Ejemplos mencionados, cuando la cantidad de glutatión oxidado o de glutatión reducido está en el intervalo anterior, es posible controlar el crecimiento de una planta adecuadamente. Señalar que el intervalo de concentración anterior es un intervalo en el caso de suministrar una cantidad específica de solución a Arabidopsis. El cambio de la cantidad que se va a suministrar o el cambio de los tipos de plantas (por ejemplo, árbol, etc) puede permitir que se suministre el glutatión oxidado o el glutatión reducido con mayor concentración En algunos casos, es posible realizar el rendimiento del regulador del crecimiento vegetal de la presente invención con glutatión oxidado o glutatión reducido con una concentración más baja.

El rasgo de la presente invención se basa en el hallazgo de que el glutatión oxidado aumenta el número de semillas y/o el número de flores de una planta, alarga la vida de la planta, dando lugar a que la hoja sea más redondeada y más grande, aumenta el número de brotes laterales y/o de tallos. y aumenta el número de flores (vainas) de acuerdo con un aumento en el número de brotes laterales, etc, de tal manera que aumenta el rendimiento de las semillas. y no se pretende otra limitación. Por lo tanto, el intervalo de concentración en la presente invención no está limitado al intervalo anterior.

Como suministrar el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención a una planta no está particularmente limitado, y el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención se puede usar de la misma manera que un regulador del crecimiento vegetal convencional y públicamente conocido. Por ejemplo, en un caso en el que el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención está en la forma de un líquido o una emulsión, el regulador del crecimiento vegetal se puede pulverizar a, hacer gotear sobre, o aplicarse a no solo un punto vegetativo si no también a una parte o a toda la planta tal como un tallo y una hoja en un caso en el que el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención está en la forma de un agente sólido o un agente en polvo, el regulador del crecimiento vegetal puede absorberse en una raíz a través del suelo. en un caso en el que la planta en una planta de humedal tal como una hierba flotante, el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención puede absorberse como un aditivo de acuario en una raíz o el regulador del crecimiento vegetal en la forma de un agente sólido puede disolverse gradualmente en agua. En particular, en un caso en el que el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención se usa para una planta terrestre es preferente que la planta se someta a un cultivo en solución mediante el uso del regulador del crecimiento vegetal en la forma de una solución acuosa.

Siempre que el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención contenga glutatión (GSH y/o GSSG). otros componentes específicos del regulador del crecimiento vegetal no están particularmente limitados. Por ejemplo, en un caso en el que el regulador del crecimiento vegetal está en la forma de un aditivo de acuario o como un agente sólido, los componentes del portador son portadores sólidos, ejemplos de los cuales incluyen materiales inorgánicos tales como talco, arcilla, vermiculita, diatomita, caolín, carbonato de calcio, hidróxido de calcio, arcilla blanca, y gel de sílice, y harina y almidón. en un caso en el que el regulador del crecimiento vegetal está en la forma de un agente líquido, los componentes del portador son portadores líquidos, los ejemplos de los cuales incluyen: agua; hidrocarburos aromáticos tales como xileno; alcoholes tales como etanol y etilenglicol; cetonas tales como acetona; éteres tales como dioxano y tetrahidrofurano; dimetilformamida, dimetilsulfóxido; y acetonitrilo.

Además, el regulador del crecimiento crecimiento vegetal de la presente invención puede contener otro adyuvante si es necesario. Los ejemplos del adyuvante incluyen: tensioactivos iónicos negativos tales como ésteres de alquilsulfatos, alquil sulfonatos alquilaril sulfonatos, y dialquil sulfosuccinatos; tensioactivos iónicos positivos tales como sales de amina alifática superior; tensioactivos no iónicos tales como alquilétes de polioxietilenglicol, aciléster de polioxietilenglicol; aciléster de alcohol multivalente de polioxietilenglicol, y un derivado de celulosa; y un espesante, tal como gelatina, caseína, y goma arábiga, un rellenador, y un aglutinante.

Según necesidad, se puede añadir otro regulador del crecimiento vegetal tal como ácido benzoico, ácido nicotínico, amida del ácido nicotínico, y ácido pipecólico a un producto en tal cantidad que no evite un efecto previsto de la presente invención. Además, se puede añadir al producto un fertilizante convencional y bien conocido.

Una planta a la cual se va a suministrar el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención no está particularmente limitada, y el regulador del crecimiento vegetal se puede suministrar a cada tipo de plantas tales

como monocotiledóneas, dicotiledóneas, y árboles. Los ejemplos de monocotiledóneas incluyen, Lemnaoideae incluyendo Spirodela (hierba flotante) y Lemna (L. perpusilla y L. trisulca); Orchidaceae incluyendo Cattleya, Cymbidium, Dendrobium, Phalaenopsis, Vanda, Paphiopedilum, y Oncidium; Typhaceae; Sparganiaceae; Potamogetonaceae; Najadaceae; Scheuchzeriaceae; Alismataceae, Hydrocharitaceae; Triuridaceae; Poaceae; Cyperaceae; Arecaceae; Araceae; Eriocaulaceae; Commelinaceae; Pontederiaceae; Juncaceae; Stemonaceae; Liliaceae; Amaryllidaceae; Dioscoreaceae; Iridaceae; Musaceae; Zingiberaceae; Cannaceae; y Burmanniaceae.

Los ejemplos de dicotiledóneas incluyen: Convolvulaceae incluyendo Pharbitis (don diego de día), Calystegia (Calystegia japonica, Calystegia hederacea, y Calystegia soldanella), Ipomoea (Ipomoea pes-caprae, Ipomoea batatas), y Cuscuta (Cuscuta japonica, Cuscuta australis); Caryophyllaceae incluyendo Dianthus (Dianthus caryophyllus etc.), Stellaria, Minuartia, Cerastium, Sagina, Arenaria, Moehringia, Pseudostellaria, Honckenya, Spergula, Spergularia salina, Silene, Lychnis, Melandryum, y Cucubalus; Casuarinaceae; Saururaceae; Piperaceae; Chloranthaceae; Salicaceae; Myricaceae; Juglandaceae; Betulaceae; Fagaceae; Ulmaceae; Moraceae; Urticaceae; Podostemaceae; Proteaceae; Olacaceae; Santalaceae; Viscum album; Aristolochiaceae; Mitrastemonaceae; Balanophoraceae; Polygonaceae; Chenopodiaceae; Amaranthaceae; Nyctaginaceae; Theligonaceae; Phytolaccaceae; Tetragoniaceae; Portulacaceae; Magnoliaceae; Trochodendraceae; Cercidiphyllaceae; Nymphaeaceae; Ceratophyllaceae; Ranunculaceae; Lardizabalaceae; Berberidaceae; Menispermaceae; Calycanthaceae; Lauraceae; Papaveraceae; Capparaceae; Brassicaceae; Droseraceae; Nepenthaceae; Crassulaceae; Saxifragaceae; Pittosporaceae; Hamamelidaceae; Platanaceae; Rosaceae; Fabaceae; Oxalidaceae; Geraniaceae; Linaceae; Zygophyllaceae; Rutaceae; Simaroubaceae; Meliaceae; Polygalaceae; Euphorbiaceae; Callitrichaceae; Buxaceae; Empetraceae; Coriariaceae; Anacardiaceae; Aquifoliaceae; Celastraceae; Staphyleaceae; Icacinaceae; Aceraceae; Hippocastanaceae; Sapindaceae; Sabiaceae; Balsaminaceae; Rhamnaceae; Vitaceae; Elaeaocarpaceae; Tiliaceae; Malvaceae; Sterculiaceae; Actinidia arguta; Theaceae; Clusiaceae; Elatinaceae; Tamaricaceae; Violaceae; Flacourtiaceae; Stachyuraceae; Passifloraceae; Begoniaceae; Cactaceae; Thymelaeaceae; Elaeagnaceae; Lythraceae; Punica granatum; Rhizophoraceae; Alangiaceae; Melastomataceae; Trapaceae; Onagraceae; Haloragaceae; Hippuridaceae; Araliaceae; Apiaceae; Cornaceae; Diapensiaceae; Clethraceae; Pyrolaceae; Ericaceae; Myrsinaceae; Primulaceae; Plumbaginaceae; Ebenaceae; Symplocaceae; Styracaceae; Oleaceae; Buddlejaceae; Gentianaceae; Apocynaceae; Asclepiadaceae; Polemoniaceae; Boraginaceae; Verbenaceae; Lamiaceae; Solanaceae; Scrophulariaceae; Bignoniaceae; Pedaliaceae; Orobanchaceae; Gesneriaceae; Lentibulariaceae; Acanthaceae; Myoporaceae; Phrymaceae; Plantaginaceae; Rubiaceae; Caprifoliaceae; Adoxaceae; Valerianaceae; Dipsacaceae; Cucurbitaceae; Campanulaceae; y Asteraceae.

La planta a la cual se suministra el regulador del crecimiento vegetal puede ser un mutante o un transformante de la planta anterior así como un tipo silvestre de la planta anterior. Tal como se explica en los últimos Ejemplos mencionados, la aplicación del regulador del crecimiento vegetal de la presente invención a una planta transformante en la cual se introduce el gen específico aumenta el efecto del regulador del crecimiento de la presente invención (en otras palabras, la aplicación del regulador del crecimiento vegetal de la presente invención a dicho transformante da como resultado un efecto mayor que la aplicación del regulador del crecimiento vegetal de la presente invención a una planta silvestre).

Por lo tanto, dicha planta transformante puede ser considerada como un objeto en el cual se aplica preferentemente el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención.

Un ejemplo específico de dicho transformante es una planta transformante en la cual se introduce un gen de la fructosa-1,6-bifosfato aldolasa de tipo plástido de unión a glutatión (que se puede denominar en el presente documento como "gFBA").

Tal como se explica en los últimos Ejemplos mencionados, se demuestra que la aplicación del regulador del crecimiento vegetal de la presente invención a una planta transformante en la cual se introduce un gen gFBA permite al regulador del crecimiento vegetal potenciar adicionalmente el efecto de aumentar el índice de cosecha.

Una planta transformante en la cual se introduce el gen gFBA y un método para producir la planta transformante se describen en la Publicación de Solicitud Internacional Nº WO 2007/091634A1 (publicado el 16 de agosto de 2007) etc. Por tanto, el contenido de la Publicación de Solicitud Internacional sirve como referencia para la presente memoria descriptiva.

El regulador del crecimiento vegetal de la presente invención se puede aplicar a diversos organismos, órganos, tejidos, o células mediante un método adecuado para la forma del regulador del crecimiento vegetal.

Tal como se explica en los últimos Ejemplos mencionados, el análisis de la madurez (índice de germinación) de dicha semilla mostró que dicha semilla germinó más rápidamente que una semilla normal. Por lo tanto, se puede considerar que una semilla obtenida de una planta cultivada con glutatión, preferentemente glutatión oxidado, tiene una madurez mayor.

Se puede llevar a cabo un tratamiento con el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención de tal

manera que el regulador del crecimiento vegetal con la concentración adecuada se usa antes y/o a la vez que se cultiva una semilla o callo de una planta diana. Normalmente, es eficaz usar el regulador del crecimiento vegetal en un tratamiento adecuado para la naturaleza (tal como una propiedad a largo plazo, propiedad a corto plazo) de la planta diana. debido a que dicho tratamiento es bien conocido por una persona experta en la materia, se omiten aquí explicaciones detalladas del mismo. Por ejemplo, en el caso de las plantas ornamentales, es eficaz usar el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención irradiando a la vez luz con una intensidad predeterminada o más.

Por lo tanto, la presente invención abarca el uso del regulador del crecimiento vegetal en un método de crecimiento de cualquier planta (método para producir una planta) que se usa normalmente en el campo al cual pertenece la presente invención.

El regulador del crecimiento vegetal de la presente invención puede prepararse solo de glutatión que es un componente eficaz. Sin embargo, es preferible que el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención se use en la forma aplicable a plantas individuales. tales como un agente líquido, un agente sólido, un agente en polvo, una emulsión, y un aditivo de acuario. Dicho agente se puede producir a través de un método convencional añadiendo adecuadamente, al glutatión, que es un componente eficaz, un portador y un adyuvante públicamente conocidos, etc, que son farmacéuticamente utilizables en campos individuales en tal cantidad que no deteriores el efecto del regulador del crecimiento vegetal de la presente invención.

Además, la presente invención abarca un método para cultivar una planta mediante el uso del regulador del crecimiento vegetal. Esto es, el método de cultivar una planta mediante el uso de glutatión con el fin de aumentar el índice de cosecha de la planta, y otras etapas y condiciones específicas etc, del método no están particularmente limitadas. en el método, el glutatión puede ser GSH y/o GSSG, pero es preferible que el glutatión contenga GSSG.

Se explica a continuación una realización de un método para cultivar una planta de acuerdo con la presente invención Señalar que la presente invención no está limitada a la sigueinte realización.

En el método para cultivar una planta de acuerdo con la presente invención se puede suministrar glutatión a una planta en un estado que permita a la planta absorber siempre glutatión, o se puede suministrar glutatión a una planta en un estado que permita a una planta absorber de manera intermitente glutatión durante el cultivo (por ejemplo, un estado en el que se suministra glutatión con un intervalo, una vez a la semana o dos veces a la semana). Además, se puede suministrar glutatión durante un momento específico, es decir, durante un tiempo de crecimiento específico.

Suministrar de forma intermitente glutatión permite reducir la cantidad de glutatión que se va a suministrar. Esto reduce el coste de cultivar una planta. En el caso del glutatión suministrado de forma intermitente, es preferible suministrar glutatión a un intervalo constante. Alternativamente, se puede suministrar glutatión a un intervalo constante.

El intervalo al cual se suministra el glutatión no está particularmente limitado, y se puede determinar de acuerdo con la concentración de glutatión que se va a suministrar, una planta a la cual se va a suministrar glutatión, y un tiempo (más específicamente, un tiempo de crecimiento) cuando se va a suministrar glutatión, En general, en un caso en el se va a suministrar glutatión a una planta, es una planta herbácea, es preferible que se suministre el glutatión una vez a la semana o dos veces a la semana o se suministre al mismo tiempo que el tiempo de la fertilización adicional.

En el caso de suministrar glutatión en un momento específico, es preferible suministrar el glutatión alrededor del tiempo de transición desde el desarrollo vegetativo al reproductivo (incluyendo el tiempo de transición desde el desarrollo vegetativo al reproductivo) o en el momento de formar un lecho floral tras la transición desde el desarrollo vegetativo al reproductivo o en el momento de la translocación a una cosecha diana. Esto permite obtener eficazmente el efecto dando como resultado el suministro de glutatión. Además, debido a que el glutatión se suministra solo en un momento específico es posible reducir costes par cultivar una planta.

En el caso de suministrar glutatión solo en un momento específico, se puede suministrar glutatión a una planta en un estado que permita a la planta absorber siempre glutatión durante un periodo predeterminado en un tiempo específico, o se puede suministrar glutatión a una planta en un estado que permita a la planta absorber de forma intermitente glutatión durante un periodo predeterminado en un tiempo específico, Suministrar de forma intermitente glutatión durante un periodo predeterminado en el tiempo específico permite además reducir costes para cultivar una planta.

Además, la presente invención abarca un método para aumentar el número de semillas de una planta y/o el número de flores de la planta. En el método, se puede oxidar también glutatión a glutatión oxidado o glutatión reducido. Es preferible que el glutatión incluya glutatión oxidado.

En el método, el momento en el que se suministra glutatión a una planta y la cantidad de glutatión que se va a suministrar a la planta, etc, no está particularmente limitada. Es preferible que se suministre el glutatión en el estado explicado en el método para cultivar una planta.

La planta tratada con glutatión muestra un índice de cosecha mayor. Debido a que la planta tratada muestra un índice de cosecha mayor que una planta cultivada en un estado recomendado normalmente, la medida del índice de cosecha permite distinguir claramente la planta obtenida de acuerdo con la presente invención a partir de una planta obtenida mediante un método diferente que el método de la presente invención.

Además, dicha planta puede distinguirse fácilmente y con claridad de una planta obtenida mediante un método diferente que el método de la presente invención examinando la cantidad o el índice de glutatión oxidado en la planta. Además del método de examinar la cantidad y la concentración del glutatión oxidado en una planta, es posible distinguir la planta de acuerdo con la presente invención de una planta obtenmida mediante un método diferente del método de la presente invención comparando los modelos de expresión génica mediante el uso de una micromatriz de ADN. De forma específica, se examinó por adelantado el modelo de expresión génica de una planta cultivada con glutatión oxidado, y se comparó con el de una planta cultivada mediante un método diferente que el método de la presente invención con el fin de especificar un modelo de expresión específico para el caso de suministrar glutatión oxidado (modelo de expresión de GSSG). Se examinó el modelo de expresión de una planta que se iba a examinar, y se comparó con el modelo de expresión de GSSG. De esta manera, es posible determinar fácilmente si la planta que se va a examinar es una planta de acuerdo con la presente invención o no.

Además, dicha planta puede distinguirse con claridad de una planta cultivada mediante un método diferente que el método de la presente invención midiendo el índice de cosecha de la planta.

Los métodos que se han explicado anteriormente (es decir, los métodos para especificar una planta de la presente invención) se pueden llevar a cabo individualmente o en combinación. Llevar a cabo los métodos combinados permite distinguir con claridad la planta de la presente invención a partir de una planta cultivada mediante un método diferente que el método de la presente invención.

Lo siguiente muestra más detalles de la presente realización con referencia a los Ejemplos. Señalar que la presente invención no está limitada a los siguientes Ejemplos, y son posibles diversas modificaciones con respecto a los detalles de la presente invención. Además, la presente invención no está limitada a la descripción de las anteriores realizaciones, pero una persona experta puede alterarla en el alcance de las reivindicaciones. Una realización basada en una combinación adecuada de los medios técnicos descritos en diferentes realizaciones está abarcada en el alcance técnico de la presente invención.

[Ejemplos]

<1> Influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento de Arabidopsis>

Se cultivó Arabidopsis con luz de 100mE/m2 a 22°C en una condición de lapso de tiempo diurno que tenía un periodo de luz de 16 horas y un periodo de oscuridad de 8 horas, mediante el uso de un medio de cultivo con dos partes de vermiculita (Asahi Kogyo, Inc.) en una capa inferior, una parte del suelo The Kureha Ikubyou Baido soil (Kureha) en una capa intermedia, y una parte de vermiculita (Asahi Kogyo, Inc.) en una capa superior. Normalmente, Arabidopsis cultivado en estas condiciones no presenta el síntoma de carecer de nitrógeno sin fertilización adicional.

En la presente prueba, se observaron los estados de las plantas en crecimiento a la vez que las plantas se trataron solo con agua, una solución 1 mM de glutatión oxidado (GSSG), o una solución 5mM de $H_2O_2$. Específicamente, se cultivaron las plantas con dos o tres plantas en una maceta de aproximadamente 65 pulgadas (165,1 cm) de anchura 65 pulgadas (165,1 cm) de profundidad, y 50 pulgadas (127 cm) de altura, y se suministró una cantidad adecuada de una solución de tratamiento.

Se evaluó el efecto del tratamiento con respecto al número de hojas con rosetones, la velocidad de un tallo de una flor en crecimiento, el número de flores, y el número de semillas. Se muestran los resultados en las Figs. 1-5.

Como se muestra en la Fig. 1. se ha encontrado que 3-4 semanas después de la siembra, las hojas de la planta cultivada con la solución 1 mM de GSSG crecieron más grandes y más redondeadas que las hojas de la planta cultivada solo con agua y que las hojas de la planta cultivada con una solución 5 mM de $H_2O_2$

Además, tal como se muestra en (a) y (b) de la Fig. 2, se ha encontrado que 6 semanas después de la siembra, la planta cultivada con una solución 1 mm de GSSG creció hasta tener una longitud de la planta más corta, un tallo más grueso, y hojas más grandes que las de la planta cultivada solo con agua y la planta cultivada con una solución 5 mM de $H_2O_2$ (a) y (b) de la Fig. 2 son fotografías de la misma muestra tomadas en ángulos diferentes.

Además, como se muestra en la Fig. 3. se ha encontrado que 7 semanas después de la siembra, el número de flores y el área de las hojas de la planta cultivada con la solución 1 mM de GSSG fueron mucho más grandes que las de las hojas de la planta cultivada solo con agua y de la planta cultivada con una solución 5 mM de $H_2O_2$

Además, como se muestra en la Fig. 4. se ha encontrado que 8 semanas después de la siembra, la planta cultivada

solo con agua y la planta cultivada con una solución 5 mM de $H_2O_2$ se marchitaron, las plantas cultivadas con una solución 1 mm de GSSG mostraron mucha cantidad de hojas verdes. Esto muestra que la planta cultivada con la solución 1 mm de GSSG alargó su vida.

Además, como se muestra en la Fig. 5. se ha encontrado que el rendimiento de las semillas de la planta cultivada con la solución 1 mM de GSSG fue mucho mayor que el rendimiento de las semillas de la planta cultivada con agua y que el rendimiento de las semillas de la planta cultivada con una solución 5 mM de $H_2O_2$ El resultado de la medida mostró que el número efectivo de semillas por planta de la planta cultivada con la solución 1 mM de GSSG fue aproximadamente tres o cuatro veces tan grande como el número efectivo de semillas por planta de la planta cultivada solo con agua y de la planta cultivada con la solución 5 mM de $H_2O_2$ (véase la fotografía superior en la Fig. 5).

Además, se ha examinado si se observaron algunas diferencias en la forma de una semilla y el tamaño de una semilla. Se ha mostrado el resultado del examen en las fotografías inferiores en la Fig. 5. Como se muestra en la Fig. 5. las semillas obtenidas de la planta cultivada con la solución 1 mM de GSSG tuvieron sustancialmente la misma forma y el mismo tamaño que las obtenidas de la planta cultivada solo con agua. Se ha encontrado que las semillas obtenidas de la planta cultivada con la solución 5 mM de $H_2O_2$ eran un poco más grandes.

Los anteriores resultados muestran claramente que cultivar una planta mediante el uso de glutatión oxidado aumenta el número de semillas y/o el número de flores.

<2 Efecto de la concentración del glutatión oxidado sobre el crecimiento de Arabidopsis>

Se examinó la influencia de la concentración del glutatión oxidado sobre el crecimiento de Arabidopsis Específicamente, una maceta de aproximadamente 65 pulgadas (165,1 cm) de anchura rellena con suelo, 65 pulgadas (165,1 cm) de profundidad, y 50 pulgadas (127 cm) de altura se sumergió en soluciones de GSSG 0mM, 0,01mM, 0,2mM, 1 mM, 2mM, y 5mM. Se han mostrado semillas de Arabidopsis de tal manera que aproximadamente existían tres semillas en cada maceta, y las semillas se observaron cronológicamente 3 semanas después de la siembra.

Los resultados de la observación se muestran en las Figs. 6 y 7. Tal como se muestra en los dibujos, se observaron con claridad el comportamiento de volver una hoja más redonda y el comportamiento de alargar la vida de la planta a una concentración de 0,2-2mM, y se observó el comportamiento de volver un tallo más grueso a una concentración de 1-2mM. En un caso en el que la concentración de GSSG era de 0,01 mM, no se observó casi diferencia entre Arabidopsis cultivado con GSSG y Arabidopsis cultivado con agua (0 mM). En un caso en el que la concentración de GSSG era de 5 mM, se impidió el crecimiento de Arabidopsis y gran parte de Arabidopsis se marchitó.

<3 Influencia del glutatión oxidado sobre las semillas de Arabidopsis>

Se examinó la madurez de las semillas obtenidas de Arabidopsis cultivadas con glutatión oxidado. Específicamente, se sembraron las semillas obtenidas de plantas cultivadas con agua o una solución de GSSG en un medio de cultivo 1/2 MS y se examinaron los índices de germinación de las semillas cronológicamente.

Se muestran los resultados del examen en (a) y (b) de la Fig. 8. Tal como se muestra en el dibujo, las semillas de las plantas cultivadas con la solución de GSSG germinaron más rápidamente que las semillas de las plantas cultivadas normalmente. En particular, el índice de germinación de las semillas de las plantas cultivadas con la solución de GSSG fue significativamente alta 2 días después de la siembra. Sin embargo, 7 días después de la siembra, no se observó casi diferencia entre las semillas de las plantas cultivadas con la solución de GSSG y las semillas de las plantas cultivadas normalmente.

<4 Efecto del glutatión oxidado sobre el mutante de la síntesis de giberelina>

Se examinó el efecto del glutatión oxidado sobre el mutante de la síntesis de giberelina (GA). Específicamente, se cultivaron mutantes ga20ox1de la síntesis de GA de Arabidopsis con agua o GSSG (1 mM) a partir del momento en el que surgieron, y se observó el estado de su crecimiento.

La Fig. 9 muestra el estado de las plantas 8 semanas después de la siembra. La parte superior de la Fig. 9 muestra las plantas observadas desde el lado frontal, y la parte inferior de la Fig. 9 muestra las plantas observadas desde la dirección oblicua superior. En el dibujo, "Col" indica Columbia silvestre, y "ga20ox1" indica un mutante en el que el ADN-T está insertado en un gen de la GA20 oxidasa que codifica una enzima de la biosíntesis de GA. "ga20ox1-1" y "ga20ox1-2" son mutantes independientes en los que se insertaron ADN-T en porciones diferentes.

Tal como se ilustra en el dibujo, el mutante ga20ox1 de GA cultivado con GSSG mostró un número significativamente aumentado de brotes laterales diferente del de las plantas cultivadas con agua. De acuerdo con el aumento en el número de brotes laterales, aumentó también el número de flores (vainas). Además, tal como se

muestra en el lado derecho de la Fig. 9, el peso de la semilla aumentó significativamente, también.

Por lo tanto, este método permite aumentar el rendimiento de las semillas aplicando GSSG a un mutante que tiene una mutación en la síntesis de una hormona vegetal y la reacción a una hormona vegetal. En particular, el método es eficaz para una planta tal como gramineae cuyo rendimiento es muy dependiente de los tallos. Resulta evidente del hecho de que cuando se cultivó arroz (Akita 63) en cultivos hidropónicos siendo la cantidad normalizada de fertilización de 5 kg N/10 ha y se preparó una fertilización adicional de 2 kg N/10 ha en la etapa de formación del panículo y la etapa meiótica, la aplicación de GSSG en la cantidad normalizada de 0,2gN en cada localización de la prueba (0,1 $m^2$) el número de espigas en la fertilización adicional realizada fue aproximadamente 1,4 veces mayor que el número de espigas de la planta cultivada solo con agua.

El regulador del crecimiento vegetal de la presente invención contiene glutatión oxidado y puede promover por tanto el crecimiento de la planta. Por ejemplo, el regulador del crecimiento vegetal de la presente invención puede aumentar el número de semillas de una planta y/o el número de flores (vainas) de la planta.

Además, cultivar con glutatión oxidado un mutante que tiene una mutación en la síntesis de una hormona vegetal (por ejemplo, giberelina) o la respuesta a una hormona vegetal permite aumentar mucho los brotes laterales, y de acuerdo con ello, permite aumentar el número de flores (vainas). En consecuencia, la aplicación del regulador del crecimiento vegetal de la presente invención a una planta tal como gramineae cuyos tallos influencian mucho el rendimiento permite aumentar el rendimiento de las semillas.

<5 Influencia 1 del estado de tratamiento del glutatión oxidado sobre las semillas de Arabidopsis>

Se han mostrado las semillas de Arabidopsis en macetas rellenas con suelo sumergido en GSSG 0mM, 0,01 mM, 0,2mM, 1 mM, 2 mM, y 5mM. se transfirieron las macetas a cubetas con agua que no contenían GSSG 2 días después, 1 semana después, 2 semanas después, 3 semanas después, 4 semanas después de la siembra,

Se cultivó Arabidopsis en las mismas condiciones que las descritas en <1. Influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento de Arabidopsis> excepto para el estado anterior. Se midió el peso de la semilla por una maceta, obtenido del Arabidopsis cultivado de esta manera (tres plantas en cada maceta), Los resultados de las medidas se muestran en las Figs. 10-12. n es el número de plantas que se pueden cosechar finalmente.

En la Fig. 10. "relación" significa una relación del peso de la semilla de la planta cultivada de esta manera al peso de la semillas (considerada como 1) de una planta cultivada en una cubeta rellena con agua que no contiene GSSG.

Tal como se muestra en las Figs**.** 10-12, se ha encontrado que la susceptibilidad de Arabidopsis a GSSG varió dependiendo de la cantidad de GSSG (concentración de GSSG) que se va a suministrar y el momento de suministrar GSSG. Se ha encontrado que en el caso de suministrar GSSG durante un largo tiempo, GSSG con una baja concentración es más eficaz que GSSG con una concentración alta, y en el caso de suministrar GSSG durante un tiempo corto, es más deseable GSSG con una concentración alta.

<6 Influencia 2 del estado de tratamiento del glutatión oxidado sobre las semillas de Arabidopsis>

Se sembraron las semillas de Arabidopsis en macetas rellenas con suelo sumergido en agua. Se transfirieron las macetas a cubetas con agua que contenía GSSG 2 1 mM 2 días después, 1 semana después, 2 semanas después, 3 semanas después, 4 semanas después, 5 semanas después, 6 semanas después, 7 semanas después de la siembra, Además, se preparó una maceta que se mantenía en una cubeta rellena con agua que no contenía GSSG, que se había transferido a agua que contenía GSSG 1 mM.

Se cultivó Arabidopsis en las mismas condiciones que las descritas en <1. Influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento de Arabidopsis> excepto para el estado anterior.

Se midió el peso de la semilla por maceta, obtenido de los cultivos de Arabidopsis obtenidos de la manera mencionada (tres plantas en cada maceta),

El resultado de la medida presentada se muestra en la Fig.13, incluso cuando la concentración del GSSG que se va a suministrar fue la misma entre las macetas, existió una gran diferencia en la cantidad de semillas obtenidas dependiendo del tiempo de tratamiento de las plantas con GSSG, indicando que existía un momento más adecuados para suministrar GSSG. Por otra parte, con respecto al momento de tratamiento de las plantas con GSSG, el tratamiento con GSSG permitió un mayor peso de la semilla que en el caso sin el tratamiento con GSSG.

<7 Influencia 3 del estado de tratamiento del glutatión oxidado sobre las semillas de Arabidopsis>

Se sembraron las semillas de Arabidopsis en macetas rellenas con suelo sumergido en agua. Se transfirieron las macetas a cubetas rellenas con agua que contenían GSSG 1 mM y se cultivaron solo durante una semana que fue la primera semana (0º-7º día), la segunda semana (8º-14º día), la tercera semana (15º-21º día), la cuarta semana

(22º-28º día), la quinta semana (29º-35º día), la sexta semana (36º-42º día), y la séptima semana (43º-49º día) tras la siembra. Esto es, se trató Arabidopsis con GSSG 1 mM solo durante una semana en un periodo de crecimiento específico.

Se prepararon una maceta que se mantuvo en una cubeta rellena con agua que no contenía GSSG y que no se transfirió a agua que contuviera GSSG 1 mM consistentemente a partir de la siembra y una maceta que se mantuvo en una cubeta rellena con agua que contenía GSSG 1 mM consistentemente procedente de la siembra.

Se cultivó Arabidopsis en las mismas condiciones que las descritas en <1. Influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento de Arabidopsis> excepto para el estado anterior.

Se midió el peso de la semilla por maceta, obtenido a partir de los cultivos de Arabidopsis (tres plantas en cada maceta),

El resultado de la medida presentada se muestra en la Fig.14, la aplicación de GSSG a Arabidopsis solo durante una semana en un periodo de crecimiento específico aumentó significativamente el peso de la semilla en comparación con el peso de la semilla de Arabidopsis que no se había tratado con GSSG. aunque el efecto que dio como resultado aplicar GSSG a Arabidopsis solo durante una semana en un periodo de crecimiento específico fue más pequeño que el efecto que dio como resultado aplicar continuamente GSSG a Arabidopsis.

En este caso, también existió una gran diferencia en la cantidad de semillas obtenidas dependiendo del tiempo de tratamiento de las plantas con GSSG, En particular, la aplicación de glutatión oxidado 4 semanas después de la siembra dio como resultado el peso máximo de las semillas obtenido 4 semanas después de la siembra corresponden aproximadamente al tiempo que salen las flores

<8 Influencia 4 del estado de tratamiento del glutatión oxidado sobre las semillas de Arabidopsis>

Se han sembrado las semillas de Arabidopsis en macetas rellenas con suelo sumergido en agua. Se transfirieron las macetas a cubetas rellenas con agua que contenían GSSG 1 mM y se cultivaron solo durante dos semanas que son la primera y la segunda semanas (0º-14º día), la segunda y tercera semanas (8º-21º día) la tercera y la cuarta semanas (15º-28º día) la cuarta y la quinta semanas (22º-35º día) la quinta y la sexta semanas (29º-42º día) o la sexta y la séptima semana (36º-49º día) tras la siembra. Esto es, se trató Arabidopsis con GSSG 1 mM solo durante dos semanas en un periodo de crecimiento específico.

Se prepararon una maceta que se mantuvo en una cubeta rellena con agua que no contenía GSSG y que no se transfirió a agua que contuviera GSSG 1 mM consistentemente a partir de la siembra y una maceta que se mantuvo en una cubeta rellena con agua que contenía GSSG 1 mM consistentemente procedente de la siembra.

Se cultivó Arabidopsis en las mismas condiciones que las descritas en <1. Influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento de Arabidopsis> excepto para el estado anterior.

Se midió el peso de la semilla por maceta, obtenido del cultivo de Arabidopsis (tres plantas en cada maceta),

El resultado de la medida presentada se muestra en la Fig.15, la aplicación de glutatión oxidado a Arabidopsis solo durante dos semanas en un periodo de crecimiento específico aumentó significativamente el peso de la semilla en comparación con el peso de la semilla de Arabidopsis que no se había tratado con GSSG, aunque el efecto que dió como resultado aplicar glutatión oxidado a Arabidopsis solo durante dos semanas en un periodo de crecimiento específico fue más pequeño que el efecto que dio como resultado aplicar continuamente glutatión oxidado a Arabidopsis.

En este caso, también existió una gran diferencia en la cantidad de semillas obtenidas dependiendo del tiempo de tratamiento de las plantas con GSSG,

<9 Influencia 5 del estado de tratamiento del glutatión oxidado sobre las semillas de Arabidopsis>

Se han sembrado las semillas de Arabidopsis en macetas rellenas con suelo sumergido en agua. Se transfirieron las macetas a cubetas rellenas con agua que contenían GSSG 0,2 mM o GSSG 1 mM y se cultivaron solo durante dos semanas que son la primera y la segunda semanas (0º-14º día), la tercera y la cuarta semanas (15º-28º día), la quinta y la sexta semanas (29º-42º día), o la sexta y la séptima semanas (43º-56º día) tras la siembra. Esto es, se trató Arabidopsis con GSSG 0,2 mm o GSSG 1 mM solo durante dos semanas en un periodo de crecimiento específico.

Se prepararon una maceta que se mantuvo en una cubeta rellena con agua que no contenía GSSG y que no se transfirió a agua que contuviera GSSG 0,2 mM o GSSG 1 mM consistentemente a partir de la siembra y una maceta que se mantuvo en una cubeta rellena con agua que contenía GSSG 0,2 mM o GSSG 1 mM consistentemente procedente de la siembra.

Se cultivó Arabidopsis en las mismas condiciones que las descritas en <1. Influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento de Arabidopsis> excepto para el estado anterior.

Se midieron el peso de la semilla, el peso seco, y el índice de cosecha de Arabidopsis cultivado de esta manera (tres plantas en cada maceta) y se calculó un promedio de las tres macetas.

Como se muestra en la Fig. 16. el resultado del cálculo mostró que cuando se trató Arabidopsis con GSSG 0,2 mM, el peso seco aumentó poco en comparación con un caso en el que no se trató Arabidopsis con GSSG, mientras que aumentó el peso de la semilla, que aumentó el índice de cosecha.

Por otra parte, cuando se trató Arabidopsis con GSSG 1 mM, el peso de la semilla, el peso seco, y el índice de cosecha aumentaron de forma evidente en comparación con un caso en el que no se trató Arabidopsis con GSSG, excepto para el índice de cosecha en un caso en el que se trató Arabidopsis con GSSG 1 o 2 semanas después de la siembra.

En la Fig. 16. el asterisco indica una gran diferencia entre un cultivo normal (agua ) y un tratamiento con GSSG en el test de la t (*P<0,05, **<0,01).

Tal como se ha descrito anteriormente, los resultados de <5. Influencia del estado de tratamiento del glutatión oxidado sobre las semillas de Arabidopsis 1 > - <9. La influencia del estado de tratamiento del glutatión oxidado sobre las semillas de Arabidopsis 5> mostró que la susceptibilidad de Arabidopsis al glutatión oxidado fue diferente dependiendo del tiempo de crecimiento de Arabidopsis. Para ser específico, en un caso en el que se trató Arabidopsis con glutatión oxidado durante 1 o 2 semanas, cuando se trató Arabidopsis de 4 semanas a 5 semanas después de la siembra, el rendimiento de las semillas aumentó efectivamente. En el presente estado de crecimiento, el tiempo de aproximadamente 2 semanas después de la siembra corresponde al tiempo de transición desde el desarrollo vegetativo al reproductivo, y el tiempo de 4 a 5 semanas después de la siembra corresponde a aproximadamente el tiempo que salen las flores de Arabidopsis. Esto es, se ha encontrado que el tratamiento de Arabidopsis con glutatión oxidado en un momento que varía desde el tiempo de transición desde el desarrollo vegetativo al reproductivo a aproximadamente el tiempo que salen las flores permite aumentar eficazmente el rendimiento de las semillas.

<10 Influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento de la rosa (variedad> Patiohit alicante)>

Se fertilizó la rosa (variedad; Patiohit alicante) con 50 ml de una solución 0,5 mM de GSSG dos veces a la semana durante cuatro meses y a continuación se podó completamente y se cultivó. Además del GSSG, la rosa se fertilizó adicionalmente con 2 g de S604 cada 2 semanas.

En consecuencia, como se muestra en la Fig. 17. se encontró que la planta tratada con GSSG (planta situada en el lado izquierdo de la cubeta en el dibujo) presentó una promoción significativa del crecimiento de nuevos botones florales en comparación con la planta que no se trató con GSSG (planta situada en el lado derecho de la cubeta en el dibujo).

< 11, Influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento de la rosa (variedad> rosa inglesa)>

Se fertilizó la rosa (variedad; rosa inglesa) con 50ml de una solución 0,5mM de GSSG dos veces a la semana durante cuatro meses y a continuación se podó completamente y se cultivó. además del GSSG, la rosa se fertilizó adicionalmente con 2 g de S604 cada 2 semanas.

En consecuencia, como se muestra en la Fig. 18. se encontró que la planta tratada con GSSG (planta situada en el lado superior en el dibujo) presentó una germinación significativamente más temprana y una promoción significativa del crecimiento de nuevos botones florales en comparación con la planta que no se trató con GSSG (planta situada en el lado inferior en el dibujo).

<12 influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento del tsaihsin (Sakata Seed Co.) 1>

Se cultivó Tsai-hsin durante dos semanas, y a continuación se transfirió a un campo agrícola y se hizo crecer con o sin el tratamiento con GSSG. Se fertilizó el Tsai-hsin con un fertilizante de nitrógeno que era KUMIAI RIN RYUANKARI S604 en una relación de 20kgN por 10 áreas, y se fertilizó adicionalmente con 5kgN 3 semanas después.

En una zona de gestión tratada con GSSG, se pulverizó una solución de GSSG 0,5mM o 5 mM a las superficies de las hojas de la planta dos veces a la semana de tal manera que se pulverizó 1 l de la solución de GSSG por 1 zona (3 $m^2$).

En consecuencia, como se muestra en la Fig. 19. la planta en la zona de gestión tratada con GSSG presentó un

significativo aumento en la cantidad del crecimiento que la planta en una zona normal de gestión con nitrógeno (no tratada con GSSG).

< 13, Influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento y el rendimiento de semillas de soja 2>

Soja (variedad: Tsurumusume) y soja (variedad; Toyomusume) se cultivaron durante dos semanas, y a continuación se transfirieron a un campo agrícola de tal manera que se situaron tal como se muestra en la Fig. 20 y crecieron con o sin el tratamiento con GSSG. la soja se fertilizó con un fertilizante de nitrógeno que era KUMIAI RIN RYUANKARI S604 en una relación de 20kgN por 10 áreas, y se fertilizó adicionalmente con 5kgN 3 semanas después.

Además, en una zona de gestión tratada con GSSG, se administró una solución 0,5 mM de GSSG a la base de un tallo (véase la flecha en la Fig. 21) en la cantidad de 50 ml por or un individuo dos veces a la semana de tal manera que la solución fluyó a lo largo del tallo.

En caso de que probablemente lloviera, se suministraría la solución de GSSG a la planta después de la lluvia. De igual forma, en el caso de sequía, se suministraría la solución de GSSG a la planta después de la sequía. Cuando el tiempo de cosecha de la planta del control (es decir, la zona normal de gestión del nitrógeno) estaba llegando, se detuvo el suministro de la solución de GSSG a la planta en la zona de gestión tratada con GSSG.

Se midieron el peso de la semilla, la cantidad de biomasa, y el índice de cosecha de la planta obtenidos de esta manera en la zona de gestión tratada con GSSG, cada uno respecto al de la planta en la zona normal de gestión con nitrógeno.

En consecuencia, como se muestra en la Fig. 22, con respecto a cada variedad, la planta en la zona de gestión tratada con GSSG presentó un peso de la semilla superior, una mayor cantidad de biomasa, y un índice de cosecha mayor que los de la planta en la zona normal de gestión con nitrógeno.

< 14. Efecto 1 del glutatión oxidado sobre la productividad del maíz>

Se sembró maíz dulce (Canberra 90 TAKII & CO., LTD.) y a continuación dos semanas después se transfirió a macetas hidropónicas (1/2000 are) rellenas con un suelo de cultivo (6 l de vermiculita como capa inferior, 3l de suelo The Kureha Ikubyou Baido como la capa intermedia, y 3 l de vermiculita como la capa superior) y cuatro y seis semanas más tarde se fertilizó adicionalmente con 3g de KU-MIAI RIN RYUANKARI S604 . Además, se administraron 200 ml de GSSG 0,5mM a la planta tratada dos veces a la semana durante 12 semanas después de la germinación en su raíz. Con respecto al momento de tratamiento con GSSG, véase (c) de la Fig. 25. El tiempo indicado por la parte sombreada en (c) de la Fig. 25 era el tiempo del tratamiento con GSSG.

En consecuencia, como se muestra en la Fig. 23, la planta tratada con GSSG (lado izquierdo (a) en la Fig. 23 presentó una promoción de la formación de botones florales en comparación con la planta que no se trató con GSSG (lado derecho (b) en la Fig. 23).

Además, como se muestra en la Fig. 24. los frutos de la planta tratada con GSSG (panel superior izquierdo (a) en la Fig. 24) fueron más grandes que los pistilos de la planta que no se trató con GSSG (panel superior derecho (b) en la Fig. 24) y tuvieron un número mayor de semillas comestibles que la planta que no se trató con GSSG.

Además, las semillas de la planta tratada con GSSG (panel inferior izquierdo (c) en la Fig. 24) fueron mayores que las semillas de la planta que no se trató con GSSG (panel inferior derecho (d) en la Fig. 24).

Esto muestra con claridad que tratar el maíz con GSSG aumenta los rendimientos de los cultivos del maíz.

Posteriormente, se midieron las cantidades de biomasa de los frutos, partes enterradas, y porciones diferentes de los frutos de la planta tratada con GSSG y de la planta que no se trató con GSSG. tal como se muestra en (a) de la Fig. 25, el resultado de la medida mostró que no hubo una diferencia mayor en la cantidad de biomasa de las porciones diferentes de los frutos entre la planta tratada con GSSG y la planta que no se trató con GSSG. mientras que las cantidades de biomasa de los frutos y las partes enterradas de la planta tratada con GSSG fueron significativamente elevadas.

A la vista de lo anterior, se calculó el índice de cosecha. El resultado del cálculo presentado se muestra en la Fig.25, la planta tratada con GSSG presentó un índice de cosecha significativamente alto que la planta que no se trató con GSSG.

< 15, Efecto 2 del glutatión oxidado sobre la productividad del maíz>

Se examinó el efecto del tiempo de tratamiento con glutatión oxidado sobre la productividad del maíz.

Brotó maíz dulce (Canberra 90 TAKII & CO., LTD.) y se transfirió a continuación a macetas hidropónicas (1/2000

are) rellenas con un suelo de cultivo (6 l de vermiculita como capa inferior, 3l de suelo The Kureha Ikubyou Baido como la capa intermedia, y 3l of vermiculita como la capa superior) dos semanas después y se fertilizó adicionalmente con 3g de KU-MIAI RIN RYUANKARI S604 durante cuatro semanas más tarse y seis semanas después.

Además, se administraron 50 ml de la solución 0,2 nm de GSSG a la planta tratada con GSSG cuatro veces en 2 semanas (dos veces a la semana) después de 2 semanas, 4 semanas, o transcurrieron 6 semanas desde la siembra. Además, se prepararon una zona de gestión a la cual se administró GSSG 0,2 mM 22 veces en total durante 11 semanas tras haber transcurrido 2 semanas desde la siembra y una zona de gestión a la cual no se administró GSSG 0,2 nM. con respecto al momento de tratamiento con GSSG, véase (c) de la Fig. 26. El tiempo indicado por la parte sombreada en la Fig (c) de 26 era el tiempo del tratamiento con GSSG.

Se midieron la cantidad de frutos y la cantidad de biomasa de las partes enterradas y se calculó el índice de cosecha.

En consecuencia, tal como se muestra en (a) de la Fig. 26, la planta tratada con GSSG durante dos semanas después de que habían transcurrido cuatro semanas desde la siembra y durante dos semanas después de que hubieran transcurrido seis semanas desde la siembra y la planta tratada con GSSG durante once semanas después de que hubieran transcurrido dos semanas desde la siembra presentaron un mayor índice de cosecha que la planta que no se trató con GSSG. En particular, la planta tratada con GSSG durante dos semanas después de que habían transcurrido cuatro semanas desde la siembre y la planta tratada con GSSG durante once semanas despues de que habían transcurrido dos semanas desde la siembra presentaron un gran aumento en el índice de cosecha.

Tal como se muestra en (b) de la Fig. 26, la planta tratada con GSSG durante dos semanas después de que habían transcurrido cuatro semanas desde la siembra y la planta tratada con GSSG durante once semanas después de que habían transcurrido dos semanas desde la siembra tuvieron una cantidad de frutos mayor y una cantidad de biomasa de las partes enterradas mayor por cada planta que la planta que no se trató con GSSG. Sin embargo, la planta tratada con GSSG durante dos semanas después de que habían transcurrido seis semanas desde la siembra tuvo una cantidad de biomasa de las partes enterradas más pequeña por cada planta que la planta que no se trató con GSSG.

<16 Efecto 3 del glutatión oxidado sobre la productividad del maíz>

Se cultivó maíz dulce en las mismas condiciones que las descritas en <15. Efecto del glutatión oxidado sobre la productividad del maíz 2> excepto que se pulverizó GSSG a un tallo y las hojas cuatro veces en dos semanas después de que habían transcurrido seis semanas desde la siembra, la zona donde se cultivó maíz dulce se consideró como zona tratada con GSSG, y se pulverizó GSSG a las hojas. Véase el tiempo de tratamiento con GSSG en (c) de la Fig. 27. El tiempo indicado por la parte sombreada en (c) de la Fig. 27 es el tiempo del tratamiento con GSSG.

Se midieron la cantidad de frutos y la cantidad de biomasa de las partes enterradas obtenidas de esta manera con respecto a cada planta y se calculó el índice de cosecha.

En consecuencia, tal como se muestra en (a) y (b) de la Fig. 27, incluso en el caso de pulverización de GSSG al tallo y las hojas, el tratamiento con GSSG aumentó la cantidad de frutos, la cantidad de biomasa de las partes enterradas, y el índice de cosecha de cada planta.

<17 Efecto 4 del glutatión oxidado sobre la productividad del maíz>

Se cultivó maíz dulce en las mismas condiciones que las descritas en <15. Efecto del glutatión oxidado sobre la productividad del maíz 2> excepto que se suministró GSSG a las raíces en la forma de una solución pulverizada a un tallo y las hojas después de que habían transcurrido dos semanas desde la siembra, o durante once semanas después de que habían transcurrido dos semanas desde la siembra, o durante dos semanas después de que habían transcurrido cuatro semanas desde la siembra, o durante dos semanas después de que habían transcurrido seis semanas desde la siembra, y se suministraron cada vez 20 ml de GSSG 0,2 mM. Véase el tiempo de tratamiento con GSSG en (b) de la Fig. 28. El tiempo indicado por la parte sombreada en (b) de la Fig. 28 es el tiempo del tratamiento con GSSG.

Se midió el índice de cosecha de la planta obtenida de esta manera. En consecuencia, tal como se muestra en (a) de la Fig. 28, el índice de cosecha aumento significativamente bajo cualquiera de las condiciones anteriores en comparación con el caso de la planta que no se trató con GSSG.

< 18, Efecto 5 del glutatión oxidado sobre la productividad del maíz>

Se cultivó maíz dulce en un campo agrícola de tal manera que el maíz dulce se situó tal como se muestra en la Fig. 29 (densidad; aproximadamente 12.000 individuos/ 10 ha).

Se prepararon plantas tratadas con GSSG como sigue: plantas cuyas raíces se pulverizaron con GSSG (20ml de GSSG 0,5mM por cada vez) dos veces a la semana durante dos semanas después de que habían transcurrido dos semanas desde la siembra, durante dos semanas después de que habían transcurrido tres semanas desde la siembra, durante dos semanas después de que habían transcurrido cuatro semanas desde la siembra, durante dos semanas después de que habían transcurrido cinco semanas desde la siembra, durante dos semanas después de que habían transcurrido seis semanas desde la siembra, y durante siete semanas después de que habían transcurrido dos semanas desde la siembra, plantas que no se trataron con GSSG; y planta cuyo tallo y hojas se pulverizaron con GSSG (20 ml de GSSG 0,5 mM por cada vez con respecto a cada planta) dos veces a la semana durante siete semanas después de que habían transcurrido dos semanas desde la siembra. Véase el tiempo de tratamiento con GSSG en (b) de la Fig. 30. El tiempo indicado por la parte sombreada en (b) de la Fig. 30 es el tiempo del tratamiento con GSSG.

Se midieron la cantidad completa de biomasa por área y el rendimiento de los pistilos (frutos) por área de las plantas que habían crecido en el interior de una colonia externa a las plantas obtenidas de esta manera y se calculó el índice de cosecha.

En consecuencia, tal como se muestra en el (a) (c), y (d) de la Fig. 30. cualquiera de las condiciones para el tratamiento con GSSG no presenta una diferencia significativa en la cantidad completa de biomasa por área a partir del caso de las plantas que no se trataron con GSSG, pero que presentaron un rendimiento mayor de pistilos (frutos) y un índice de cosecha mayor.

Además, se midieron las cantidades de biomasa de los frutos, partes enterradas, y porciones diferentes de los frutos de cada una de las plantas. Como se muestra en la Fig. 31. los resultados de la medida mostraron que cualquiera de las condiciones para el tratamiento con GSSG presentaron una cantidad de biomasa de los frutos mayor (es decir, cantidad de frutos) que el caso de las plantas que no se trataron con GSSG.

Sin embargo, cualquiera de las condiciones para el tratamiento con GSSG presentó una cantidad menor de biomasa de las porciones diferentes de los frutos que el caso de las plantas que no se trataron con GSSG. Además, cualquiera de las condiciones para el tratamiento con GSSG presentó sustancialmente la misma o menor cantidad de biomasa de las partes enterradas que el caso de las plantas que no se trataron con GSSG. En particular, la planta cuyo tallo y hojas se pulverizaron con GSSG durante siete semanas después de que habían transcurrido dos semanas desde la siembra presentaron cantidades mucho menores de biomasa de las porciones diferentes que los frutos y partes subterránea que el caso de las plantas que no se trataron con GSSG.

Los anteriores resultados muestran que el glutatión oxidado aumenta la cantidad de frutos que fueron cosechas de maíz y de este manera aumenta el índice de cosecha, sin aumentar la cantidad de biomasa de las partes enterradas.

< 19. Efecto del glutatión oxidado sobre la productividad del maíz en condiciones deficientes de nitrógeno>

El maíz dulce brotó y se cultivo durante 84 días (7 semanas) tras la siembra sin suministrar una fuente de nitrógeno al maíz dulce. Posteriormente, se cultivó el maíz dulce con 30kgN/10 ha de una fuente de nitrógeno. Se llevó a cabo el tratamiento con GSSG de tal manera que se suministraron disoluciones de GSSG con 0mM, 0,2mM, 0,5mM, y 1,0mM en la cantidad de 50 ml por una vez, dos veces a la semanas, 8 semanas después de la siembra (es decir, después que comenzó el suministro de la fuente de nitrógeno). Véanse las condiciones de cultivo en (c) de la Fig. 33.

Tal como se muestra en (a) y (b) de la Fig. 32, las plantas obtenidas de esta manera presentaron una cantidad más grande de frutos que las plantas que no se trataron con GSSG en (c) de la Fig. 32.

A fin de examinar la cantidad de producción de las plantas con más detalle se midieron las cantidades de biomasa de los frutos, partes enterradas, y porciones diferentes de las de los frutos, y se calculó el índice de cosecha.

Tal como se muestra en (a) y (b) de la Fig. 33, los resultados de la medida y del cálculo mostraron que las plantas tratadas con GSSG presentaron grandes cantidades de biomasa de los frutos, partes enterradas, y porciones diferentes que las de los frutos y del índice de cosecha de las plantas que no se trataron con GSSG.

Los anteriores resultados muestran con claridad que cuando se restringe el crecimiento de una planta debido a la deficiencia en nitrógeno en el desarrollo vegetativo, el rendimiento de los frutos normalmente disminuye, pero el tratamiento con GSSG permite evitar que disminuya el rendimiento incluso después de que se ha restringido el crecimiento de la planta debido a una deficiencia en nitrógeno.

<20 Efecto 1 del glutatión oxidado sobre la promoción del crecimiento del brote y del botón floral de la rosa>

Se adquirieron pimpollos de rosas (variedad; rosa púrpura) en una ferretería y se cultivaron en macetas para cultivos

hidropónicos de arroz. Se fertilizaron los pinpollos de rosas con 50 ml de una solución de GSSG 0,5 mM en la forma de un fertilizante líquido dos veces a la semana. Además de GSSG, los pimpollos de rosa se fertilizaron adicionalmente con 2 g de S604 cada 2 semanas.

En consecuencia, las plantas tratadas con GSSG (plantas rodeadas por círculos completos de la Fig. 34) presentaron un crecimiento promovido de los brotes en un mes desde la fertilización en comparación con las plantas que no se trataron con GSSG (plantas rodeadas por círculos interrumpidos de la Fig. 34).

Los anteriores resultados muestran con claridad que el tratamiento con GSSG promueve el crecimiento de los brotes y botones florales de las rosas (variedad; rosa púrpura).

<21 Efecto 2 del glutatión oxidado sobre la promoción del crecimiento del brote y del botón floral de la rosa>

Se adquirieron pimpollos de rosas (variedad; JJ scarlet y JJ apricot) se adquirieron en una ferretería y se cultivaron en macetas para cultivos hidropónicos de arroz. Se fertilizaron los pimpollos de rosas con 50 ml de una solución de GSSG 0,5 mM en la forma de un fertilizante líquido dos veces a la semana. Además del GSSG, los pimpollos de rosa se fertilizaron adicionalmente con 2 g de S604 cada 2 semanas.

En consecuencia, las plantas tratadas con GSSG ((a) and (c) de la Fig. 35) presentaron un crecimiento promovido de los brotes a los cuatro y ocho días desde la fertilización en comparación con las plantas que no se trataron con GSSG ((b) y (d) de la Fig. 35).

En (a)-(d) de la Fig. 35, las variedades de las tres plantas son JJ scarlet, JJ apricot, y JJ scarlet, respectivamente desde la izquierda.

<22 Efecto del glutatión oxidado sobre la promoción del crecimiento de las raíces de eustoma>

Se germinaron semillas de eustoma en un medio de cultivo MS que contenía GSSG o GSH 1 mM, se hicieron creecer durante 1 mes, y se transfirieron a un tiesto. En el tiesto, se distribuyeron en capas, 2 partes de vermiculita, 1 parte del suelo The Kureha Ikubyou Baido, y 1 parte de vermiculita como capa inferior, una capa intermedia, y una capa superior, respectivamente, y las plantas anteriores se transfirieron al anterior.

En consecuencia, como se muestra en la Fig. 36. las plantas tratadas con GSSG presentaron un crecimiento significativo de las raíces en comparación con las plantas que no se trataron con GSSG. Por otra parte, las plantas tratadas con GSH presentaron un crecimiento tenue de las raíces en comparación con las plantas que no se trataron con GSSG.

<23 Efecto 1 del glutatión oxidado sobre la promoción de la inducción del botón floral de la rosa>

Se adquirieron rosas (variedad; Patiohit alicante) en una ferretería y se fertilizaron con 50 ml de una solución de GSSG 0,5 mM en la forma de un fertilizante líquido dos veces a la semana. Aproximadamente tres meses y medio más tarde, se compararon las plantas tratadas con GSSG y las plantas en una zona no tratada con GSSG entre sí.

En consecuencia, las plantas tratadas con GSSG ((a) de la Fig. 37 y (a) de la Fig. 38) presentaron un número muy superior de flores abiertas que las plantas que no se trataron con GSSG ((b) de la Fig. 37 y (b) de la Fig. 38).

Los resultados anteriores demuetral claramente que el glutatión oxidado estimula la inducción de los brotes florales de rosas.

<24 Efecto del del glutatión oxidado sobre el crecimiento de fresas>

Un arbusto de fresas (variedad; serie Eminent garden, Yokubari-ichigo kurenai (SUMIKA)) se compró en una ferretería y se cultivó. Se fertilizó el arbusto de fresas con 50 ml de una solución de GSSG 0,5 mM en la forma de un fertilizante líquido dos veces a la semana. Además del GSSG, El arbusto de fresas se fertilizó adicionalmente con 2 g de S604 cada 2 semanas.

En consecuencia, como se muestra en la Fig. 39. cuatro meses después de la fertilización, la zona Cont. (zona no tratada con GSSG) mostró dos o tres estolones por planta madre, mientras que la tratada con GSSG mostró una cantidad mucho mayor de espolones, es decir, varias decenas de espolones por planta madre.

Por otra parte, aunque la zona tratada con GSH mostró mayor número de espolones por planta madre que la zona Cont, el aumento en el número de espolones de la zona tratada con GSH fue aproximadamente la tercera parte del aumento en el número de espolones de la zona tratada con GSSG.

Los resultados anteriores de muestran que el glutatión oxidado estimula el crecimiento de fresas y aumenta el número de espolones, estimulando la proliferación de las plantas madre.

<25 Influencia 1 del glutatión oxidado sobre el crecimiento de un transformante de Arabidopsis en el que se ha introducido un gen que codifica gFBA>

Inicialmente, transformantes de Arabidopsis en los que se había introducido un gen de tipo plástido que codificaba la unión a glutatión de la fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa (que se puede denominar a partir de ahora en el presente documento como "gFBA") así como Arabidopsis no modificados (Columbia; Col) se cultivaron en las mismas condiciones que las descritas en <1. Influencia del glutatión oxidado sobre el crecimiento de Arabidopsis> excepto que los transformantes de Arabidopsis y Arabidopsis no modificada se fertilizaron con un líquido que contenía 0 mM, 3 mM, 9 mM, o 18 mM de nitrato de amonio en cantidad de 25 ml por árbol individual una vez a la semana.

La fertilización se llevó a cabo de tal manera que la maceta estaba en una balanza y la solución de nitrato de amonio se vertía en la balanza. Para las condiciones de cultivo de las plantas, véase la Fig. 40.

Se midieron la cantidad total de biomasa y el peso de semillas de la plantas obtenidas de esta manera, y se calculó el índice de cosecha. En consecuencia, como se muestra en la Fig. 41. en cualquiera de las plantas, la cantidad total de biomasa y de semillas aumentó a medida que aumentaba la concentración de nitrato de amonio utilizado como fertilizante, pero el aumento se ralentizó a 9 mM, y el efecto se saturó a 18 mM.

Por otra parte, en cualquiera de las plantas, cuando se utilizó como fertilizante nitrato de amonio 3 mM y 9 mM, aumentó el índice de cosecha. Sin embargo, cuando se utilizó como fertilizante nitrato de amonio 18 mM, el índice de cosecha disminuyó por debajo del índice de cosecha en el caso de no utilizar fertilizante. Esta disminución en el índice de cosecha se observó por lo general cuando el nitrógeno se utiliza en exceso como fertilizante. En este caso, a medida que se incrementa la fertilización con N, se observa una disminución en el índice de cosecha. En el caso de cultivos, para evitar la reducción en el rendimiento de la cosecha por un exceso de fertilización, las estaciones agrícolas experimantales y las empresas de fitosanitarios divulgan información sobre la cantidad de fertilización normal con N más adecuada para el rendimiento de los cultivos.

En condiciones de fertilización (nitrato de amonio 18 mM), donde el efecto del aumento en el rendimiento de los cultivos queda saturado con respecto a la cantidad de N fertilizante, el efecto de suministrar GSSG se comparó con el caso de no suministrar GSSG. Los transformantes de Arabidopsis en los que se había introducido un gen que codificaba gFBA y Arabidopsis no modificado genéticamente (Columbia; Col) se fertilizaron solamente con GSSG 1 mM, o solamente con nitrato de amonio 18 mM, o bien tanto con nitrato de amonio 18 mM como con GSSG 1 mM en forma de un fertilizante líquido, de la misma forma que la fertilización con nitrato de amonio de la Fig. 41, y se cultivaron.

Se midieron la cantidad total de biomasa y el peso de semillas de la plantas obtenidas de esta manera, y se calculó el índice de cosecha. En consecuencia, como se muestra en la Fig. 42, la fertilización solamente con glutatión oxidado aumentó cualquiera de los índices de cosecha, la cantidad completa de biomasa, y el peso de la semilla, y el efecto del glutatión oxidado se observó en condiciones en las que el efecto del nitrato de amonio sobre el crecimiento de la semilla estaba saturado.

La combinación del glutatión oxidado y el nitrato de amonio dio como resultado un mayor efecto en los transformantes en los que se había introducido el gen que codificaba gFBA comparado con el tipo no modificado genéticamente.

Los resultados anteriores muestran que suministrar la combinación de glutatión oxidado y nitrato de amonio a transformantes en los que en los que se había introducido el gen que codificaba gFBA permite una mejora adicional del efecto de GSSG sobre el aumento del índice de cosecha, la cantidad completa de biomasa, y el peso de la semilla.

<26 Influencia 2 de glutatión oxidado y glutatión reducido sobre el crecimiento de un transformante de Arabidopsis en el que se ha introducido un gen que codifica gFBA>

En las condiciones de la Fig. 42, en lugar de GSSG 1 mM, se suministró GSH o sulfato de amonio en la misma cantidad, en términos de N, y se comparó el efecto del GSH o sulfato de amonio con el efecto del GSSG. Transformantes de Arabidopsis en los que se había introducido un gen que codificaba gFBA y Arabidopsis no modificados genéticamente (Columbia; Col) se cultivaron de la misma forma que en las Figs. 41 y 42 excepto por una condición que se refiere al fertilizante líquido. Como fertilizante líquido, se utilizó nitrato de amonio 18 mM, nitrato de amonio 18 mM + GSSG 1 mM, nitrato de amonio 18 mM + GSSG 2 mM, o nitrato de amonio 18 mM + sulfato de amonio 2 mM.

La fertilización se llevó a cabo de tal manera que la maceta estaba en una balanza y el fertilizante líquido anterior se vertía en la balanza. Para las condiciones de cultivo de las plantas, véase la Fig. 40.

Se midieron la cantidad total de biomasa y el peso de semillas de la plantas obtenidas de esta manera, y se calculó

el índice de cosecha. En consecuencia, como se muestra en la Fig. 43. el suministró de la combinación de glutatión oxidado y nitrato de amonio a los transformantes en los que se había introducido el gen gFBA aumentó en gran medida el índice de cosecha, la cantidad completa de biomasa, y el peso de la semilla, en comparación con un caso de tratar los transformantes de otra forma.

En lo que respecta al índice de cosecha, aunque la combinación del glutatión reducido y el nitrato de amonio dio como resultado un efecto que no era tan grande como el efecto de la combinación de glutatión oxidado y nitrato de amonio, la combinación de glutatión reducido y nitrato de amonio aumenta en gran medida el índice de cosecha comparado con el caso de no utilizar fertilizante o el caso de utilizar solamente nitrato de amonio como fertilizante.

Los resultados anteriores muestran que tanto el glutatión oxidado como el glutatión reducido permiten un importante aumento del índice de cosecha y un aumento significativo en el rendimiento del cultivo, cuando se combina con nitrato de amonio. Además, los resultados anteriores muestran que el efecto aumenta cuando se suministra la combinación a las plantas en las que se ha introducido el gen gFBA. Además, los resultados anteriores muestran que el glutatión oxidado tiene una mayor capacidad de aumentar el índice de cosecha y de aumentar significativamente el rendimiento de los cultivos que el glutatión reducido.

<27 Influencia 3 del glutatión oxidado sobre el crecimiento de un transformante de Arabidopsis en el que se ha introducido gFBA>

Se cultivaron los transformantes de Arabidopsis en los que se había introducido un gen gFBA y Arabidopsis no modificadas genéticamente (Columbia; Col) en condiciones similares a las de las Figs. 41-43 excepto que solamente se suministró GSSG como fertilizante líquido. La concentración del GSSG suministrado como fertilizante varió de 0 mM a 5 mM.

Se midió la cantidad total de biomasa y el peso de semillas de la plantas obtenidas de esta manera, y se calculó el índice de cosecha. El resultado del peso de las semillas se muestra en la Fig. 44 y el resultado del índice de cosecha se muestra en la Fig. 45. El peso de la semilla aumentó a medida que aumentaba la concentración de GSSG, y el efecto no se saturó en las condiciones ensayadas. Esta tendencia se observó de forma más clara en los transformantes de Arabidopsis en los que se había introducido el gen gFBA.

Por otra parte, el índice de cosecha aumentó a medida que aumentaba la concentración de GSSG, y el efecto se saturó cuando la concentración de GSSG era aproximadamente 2 mM. El efecto de aumentar el peso de las semillas y el efecto de aumentar el índice de cosecha que se observaron con el tratamiento con GSSG fueron muy superiores a los efectos máximos obtenidos mediante la fertilización con el nitrógeno procedente del nitrato de amonio.

Los resultados anteriores muestran que el efecto de aumentar el peso de las semillas y el efecto de aumentar el índice de cosecha obtenidos con GSSG son mayores que los efectos obtenidos por el nitrato de amonio, y la potenciación del gen gFBA permite aumentar el efecto.

<28 Comparación entre las influencias del glutatión oxidado, el glutatión reducido, y el sulfato de amonio como fuentes de sulfuro sobre el crecimiento>

En condiciones similares las de las Figs. 41-45, excepto en que se suministró cualqueira de GSSG, GSH, y sulfato de amonio como fertilizante líquido, se compararon los efectos de los fertilizantes líquidos sobre el crecimiento de transformantes en los que se había introducido el gen gFBA. Las cantidades de los respectivos fertilizantes líquidos se ajustaron de manera que la concentraciones de fertilizantes líquidos eran las mismas en términos de cantidad de S. Se midieron el peso de las semillas y la cantidad total de biomasa de las plantas obtenidas de esta manera, y se calculó el índice de cosecha. El resultado del peso de las semillas se muestra en la Fig. 46 y el resultado del índice de cosecha se muestra en la Fig. 47.

El efecto de sulfato de amonio utilizado por lo general como fertilizante de nitrógeno sobre el aumento del peso de las semillas se saturó a un valor similar al del efecto del nitrato de amonio. Por otra parte, el efecto del GSSG y el GSH no se saturaron a las concentraciones ensayadas, lo que indica que GSSG y GSH proorcionan mayores efectos sobre el aumento del peso de las semillas que el sulfato de amonio. Por otra parte, en cualquiera de los fertilizantes líquidos, el efecto de aumentar el índice de cosecha alcanza su máximo cuando la cantidad de N era 12 mM. Entre los tres fertilizantes líquidos, GSSG produjo el mayor efecto.

Los resultados anteriores demuestran que el efecto del glutatión es mayor que el de un fertilizante convencional, y GSSG proporciona un efecto mayor que GSH.

Las realizaciones y ejemplos de implementación concretos descritos en la explicación detallada anterior sirven solamente para ilustrar los detalles técnicos de la presente invención, que no se debe interpretar de forma restrignida dentro de los límites de dichas realizacines y ejemplo concretos, sino que más bien se puede aplicar en muchas variaciones comprendidas en el espíritu de la presente invención, siempre que dichas variaciones no superen el álcance de las reivindicaciones de la patente definidas más adelante.

Aplicabilidad industrial

La presente invención permite aumentar el índice de cosecha de una planta. Además, la presente invención permite aumentar el número de semillas o flores de la planta. Además, la presente invención permite aumentar los brotes laterales y los tallos y aumentar el rendimiento de las semillas. Por lo tanto, la presente invención permite aumentar el número de flores y el rendimiento no solmante en plantas ornamentales y cultivos comestibles, sino también en bosques y recursos vegetales para producción de energía de biomasa. Por lo tanto, la presente invención tiene una amplia aplicabilidad industrial, no solo en la agricultura sino también en la industria alimentaria y en la industria de producción de energía.

**REIVINDICACIONES**

1. Uso de glutatión para aumentar el índice de cosecha de una planta.

2. El uso según se describe en la reivindicación 1, donde el glutatión es glutatión oxidado.

3. El uso según se describe en la reivindicación 1 o 2, para aumentar el número de semillas y/o de flores de una planta.

4. El uso según se describe en la reivindicación 1 o 2, para aumentar el número de brotes laterales y/o de tallos de una planta.

5. Un método para preparar una planta que tiene un índice de cosecha aumentado comparado con el de una cepa silvestre o una planta no tratada, que comprende las etapas de:

aplicar glutatión a una planta, o al suelo en el que se va a cultivar una planta;
cultivar la planta; y
seleccionar una planta que tiene un índice de cosecha que es mayor que el índice de cosecha de una cepa silvestre o que no se ha tratado.

6. El método según se describe en la reivindicación 5, donde el glutatión es glutatión oxidado.

7. El método según se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 5-6, donde el glutatión se suministró a alrededor de un tiempo de transición desde el desarrollo vegetativo a reproductivo.

8. El método según se describe en la reivindicación 5, donde el método es para preparar una planta que tiene un número mayor de semillas y/o flores comparado con el de una cepa silvestre o una planta no tratada, y comprende las etapas de:

aplicar glutatión a una planta, o al suelo en el que se va a cultivar una planta;
cultivar la planta; y
seleccionar una planta que tiene un número de semillas y/o flores que es mayor que el número de semillas y/o flores de una cepa silvestre o una planta no tratada.

9. El método según se describe en la reivindicación 8, donde el glutatión es glutatión oxidado.

10. El método según se describe en la reivindicación 5, donde el método es para preparar una planta que tiene un número mayor de brotes laterales y/o tallos comparado con el de una cepa silvestre o una planta no tratada, y comprende las etapas de:

aplicar glutatión a una planta, o al suelo en el que se va a cultivar una planta;
cultivar la planta; y
seleccionar una planta que tiene un número de brotes laterales y/o tallos que es mayor que el número de brotes laterales y/o tallos de una cepa silvestre o una planta no tratada.

11. El método definido en la reivindicación 10, donde el glutatión es glutatión oxidado.

12. El método según se describe en la reivindicación 10 u 11, donde la planta tiene una mutación en una función para sintetizar una hormona vegetal y/o una función para responder a una hormona vegetal.

13. El método según se describe en la reivindicación 12, donde la hormona vegetal es giberelina.

FIG. 1

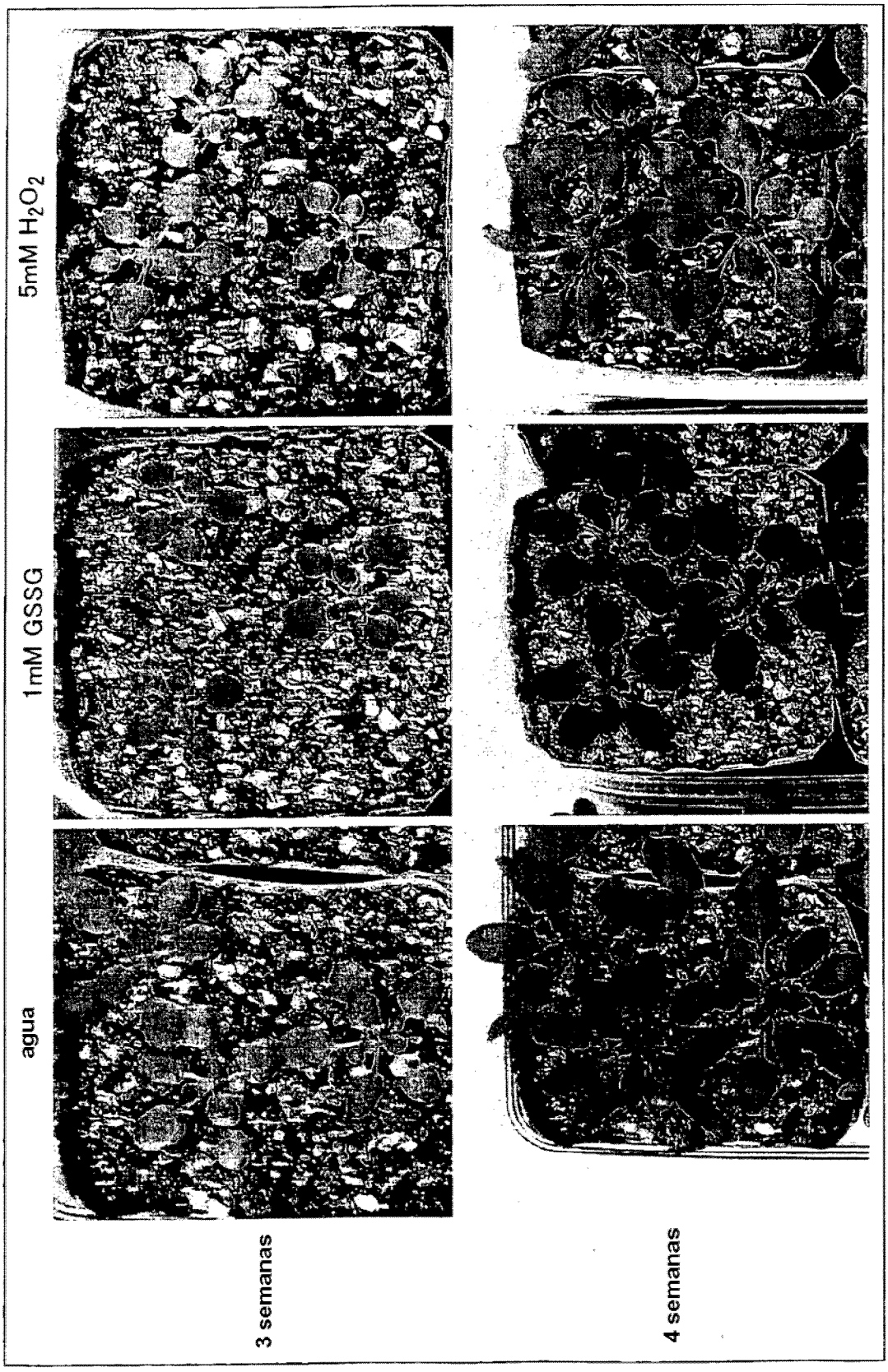


FIG. 2

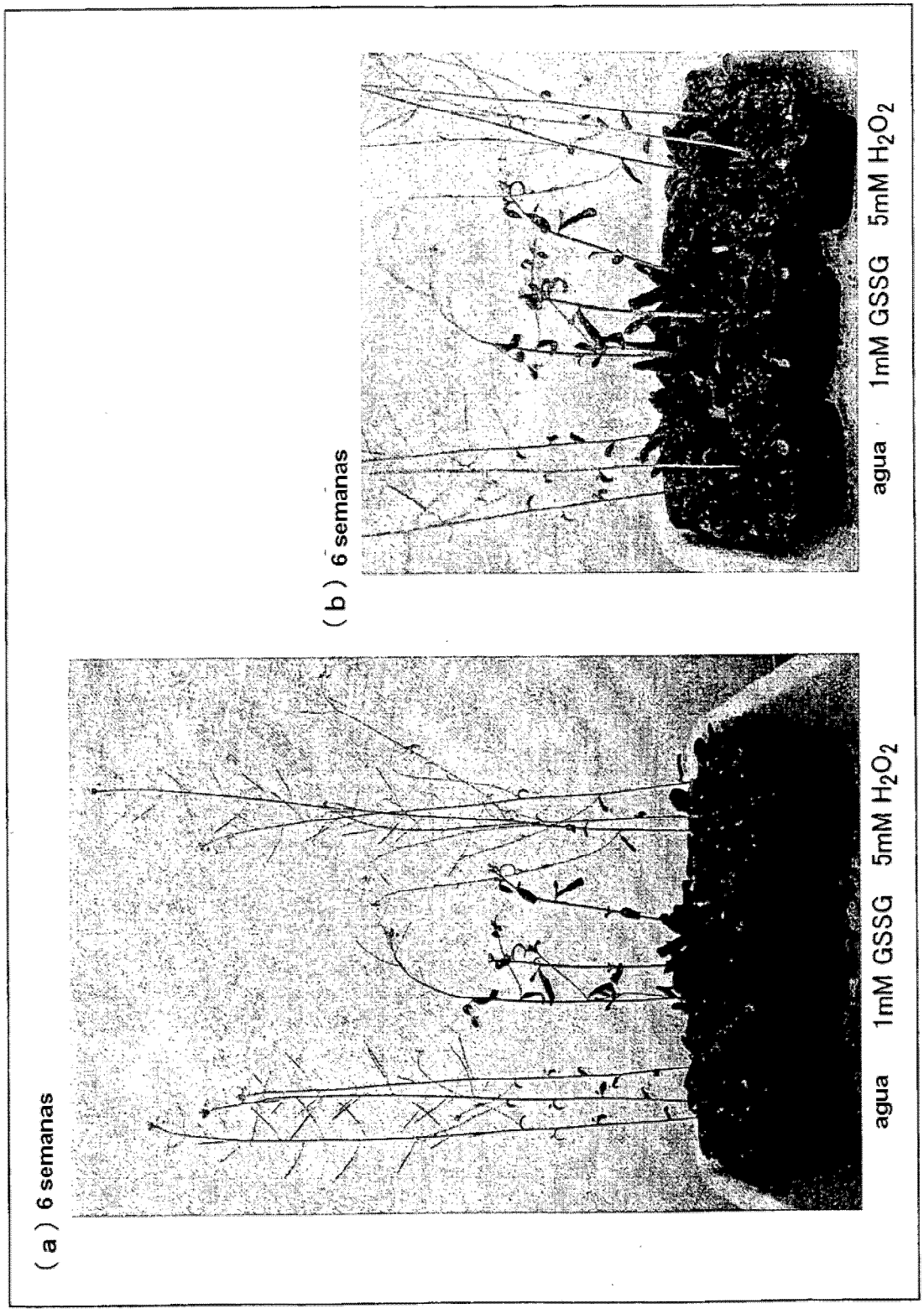

(a) 6 semanas
agua
1mM GSSG
5mM $H_2O_2$
(b) 6 semanas
agua
1mM GSSG
5mM $H_2O_2$

FIG. 3

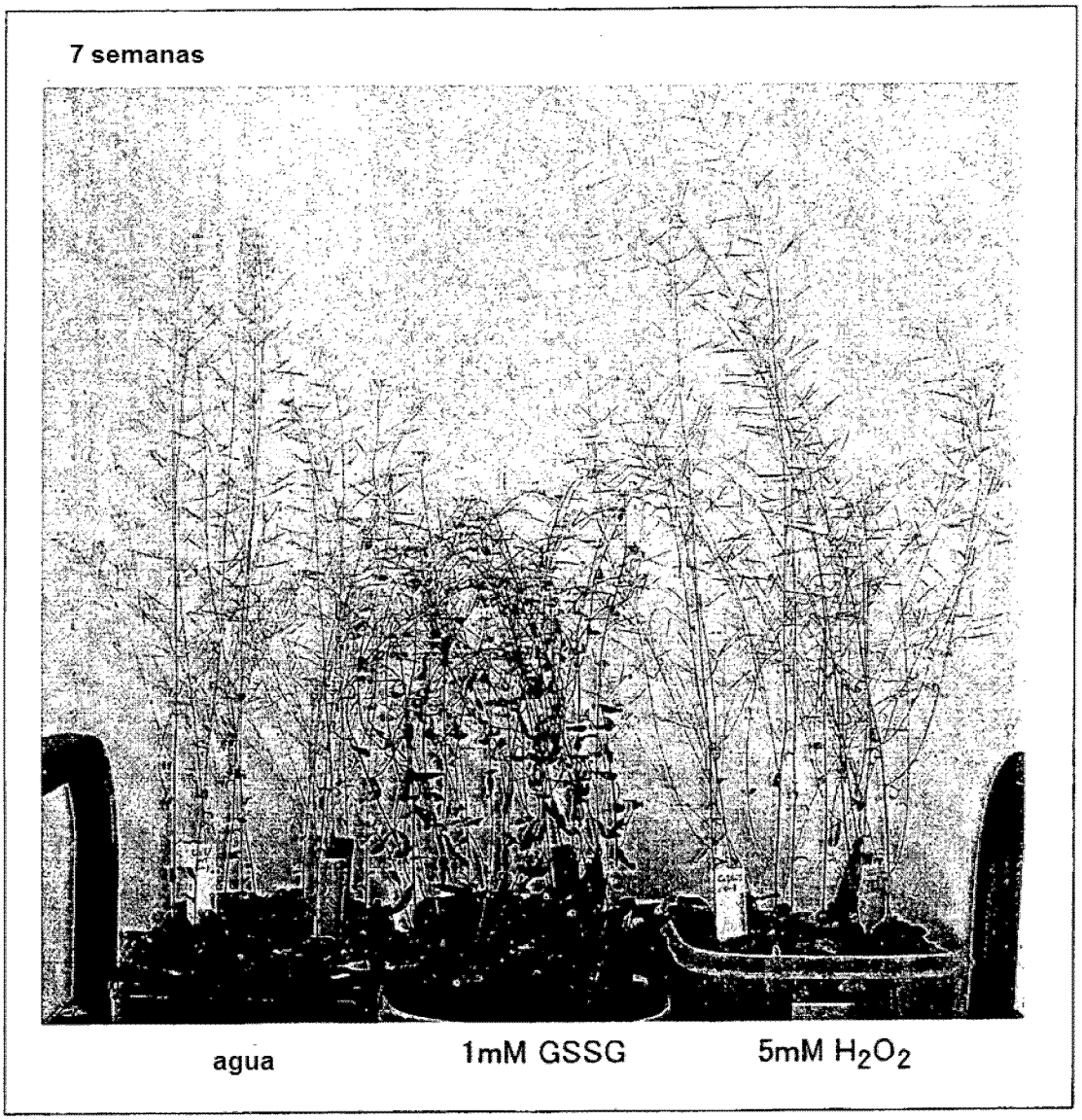


FIG. 4

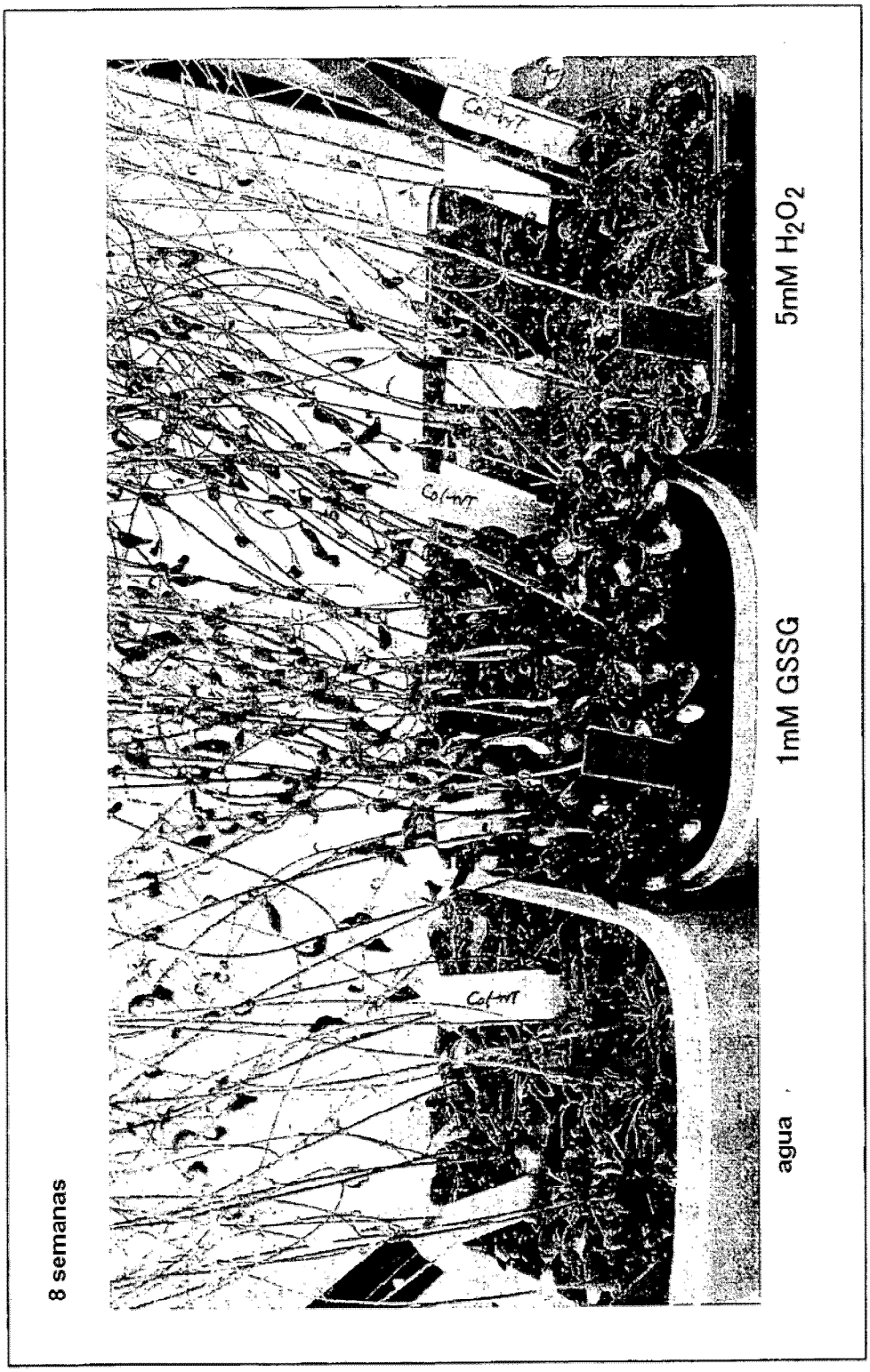


FIG. 5

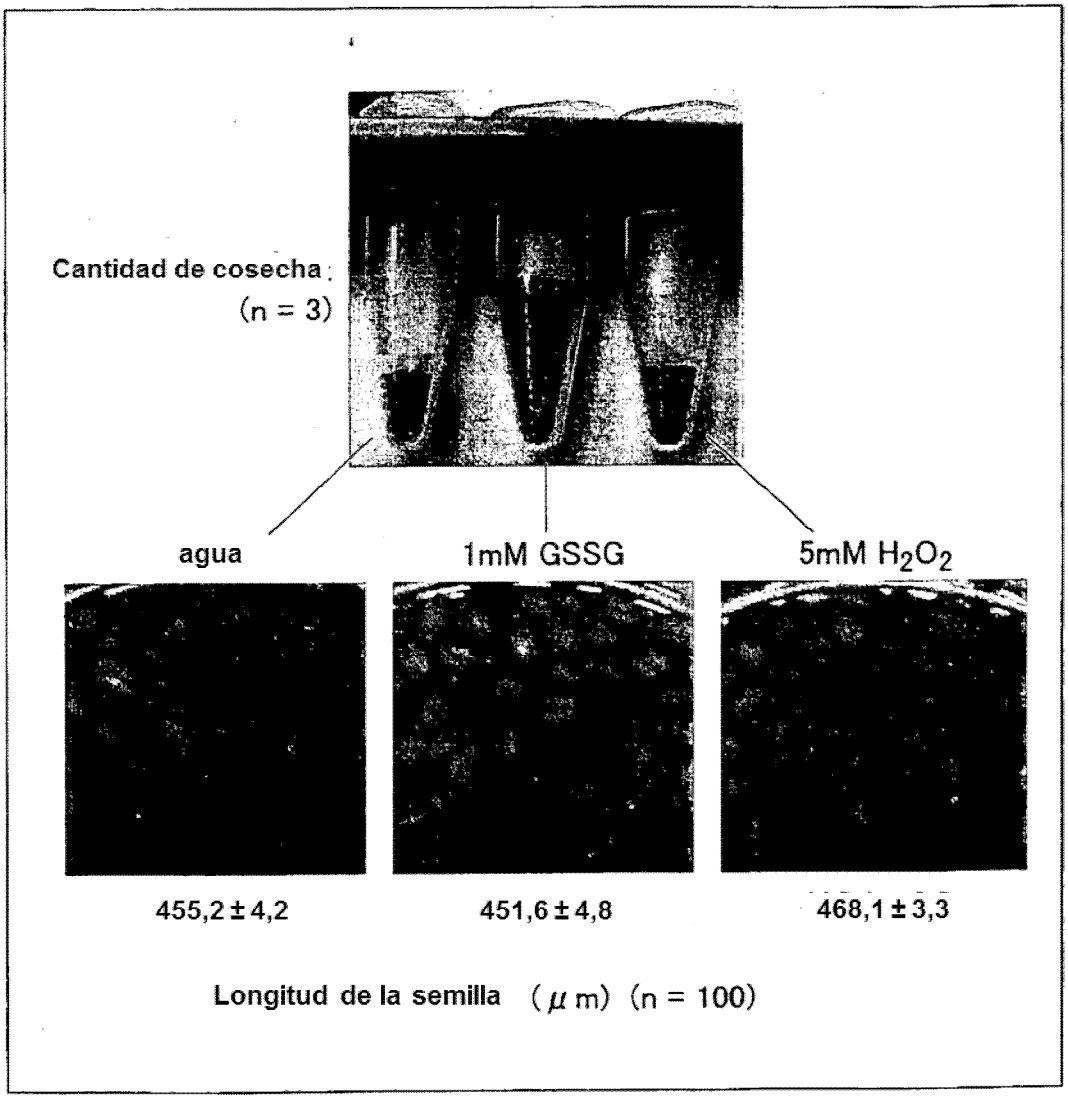

Cantidad de cosecha :
(n = 3)
agua
1mM GSSG
5mM $H_2O_2$
455,2 ± 4,2
451,6 ± 4,8
468,1 ± 3,3
Longitud de la semilla (μm) (n = 100)

FIG. 6

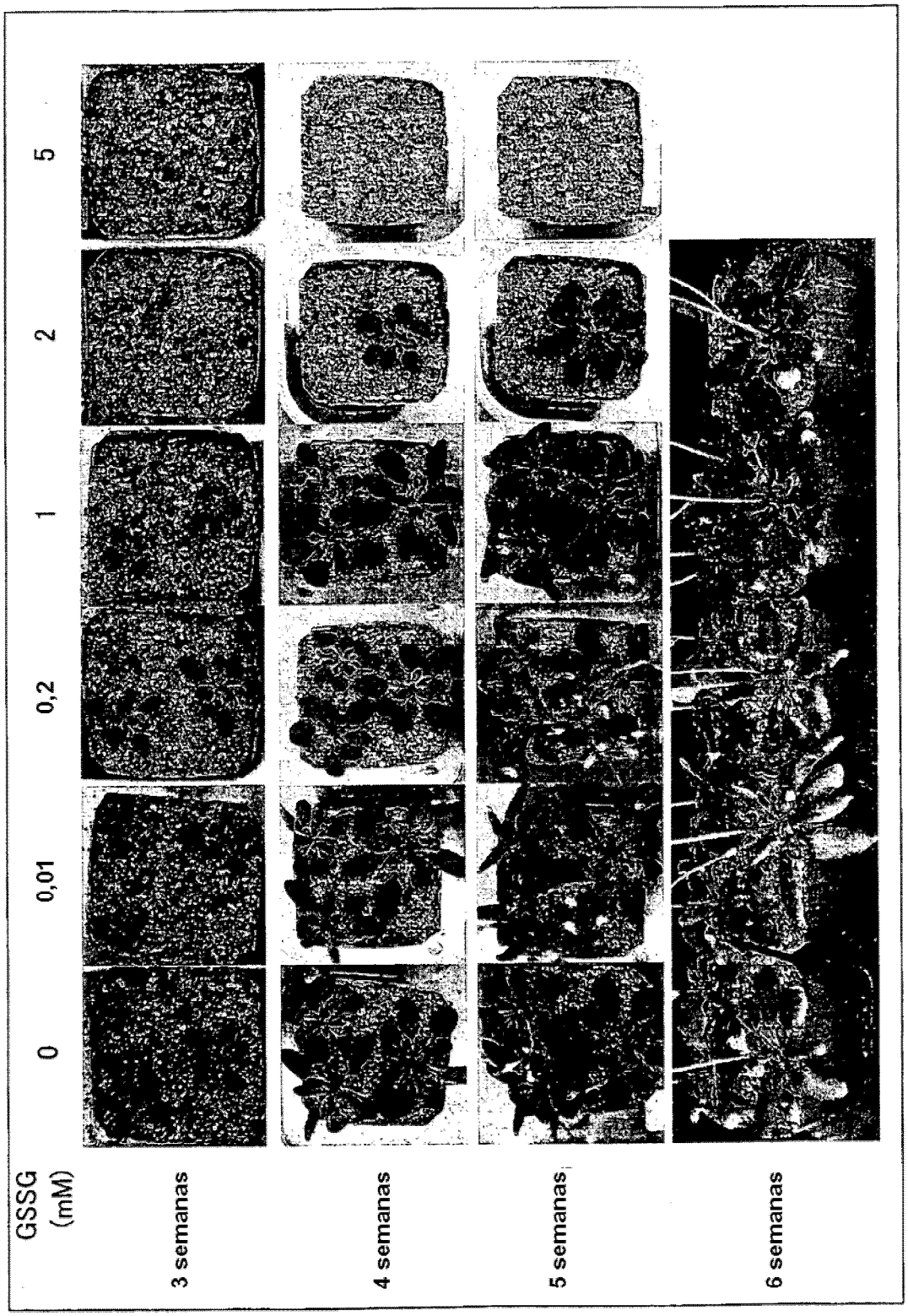


FIG. 7

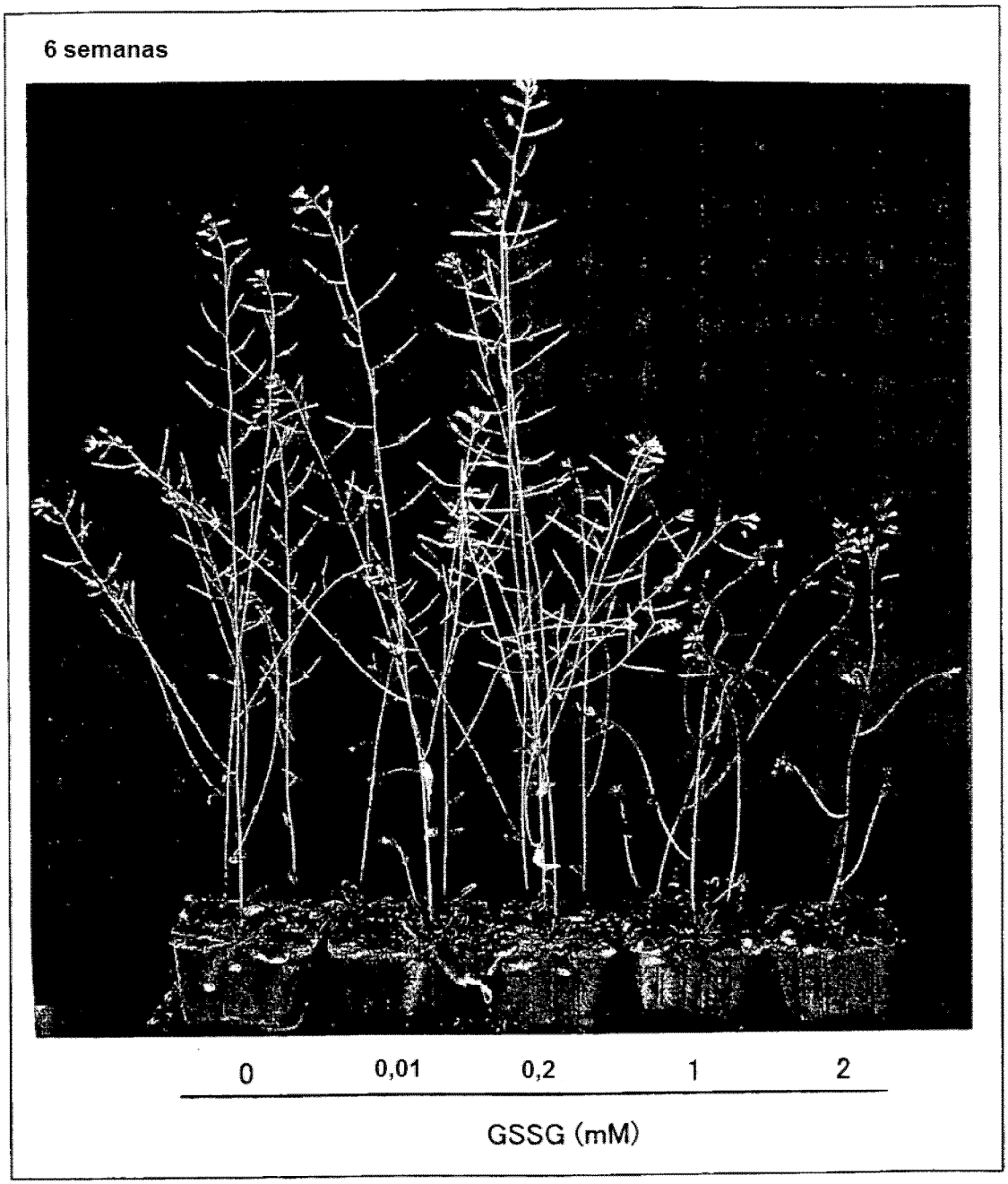


FIG. 8

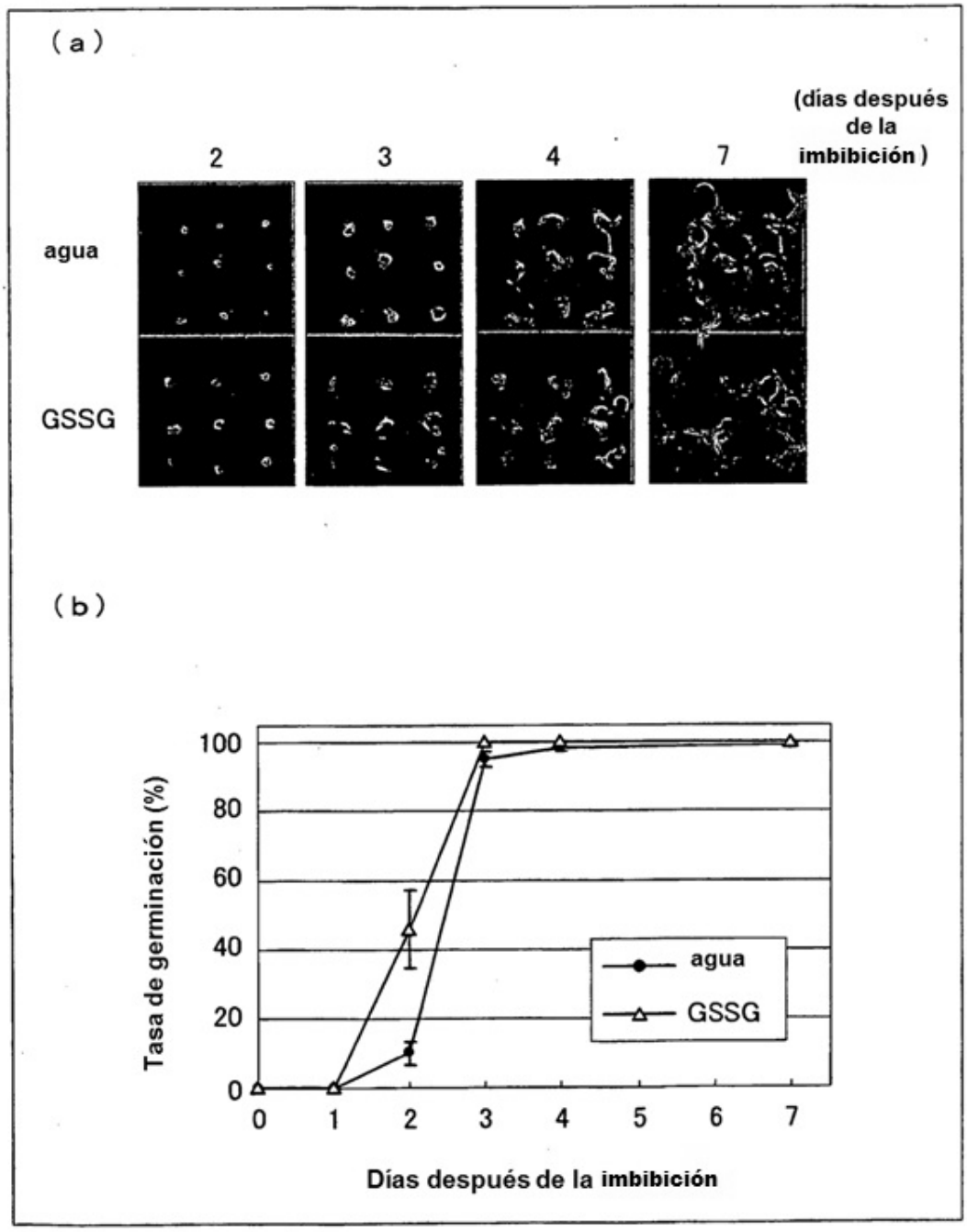

(a)
(días después de la imbibición)
2
3
4
7
agua
GSSG
(b)
Tasa de germinación (%)
100
80
60
40
20
0
0
1
2
3
4
5
6
7
agua
GSSG
Días después de la imbibición

FIG. 9

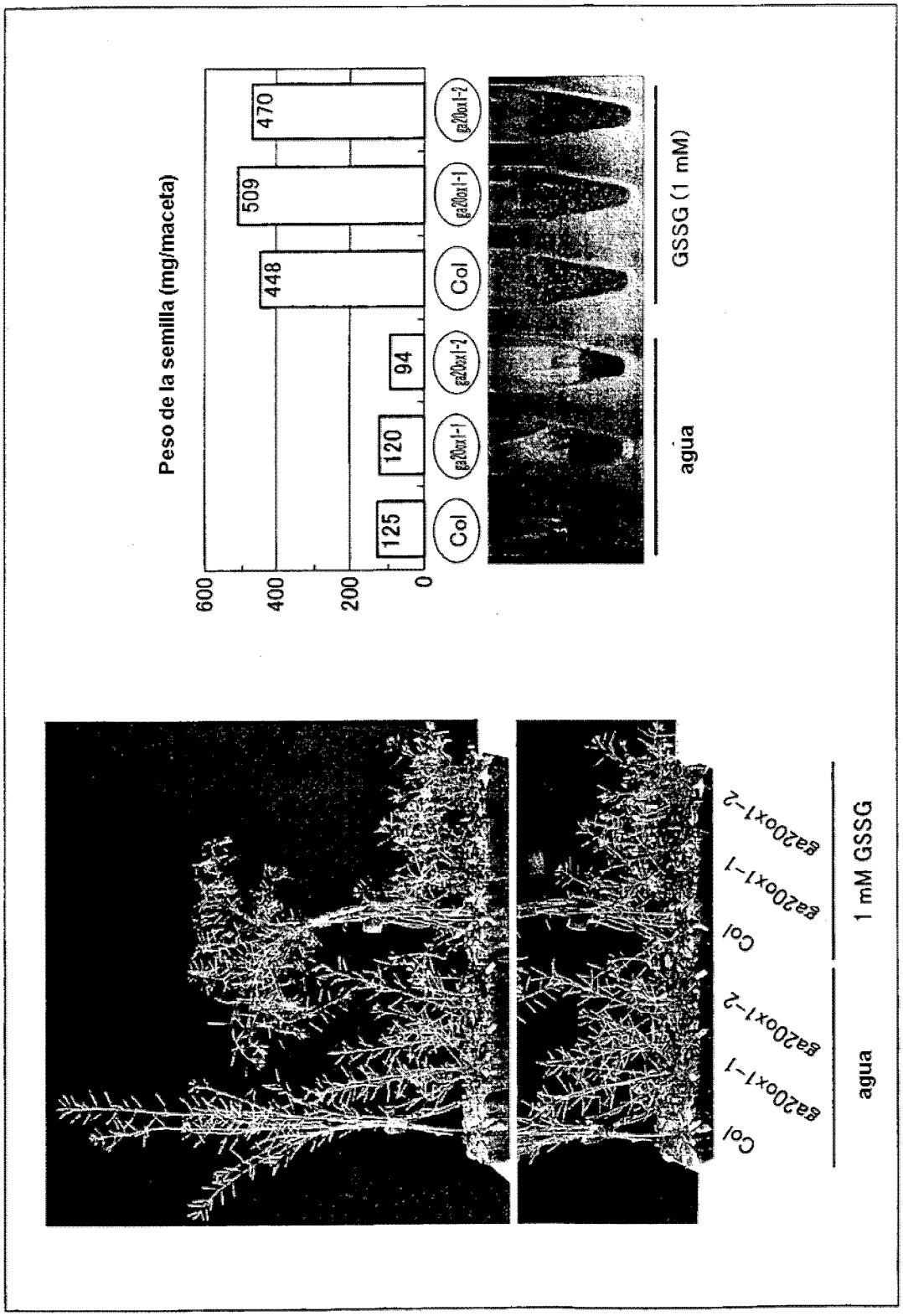

Peso de la semilla (mg/maceta)
600
400
200
0
125
120
94
448
509
470
Col
ga20ox1-1
ga20ox1-2
Col
ga20ox1-1
ga20ox1-2
agua
GSSG (1 mM)
Col
ga20ox1-1
ga20ox1-2
Col
ga20ox1-1
ga20ox1-2
agua
1 mM GSSG

FIG. 10

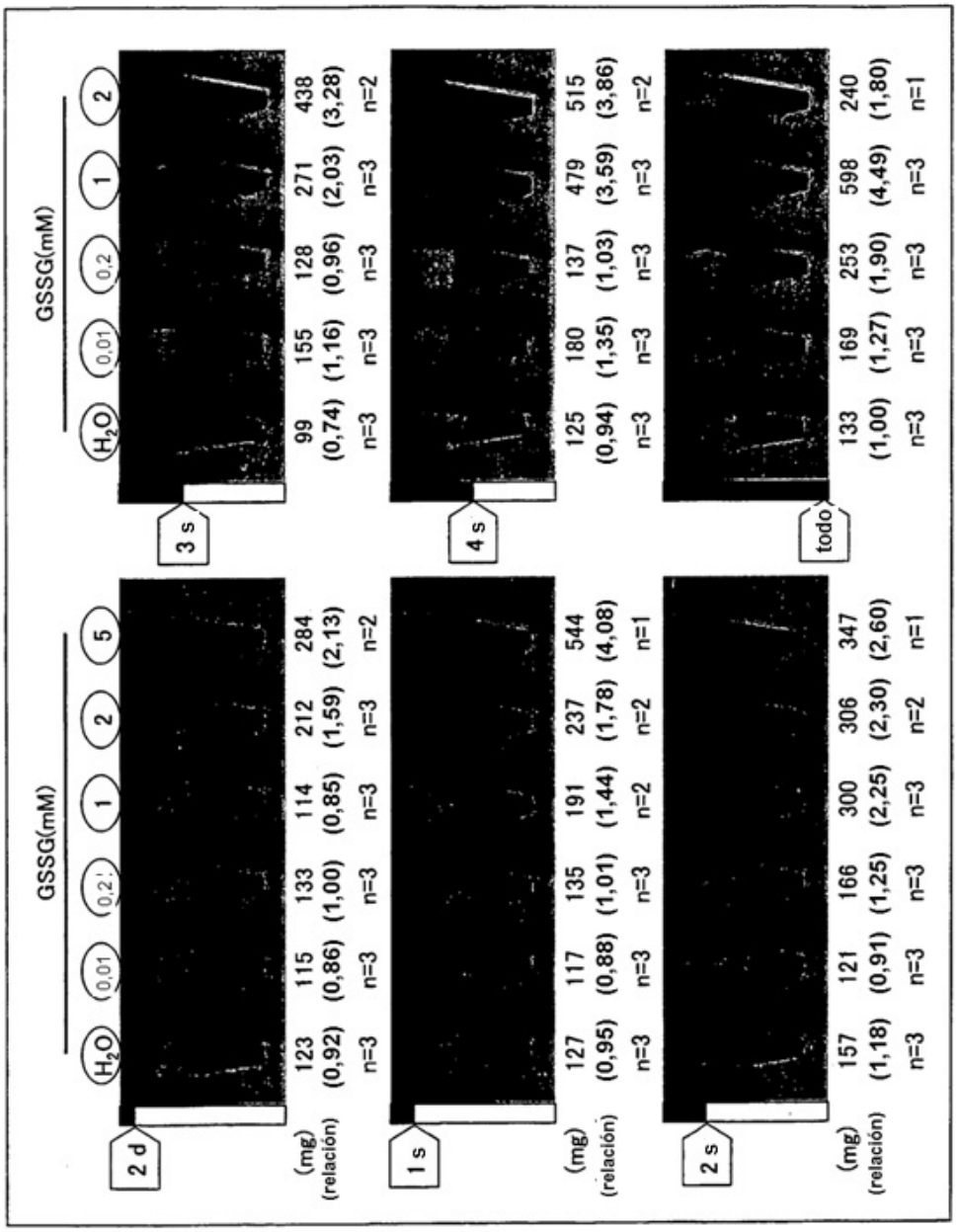

GSSG(mM)
H2O
0,01
0,2
1
2
5
2 d
(mg) 123 115 133 114 212 284
(relación) (0,92) (0,86) (1,00) (0,85) (1,59) (2,13)
n=3 n=3 n=3 n=3 n=3 n=2
1 s
(mg) 127 117 135 191 237 544
(relación) (0,95) (0,88) (1,01) (1,44) (1,78) (4,08)
n=3 n=3 n=3 n=2 n=2 n=1
2 s
(mg) 157 121 166 300 306 347
(relación) (1,18) (0,91) (1,25) (2,25) (2,30) (2,60)
n=3 n=3 n=3 n=3 n=2 n=1
GSSG(mM)
H2O
0,01
0,2
1
2
3 s
99 155 128 271 438
(0,74) (1,16) (0,96) (2,03) (3,28)
n=3 n=3 n=3 n=3 n=2
4 s
125 180 137 479 515
(0,94) (1,35) (1,03) (3,59) (3,86)
n=3 n=3 n=3 n=3 n=2
todo
133 169 253 598 240
(1,00) (1,27) (1,90) (4,49) (1,80)
n=3 n=3 n=3 n=3 n=1

FIG. 11

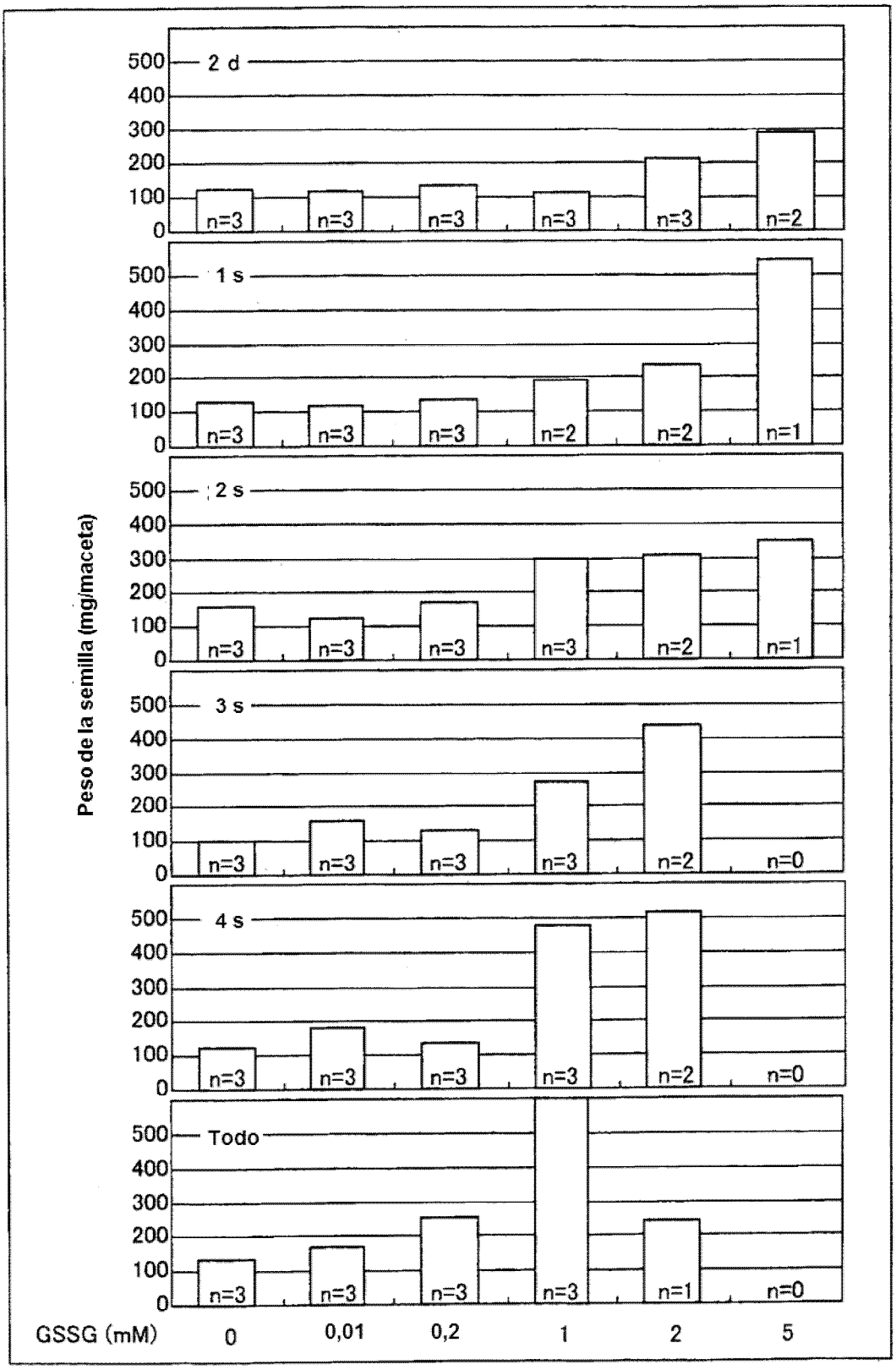

Peso de la semilla (mg/maceta)
2 d
1 s
2 s
3 s
4 s
Todo
500
400
300
200
100
0
n=3
n=2
n=1
n=0
GSSG (mM)
0
0,01
0,2
1
2
5

FIG. 12

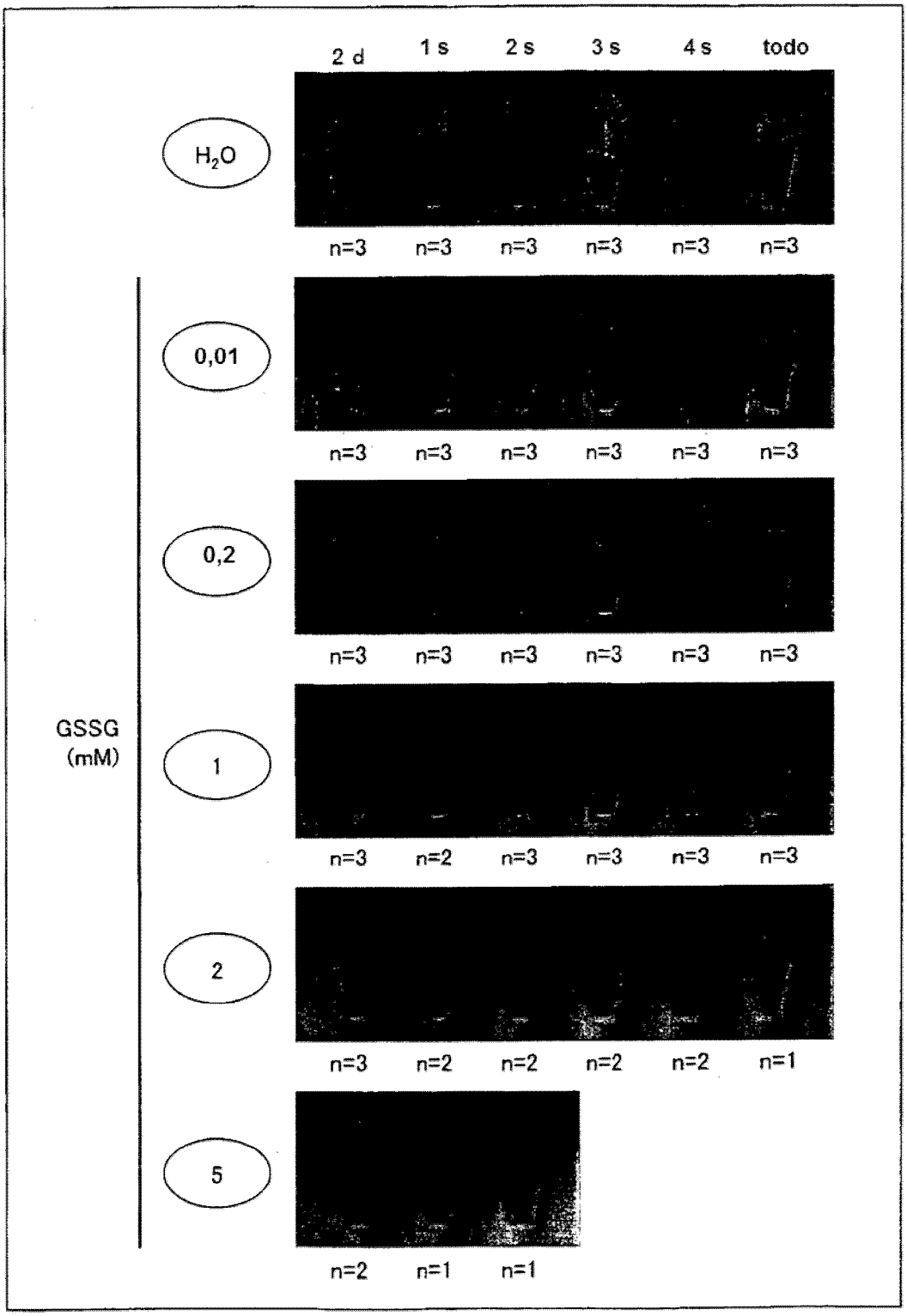

2 d
1 s
2 s
3 s
4 s
todo
H2O
n=3 n=3 n=3 n=3 n=3 n=3
GSSG (mM)
0,01
n=3 n=3 n=3 n=3 n=3 n=3
0,2
n=3 n=3 n=3 n=3 n=3 n=3
1
n=3 n=2 n=3 n=3 n=3 n=3
2
n=3 n=2 n=2 n=2 n=2 n=1
5
n=2 n=1 n=1

FIG. 13

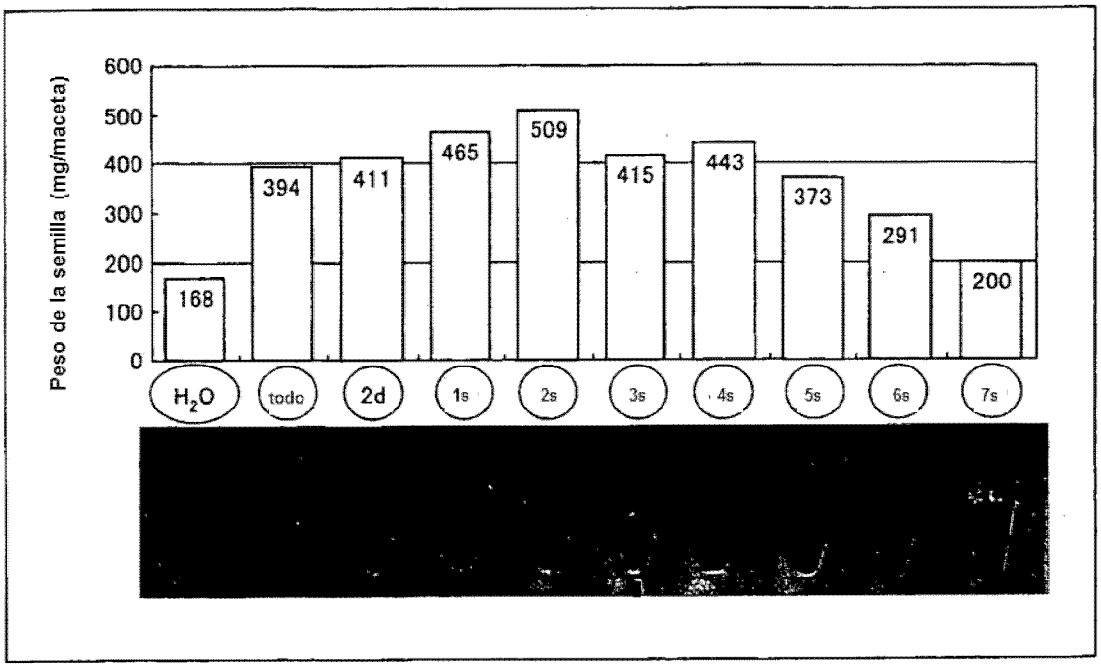

Peso de la semilla (mg/maceta)
600
500
400
300
200
100
0
168
394
411
465
509
415
443
373
291
200
H2O
todo
2d
1s
2s
3s
4s
5s
6s
7s

FIG. 14

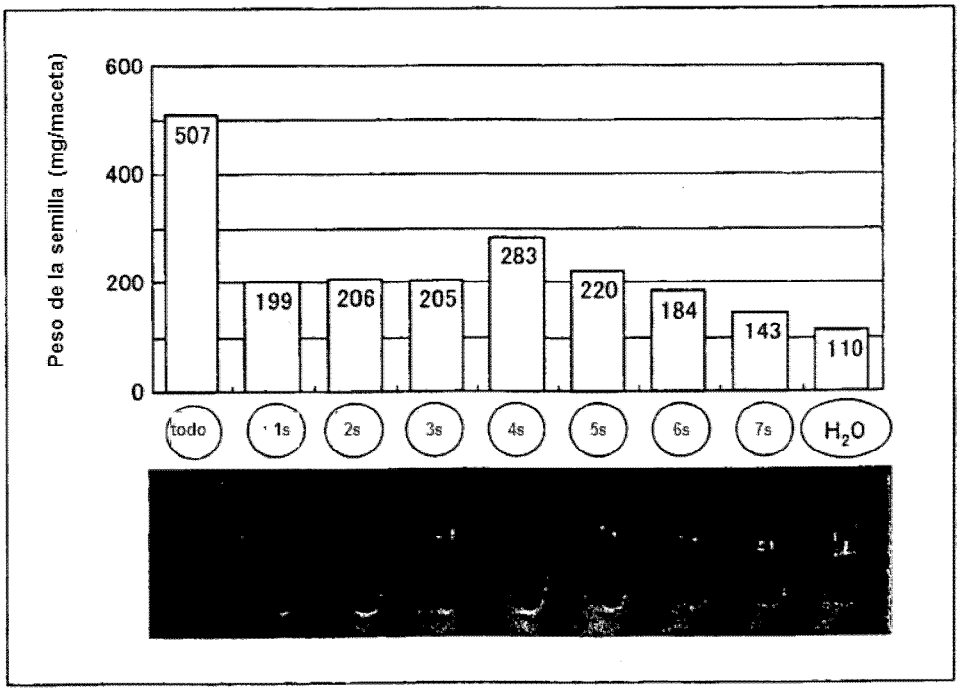

Peso de la semilla (mg/maceta)
600
400
200
0
507
199
206
205
283
220
184
143
110
todo
1s
2s
3s
4s
5s
6s
7s
H2O

FIG. 15

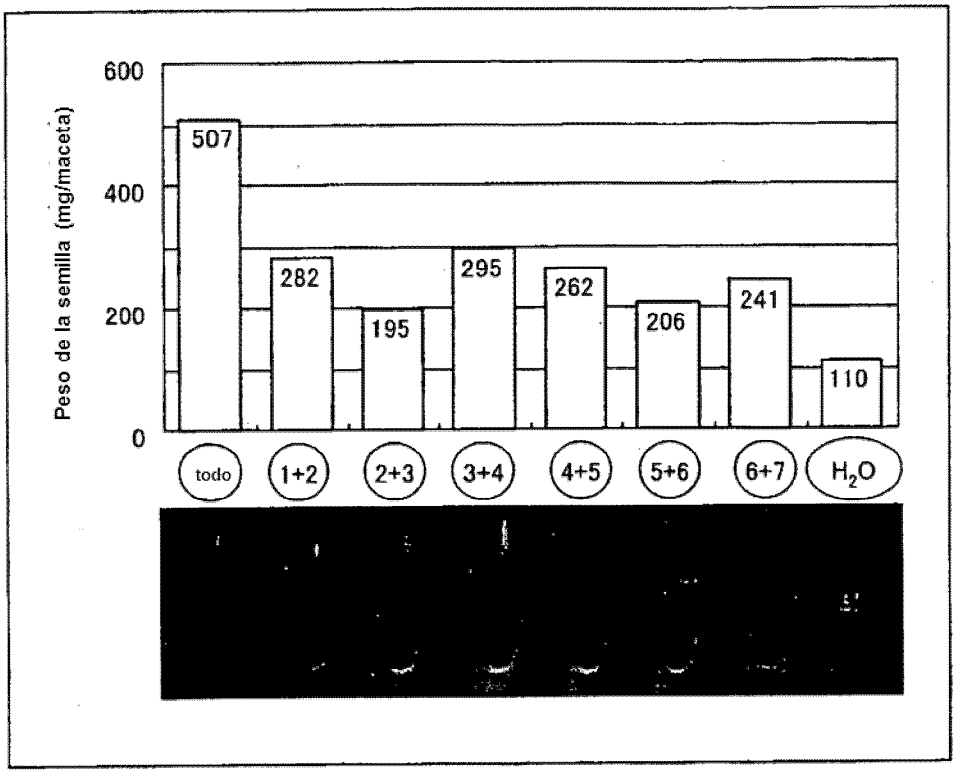

Peso de la semilla (mg/maceta)
600
400
200
0
507
282
195
295
262
206
241
110
todo
1+2
2+3
3+4
4+5
5+6
6+7
H2O

FIG. 16

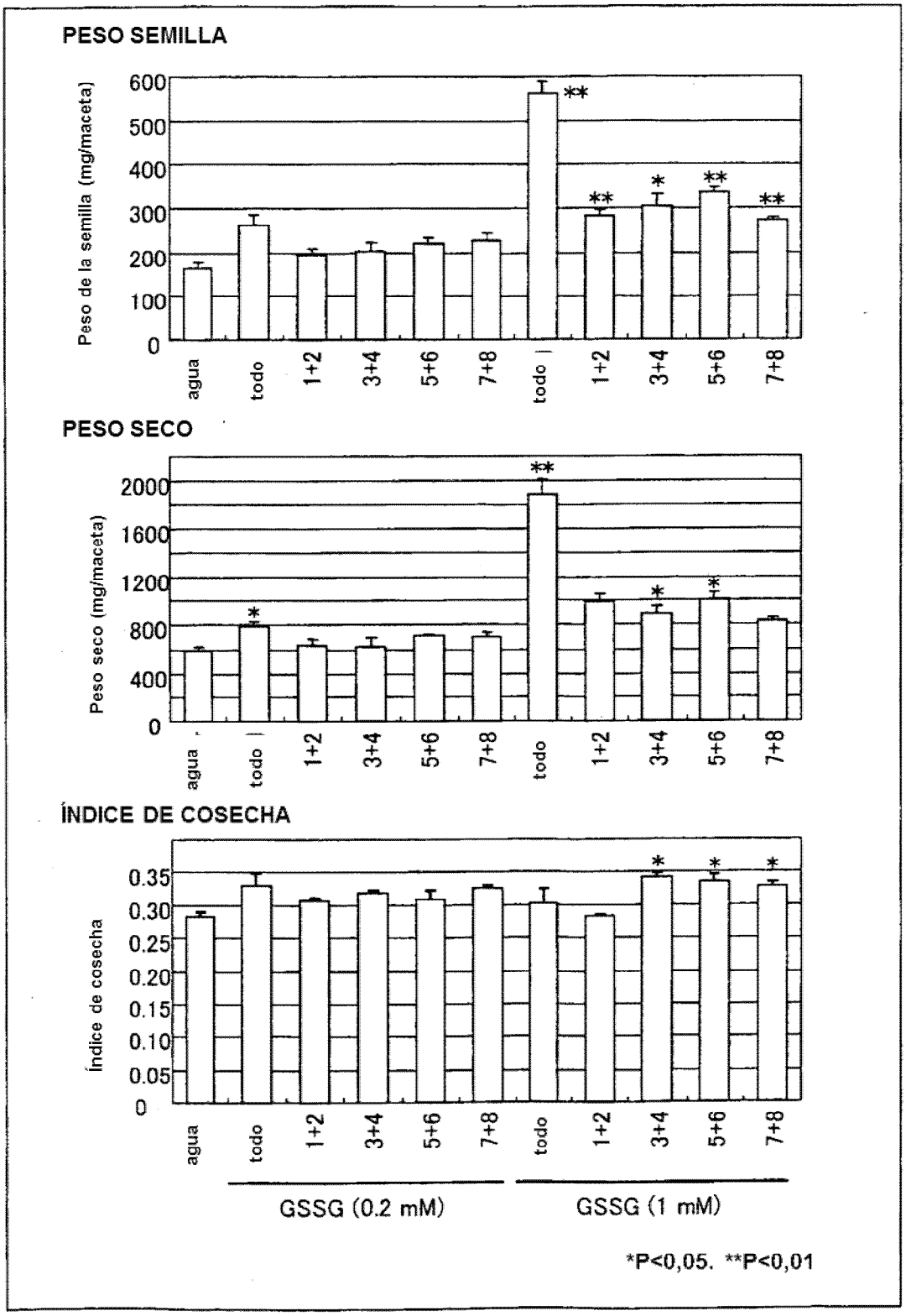

PESO SEMILLA
Peso de la semilla (mg/maceta)
600
500
400
300
200
100
0
**
**
*
**
**
agua
todo
1+2
3+4
5+6
7+8
todo
1+2
3+4
5+6
7+8
PESO SECO
Peso seco (mg/maceta)
2000
1600
1200
800
400
0
**
*
*
*
agua
todo
1+2
3+4
5+6
7+8
todo
1+2
3+4
5+6
7+8
ÍNDICE DE COSECHA
Índice de cosecha
0.35
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0
*
*
*
agua
todo
1+2
3+4
5+6
7+8
todo
1+2
3+4
5+6
7+8
GSSG (0.2 mM)
GSSG (1 mM)
*P<0,05. **P<0,01

FIG. 17

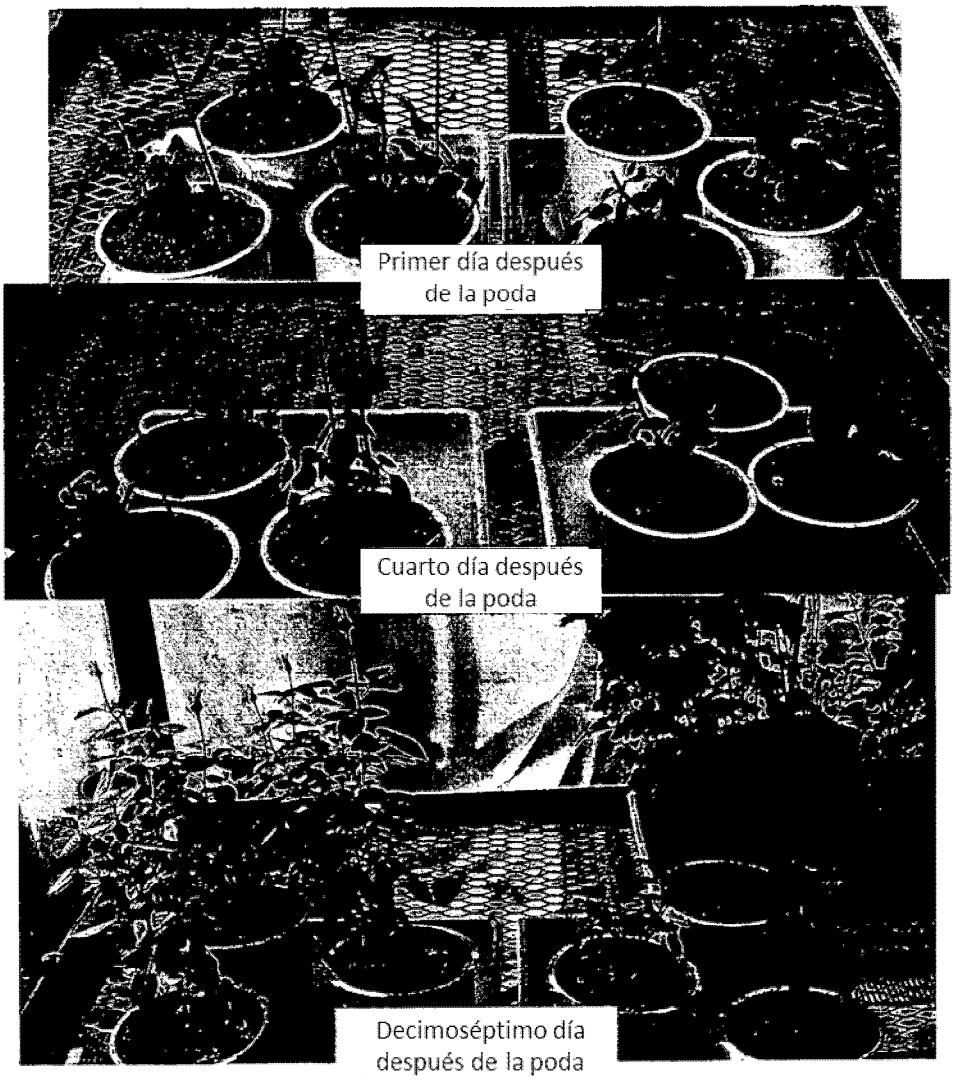
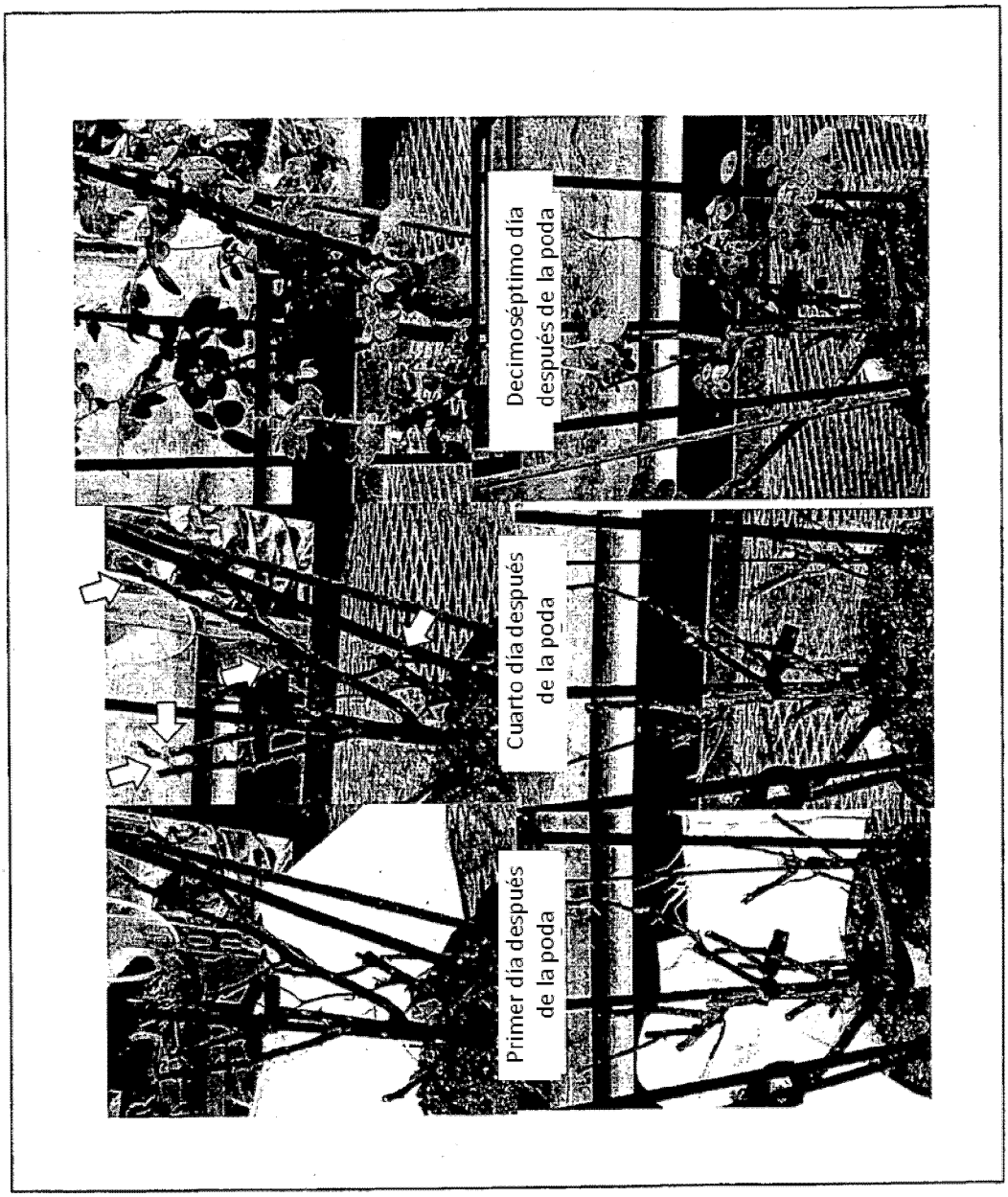

Primer día después de la poda
Cuarto día después de la poda
Decimoséptimo día después de la poda

FIG. 18


Primer día después de la poda
Cuarto día después de la poda
Decimoséptimo día después de la poda

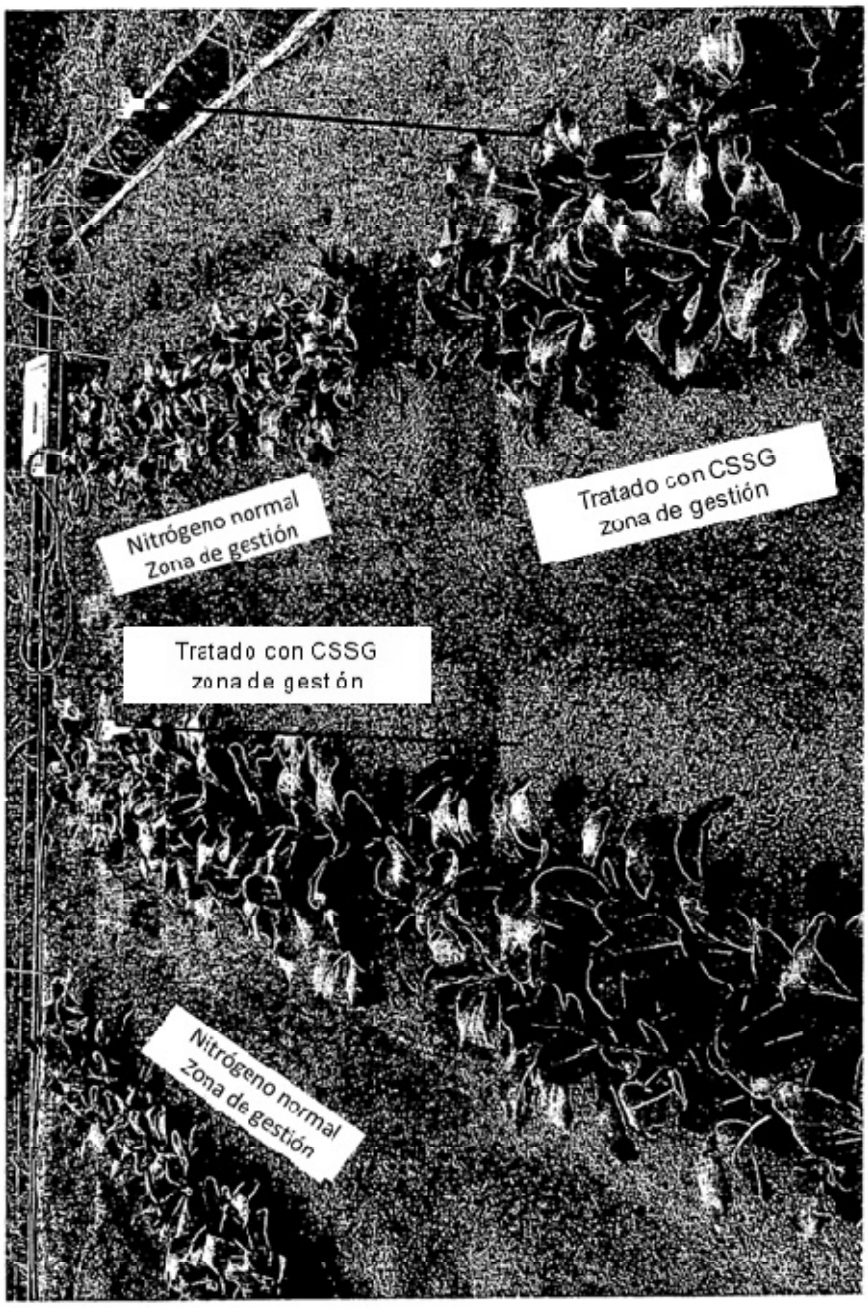

Nitrógeno normal
Zona de gestión
Tratado con CSSG
zona de gestión
Tratado con CSSG
zona de gestión
Nitrógeno normal
Zona de gestión

FIG. 19

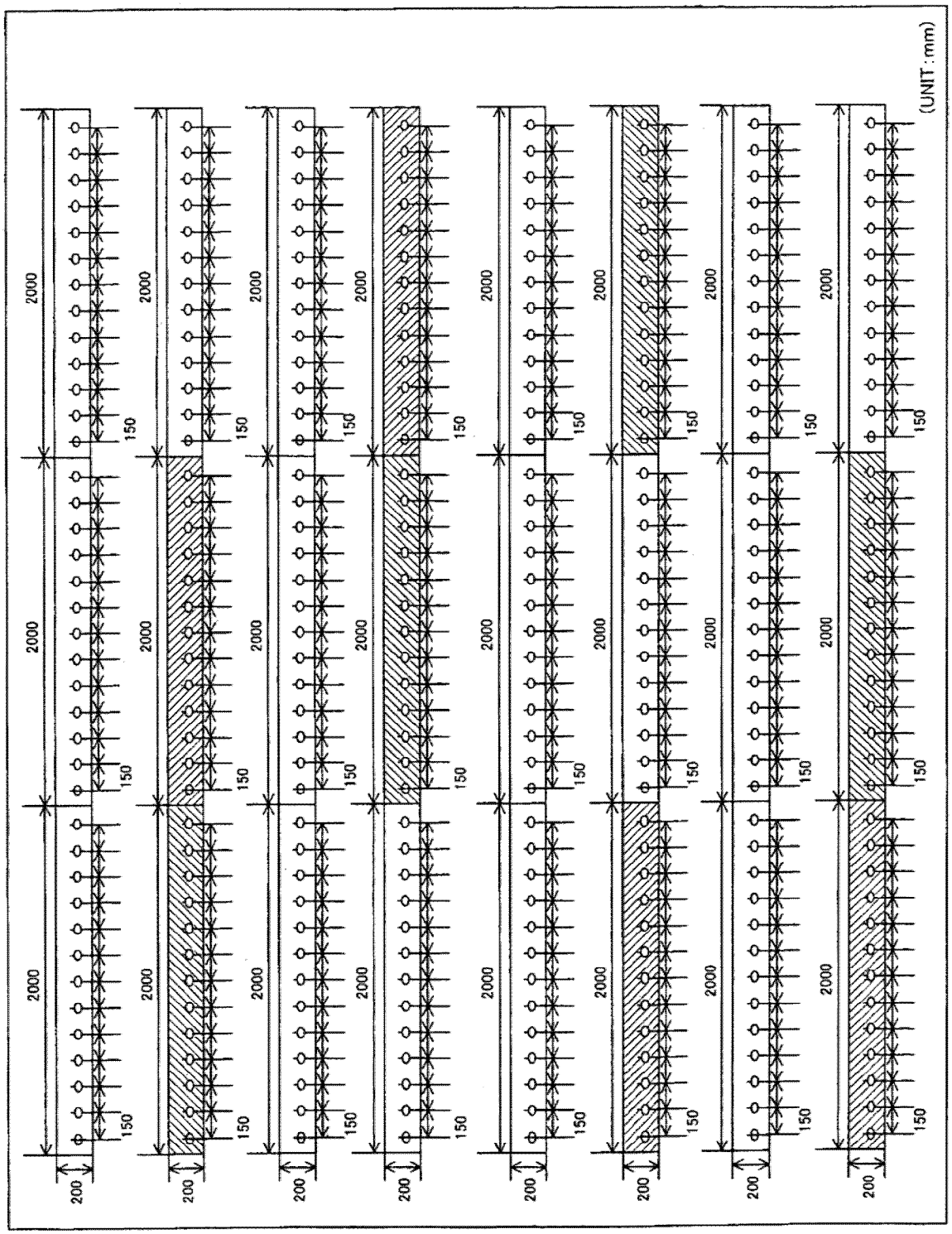



FIG. 20

FIG. 21

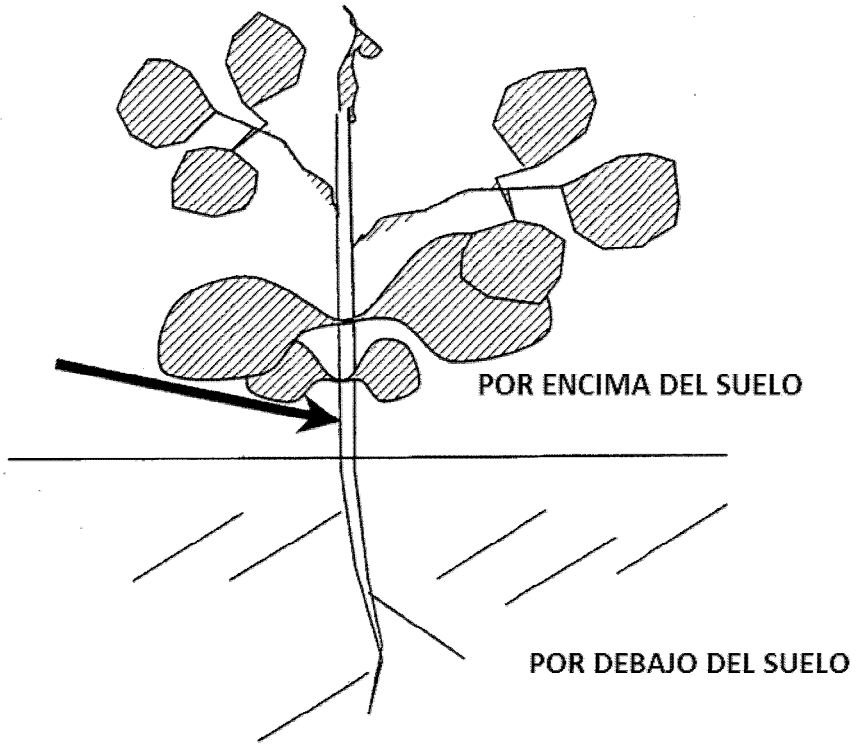


FIG. 22

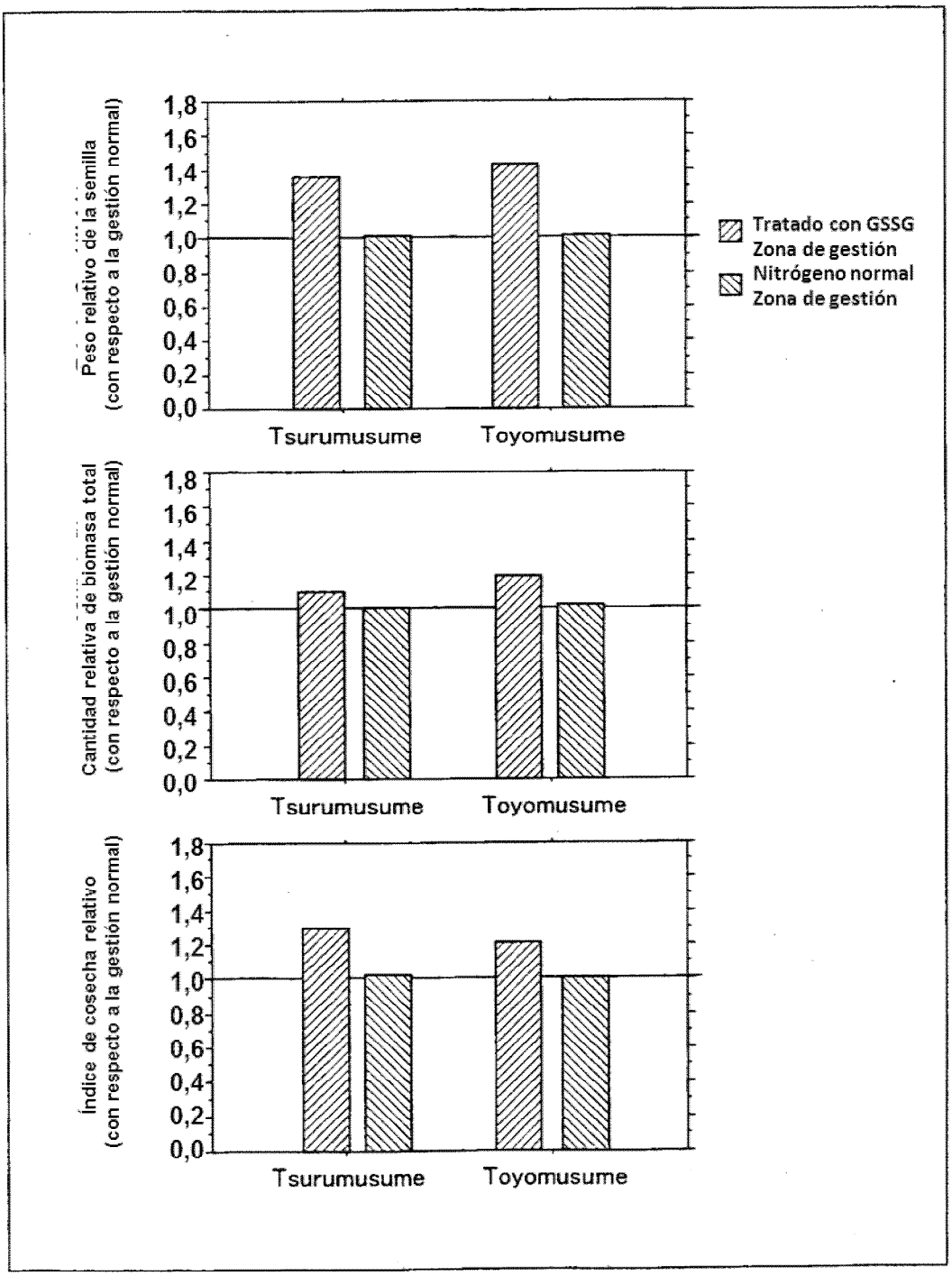

Peso relativo de la semilla
(con respecto a la gestión normal)
1,8
1,6
1,4
1,2
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
Tsurumusume
Toyomusume
Cantidad relativa de biomasa total
(con respecto a la gestión normal)
Índice de cosecha relativo
(con respecto a la gestión normal)
Tratado con GSSG
Zona de gestión
Nitrógeno normal
Zona de gestión

FIG. 23

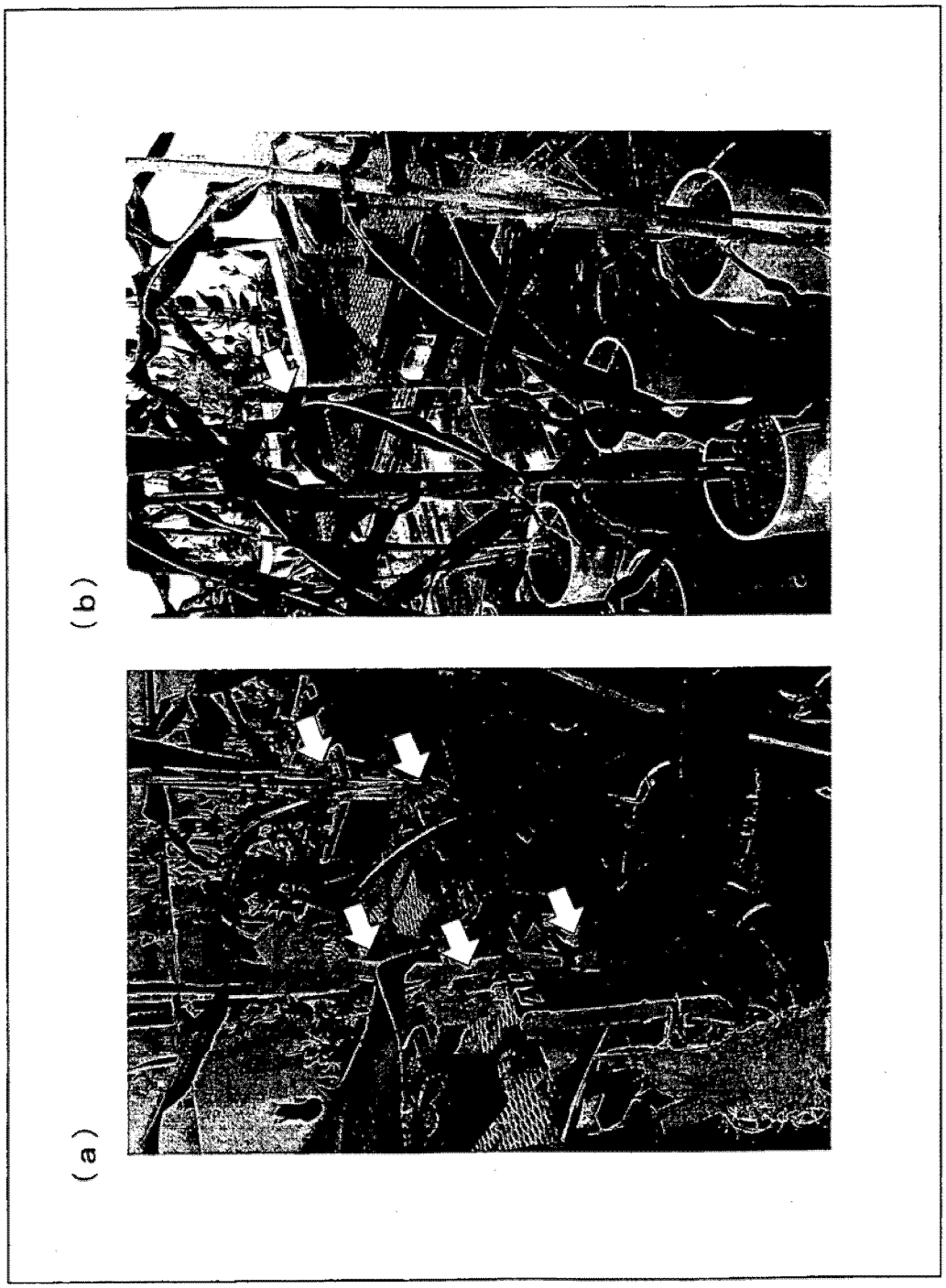


FIG. 24

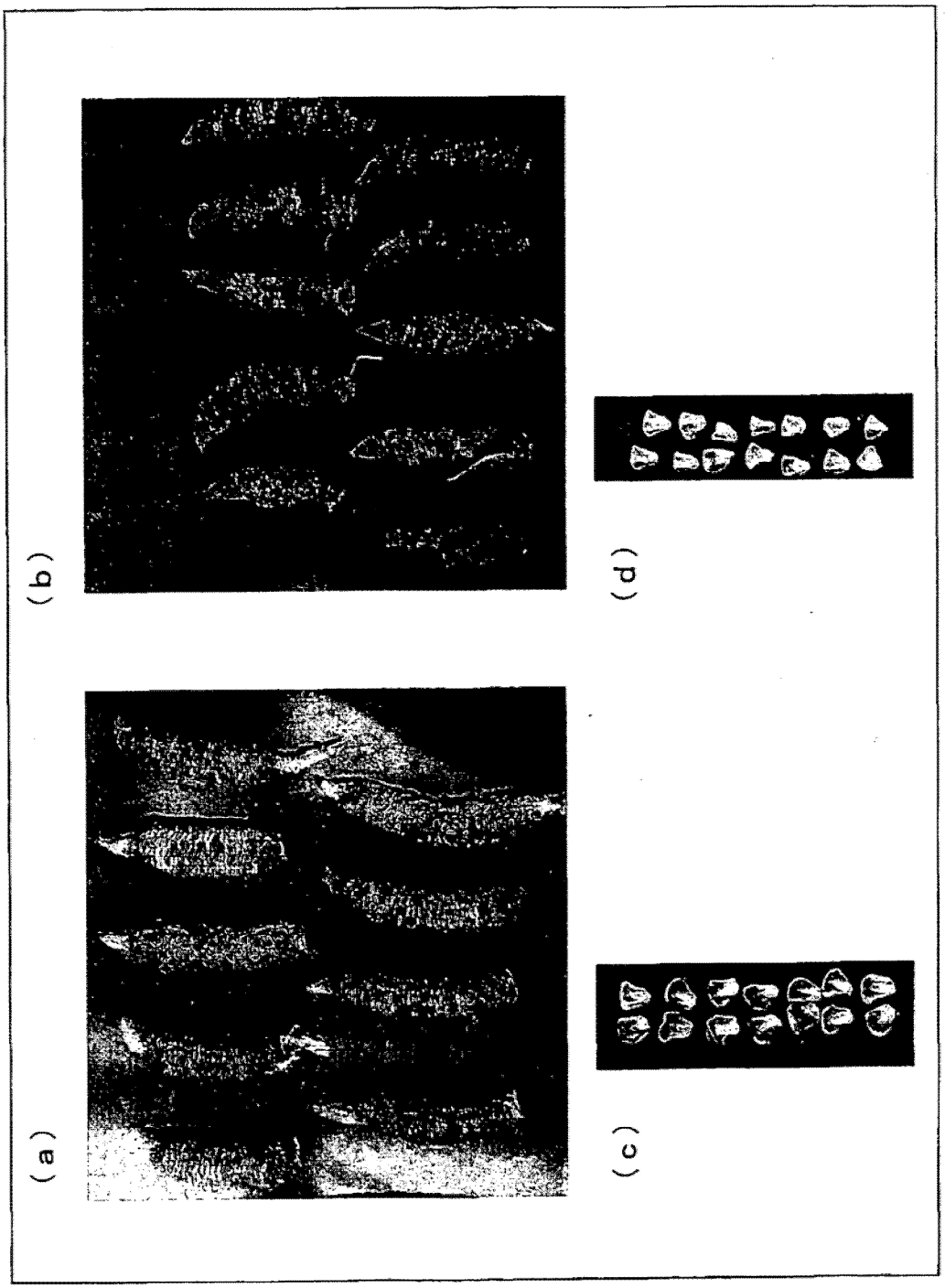


FIG. 25

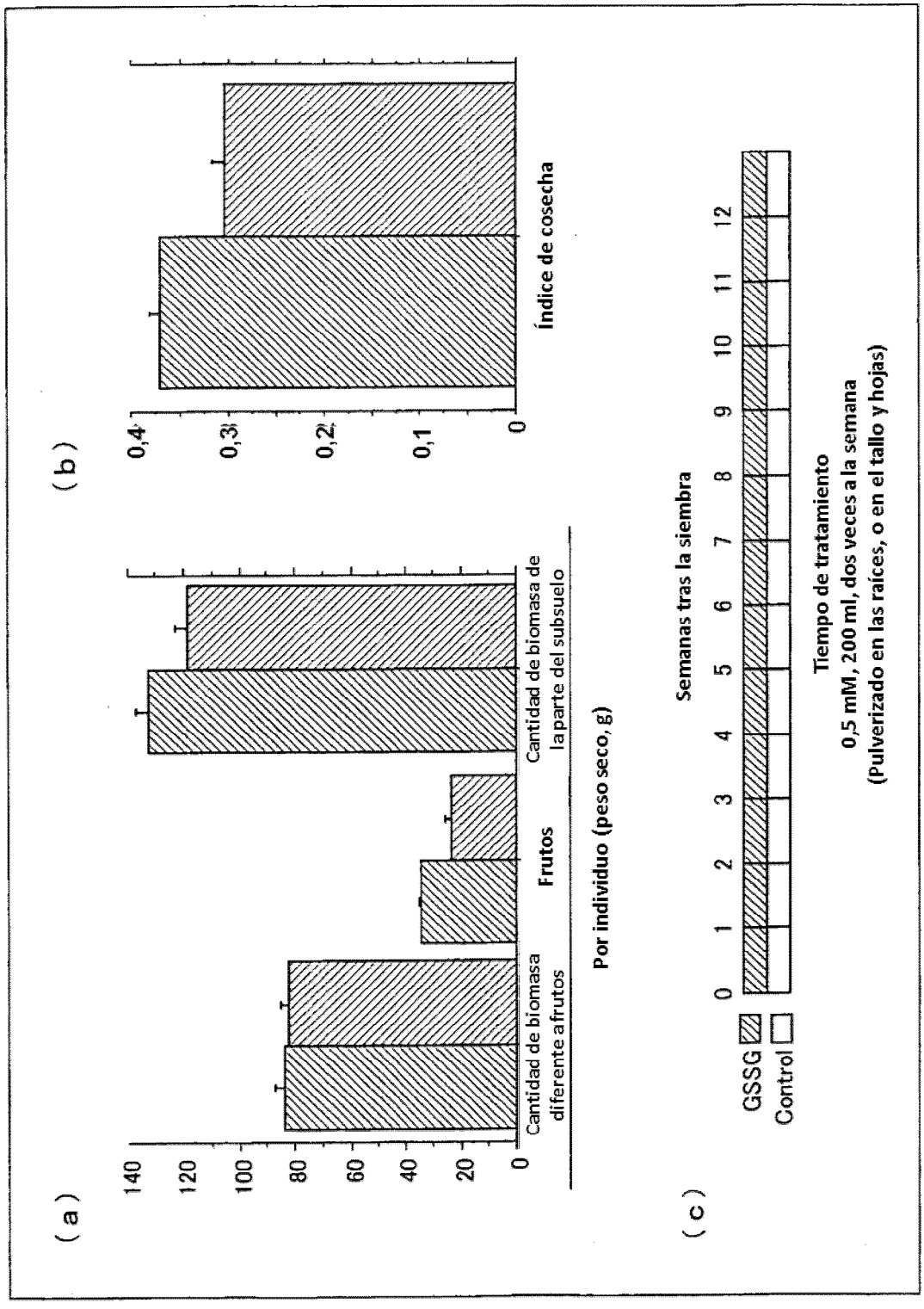

(a)
140
120
100
80
60
40
20
0
Cantidad de biomasa diferente a frutos
Frutos
Cantidad de biomasa de la parte del subsuelo
Por individuo (peso seco, g)
(b)
0,4
0,3
0,2
0,1
0
Índice de cosecha
(c)
GSSG
Control
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
Semanas tras la siembra
Tiempo de tratamiento
0,5 mM, 200 ml, dos veces a la semana
(Pulverizado en las raíces, o en el tallo y hojas)

FIG. 26

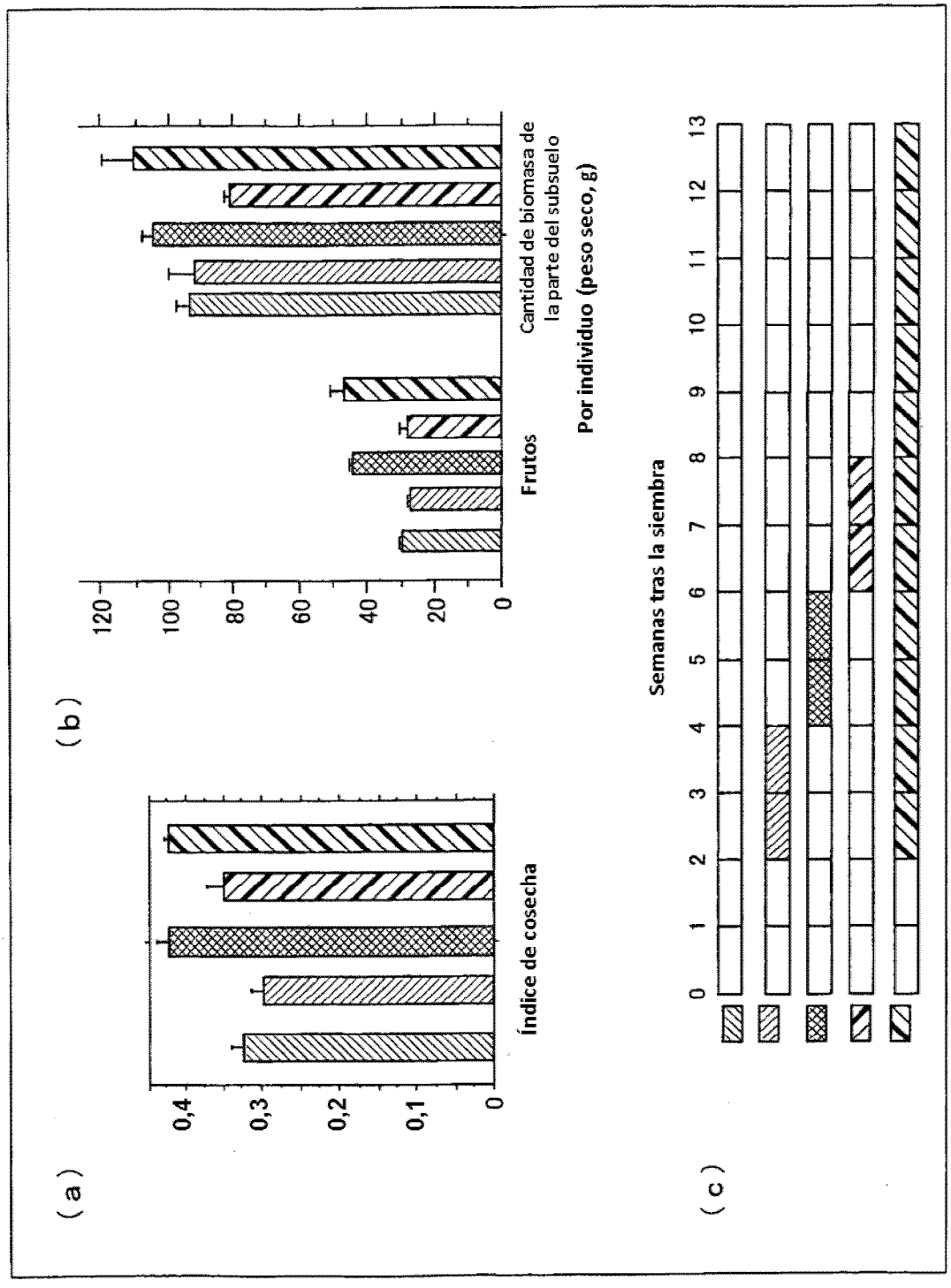

(a)
Índice de cosecha
0
0,1
0,2
0,3
0,4
(b)
Cantidad de biomasa de la parte del subsuelo
Por individuo (peso seco, g)
Frutos
0
20
40
60
80
100
120
(c)
Semanas tras la siembra
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

FIG. 27

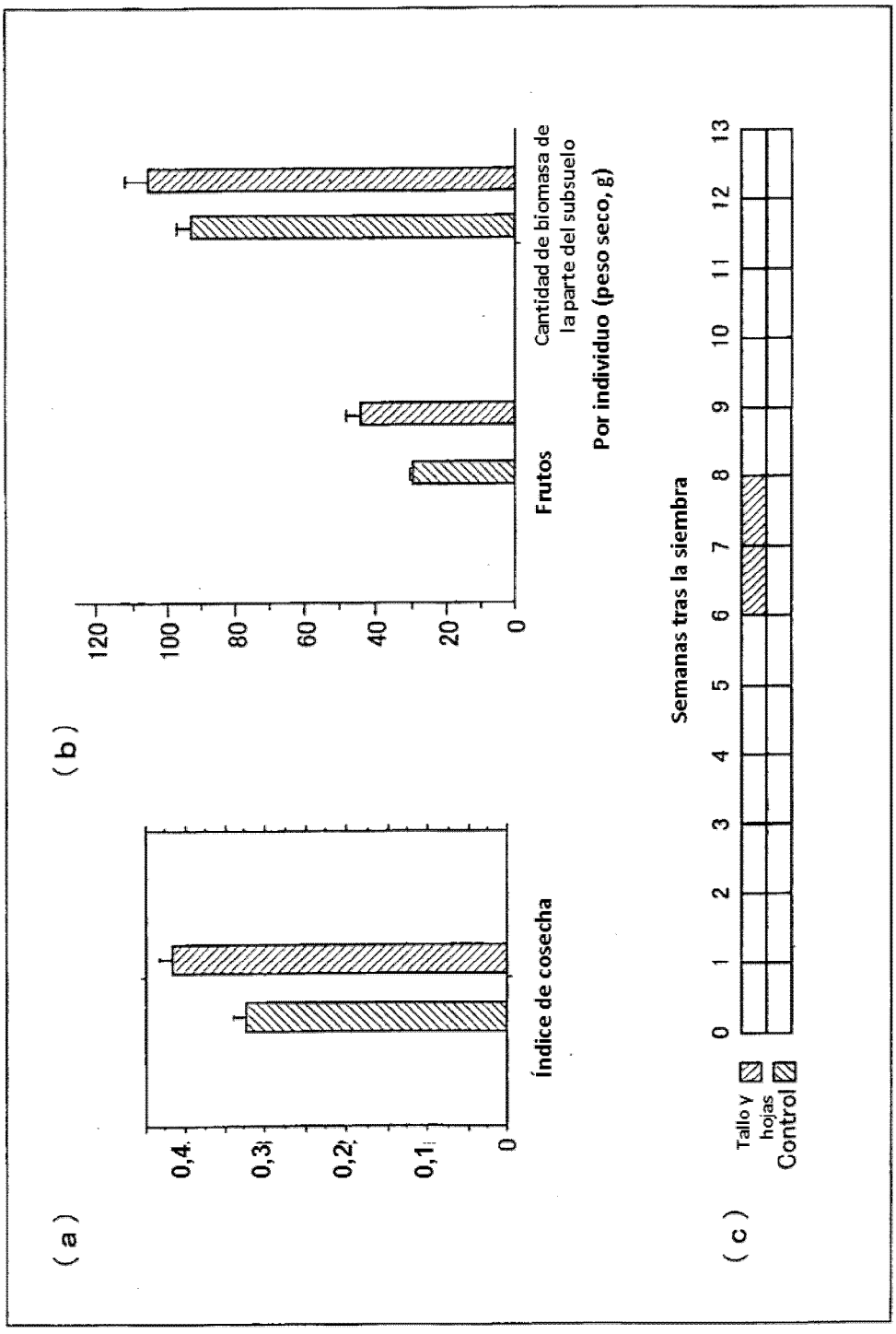

(a)
Índice de cosecha
0,4
0,3
0,2
0,1
0
(b)
Cantidad de biomasa de la parte del subsuelo
Por individuo (peso seco, g)
Frutos
120
100
80
60
40
20
0
(c)
Semanas tras la siembra
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13
Tallo y hojas
Control

FIG. 28

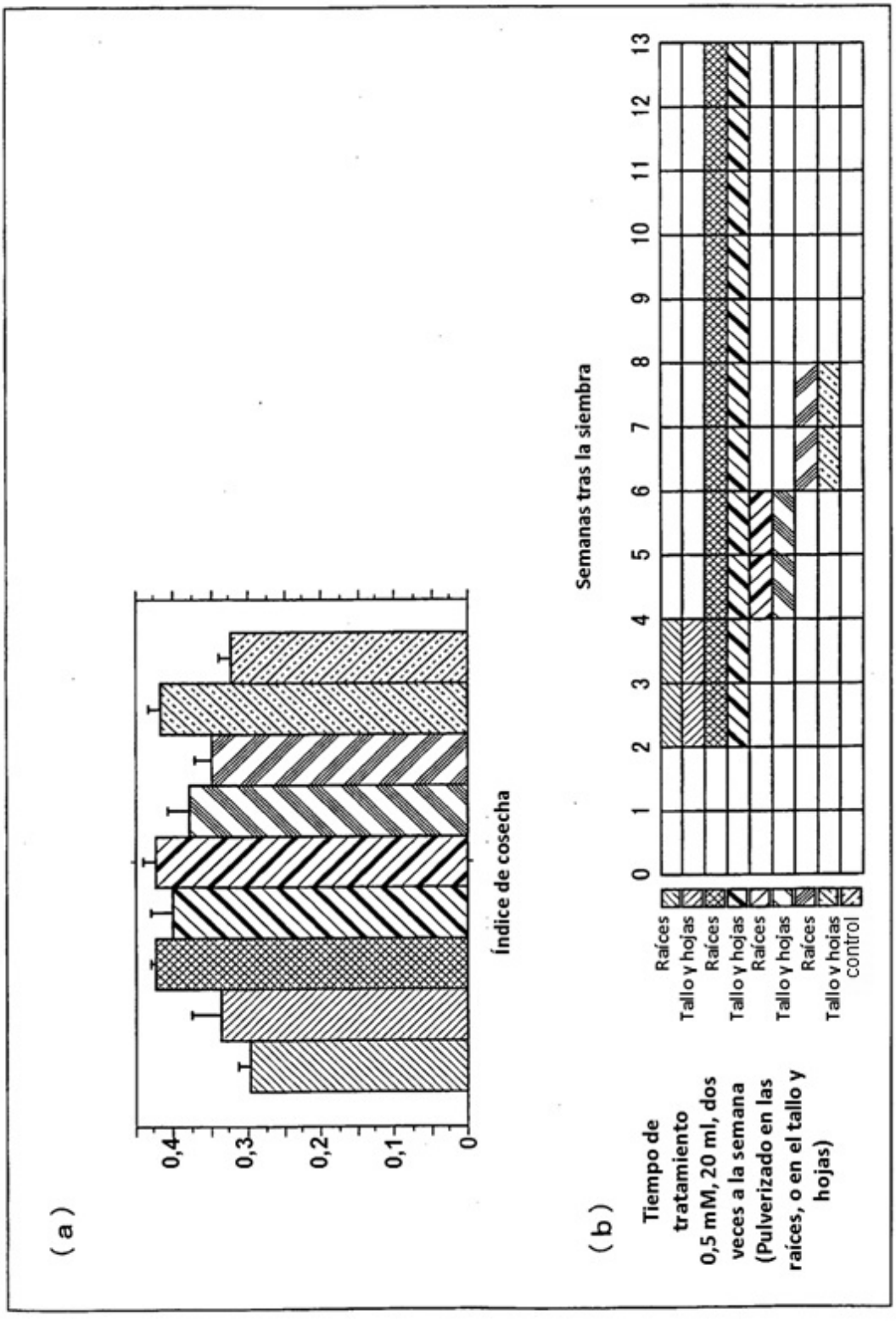

(a)
0,4
0,3
0,2
0,1
0
Índice de cosecha
(b)
Tiempo de tratamiento 0,5 mM, 20 ml, dos veces a la semana (Pulverizado en las raíces, o en el tallo y hojas)
Raíces
Tallo y hojas
Raíces
Tallo y hojas
Raíces
Tallo y hojas
Raíces
Tallo y hojas
control
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13
Semanas tras la siembra

FIG. 29

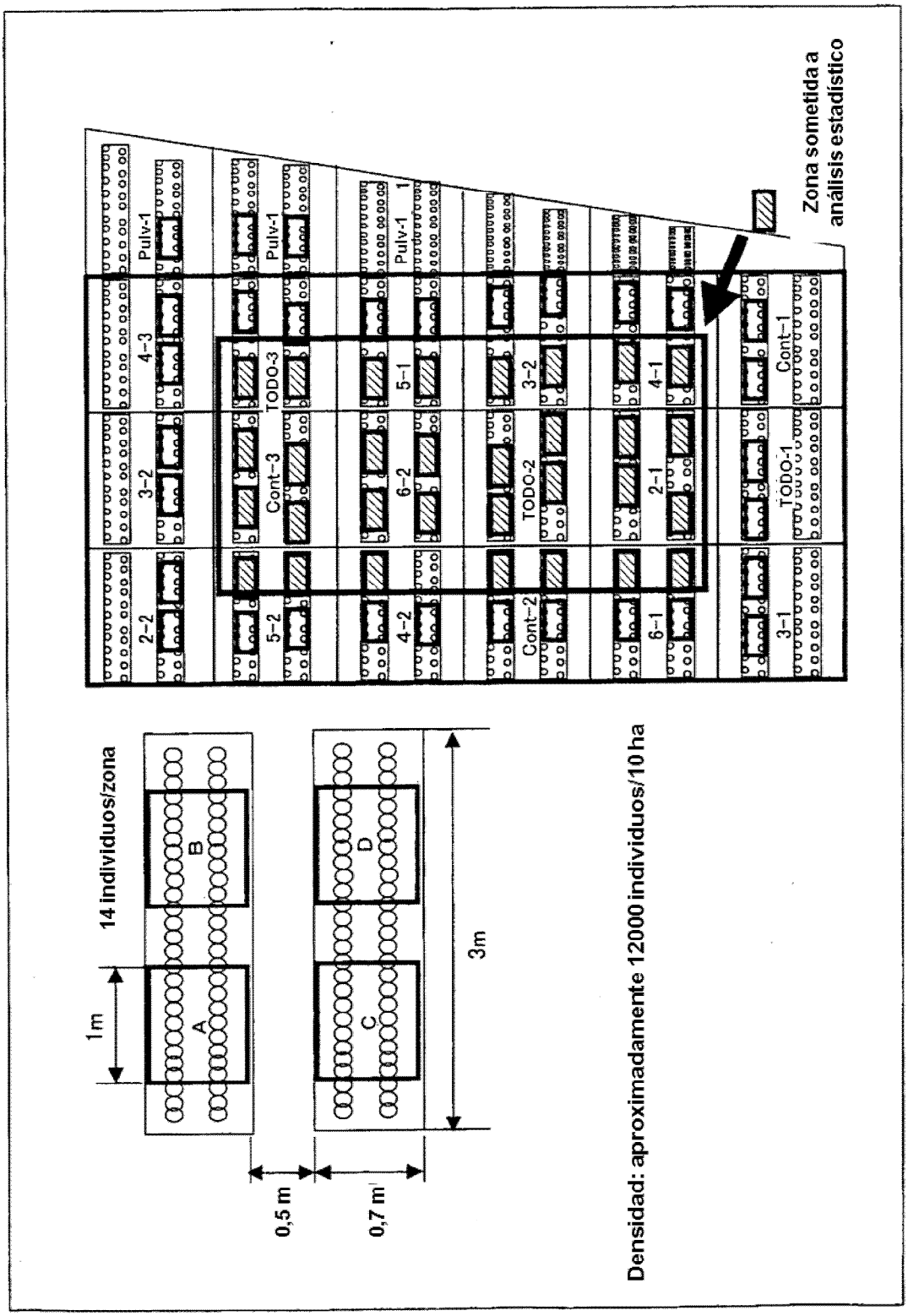

Zona sometida a análisis estadístico
Densidad: aproximadamente 12000 individuos/10 ha
14 individuos/zona
1m
3m
0,5 m
0,7 m
A
B
C
D
Pulv-1
Cont-3
TODO-3
TODO-2
Cont-2
TODO-1
Cont-1

FIG. 30

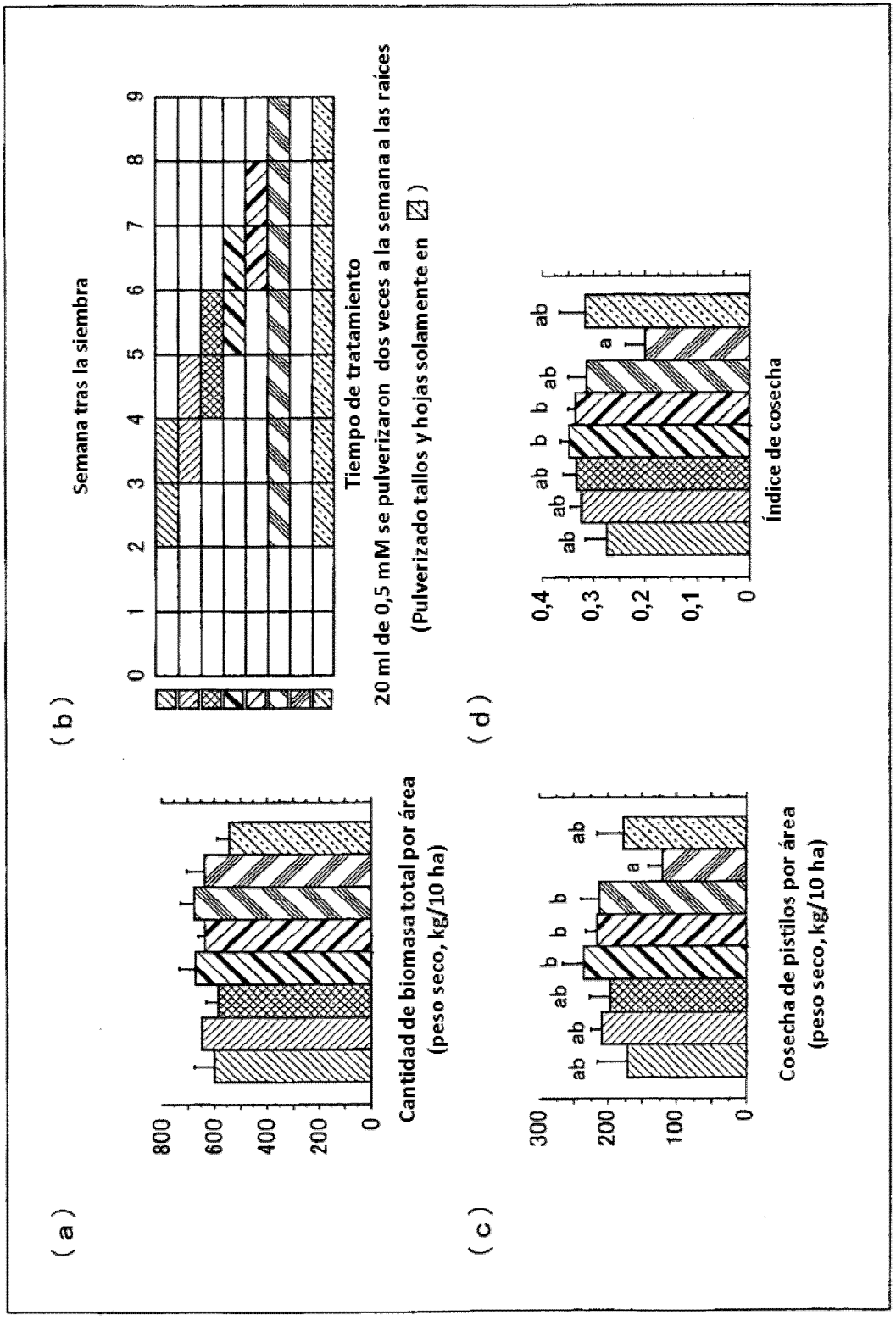

(a)
Cantidad de biomasa total por área
(peso seco, kg/10 ha)
800
600
400
200
0
(b)
Semana tras la siembra
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
Tiempo de tratamiento
20 ml de 0,5 mM se pulverizaron dos veces a la semana a las raices
(Pulverizado tallos y hojas solamente en ☒)
(c)
Cosecha de pistilos por área
(peso seco, kg/10 ha)
300
200
100
0
ab ab ab b b b a ab
(d)
Índice de cosecha
0,4
0,3
0,2
0,1
0
ab ab ab b b ab a ab

FIG. 31

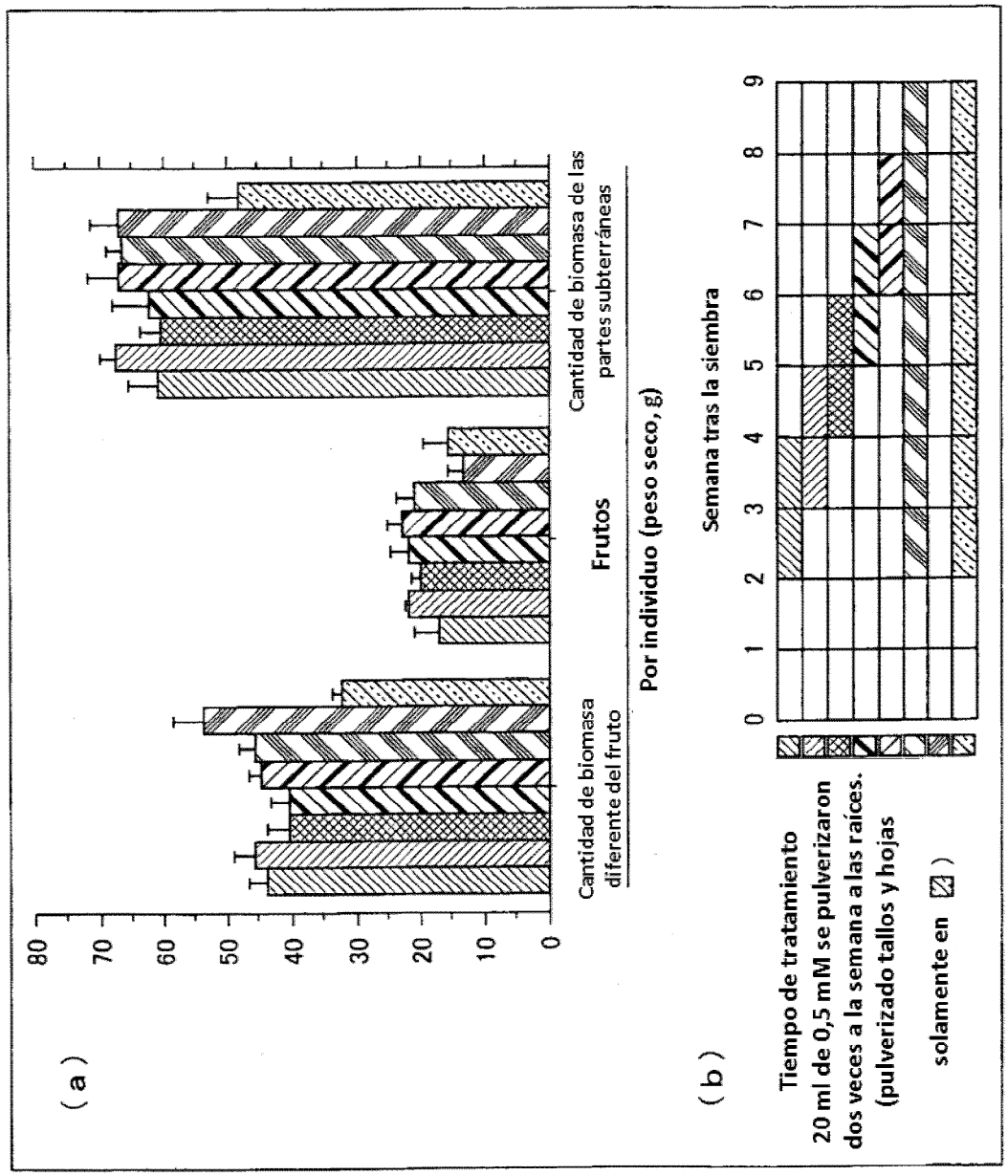
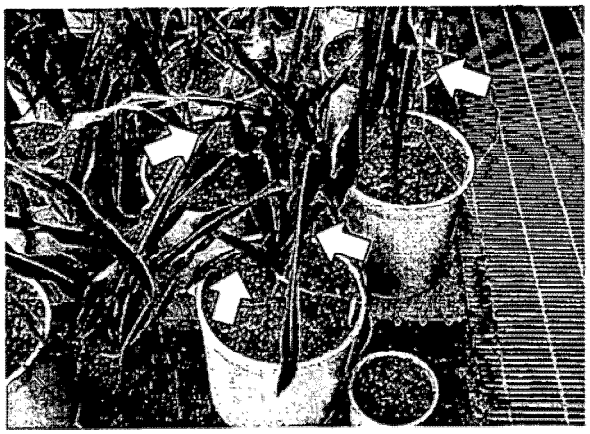

( a )
80
70
60
50
40
30
20
10
0
Cantidad de biomasa diferente del fruto
Frutos
Cantidad de biomasa de las partes subterráneas
Por individuo (peso seco, g)
( b )
Semana tras la siembra
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
Tiempo de tratamiento
20 ml de 0,5 mM se pulverizaron
dos veces a la semana a las raíces.
(pulverizado tallos y hojas
solamente en ☒ )

FIG. 32

(a)

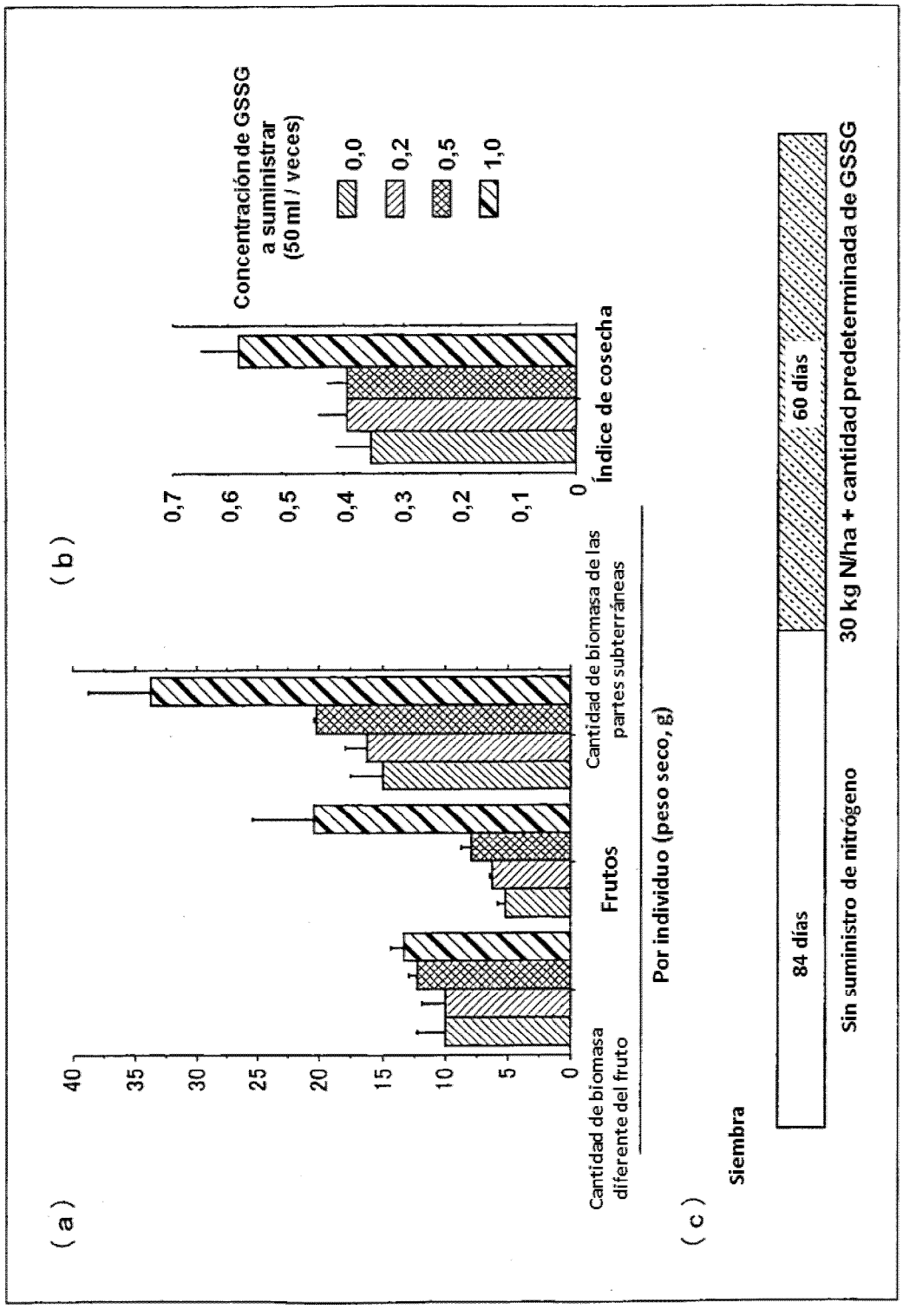
(b)



(c)

Control

FIG. 33


(a)
40
35
30
25
20
15
10
5
0
Cantidad de biomasa diferente del fruto
Frutos
Cantidad de biomasa de las partes subterráneas
Por individuo (peso seco, g)
(b)
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
Índice de cosecha
Concentración de GSSG a suministrar (50 ml / veces)
0,0
0,2
0,5
1,0
(c)
Siembra
84 días
60 días
Sin suministro de nitrógeno
30 kg N/ha + cantidad predeterminada de GSSG

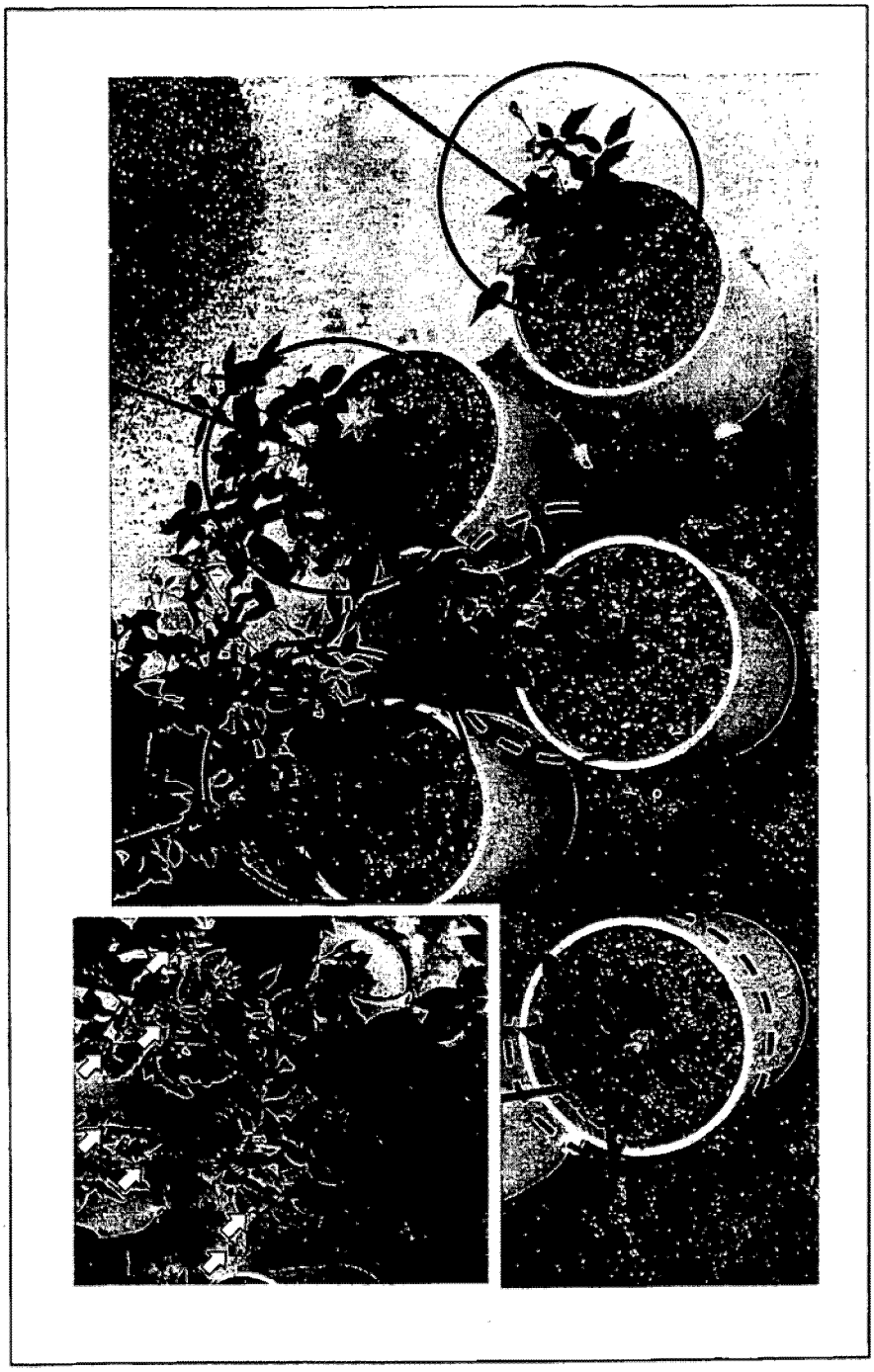


FIG. 34

FIG. 35

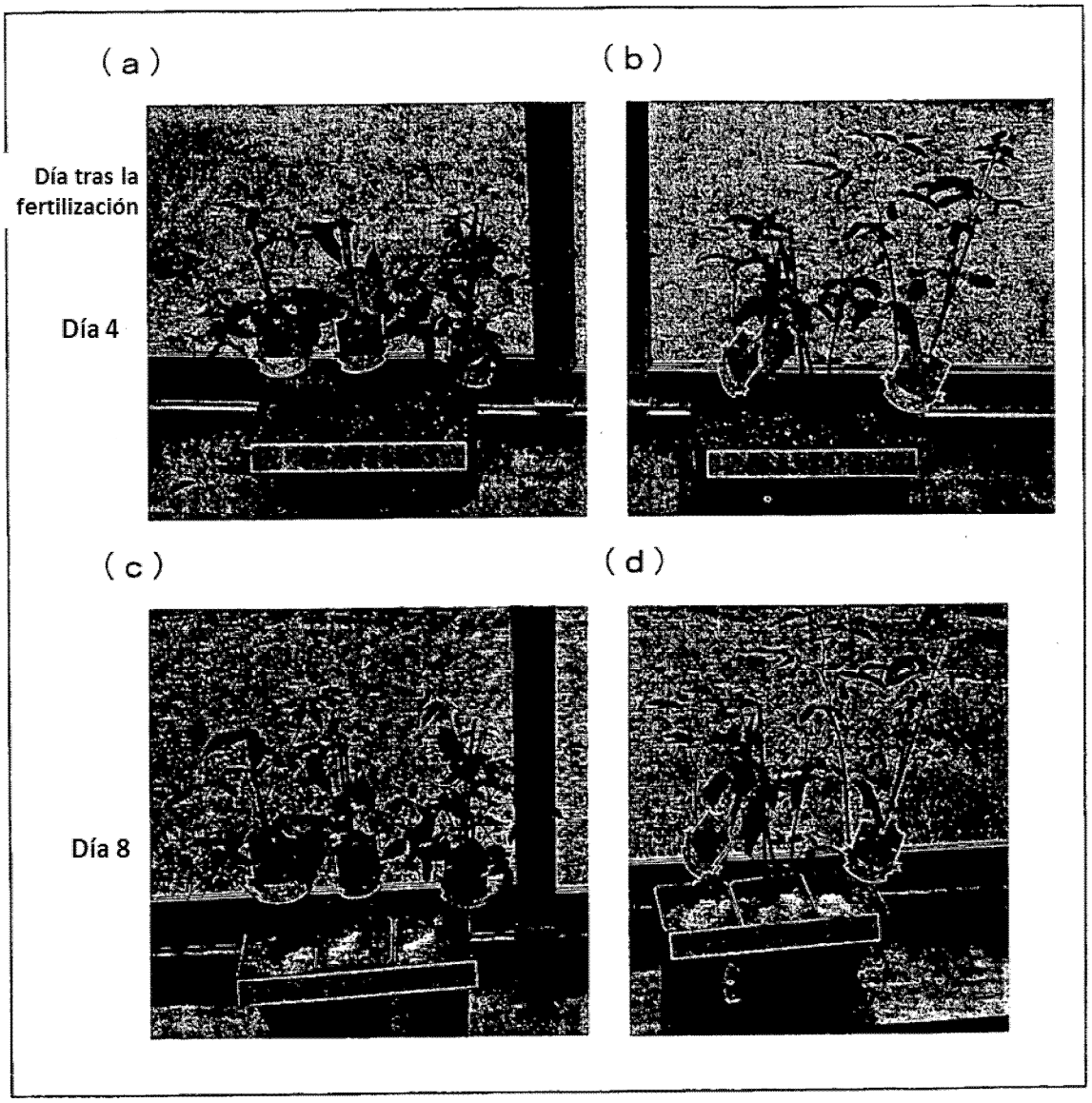


FIG. 36

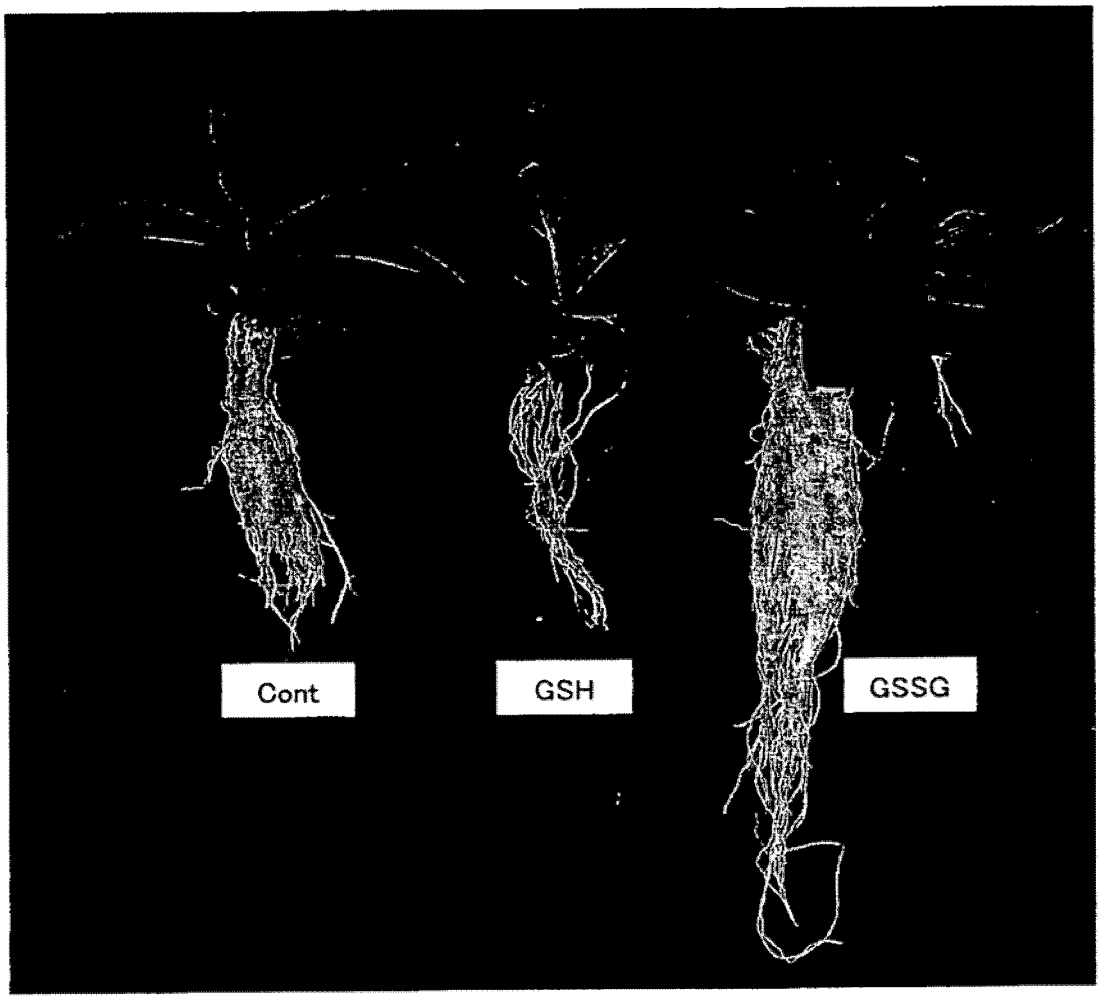


FIG. 37

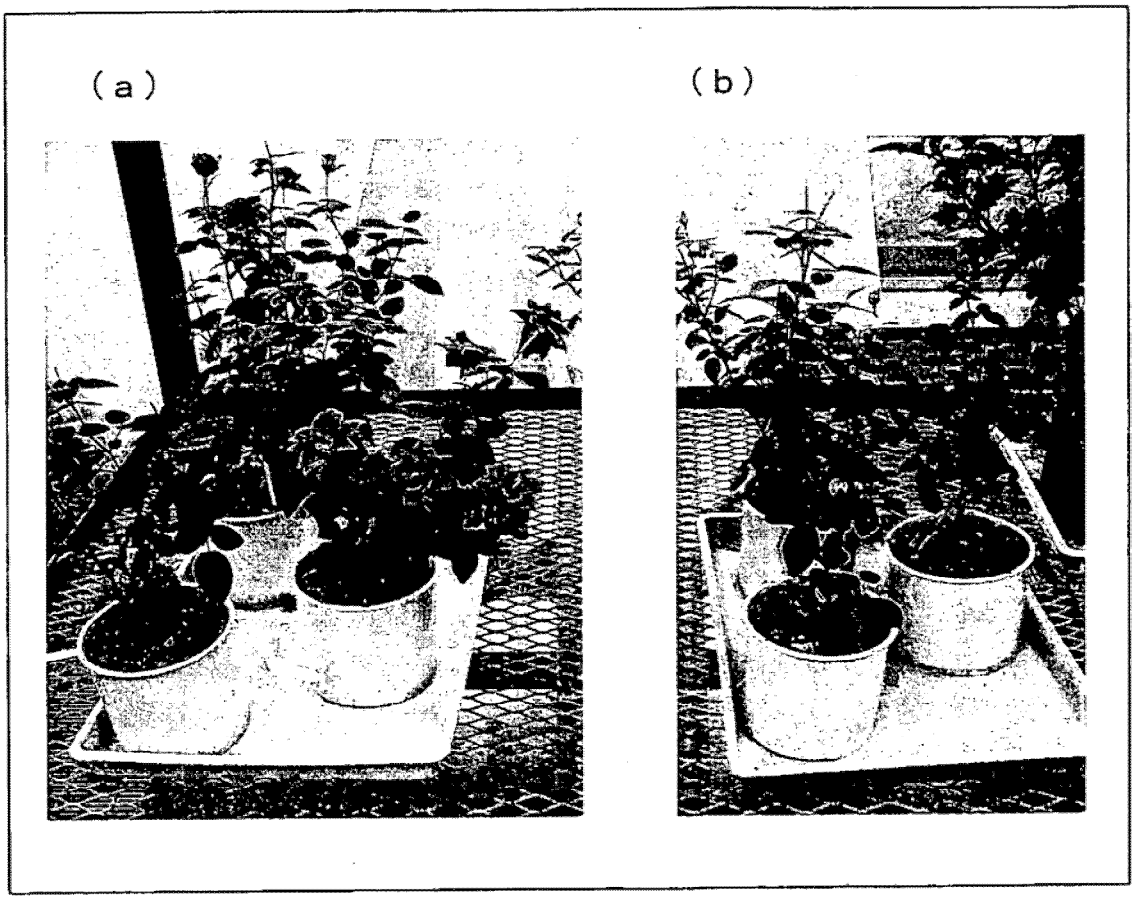


FIG. 38

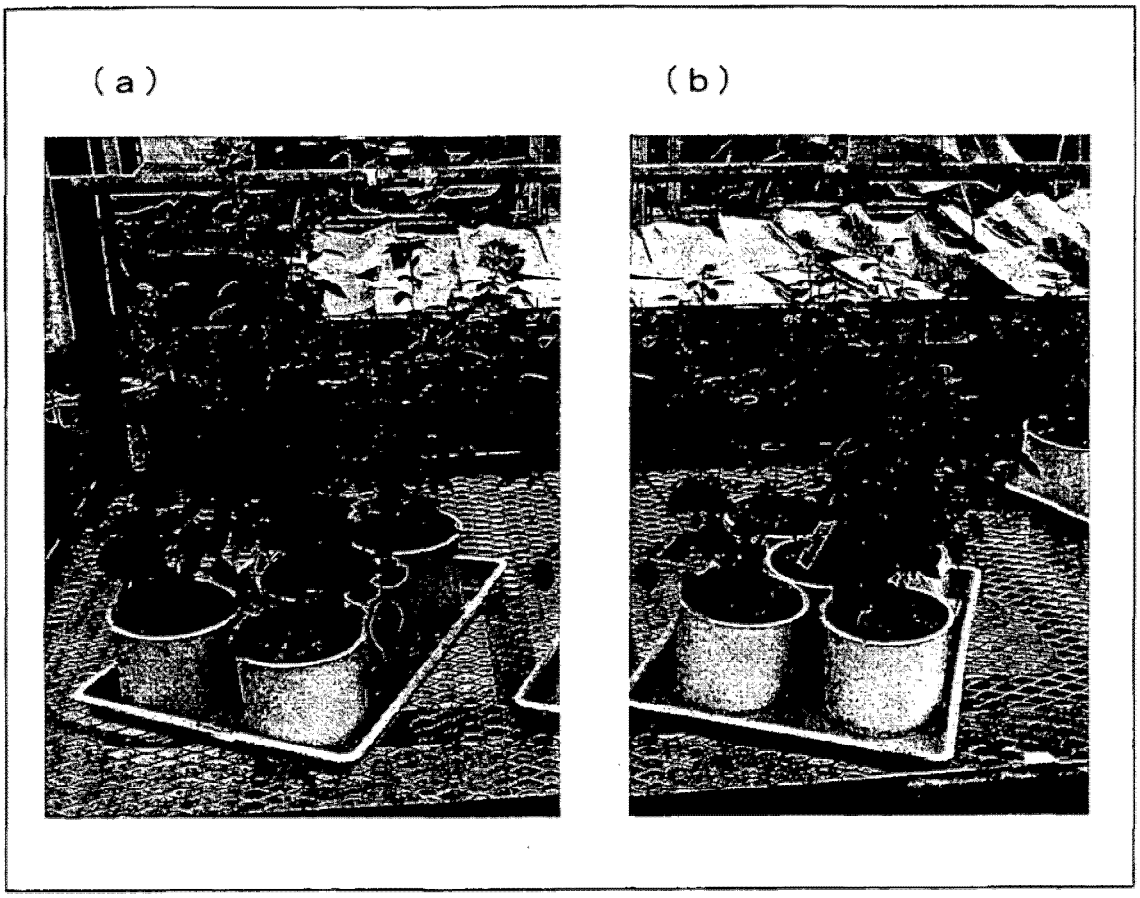


FIG. 39

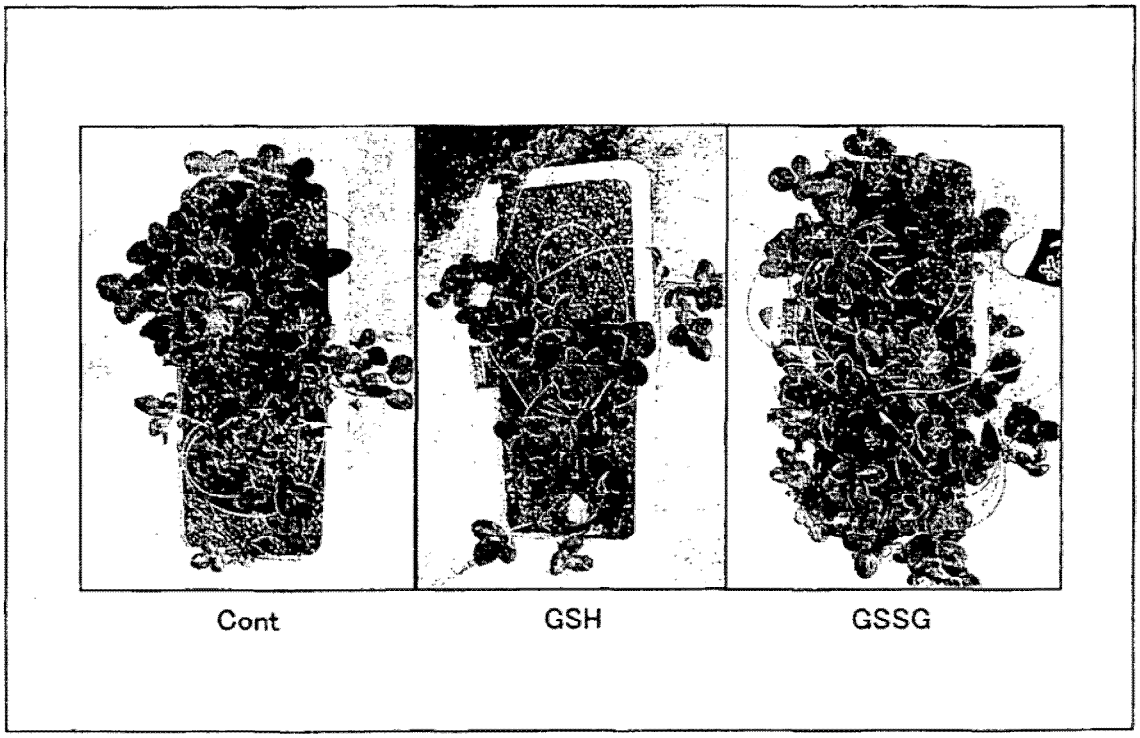


FIG. 40

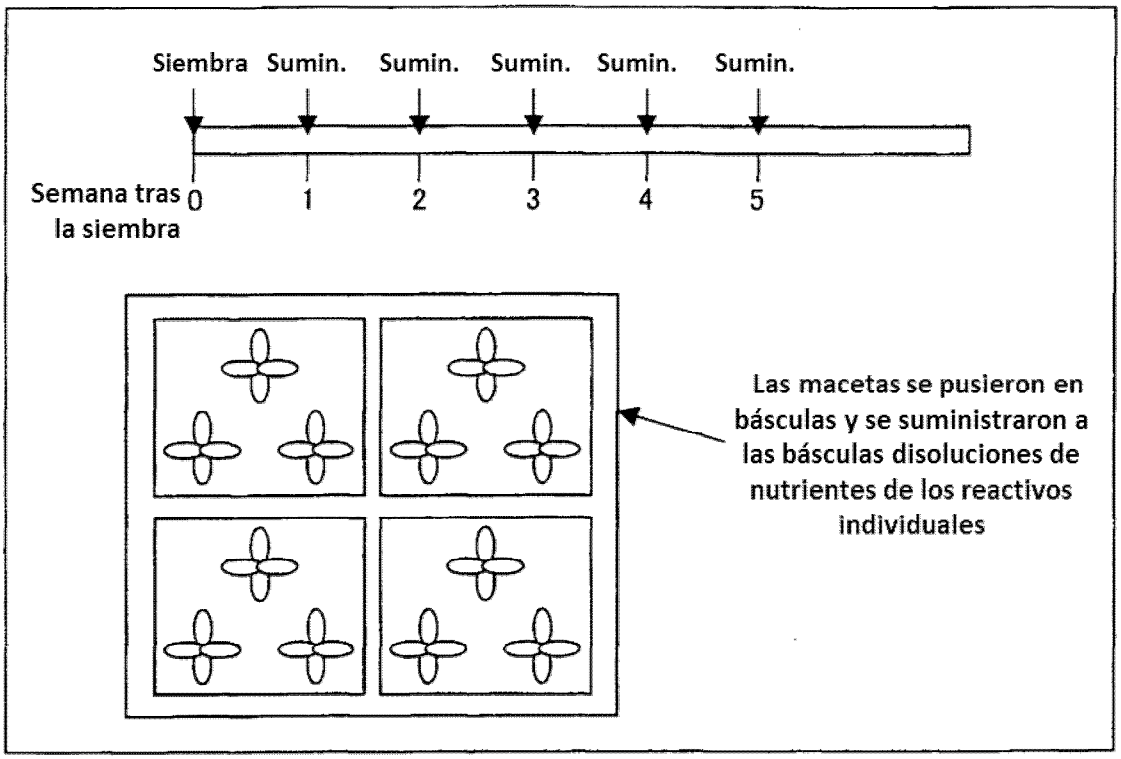

Siembra
Sumin.
Sumin.
Sumin.
Sumin.
Sumin.
Semana tras la siembra
0
1
2
3
4
5
Las macetas se pusieron en básculas y se suministraron a las básculas disoluciones de nutrientes de los reactivos individuales

FIG. 41

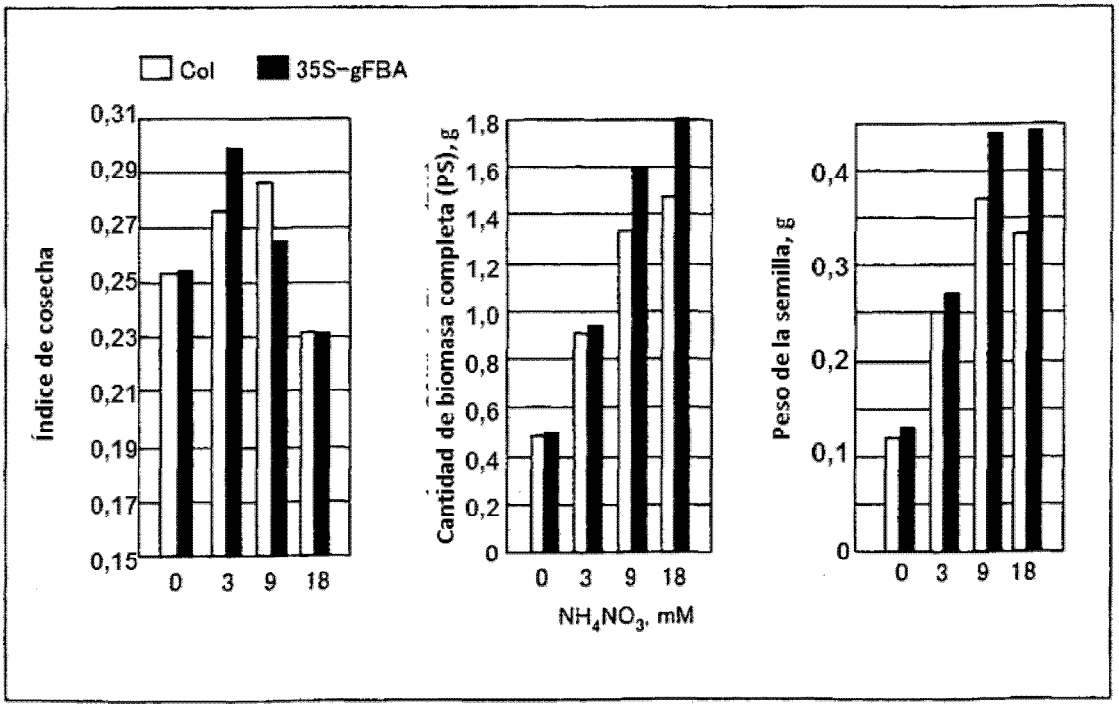

Col
35S-gFBA
Índice de cosecha
0,31
0,29
0,27
0,25
0,23
0,21
0,19
0,17
0,15
0
3
9
18
Cantidad de biomasa completa (PS), g
1,8
1,6
1,4
1,2
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0
0
3
9
18
NH4NO3, mM
Peso de la semilla, g
0,4
0,3
0,2
0,1
0
0
3
9
18

FIG. 42

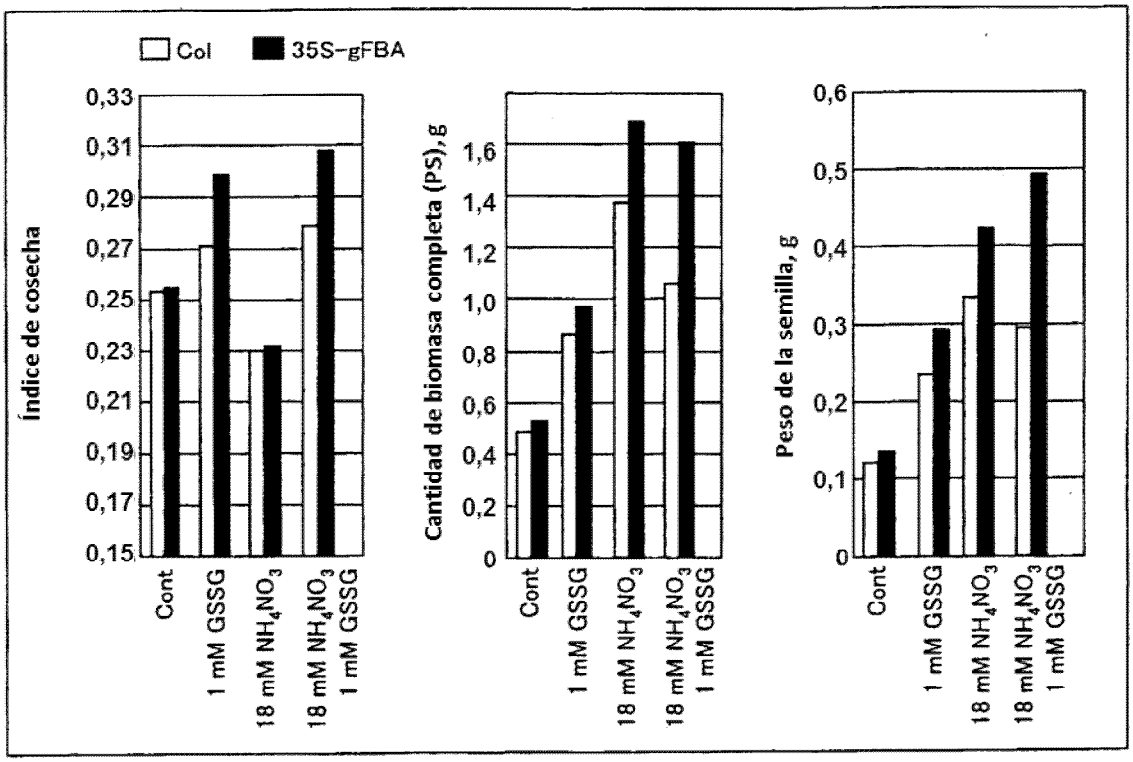

Col
35S-gFBA
Índice de cosecha
0,33
0,31
0,29
0,27
0,25
0,23
0,21
0,19
0,17
0,15
Cont
1 mM GSSG
18 mM NH4NO3
18 mM NH4NO3 1 mM GSSG
Cantidad de biomasa completa (PS), g
1,6
1,4
1,2
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0
Peso de la semilla, g
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1

FIG. 43

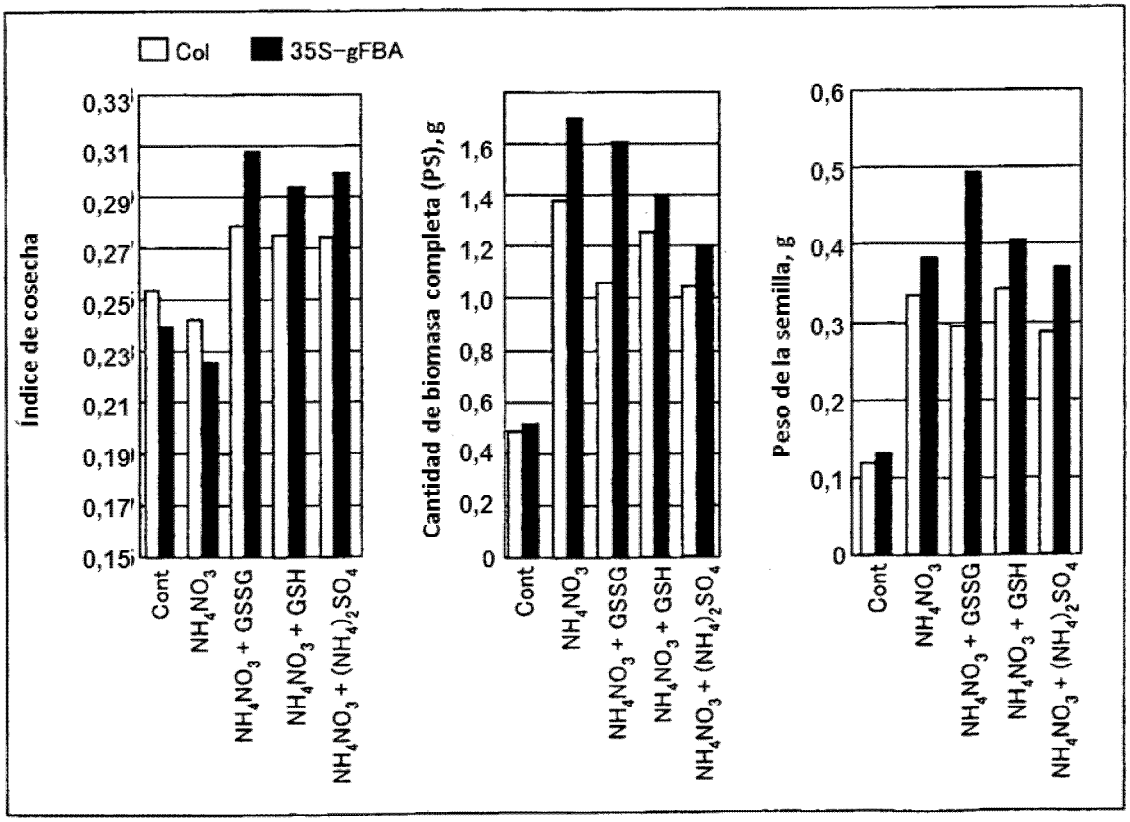

Col
35S-gFBA
Índice de cosecha
0,33
0,31
0,29
0,27
0,25
0,23
0,21
0,19
0,17
0,15
Cont
NH4NO3
NH4NO3 + GSSG
NH4NO3 + GSH
NH4NO3 + (NH4)2SO4
Cantidad de biomasa completa (PS), g
1,6
1,4
1,2
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0
Peso de la semilla, g
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1

FIG. 44

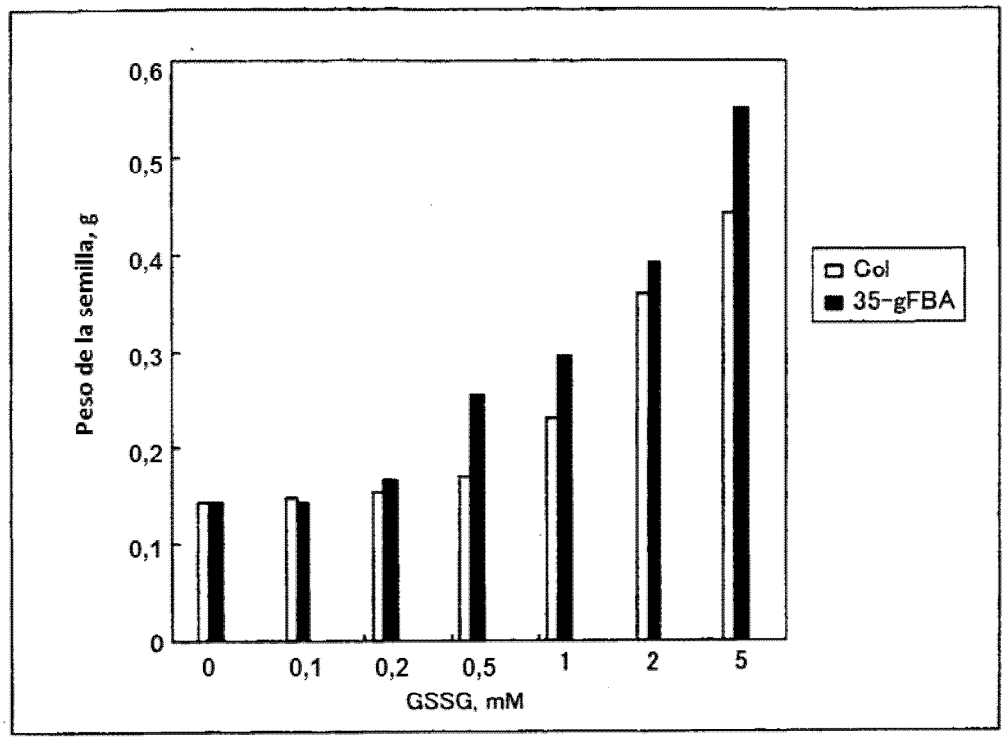

Peso de la semilla, g
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
0
0,1
0,2
0,5
1
2
5
GSSG, mM
Col
35-gFBA

FIG. 45

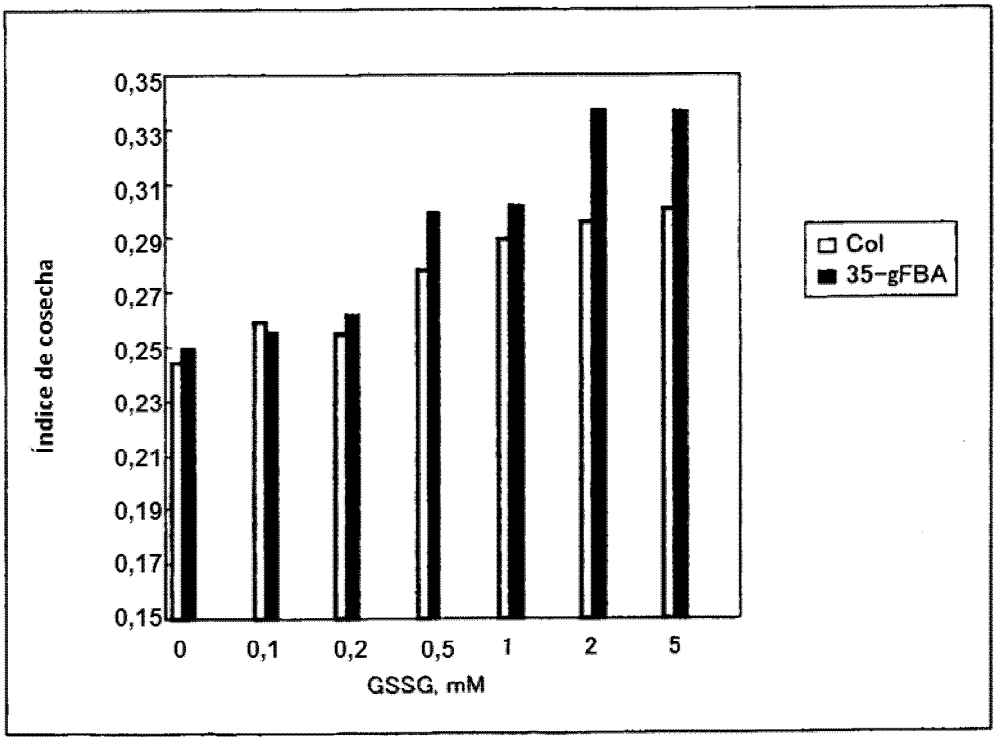

Índice de cosecha
0,35
0,33
0,31
0,29
0,27
0,25
0,23
0,21
0,19
0,17
0,15
0
0,1
0,2
0,5
1
2
5
GSSG, mM
Col
35-gFBA

FIG. 46

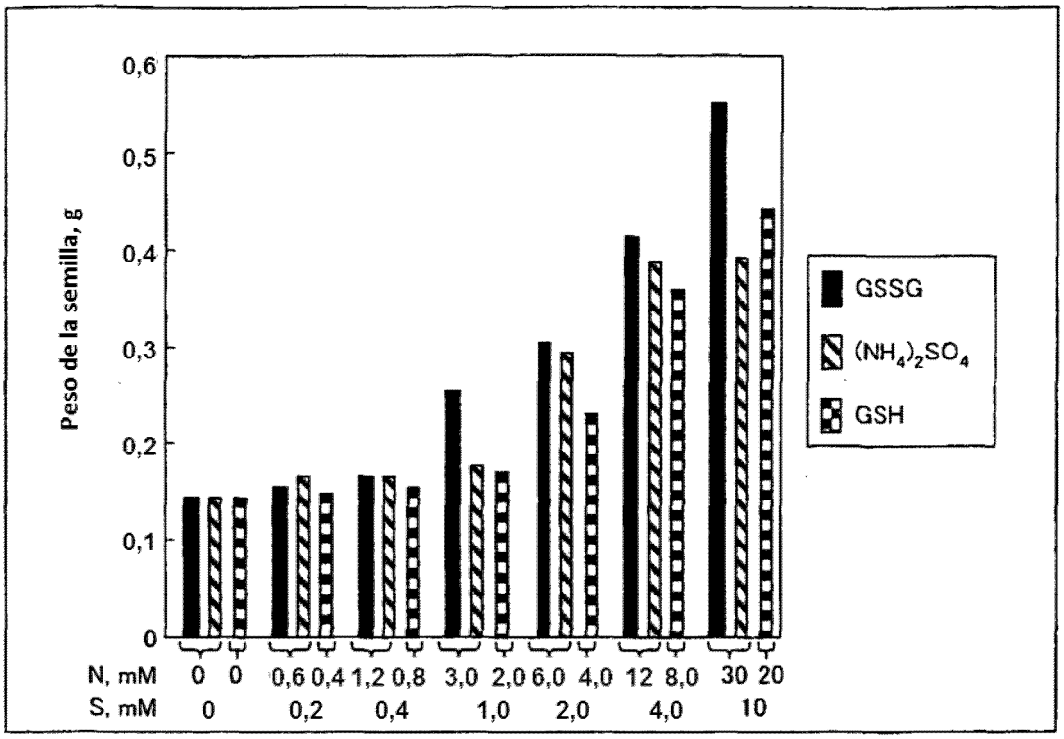
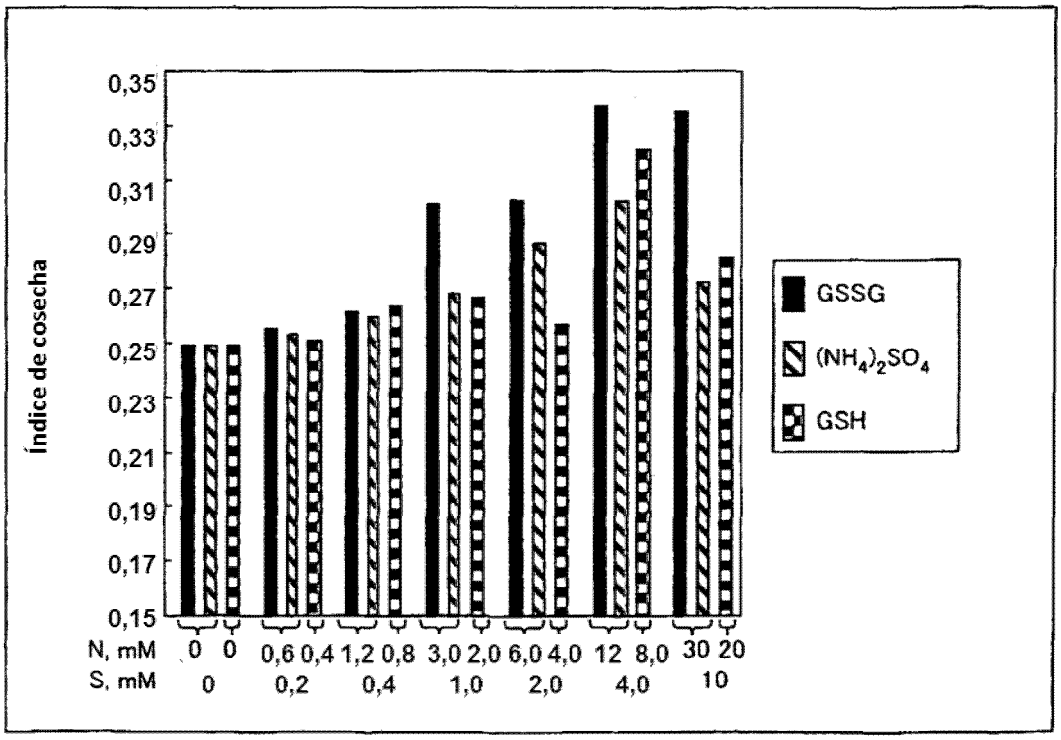

Peso de la semilla, g
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
N, mM 0 0 0,6 0,4 1,2 0,8 3,0 2,0 6,0 4,0 12 8,0 30 20
S, mM 0 0,2 0,4 1,0 2,0 4,0 10
GSSG
(NH4)2SO4
GSH

FIG. 47


Índice de cosecha
0,35
0,33
0,31
0,29
0,27
0,25
0,23
0,21
0,19
0,17
0,15
N, mM 0 0 0,6 0,4 1,2 0,8 3,0 2,0 6,0 4,0 12 8,0 30 20
S, mM 0 0,2 0,4 1,0 2,0 4,0 10
GSSG
(NH4)2SO4
GSH