

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02016/060189

発行日 平成29年7月27日 (2017. 7. 27)

(43) 国際公開日 平成28年4月21日 (2016. 4. 21)

(51) Int.Cl.			F I			テーマコード (参考)		
<b>AO1G</b>	<b>1/06</b>	<b>(2006.01)</b>	AO1G	1/06	Z	2B030		
<b>AO1H</b>	<b>1/00</b>	<b>(2006.01)</b>	AO1H	1/00	Z			
<b>AO1H</b>	<b>5/00</b>	<b>(2006.01)</b>	AO1H	5/00	Z			

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 35 頁)

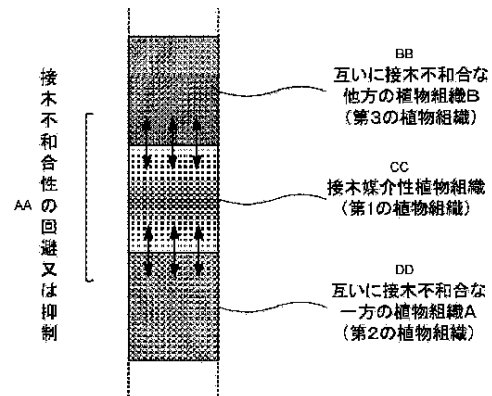
出願番号	特願2016-554113 (P2016-554113)	(71) 出願人	504139662 国立大学法人名古屋大学 愛知県名古屋市千種区不老町1番
(21) 国際出願番号	PCT/JP2015/079118	(74) 代理人	110000796 特許業務法人三枝国際特許事務所
(22) 国際出願日	平成27年10月15日 (2015. 10. 15)	(72) 発明者	野田口 理孝 愛知県名古屋市千種区不老町1番 国立大学法人名古屋大学内
(31) 優先権主張番号	特願2014-212889 (P2014-212889)	Fターム(参考)	2B030 AA02 AB03 AD04 AD07 CA28 CB02
(32) 優先日	平成26年10月17日 (2014. 10. 17)		
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 接木植物体及びその生産方法

(57) 【要約】

ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織を含む、異科植物間の接木媒体を用いることによって、接木不和合が回避又は抑制された新たな植物体を提供する。



AA Avoiding or suppressing graft incompatibility  
 BB Another plant tissue B graft-incompatible with each other (third plant tissue)  
 CC Graft-mediating plant tissue (first plant tissue)  
 DD One plant tissue A graft-incompatible with each other (second plant tissue)

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織を含む、異科植物間の接木媒体。

## 【請求項 2】

異目植物間の接木媒体である、請求項 1 に記載の接木媒体。

## 【請求項 3】

前記植物組織がナス科に属する植物の植物組織である、請求項 1 又は 2 に記載の接木媒体。

## 【請求項 4】

前記植物組織がタバコ属に属する植物の植物組織である、請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の接木媒体。

## 【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の接木媒体を介して、2 種の異科植物組織が接木されてなる植物組織。

## 【請求項 6】

請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の接木媒体を介して、2 種の異科植物組織を接木する工程を含む、植物組織を製造する方法。

## 【請求項 7】

ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織と異科植物組織とが接木されてなる植物組織。

## 【請求項 8】

請求項 5 又は 7 に記載の植物組織を含む、植物体。

## 【請求項 9】

栽培品種の植物組織を含む、請求項 8 に記載の植物体。

## 【請求項 10】

請求項 9 に記載の植物体から作物を収穫する工程を含む、作物の生産方法。

## 【請求項 11】

工程 (a) ~ (c) を含む、接木不適合植物間の接木媒体のスクリーニング方法：

(a) 被検植物組織を異科植物組織と接木する工程、

(b) 工程 (a) で得られた植物体を栽培する工程、及び

(c) 工程 (b) 後に植物体が枯死していない場合に、被検植物組織を接木不適合植物間の接木媒体として選択する工程。

## 【請求項 12】

工程 (d) ~ (f) を含む、接木不適合植物間の接木媒体のスクリーニング方法：

(d) 被検植物組織を介して、2 種の互いに異科に属する植物の植物組織を接木する工程、

(e) 工程 (d) で得られた植物体を栽培する工程、及び

(f) 工程 (e) 後に植物体が枯死していない場合に、被検植物組織を接木不適合植物間の接木媒体として選択する工程。

## 【請求項 13】

ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織を含む、異科植物への有用成分送達媒体。

## 【請求項 14】

請求項 13 に記載の送達媒体が異科植物組織に接木されてなる植物組織。

## 【請求項 15】

請求項 14 に記載の植物組織を含む、植物体。

## 【請求項 16】

請求項 15 に記載の植物体に、該植物体を含む請求項 13 に記載の送達媒体を介して、有用成分を送達することを含む、有用成分が送達された植物体の製造方法。

10

20

30

40

50

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本明細書は、接木植物体及びその生産方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

接木とは2つ以上の植物を外科的に一つに融合する技術である。接木は、一般に裸子植物、被子植物を対象に施され、園芸、農学的に広く利用されている。一般的には、接木は、根部を構成する台木と地上部をなす穂木とを備えており、それぞれの優れた能力を共に発揮させる植物体を作製する技術である。接木の目的及び手法は多岐にわたる。例えば、果樹全般の枝変りや新品種は、接木によってクローン繁殖されることが多い。また、ナス科やウリ科をはじめとする野菜類では、有用な根系システムを接木により利用することで病害耐性獲得や果実等の品質・生産性の向上が果たされている。

10

## 【0003】

接木は、あらゆる組み合わせで適用できる方法ではなく、一般的に、系統関係が近いほど接木が成立しやすいとされている。接木は、少なくとも二つの植物体が接木面を介してこれら植物体が生きている状態をもって接木成立とする。概して、同種間、同属間、同科間の順に接木が成立しにくくなり、例外的に特定の異科植物間の接木が報告されている（非特許文献1、2）ものの、一般的に異科植物間では接木は成立しないとされている。

20

## 【先行技術文献】

## 【非特許文献】

## 【0004】

【非特許文献1】Simon, S.V. Jahrb. wiss. Bot., 1930. 72, 137-160.

【非特許文献2】Nickell L.G., Science, 1948. 108. 389.

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0005】

接木は、様々な側面において、有効な技術であるが、近縁植物において接木和合する目的に応じた植物が見出されなければこうした有用性を享受できないという制約があった。

30

## 【0006】

また、組合せによっては接木できない現象を接木不和合という。特定の組合せに関し、接木の和合は明確に判断できる。しかしながら、接木不和合は、その定義も不明確であって、長年の経験に依らざるをえず、短期的に判定する方法もない。また、接木不和合は、そのメカニズム自体科学的にほとんど解明されていない。

## 【0007】

本明細書は、接木不和合が回避又は抑制された新たな植物体を利用した植物体及びその生産方法等を提供する。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0008】

本発明者は、ある種の植物の植物組織が、異科に属する植物体との間で接木不和合を回避又は抑制して異科接木を成立させうることを見出した。さらに、この種の植物の植物組織が、広く異科の植物体との間でも接木不和合を回避又は抑制して異科接木を成立させうることを見出した。さらにまた、この種の植物組織は、接する他の植物組織に対して各種成分を輸送できることも見出した。これらの知見に基づき、本発明は、以下の手段を包含する。

40

## 【0009】

項1. ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織を含む、異科植物間の接木媒体。

項2. 異目植物間の接木媒体である、項1に記載の接木媒体。

項3. 前記植物組織がナス科に属する植物の植物組織である、項1又は2に記載の接

50

木媒体。

項 4 . 前記植物組織がタバコ属に属する植物の植物組織である、項 1 ~ 3 のいずれかに記載の接木媒体。

項 5 . 項 1 ~ 4 のいずれかに記載の接木媒体を介して、2種の異科植物組織が接木されてなる植物組織。

項 6 . 項 1 ~ 4 のいずれかに記載の接木媒体を介して、2種の異科植物組織を接木する工程を含む、植物組織を製造する方法。

項 7 . ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織と異科植物組織とが接木されてなる植物組織。

項 8 . 項 5 又は 7 に記載の植物組織を含む、植物体。

10

項 9 . 栽培品種の植物組織を含む、項 8 に記載の植物体。

項 10 . 項 9 に記載の植物体から作物を収穫する工程を含む、作物の生産方法。

項 11 . 工程 ( a ) ~ ( c ) を含む、接木不適合植物間の接木媒体のスクリーニング方法：

( a ) 被検植物組織を異科植物組織と接木する工程、

( b ) 工程 ( a ) で得られた植物体を栽培する工程、及び

( c ) 工程 ( b ) 後に植物体が枯死していない場合に、被検植物組織を接木不適合植物間の接木媒体として選択する工程。

項 12 . 工程 ( d ) ~ ( f ) を含む、接木不適合植物間の接木媒体のスクリーニング方法：

20

( d ) 被検植物組織を介して、2種の互いに異科に属する植物の植物組織を接木する工程、

( e ) 工程 ( d ) で得られた植物体を栽培する工程、及び

( f ) 工程 ( e ) 後に植物体が枯死していない場合に、被検植物組織を接木不適合植物間の接木媒体として選択する工程。

項 13 . ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織を含む、異科植物への有用成分送達媒体。

項 14 . 項 13 に記載の送達媒体が異科植物組織に接木されてなる植物組織。

項 15 . 項 14 に記載の植物組織を含む、植物体。

項 16 . 項 15 に記載の植物体に、該植物体を含む項 13 に記載の送達媒体を介して、有用成分を送達することを含む、有用成分が送達された植物体の製造方法。

30

【発明の効果】

【0010】

本開示によれば、異なる植物組織間などを媒介して接木を成立させうる接木媒介性を有する植物組織を用いることで、異科に属する植物など接木不適合性を回避又は抑制して、また、高い自由度で台木及び穂木などの接木要素を選択しうる接木植物体及びその生産方法等を提供できる。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図 1 A】本開示の接木媒介性植物組織（第 1 の植物組織）によって接木不適合性を回避又は抑制して接木を成立させる形態の一例を示す図である。

40

【図 1 B】本開示の接木媒介性植物組織（第 1 の植物組織）によって接木不適合性を回避又は抑制して接木を成立させる形態の他の一例を示す図である。

【図 2】本開示の接木植物体の概念の一例を示す図である。

【図 3】タバコ属に属する植物組織と接木が成立した植物を被子植物の系統樹上に示す図である。

【図 4】アポプラスチック輸送の確認結果を示す図である。

【図 5】シンプラスチック輸送の確認結果を示す図である。

【図 6】シンプラスチック輸送の他の確認結果を示す図である。

【図 7】シンプラスチック輸送の他の確認結果を示す図である。

50

【図 8】道管要素の組織学的観察結果を示す図である。

【図 9】篩管要素の組織学的観察結果を示す図である。

【図 10】原形質連絡のde novo形成の細胞形態学的観察結果を示す図である。

【図 11】タバコ属植物とシダ植物との組織の癒着を示す図である。

【図 12】タバコ属植物とシダ植物との間のシンプラスティック輸送の確認結果を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0012】

本明細書の開示は、接木媒体、植物体、その生産方法、接木媒体のスクリーニング方法等に関する。本発明者は、タバコ属に属する植物を穂木及び台木としてそれぞれ利用して、広範な植物との接木和合性を評価した。さらに、タバコ属の同属近縁種、同科近縁種植物を穂木及び台木としてそれぞれ利用して、同様にして、接木和合性を評価した。さらに、これらの結果に基づいて、タバコ属植物組織を中間台木として、この植物を台木又は穂木として接木可能であった植物を接木したところ、互いに接木不和合性の異科植物であっても接木を成立させることができた。すなわち、タバコ属植物組織が多様な植物の植物組織と接木不和合を回避又は抑制して接木できることを見出した。そして、この結果、こうした植物組織を介在させることで、互いに接木不和合性である植物であっても、その接木不和合性を回避又は抑制して接木できるという媒介性を見出した。また、他の植物組織についても、こうした媒介性を見出した。

10

【0013】

本開示の概要を図 1 に例示する。図 1 A に示すように、こうした接木不和合を回避又は抑制できる接木媒介性の植物組織によれば、当該植物組織を介在させることで、異科又は本来的に接木不和合性であるが接木を意図する植物組織 A、B の接木が可能となる。さらに、図 1 B に示すように、本来的に接木不和合性であるが接木を意図する植物組織 A 及び植物組織 B' についても、接木媒介性植物組織と植物組織 B を介在させることにより、これらを容易に接木が可能となる。例えば、接木媒介性植物組織と植物組織 B' とが接木しにくい場合であっても、接木媒介性植物組織の接木媒介性に基づいて当該植物組織と接木可能であった植物組織 B' と接木可能な植物組織 B を容易に準備できる。このため、結果として植物組織 A と植物組織 B' とを接木することができるようになる。このように、本開示の接木媒介性植物組織によれば、直接にあるいは段階的に接木することで広い範囲で多様な植物の植物組織を接木できるようになる。

20

30

【0014】

図 1 B には、同様にして植物組織 A' と植物組織 B についても、また、植物組織 A' と植物組織 B' とについても、同様の手法で接木が可能であることを例示している。

【0015】

接木は、特定の植物組織の組み合わせであっても、環境、接木部位やその処置により、成立の可否が分かれる。そのため、接木は、接木を意図する植物組織に適した環境、接木部位やその処置を選択することで可能となり、それにより、種々の植物組織間で実現されるものである。こうした背景、本開示の接木媒介性植物組織により確認できた広範な植物（維管束植物と分類されるシダ植物、裸子植物、被子植物）に対する媒介性及び既述のごとく種々の態様での接木成立態様を考慮すると、維管束植物と分類されるシダ植物、裸子植物、被子植物の範囲で本開示の接木媒介性植物組織によって接木できない植物の存在を肯定することが困難といえる。

40

【0016】

さらに、こうした媒介性を有する植物組織は、植物個体に接木することで、この植物組織を介して植物体に有用な成分を送達することができることができた。すなわち、接木不和合性植物を媒介できる植物組織は、上記した媒介性に基づいて植物体に有用な成分等の輸送媒体又は導入媒体としても機能できることがわかった。

【0017】

以下、本開示の各種の実施形態について詳細に説明する。

50

## 【 0 0 1 8 】

## 1. 定義

本明細書において、植物とは、主として維管束植物をいうものとし、好ましくは維管束植物をいう。

## 【 0 0 1 9 】

本明細書において、植物組織というときには、植物体の一部をいうものとし、植物体というときには、植物個体全体（種子をのぞく）をいうものとする。

## 【 0 0 2 0 】

本明細書において、「含む(comprise)」とは、「本質的にからなる(essentially consist of)」という意味と、「からなる(consist of)」という意味をも包含する。

10

## 【 0 0 2 1 】

## 2. 接木媒体

本発明は、ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織を含む、異科植物間の接木媒体（本明細書において、「本発明の接木媒体」と示すこともある。）に関する。以下、これについて説明する。

## 【 0 0 2 2 】

本発明の接木媒体によれば、通常であれば接木不可能な異科植物間を媒介することによって、該異科植物間の接木を成立させることができる。これにより、意図した後述の本発明の植物組織 1 及び本発明の植物体 1 を、効率的に得ることができる。また、本発明の接木媒体は、本発明の植物組織 1 を 1 つ含む植物体において、さらに追加の植物組織を付与する場合の媒体としても機能する。したがって、本発明の接木媒体は、各種態様の本発明の植物体 1 を容易に得ることができる。

20

## 【 0 0 2 3 】

ナス科植物としては、特に限定されず、例えば、タバコ属、アントケルキス属 (Anthocercis)、アントツロケ属 (Anthotroche)、クレニディウム属 (Crenidium)、キファンテラ属 (Cyphanthera)、ドウボイシア属 (Duboisia)、グラムモソレン属 (Grammosolen)、シモナンツス属 (Symonanthus)、ペチュニア属、ベントミア属 (Benthamiella)、ボウケティア属 (Bouchetia)、パンマツリ属 (Brunfelsia)、コムベラ属 (Combera)、ファビアナ属 (Fabiana)、フンジケリア属 (Hunzikeria)、レプトグロッシス属 (Leptoglossis)、アマモドキ属 (Nierembergia)、パンタカンタ属 (Pantacantha)、カリブラコア属 (Calibrachoa)、プロウマニア属 (Plowmania)、トウガラシ属、リキアンテス属 (Lycianthes)、ナス属、ヤルトマタ属 (Jaltomata)、チョウセンアサガオ属、キダチチョウセンアサガオ属、ホオズキ属、イガホオズキ属、ハダカホオズキ属、ハシリドコロ属、ヒヨス属、ベラドンナ属、マンドラゴラ属、クコ属、カリブラコア属等に属する植物が挙げられる。これらの中でも、接木媒体として利用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、タバコ属、アントケルキス属 (Anthocercis)、アントツロケ属 (Anthotroche)、クレニディウム属 (Crenidium)、キファンテラ属 (Cyphanthera)、ドウボイシア属 (Duboisia)、グラムモソレン属 (Grammosolen)、シモナンツス属 (Symonanthus)、ペチュニア属、ベントミア属 (Benthamiella)、ボウケティア属 (Bouchetia)、パンマツリ属 (Brunfelsia)、コムベラ属 (Combera)、ファビアナ属 (Fabiana)、フンジケリア属 (Hunzikeria)、レプトグロッシス属 (Leptoglossis)、アマモドキ属 (Nierembergia)、パンタカンタ属 (Pantacantha)、カリブラコア属 (Calibrachoa)、プロウマニア属 (Plowmania)、トウガラシ属、リキアンテス属 (Lycianthes)、ナス属、ヤルトマタ属 (Jaltomata) 等が好ましく、タバコ属、ペチュニア属、トウガラシ属、ナス属等がより好ましく、タバコ属がさらに好ましい。

30

40

## 【 0 0 2 4 】

タバコ属に属する植物としては、特に限定されず、例えば、Nicotiana benthamiana、Nicotiana tabacum、Nicotiana umbratica、Nicotiana rustica、Nicotiana acuminata、Nicotiana alata、Nicotiana attenuata、Nicotiana clevelandii、Nicotiana excelsior

50

、*Nicotiana forgetiana*、*Nicotiana glauca*、*Nicotiana glutinosa*、*Nicotiana langsdorffii*、*Nicotiana longiflora*、*Nicotiana obtusifolia*、*Nicotiana paniculata*、*Nicotiana plumbagifolia*、*Nicotiana quadrivalvis*、*Nicotiana repanda*、*Nicotiana suaveolens*、*Nicotiana sylvestris*、*Nicotiana tomentosa*等が挙げられる。これらの中でも、接木媒体として利用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、*Nicotiana benthamiana*、*Nicotiana tabacum*、*Nicotiana umbratica*、*Nicotiana rustica*等が好ましく、*Nicotiana benthamiana*がより好ましい。

【0025】

ペチュニア属（ツクパネアサガオ属）に属する植物としては、特に限定されず、例えば、*Petunia × atkinsiana*（ペチュニア）、*Petunia alpicola*、*Petunia axillaris*、*Petunia bajeensis*、*Petunia bonjardinensis*、*Petunia exserta*、*Petunia guarapuavensis*、*Petunia inflata*、*Petunia integrifolia*、*Petunia interior*、*Petunia ledifolia*、*Petunia littoralis*、*Petunia mantiqueirensis*、*Petunia occidentalis*、*Petunia patagonica*、*Petunia reitzii*、*Petunia riograndensis*、*Petunia saxicola*、*Petunia scheideana*、*Petunia villadiana*等が挙げられる。これらの中でも、接木媒体として利用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、*Petunia × atkinsiana*が好ましい。

【0026】

トウガラシ属に属する植物としては、特に限定されず、例えば、*Capsicum annuum* L.（例えば、'Grossum'（ピーマン）、'Abbreviatum'、'Acuminoum'、'Cerasiforme'、'Conoides'、'Fasciculatum'、'Longum'、'Nigrym'、'Parvo-acuminatum'等）、*Capsicum baccatum*、*Capsicum cardenasii*、*Capsicum chinense* Jacq. Hesper & Smith、*Capsicum frutescens* L.、*Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.等が挙げられる。これらの中でも、接木媒体として利用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、*Capsicum annuum* L.が好ましく、*Capsicum annuum* L. 'Grossum'（ピーマン）がより好ましい。

【0027】

ナス属に属する植物としては、特に限定されず、例えば、*Solanum lycopersicum* L（トマト）、*Solanum melongena* L（ナス）、*Solanum tuberosum* L、*Solanum acaule* Bitt、*Solanum aethiopicum* L、*Solanum betaceum* Cav、*Solanum jasminoides* Paxt、*Solanum mammosum* L、*Solanum muricatum* Aiton、*Solanum nigrum* L、*Solanum pseudocapsicum* L、*Solanum ptychanthum* Dunal等が挙げられる。これらの中でも、接木媒体として利用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、*Solanum lycopersicum* L（トマト）、*Solanum melongena* L（ナス）等が好ましい。

【0028】

アブラナ科植物としては、特に限定されず、例えば、シロイヌナズナ属、アブラナ属、ナズナ属、タネツケバナ属、タイリンミヤコナズナ属、アマナズナ属、セイヨウワサビ属、ヤマガラシ属、オランダガラシ属、イヌガラシ属、マメグンバイナズナ属、カラクサナズナ属、クジラグサ属、ミヤマナズナ属、イワナズナ属、ニワナズナ属、キハナハタザオ属、エダウチナズナ属、キバナズシロ属、ダイコン属、ダイコンモドキ属、シロガラシ属、ミヤガラシ属、オオアラセイトウ属、タイセイ属、ワサビ属、グンバイナズナ属、ヤマハタザオ属、ムラサキナズナ属、イヌナズナ属、ハクセンナズナ属、タカネグンバイ属、マガリバナ属、トモシリソウ属、ヒメアラセイトウ属、アラセイトウ属、ハナダイコン属、ツノミナズナ属、ゴウダソウ属等に属する植物が挙げられる。これらの中でも、接木媒体として利用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、シロイヌナズナ属、アマナズナ属、アブラナ属、エダウチナズナ属、キバナズシロ属、ダイコン属、ダイコンモドキ属、シロガラシ属、ミヤガラシ属、オオアラセイトウ属、ナズナ属、タネツケバナ属、セイヨウワサビ属、ヤマガラシ属、オランダガラシ属、イヌガラシ属等が好ましく、シロイヌナズナ属、アブラナ属、ナズナ属、タネツケバナ属等がより好ましく、シロイヌナズナ属、アブラナ属等がさらに好ましく

10

20

30

40

50

、シロイヌナズナ属がよりさらに好ましい。

【 0 0 2 9 】

シロイヌナズナ属に属する植物としては、特に限定されず、例えば、*Arabidopsis thaliana* (シロイヌナズナ)、*Arabidopsis arenicola*、*Arabidopsis arenosa*、*Arabidopsis cebennensis*、*Arabidopsis croatica*、*Arabidopsis halleri*、*Arabidopsis lyrata*、*Arabidopsis neglecta*、*Arabidopsis pedemontana*、*Arabidopsis suecica*等が挙げられる。これらの中でも、接木媒体として利用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、*Arabidopsis thaliana* (シロイヌナズナ) が好ましい。

【 0 0 3 0 】

アブラナ属に属する植物としては、特に限定されず、例えば、*Brassica Oleracea* (例えば、ブロッコリー、カリフラワー、キャベツ等)、*Brassica Napus* (例えば、セイヨウアブラナ等)、*Brassica Barrelieri*、*Brassica carinata*、*Brassica elongata*、*Brassica fruticulosa*、*Brassica juncea*、*Brassica narinosa*、*Brassica nigra*、*Brassica niposinica*、*Brassica rapa*、*Brassica rupestris*、*Brassica Tournefortii*等が挙げられる。これらの中でも、接木媒体として利用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、*Brassica Oleracea*、*Brassica Napus*等が好ましく、*Brassica Oleracea*がより好ましく、ブロッコリーがさらに好ましい。

【 0 0 3 1 】

ナズナ属に属する植物としては、特に限定されず、例えば、*Capsella rubella* (ルベラナズナ)、*Capsella abscissa*、*Capsella andreana*、*Capsella australis*、*Capsella austriaca*、*Capsella bursa-pastoris*、*Capsella divaricata*、*Capsella draboides*、*Capsella gracilis*、*Capsella grandiflora*、*Capsella humistrata*、*Capsella hybrida*、*Capsella hyrcana*、*Capsella integrifolia*、*Capsella lycia*、*Capsella mexicana*、*Capsella orientalis*、*Capsella pillosula*、*Capsella pubens*、*Capsella puberula*、*Capsella schaffneri*、*Capsella stellata*、*Capsella tasmanica*、*Capsella thomsoni*、*Capsella thracia*、*Capsella viguieri*、*Capsella villosula*等が挙げられる。これらの中でも、接木媒体として利用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、*Capsella rubella* (ルベラナズナ) が好ましい。

【 0 0 3 2 】

タネツケバナ属に属する植物としては、特に限定されず、例えば、*Cardamine hirsuta* (ミチタネツケバナ)、*Cardamine anemonoides*、*Cardamine appendiculata*、*Cardamine arakiana*、*Cardamine dentipetala*、*Cardamine dentipetala var. longifruca*、*Cardamine fallax*、*Cardamine impatiens*、*Cardamine kiusiana*、*Cardamine leucantha*、*Cardamine lyrata*、*Cardamine niigatensis*、*Cardamine nipponica*、*Cardamine pratensis*、*Cardamine regeliana*、*Cardamine schinziana*、*Cardamine scutata*、*Cardamine tanakae*、*Cardamine torrentis*、*Cardamine valida*等が挙げられる。これらの中でも、接木媒体として利用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、*Cardamine hirsuta* (ミチタネツケバナ) が好ましい。

【 0 0 3 3 】

シソ科植物としては、特に限定されず、例えば、シソ属、ラベンダー属、ムラサキシキブ属、ハマゴウ属、チーク属、ハマクサギ属、キランソウ属、クサギ属、カリガネソウ属、ルリハッカ属、ニガクサ属、シモバシラ属、ナギナタコウジュ属、ヤマジソ属、カワミドリ属、イヌハッカ属、オレガノ属、ハッカ (メンサ) 属、ムシャリンドウ属、カキドオシ属、ヤナギハッカ属、ウツボグサ属、シロネ属、ラショウモンカズラ属、セイヨウヤマハッカ属、ヤグルマハッカ属、アキギリ属、キダチハッカ属、ローズマリー属、イブキジャコウソウ属、トウバナ属、ヤマハッカ属、イガニガクサ属、メボウキ属、タツナミソウ属、イヌゴマ属、スズコウジュ属、オドリコソウ属、チシマオドリコソウ属、ジャコウソウ属、ミズトラノオ属、テンニンソウ属、メハジキ属、マネキグサ属、ヤンバルツルハッカ属、ニガハッカ属等に属する植物が挙げられる。これらの中でも、接木媒体として利

10

20

30

40

50



用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、シソ属、ラベンダー属、シモバシラ属、ナギナタコウジュ属、ヤマジソ属、カワミドリ属、イヌハッカ属、オレガノ属、ハッカ属、ムシャリンドウ属、カキドオシ属、ヤナギハッカ属、ウツボグサ属、シロネ属、ラショウモンカズラ属、セイヨウヤマハッカ属、ヤグルマハッカ属、アキギリ属、キダチハッカ属、ローズマリー属、イブキジャコウソウ属、トウバナ属、ヤマハッカ属、イガニガクサ属、メボウキ属等が好ましく、シソ属、ラベンダー属等がより好ましく、シソ属がさらに好ましい。

【0034】

シソ属に属する植物としては、特に限定されず、例えば、*Perilla frutescens*（例えば、シソ、エゴマ等）が挙げられる。中でも、接木媒体として利用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、*Perilla frutescens*が好ましく、シソがより好ましい。

10

【0035】

ラベンダー属に属する植物としては、特に限定されず、例えば、*Lavandula angustifolia*（ラベンダー）、*Lavandula latifolia*、*Lavandula stoechas*、*Lavandula multifida*、*Lavandula × intermedia*等が挙げられる。これらの中でも、接木媒体として利用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、*Lavandula angustifolia*（ラベンダー）が好ましい。

【0036】

ハマウツボ科植物としては、特に限定されず、例えば、コシオガマ属、*Castilleja*属、*Orthocarpus*属、*Agalinis*属、*Aureolaria*属、*Esterhazyia*属、*Seymeria*属、*Lamourouxia*属、*Cordylanthus*属、*Triphysaria*属、ナンバンギセル属、オニク属、ホンオニク属、ハマウツボ属、キヨスミウツボ属、コゴメグサ属、ヤマウツボ属、ママコナ属、クチナシグサ属、セイヨウヒキヨモギ属、シオガマギク属、ヒキヨモギ属、ストライガ属等に属する植物が挙げられる。これらの中でも、接木媒体として利用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、コシオガマ属、シオガマギク属、*Castilleja*属、*Orthocarpus*属、*Agalinis*属、*Aureolaria*属、*Esterhazyia*属、*Seymeria*属、*Lamourouxia*属、*Cordylanthus*属、*Triphysaria*属等が好ましく、コシオガマ属がより好ましい。

20

【0037】

コシオガマ属に属する植物としては、特に限定されず、例えば、*Phtheirospermum japonicum*（コシオガマ）、*Phtheirospermum glandulosum*、*Phtheirospermum muliense*、*Phtheirospermum parishii*、*Phtheirospermum tenuisectum*等が挙げられる。これらの中でも、接木媒体として利用することによって異科植物間の接木をより効率的に成立させることができるという観点からは、*Phtheirospermum japonicum*（コシオガマ）が好ましい。

30

【0038】

本発明の接木媒体の形態は、ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織を含む限りにおいて、特に限定されない。本発明の接木媒体は、ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物体であってもよいし、該植物体から派生した接木成立を促す形態（植物組織等）であってもよい。また、本発明の接木媒体は、ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織を1つのみ含んでいてもよいし、2つ以上含んでいてもよい。

40

【0039】

本発明の接木媒体の形態としては、例えば、両端（根側及び地上部先端側）に接木のための面を有する植物体の切片（植物組織）や、任意の（根側及び地上部先端側の）2ヶ所に接木のための面を有する植物体が挙げられる。接木のための面としては、公知の各種の形態、例えば平坦状、V字状等の凹状、突起状の凸状等、必要に応じて良好な接触が得られるような切断面が挙げられる。

【0040】

本発明の接木媒体の形態として、より具体的には、両端に接木のための面を有する（例

50

えば幼苗の) 茎部や葉柄部等や、( 例えば幼苗の) 茎部や葉柄部の任意の2ヶ所に接木のための面を有する植物体が挙げられる。本発明の接木媒体は、細胞分裂など細胞活動が活発な組織、例えば、前形成層などを含む柔組織を含むことが好ましい。柔組織が良好な接木を媒介することができると考えられるからである。柔組織は、柔細胞からなる植物の組織をいう。柔組織としては、例えば茎・根の皮層・髄、葉の柵状組織・海綿状組織、維管束の木部柔組織・篩部柔組織、果実の果肉、塊茎・塊根その他の貯蔵組織などが挙げられる。

#### 【0041】

本発明の接木媒体は、互いに異なる科に属する2つの植物組織の間( 異科植物組織間) に介在してこれらの植物組織を媒介して接木を成立させることができる。また、本発明の接木媒体は、異科植物間のみならず、異目植物間の接木をも成立させることができる。

10

#### 【0042】

なお、本明細書において、異科植物組織間の接木成立の成否は、接木しようとする2つの異科植物組織が由来する植物体に適した接木作製法及び栽培法によって判定することができる。例えば、2つの異科植物組織を台木及び穂木として( 場合によっては、台木と穂木の間で中間台木を介在させ)、接木の栽培試験を行うことで判定することができる。原則として接木後4週間台木及び穂木がいずれも生存する場合、これらの植物組織間に接木が成立したと判定できる。上記条件を充足しない場合には、接木が成立していないと判定できる。なお、接木の作製及び栽培試験は、例えば、以下のようにして行うことができる。

20

#### 【0043】

温室あるいは人工気象器で、培養土を用いて育成した植物を接木の台木及び穂木に供する。接木処置( 割り接ぎ) は、茎あるいは葉柄に施す。台木は、茎あるいは葉柄を真横に切断し、切断面中央部に1~2cm程度の切れ込みを入れて用意し、茎に施す場合は、なるべく節間を利用する。他に、茎の節の位置で割り接ぎを行った場合、台木は主茎と側枝あるいは葉柄の間を割るように1~2cm程度の切れ込みを入れて用意する。穂木は、茎を切断して上部を切り離し、さらに切り口の部位を台木とフィットするようV字型に切削して用意する。一連の切削は片刃のカミソリを用いて行うことが好ましい。台木の茎あるいは葉柄に入れた切れ込みに、穂木の茎をダメージを与えぬよう静かに差し込み、穂木がその位置から動かぬようにパラフィルムで固定する。支持棒を台木及び穂木に添え、水を霧吹きしたプラスチックバックを穂木全体が覆われるように被せ、最後にプラスチックバックのジップを台木の茎が位置する側まで閉じる。その状態で27℃、弱光、連続恒明条件下のインキュベーター内、あるいはガラス温室内で7日間育成し、7日目にプラスチックバックに切れ込みを入れ、下のジップも空け、さらに1日置く。翌日、中の水が揮発したことを確認して、プラスチックバックを取り外す。その後、24℃、連続恒明条件下のインキュベーター内あるいはガラス温室内で育成を続け、接木後4週間の時点で穂木が枯れずに生存している場合、接木成立とする。また、台木と穂木の間で中間台木を介在させる場合も、上記に準じた方法によって、接木の作製及び栽培試験を行うことができる。

30

#### 【0044】

本発明の接木媒体は、2つの異科植物組織間に介在してこれらの植物組織と合着することができる。これにより細胞内外における各種植物体の成分等の有用成分の輸送が可能となる。

40

#### 【0045】

本発明の接木媒体と2つの異科植物組織との合着は、これらの組織、特に、互いの柔組織が癒合( 癒着) した状態を顕微鏡等で形態学的に観察して確認できる。形態学的な観察は、例えば、接木面を含む切片を樹脂切片観察により確認できる。

#### 【0046】

柔組織の合着は、上記した形態学的観察に替えて、あるいは上記した形態学的観察とともに、以下に示すような植物体の道管機能及び篩管機能のいずれかを評価することによっても確認できる。例えば、道管機能は、トルイジンブルー等の水溶性色素を含む水が台木

50

側から穂木側へ接木面を超えて移送されることを検出することによって確認できる。また、例えば、篩管機能は、原形質連絡を介したシンプラスティックな輸送の指標となる蛍光色素 (Carboxyfluorescein) などが、台木側から穂木側へ接木面を超えて移送されることを検出することによって確認できる。また、篩管機能は、内生 mRNA や GFP タンパク質が、台木側から穂木側へ接木面を超えて長距離移行することを検出することによって確認できる。さらにまた、篩管の篩板には蓄積する多糖カロースがアニリンブルーによって染色できて可視化できることを利用して、カロースのスポットが接木面を超えて連続して存在することを検出することによって確認できる。また、接木面における電子顕微鏡観察によって植物組織の境界領域に置いて原形質連絡が de novo に形成された痕跡を検出することによって確認することもできる。

10

## 【0047】

本発明の接木媒体が接木を介在する植物は、特に限定されない。本発明の接木媒体によって接木が成立した植物を示す表 1 ~ 11 及び図 3 から明らかなように、本発明の接木媒体はシダ植物、裸子植物、被子植物のモクレン類、単子葉類、真正双子葉類 (バラ類 I、バラ類 II、キク類 I、キク類 II 及びそれらの外群) を含む広い範囲の植物の植物組織の接木を成立させることができる。本発明の接木媒体が接木を介在する植物として、より具体的には、例えば、アオイ科、アブラナ科、キク科、ヤナギ科、キンボウゲ科、クスノキ科、センリョウ科、ドクダミ科、サトイモ科、シソ科、スミレ科、セリ科、ツゲ科、ツツジ科、タデ科、ヒユ科、ヒルガオ科、バラ科、ビャクダン科、フウチョウソウ科、フウロソウ科、ブドウ科、ブナ科、スイカズラ科、マツムシソウ科、マメ科、ミカン科、ムクロジ科、ヤマモガシ科、ユキノシタ科、キョウチクトウ科、リンドウ科、オシダ科、ヒノキ科、ウリ科、ナス科、ゴマ科、オオバコ科、ハマウツボ科、アゼナ科、フウチョウボク科、カリケラ科、クサトベラ科、ミツガシワ科、スティリディウム科、ヒメハギ科、スリアナ科、ムンティンギア科、キティヌス科、フタバガキ科、サルコラエナ科、ハンニチバナ科、ベニノキ科、スファエロセパルム科、テトラメレス科、ベゴニア科、ダティスカ科、メギ科、ツツラフジ科、ヒブリス科、スチルベ科、ゴマノハグサ科、サギゴケ科、ハエドクソウ科、キリ科、コショウ科、ディディメラ科、キンモウワラビ科、ツルキジノオシダ科、タマシダ科、ナナバケシダ科、ツルシダ科、ウラボシ科、シノブ科、キンモウワラビ科、ツルキジノオシダ科、タマシダ科、ナナバケシダ科、ツルシダ科、ウラボシ科、シノブ科等に属する植物が挙げられる。これらの科に属する植物としては、例えば実施例にて評価した属種の植物が挙げられる。

20

30

## 【0048】

本発明の接木媒体としてナス科タバコ属植物の植物組織を用いた場合、接木を介在する植物としては、好ましくは食用とされる植物である 58 科 620 種に及ぶ双子葉類、20 科 213 種に及ぶ単子葉類、シダ類 16 種が挙げられる。

## 【0049】

前記食用とされる植物のうち、双子葉類では、ダイズ、アズキ、エンドウ、ササゲなど 68 種のマメ科植物、キュウリ、メロン、スイカ、カボチャなど 57 種のウリ科植物、タバコ、ナス、トマト、ピーマンなどの 63 種のナス科植物、シュンギク、フキ、ゴボウ、レタスなどの 57 種のキク科植物、ニンジン、パセリ、ミツバ、セロリなど 24 種のセリ科植物、スイバ、タデ、ダイオウルパーブ、ソバなど 23 種のタデ科植物、ホウレンソウ、オカヒジキ、フダンソウ、ビートなど 44 種のヒユ科植物が挙げられる。

40

## 【0050】

また、前記食用とされる植物のうち、単子葉類では、50 種のユリ科植物、22 種のサトイモ科植物、26 種のヤマノイモ科植物、40 種のイネ科植物が挙げられる。さらに、ミカン科、ヤシ科などの木本植物と、31 科 149 種の香辛料類が含まれる。

## 【0051】

本発明の接木媒体としてナス科ペチュニア属、トウガラシ属、ナス属等の植物の植物組織を用いた場合、接木を介在する植物としては、好ましくはアブラナ科、フウチョウソウ科、フウチョウボク科、キク科、カリケラ科、クサトベラ科、ミツガシワ科、スティリデ

50

イウム科、キョウチクトウ科、リンドウ科、マメ科、ヒメハギ科、スリアナ科等が挙げられ、より好ましくはアブラナ科、キク科、キョウチクトウ科、マメ科等に属する植物が挙げられる。これらの科の属する植物については、例えば実施例にて評価した属種の植物が挙げられる。

#### 【 0 0 5 2 】

本発明の接木媒体としてシロイヌナズナ属植物などのアブラナ科植物の植物組織を用いた場合、接木を介在する植物としては、好ましくはキク科、カリケラ科、クサトベラ科、ミツガシワ科、ステイリディウム科、アオイ科、ムンティンギア科、キティヌス科、フタバガキ科、サルコラエナ科、ハンニチバナ科、ベニノキ科、スファエロセパルム科、ウリ科、テトラメレス科、ペゴニア科、ダティスカ科、キンボウゲ科、メギ科、ツツラフジ科、アゼナ科、ヒブリス科、スチルベ科、オオバコ科、ゴマノハグサ科、シソ科、サギゴケ科、ハエドクソウ科、キリ科、ナス科、ヒルガオ科、マメ科、ヒメハギ科、スリアナ科、キョウチクトウ科、リンドウ科、ハマウツボ科等が挙げられ、より好ましくはキク科、アオイ科、ウリ科、キンボウゲ科、アゼナ科、オオバコ科、シソ科、ナス科、ヒルガオ科、マメ科、キョウチクトウ科、ハマウツボ科に属する植物が挙げられる。これらの科の属する植物については、例えば実施例にて評価した属種の植物が挙げられる。

10

#### 【 0 0 5 3 】

本発明の接木媒体としてシソ属植物などのシソ科植物の植物組織を用いた場合、接木を介在する植物としては、好ましくは、アブラナ科、フウチョウソウ科、フウチョウボク科、マメ科、ヒメハギ科、スリアナ科、キク科、カリケラ科、クサトベラ科、ミツガシワ科、ステイリディウム科、ウリ科、テトラメレス科、ペゴニア科、ダティスカ科、ナス科、ヒルガオ科、ドクダミ科、コショウ科、キョウチクトウ科、リンドウ科、ツゲ科、ディディメラ科、ハマウツボ科、サギゴケ科、ハエドクソウ科、キリ科等が挙げられ、より好ましくはアブラナ科、マメ科、キク科、ウリ科、ナス科、ドクダミ科、キョウチクトウ科、ツゲ科、ハマウツボ科等に属する植物が挙げられる。これらの科の属する植物については、例えば実施例にて評価した属種の植物が挙げられる。

20

#### 【 0 0 5 4 】

本発明の接木媒体としてコシオガマ属植物などのハマウツボ科植物の植物組織を用いた場合、接木を介在する植物としては、好ましくは、キョウチクトウ科、リンドウ科、キク科、カリケラ科、クサトベラ科、ミツガシワ科、ステイリディウム科、マメ科、ヒメハギ科、スリアナ科、ツゲ科、ディディメラ科、ドクダミ科、コショウ科、オシダ科、キンモウワラビ科、ツルキジノオシダ科、タマシダ科、ナナバケシダ科、ツルシダ科、ウラボシ科、シノブ科、ウリ科、テトラメレス科、ペゴニア科、ダティスカ科、ナス科、ヒルガオ科、アブラナ科、フウチョウソウ科、フウチョウボク科等が挙げられ、より好ましくはキョウチクトウ科、キク科、マメ科、ツゲ科、ドクダミ科、オシダ科、ウリ科、ナス科、アブラナ科等に属する植物が挙げられる。これらの科の属する植物については、例えば実施例にて評価した属種の植物が挙げられる。

30

#### 【 0 0 5 5 】

### 3. 植物組織及び植物体

本発明は、

40

本発明の接木媒体を介して、2種の異科植物組織が接木されてなる植物組織（本明細書において、「本発明の植物組織1」と示すこともある。）

本発明の植物組織1を含む植物体（本明細書において、「本発明の植物体1」と示すこともある。）

ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織と異科植物組織とが接木されてなる植物組織（本明細書において、「本発明の植物組織2」と示すこともある。）及び

本発明の植物組織2を含む植物体（本明細書において、「本発明の植物体2」と示すこともある。）

に関する。以下、これらについて説明する。

50

## 【 0 0 5 6 】

本発明の植物組織 1 は、図 1 に示すように、少なくとも、ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織（第 1 の植物組織）を含む本発明の接木媒体、並びに本発明の接木媒体を介して接木された互いに異科に属する（すなわち互いに接木不和合な）2 つの植物組織（第 2 の植物組織及び第 3 の植物組織）を含む。本発明の植物体 1 は、本発明の植物組織 1 のみからなる植物体であってもよいし、図 1 B に示すように、本発明の植物組織 1 に加えてさらに他の植物組織（植物組織 A' 及び植物組織 B'）を含む植物体であってもよい。本発明の植物組織 1 及び本発明の植物体 1 は、本発明の接木媒体によって接木が媒介されていることによって、本来であれば接木不和合である第 2 の植物組織及び第 3 の植物組織両方の種々の機能、さらには第 1 の植物組織の種々の機能を備えることができる。

10

## 【 0 0 5 7 】

本発明の植物組織 2 は、少なくとも、ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織（第 1 の植物組織）、並びに第 1 の植物組織と接木された、第 1 の植物組織とは異科に属する（すなわち、従来であれば第 1 の植物組織とは接木不和合とされていた）1 つの植物組織（第 4 の植物組織）を含む。本発明の植物体 2 は、本発明の植物組織 2 のみからなる植物体であってもよいし、本発明の植物組織 2 に加えてさらに他の植物組織（植物組織 A' 及び植物組織 B'）を含む植物体であってもよい。本発明の植物組織 2 及び本発明の植物体 2 は、第 1 の植物組織の種々の機能、及び従来であれば第 1 の植物組織とは接木不和合とされていた第 4 の植物組織の種々の機能の両方を備えることができる。

20

## 【 0 0 5 8 】

本発明の植物組織 1 及び 2、並びに本発明の植物体 1 及び 2 は、こうした異なる植物組織の合着部位を備えるため、接木植物組織（接木植物体）ということもできる。

## 【 0 0 5 9 】

本発明の植物組織 1 及び本発明の植物体 1 の典型的な態様（態様 1）としては、例えば、図 2 に示すように、第 1 の植物組織が中間台木であり、第 3 の植物組織（又は第 2 の植物組織）が台木であり、第 2 の植物組織（又は第 3 の植物組織）が穂木であるという態様が挙げられる。本発明の植物組織 1 及び本発明の植物体 1 の他の態様（態様 2）としては、第 1～第 3 の植物組織のセットを台木上に備える態様、すなわち、第 1 の植物組織の根側に接木されている植物組織（第 2 の植物組織又は第 3 の植物組織）のさらに根側に台木を備える態様が挙げられる。本発明の植物組織 1 及び本発明の植物体 1 の他の態様（態様 3）としては、第 1～第 3 の植物組織のセット上に穂木を備える態様、すなわち、第 1 の植物組織の地上部先端側に接木されている植物組織（第 2 の植物組織又は第 3 の植物組織）のさらに地上部先端側に穂木を備える態様が挙げられる。なお、こうした追加の穂木又は台木は、接合する植物組織と接木和合性の高い近縁な植物の植物組織であるか、第 1 の植物組織であることが好ましい。本発明の植物組織 1 及び本発明の植物体 1 の他の態様（態様 4）としては、第 1～第 3 の植物組織のセットの根側及び / 又は地上部先端側に、新たな第 1 の植物組織を介してさらに台木及び / 又は穂木を備える態様が挙げられる。

30

## 【 0 0 6 0 】

本発明の植物組織 2 及び本発明の植物体 2 の典型的な態様（態様 1）としては、例えば、第 1 の植物組織（又は第 4 の植物組織）が台木であり、第 4 の植物組織（又は第 1 の植物組織）が穂木であるという態様が挙げられる。本発明の植物組織 2 及び本発明の植物体 2 の他の態様（態様 2）としては、第 1 の植物組織及び第 4 の植物組織のセットを台木上に備える態様、すなわち、根側の植物組織（第 1 の植物組織又は第 4 の植物組織）のさらに根側に台木を備える態様が挙げられる。本発明の植物組織 2 及び本発明の植物体 2 の他の態様（態様 3）としては、第 1 の植物組織及び第 4 の植物組織のセット上に穂木を備える態様、すなわち、地上部先端側の植物組織（第 1 の植物組織又は第 4 の植物組織）のさらに地上部先端側に穂木を備える態様が挙げられる。なお、こうした追加の穂木又は台木は、接合する植物組織と接木和合性の高い近縁な植物の植物組織であるか、第 1 の植物組

40

50

織であることが好ましい。本発明の植物組織 2 及び本発明の植物体 2 の他の態様（態様 4）としては、第 1 の植物組織及び第 4 の植物組織のセットの根側及び / 又は地上部先端側に、新たな第 1 の植物組織を介してさらに台木及び / 又は穂木を備える態様が挙げられる。

【 0 0 6 1 】

また、本発明の植物組織 1 及び本発明の植物体 1 は、第 1 ~ 第 3 の植物組織のセットを、植物組織の分岐部に備えていてもよい。例えば、第 2 の植物組織及び第 1 の植物組織をそれぞれ台木及び中間台木とし、第 3 の植物組織のみを分岐部として備えていてもよい。また、例えば、第 2 の植物組織を台木とし、第 1 及び第 3 の植物組織を分岐部として備えていてもよい。このセットの全て植物組織の分岐部として備えていてもよい。同様に、本発明の植物組織 2 及び本発明の植物体 2 は、第 1 の植物組織及び第 4 の植物組織のセットを、植物組織の分岐部に備えていてもよい。

10

【 0 0 6 2 】

また、本発明の植物組織 1 及び本発明の植物体 1 は、同一又は異なる組合せの第 1 ~ 第 3 の植物組織の複数のセットを、植物体に備えていてもよい。複数のセットは、相対する植物組織を接木和合性の高い近縁な植物の植物組織として互いに備えるか、第 1 植物組織を介して備えられうる。同様に、本発明の植物組織 2 及び本発明の植物体 2 は、同一又は異なる組合せの第 1 の植物組織及び第 4 の植物組織の複数のセットを、植物体に備えていてもよい。

【 0 0 6 3 】

さらに、本発明の植物組織 1 及び 2、並びに本発明の植物体 1 及び 2 は、上記した各種態様を適宜組み合わせることができる。

20

【 0 0 6 4 】

第 1 の植物組織（ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織）としては、上述の「2. 接木媒体」で挙げたものと同様の植物組織を採用できる。

【 0 0 6 5 】

第 2 ~ 4 の植物組織としては、上述の「2. 接木媒体」において、「本発明の接木媒体が接木を介在する植物」で挙げたものと同様の植物の植物組織を採用できる。

【 0 0 6 6 】

第 2 ~ 4 の植物組織は、本発明の接木媒体又は第 1 の植物組織に対する合着部位を備えることができる。この合着部位は、第 2 ~ 4 の植物組織に付与した切断面に由来することができる。第 2 ~ 4 の植物組織の切断面は、接木時において、本発明の接木媒体又は第 1 の植物組織の切断面に当接される部位であって、当接可能な形状を備えることができる。接木のための切断面は、本発明の接木媒体又は第 1 の植物組織と同様、公知の各種の形態、例えば平坦状、V 字状等の凹状、突起状の凸状等、必要に応じて良好な接触が得られるような切断面が挙げられる。第 2 ~ 4 の植物組織は、本発明の接木媒体又は第 1 の植物組織と同様に、柔組織を含むことが好ましい。

30

【 0 0 6 7 】

第 2 ~ 4 の植物組織としては、例えば、根を含む植物組織である場合であれば、有用な根系システム（例えば、病害耐性、耐乾性、耐塩性、耐塩基性、耐酸性、有用な根茎部を備えるなど）を備える植物の植物組織が選択される。例えば、マメ科、ウリ科、キク科等が挙げられる。

40

【 0 0 6 8 】

本発明の植物体 1 及び 2 においては、本発明の接木媒体又は第 1 の植物組織が含まれているが故に、従来では接木が成立しないと考えられていた種間の接木が成立している。このため、高い自由度で目的に応じて第 2 ~ 4 の植物組織を選択して、より有用性の高い接木植物体を提供することができる。この有用性を利用してより優れた作物のより効率的な生産が可能であるという観点から、本発明の植物体 1 及び 2 は、栽培品種の植物組織を含むことが好ましい。この場合、第 1 ~ 4 の植物組織が栽培品種の植物組織であってもよく、第 1 ~ 4 の植物組織以外に含まれる植物組織が栽培品種の植物組織であってもよい。以

50

上より、本発明は、本発明の植物体 1 又は 2 から作物を収穫する工程を含む、作物の生産方法をも提供することができる。

【0069】

栽培品種の具体例としては、トマト、ピーマン、トウガラシ、ナス等のナス類、キュウリ、カボチャ、メロン、スイカ等のウリ類、キャベツ、ブロッコリー、ハクサイ等の菜類、セルリー、パセリー、レタス等の生菜・香辛菜類、ネギ、タマネギ、ニンニク等のネギ類、ダイズ、ラッカセイ、インゲン、エンドウ、アズキ等の豆類、イチゴ等のその他果菜類、ダイコン、カブ、ニンジン、ゴボウ等の直根類、サトイモ、キャッサバ、パレイショ、サツマイモ、ナガイモ等のイモ類、アスパラガス、ハウレンソウ、ミツバ等の柔菜類、トルコギキョウ、ストック、カーネーション、キク等の花卉類、イネ、トウモロコシ等の穀物類、ペントグラス、コウライシバ等の芝類、ナタネ、ラッカセイ等の油料作物類、サトウキビ、テンサイ等の糖料作物類、ワタ、イグサ等の繊維料作物類、クローバー、ソルガム、デントコーン等の飼料作物類、リンゴ、ナシ、ブドウ、モモ等の落葉性果樹類、ウンシュウミカン、レモン、グレープフルーツといった柑橘類、サツキ、ツツジ、スギ等の木本類等が挙げられる。

10

【0070】

本発明の植物組織 1 及び本発明の植物体 1 は、本発明の接木媒体を介して、2 種の互いに異科に属する植物組織を接木する工程を含む接木方法によって得ることができる。より具体的には、本発明の植物組織 1 及び本発明の植物体 1 は、本発明の接木媒体の根側に第 2 の植物組織（又は第 3 の植物組織）を、本発明の接木媒体の地上部先端側に第 3 の植物組織（又は第 2 の植物組織）を接触させる工程を含む接木方法によって得ることができる。この接木方法によれば、効率的に意図した接木植物体を取得することができる。

20

【0071】

本発明の植物組織 2 及び本発明の植物体 2 は、第 1 の植物組織と、該第 1 の植物組織とは異科に属する 1 種の植物組織とを接木する工程を含む接木方法によって得ることができる。より具体的には、本発明の植物組織 2 及び本発明の植物体 2 は、本発明の接木媒体の根側又は地上部先端側に第 4 の植物組織を接触させる工程を含む接木方法によって得ることができる。この接木方法によれば、効率的に意図した接木植物体を取得することができる。

30

【0072】

接触工程は、公知の接木の手法を用いて行うことができる。例えば、本発明の接木媒体又は第 1 の植物組織を中間台木とし、第 2 の植物組織を台木とし、第 3 の植物組織を穂木として行ってもよい。また、すなわち、適宜、接合処理を施して接木面を密着させ、接合部位を必要に応じて物理的に密着状態を形成可能に適宜フィルムや器具等で支持することができる。

【0073】

植物組織の接合順序は特に問わない。同時期に全ての植物組織を接合して育苗（栽培）してもよい。また、第 2 の植物組織と本発明の接木媒体との接木状態で育苗（栽培）し、その後、第 3 の植物組織を追加して接合して接合体としてもよい。また、本発明の接木媒体と第 3 の植物組織との接木状態で育苗（栽培）し、その後、第 2 の植物組織を追加して接合し、接木植物体としてもよい。さらには、第 2 の植物組織と本発明の接木媒体との接木体と、第 3 の植物組織と本発明の接木媒体との接木体と、をそれぞれ作製し、これらの接木体中の本発明の接木媒体同士を接木させてもよい。

40

【0074】

また、本発明は、本発明の接木媒体又は第 1 の植物組織を穂木とし、第 2 の植物組織を台木として備える接木体と、本発明の接木媒体又は第 1 の植物組織を台木として備え、第 3 の植物組織を穂木として備える接木体と、を含む、本発明の植物組織 1 及び本発明の植物体 1 の作製用キットも提供することができる。また、本発明は、これらのいずれかの接木体、或いは本発明の接木媒体を備える、本発明の植物組織 1 及び本発明の植物体 1 の作製用材も提供される。こうした作製用キット及び作製用材によれば、効率的に本発明の植

50

物組織 1 及び本発明の植物体 1 を得ることができる。

【0075】

同様に、本発明は、第 1 の植物組織を含む穂木、台木、又は中間台木を含む、本発明の植物組織 2 及び本発明の植物体 2 の作製用材も提供することができる。

【0076】

#### 4. スクリーニング方法

本発明は、工程 (a) ~ (c) を含む、接木不適合植物間の接木媒体のスクリーニング方法：(a) 被検植物組織を異科植物組織と接木する工程、(b) 工程 (a) で得られた植物体を栽培する工程、及び (c) 工程 (b) 後に植物体が枯死していない場合に、被検植物組織を接木不適合植物間の接木媒体として選択する工程 (本明細書において、「本発明のスクリーニング方法 1」と示すこともある。) に関する。以下、これについて説明する。

10

【0077】

本発明のスクリーニング方法 1 は、異なる植物間 (通常、互いに異なる科に属する植物間) の接木不適合を回避又は抑制できる接木媒体のスクリーニング方法である。

【0078】

工程 (a) は、例えば被験植物組織を台木 (又は穂木) として、被験植物組織とは異なる科に属する他の植物組織を穂木 (又は台木) として、接木苗を作製することによって行うことができる。

【0079】

被験植物組織は、中間台木としても使用可能な接木媒体、すなわち、本発明の接木媒体としての使用を意図する植物組織である。例えば、スクリーニングにあたって、既述の第 1 の植物組織のように接木面を処理して、台木又は穂木も同様にして、接木苗の作製工程に供する。なお、接木苗の作製は、公知の接木の手法を用いることができる。接木苗の作製工程は、被験植物組織を台木として用い、他の 2 以上の植物組織を穂木として用いて実施することもできる。また、被験植物組織を穂木として用い、他の 2 以上の植物組織を台木として用いて実施することもできる。これら双方を実施することで被験植物組織の接木適合性や好ましい使用態様をより確実に決定することができ、接木媒体を効率的にスクリーニングすることができる。

20

【0080】

工程 (b) における栽培条件は、特に限定されず、被検植物組織及びこれと接木する植物組織の種類に応じて、適宜設定することができる。栽培期間は、接木の成否を評価できる期間であれば特に限定されず、被検植物組織及びこれと接木する植物組織の種類に応じて、適宜設定することができる。栽培期間としては、例えば 2 ~ 8 週間、好ましくは 3 ~ 5 週間が挙げられる。

30

【0081】

工程 (c) における枯死の判断は、公知の基準に従って又は準じて行うことができる。枯死していない場合、被験植物組織は、接木不適合植物間の接木媒体として使用することができる。

【0082】

工程 (a) ~ (c) は、より具体的には、例えば上記「2. 接木媒体」において説明した「接木の作製及び栽培試験」や、実施例と同様に行うことができる。

40

【0083】

また、本発明は、工程 (d) ~ (f) を含む、接木不適合植物間の接木媒体のスクリーニング方法：(d) 被検植物組織を介して、2 種の互いに異科に属する植物の植物組織を接木する工程、(e) 工程 (d) で得られた植物体を栽培する工程、及び (f) 工程 (e) 後に植物体が枯死していない場合に、被検植物組織を接木不適合植物間の接木媒体として選択する工程 (本明細書において、「本発明のスクリーニング方法 2」と示すこともある。) に関する。以下、これについて説明する。

【0084】

50



本発明のスクリーニング方法2は、本発明のスクリーニング方法1と同様、異なる植物間（通常、互いに異なる科に属する植物間）の接木不和合を回避又は抑制できる接木媒体のスクリーニング方法である。工程（d）は、例えば被験植物組織を中間台木として、互いに異なる科に属する植物の植物組織を台木及び穂木として、接木苗を作製することによって行うことができる。この中間台木の接木苗の作製工程は、上記した台木/穂木の構成の接木苗の作製工程に替えて、あるいは当該工程とともに、実施することができる。中間台木の接木苗の作製工程を実施することで、被験植物組織を中間台木として用いて、より具体的に台木と穂木との接木和合性を評価することができるため、より現実的な接木構成を効率的に取得しすることができ、接木媒体を効率的にスクリーニングすることができる。

10

【0085】

なお、中間台木を用いた接木苗の作製は、既に説明した接木植物体の製造方法に準じて実施することができる。

【0086】

工程（e）における栽培条件は、特に限定されず、被検植物組織及びこれと接木する植物組織の種類に応じて、適宜設定することができる。栽培期間は、接木の成否を評価できる期間であれば特に限定されず、被検植物組織及びこれと接木する植物組織の種類に応じて、適宜設定することができる。栽培期間としては、例えば2～8週間、好ましくは3～5週間が挙げられる。

20

【0087】

工程（f）における枯死の判断は、公知の基準に従って又は準じて行うことができる。枯死していない場合、被験植物組織は、接木不和合植物間の接木媒体として使用することができる。

【0088】

本発明のスクリーニング方法1及び2によれば、接木和合性に劣る2つの植物間を媒介して意図した目的の接木植物体を効率的に取得するのに有用な中間台木等として用いることができる接木媒体を、容易に得ることができる。

【0089】

#### 5. 有用成分送達媒体

本発明は、ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織を含む、異科植物への有用成分送達媒体（本明細書において、「本発明の有用成分送達媒体」と示すこともある。）に関する。以下、これについて説明する。

30

【0090】

本発明の有用成分送達媒体によれば、該媒体を介して、これとは異なる科に属する植物体に有用成分を送達することができる。これらの有用成分によって、植物体（レシピエント植物体）の成長、形態、開花、結実等の各種の特性の制御、又は植物体を宿主とする細菌やウイルスなどの微生物や昆虫などの動物の誘因や防除が可能となる。これらの効果は、元素、化合物、代謝物、タンパク質等の機能発現による場合や、siRNAやmicroRNA等のnon-coding RNAの働きによる転写後の遺伝子サイレンシング（PDGS）やゲノムDNAの修飾による遺伝子サイレンシング（TGS）などによる場合がある。また、上述の形質獲得については、当代でのみ働く効果と、次世代にも遺伝するもののが含まれる。

40

【0091】

本発明の有用成分送達媒体における第1の植物組織（ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織）としては、上述の「2. 接木媒体」で挙げたものと同様の植物組織を採用できる。第1の植物組織は、主にシンプラスティック経路を介して輸送されるとされ、中でも長距離輸送される場合は主に篩管を介して輸送されるとされるmRNAやタンパク質などの生体高分子や水溶性化合物といった低分子物質などの有用成分や、主にアポプラスティック経路を介して輸送されるとされ、中でも長距離輸送される場合は主に道管を介して輸送されるとされる水溶性化合物といった低分子物質等の有用成分を隣接する異科植物組織に輸送できることがわかっている。これらの有用成分によ

50

れば、レシピエント植物体の各種特性の制御が可能である。

【0092】

本発明の接木媒体の形態は、ナス科、アブラナ科、シソ科、又はハマウツボ科に属する植物の植物組織を含む限りにおいて、特に限定されず、例えば任意の1箇所に接木のための面を有する植物組織又は植物体が挙げられ、好ましくは上述の本発明の接木媒体の形態に準じた形態を採用することができる。

【0093】

有用成分としては、特に限定されないで、隣接する異科植物組織へと送達可能なものであればよい。例えば、有用成分としては、主にシンプラスティック経路を介して輸送されるとされるsiRNAやmicroRNA等のnon-coding RNAやmRNAなどのRNA、タンパク質、各種植物ホルモン等、主にアポプラスティック経路を介して輸送されるとされる元素、代謝物、分泌型ペプチド、タンパク質、各種ホルモン等が挙げられる。有用成分としては、植物体由来の成分のほか、植物体に由来しないいわゆる薬剤であってもよいし栄養成分であってもよい。ある種のRNAやタンパク質が植物組織間で良好な移動性を有することが知られている。所望のRNAあるいはタンパク質に対してこうした移動性RNAあるいはタンパク質の要素を付加して融合RNAあるいは融合タンパク質とすることで、移動性を付与ないし向上させることができる。そうした融合RNAや融合タンパク質も有用成分となりうる。

10

【0094】

本発明の有用成分送達媒体を利用するには、これとは異なる科に属する植物体に、本発明の有用成分送達媒体を接木すればよく、その形態を問わない。接木は、既に説明したほか、公知の技術を適用できる。例えば、植物体に本発明の有用成分送達媒体を穂木のようにして接木して使用することができる。こうした形態であると、本発明の有用成分送達媒体を介して有用成分を送達することができる。また、既に説明したように、本発明の有用成分送達媒体を中間台木のように利用してもよい。

20

【0095】

また、本発明の有用成分送達媒体を利用するには、所望の有用成分を本来的に生産するあるいは人工的（遺伝子工学的）に所望の有用成分の生産能力を付与した第1の植物組織を用いることができる。所望の有用成分の生産性の高い植物は当業者であれば適宜選択しえるし、所望の有用成分の高い生産性を遺伝子工学的に付与した植物体も、当業者であれば適宜取得することができる。

30

【0096】

さらに、本発明の有用成分送達媒体を利用するには、第1の植物組織に対して、植物体外部から有用成分を注入（導入）するようにしてもよい。第1の植物組織は、各種成分の送達性に優れるため、外部から注入された有用成分であっても、レシピエント植物体に送達することができる。

【0097】

このような利用形態であると、レシピエント植物体の任意の部位に本発明の有用成分送達媒体を接木して、送達手段として用いることができる。この結果、有用成分のより効果的な送達が可能となる。

40

【0098】

さらに、本発明の有用成分送達媒体を用いるには、植物体における第1の植物組織以外の部位に有用成分を注入（導入）するようにしてもよい。第1の植物組織は、有用成分を媒介できるため、第1の植物組織以外の部位に注入等された有用成分も第1の植物組織を介して植物体のさらに他の部位に送達できる。ここで、第1の植物組織以外の部位とは、例えば、特に限定されない。第1の植物組織の近傍であってもよいし、有用成分の注入等に適した遠隔部位であってもよい。さらには、この植物体が一般的な、台木、穂木及び中間台木のいずれかを備えるときには、そのいずれかであってもよい。

【0099】

こうした利用形態によれば、また、世代交代に時間のかかる木本類などの多年生植物に

50

関し、有用性の高い植物体を従来に比して速やかに得ることができる。

【0100】

以上の説明によれば、本発明は、本発明の有用成分送達媒体を利用した有用成分の異科植物への送達方法も提供する。また、本発明は、本発明の有用成分送達媒体が異科植物組織に接木されてなる植物組織、及び該植物組織を含む植物体、並びにこれら植物組織及び植物体の生産方法も提供する。

【0101】

さらに、本発明は、本発明の有用成分送達媒体を介して、有用成分を送達することを含む、有用成分が送達された植物体の製造方法をも提供する。ここで、「介して」とは、植物体に注入（導入）された有用成分が、本発明の有用成分送達媒体を媒介して、植物体の他部位に有用成分が送達される限りにおいて特に限定されない。よって、本発明の有用成分送達媒体に有用成分を注入（導入）することによって、有用成分を送達してもよいし、本発明の有用成分送達媒体以外の部位に有用成分を注入（導入）することによって、有用成分を送達してもよい。或いは、有用成分を既に含んでいる植物組織（本発明の有用成分送達媒体であってもよいし、それ以外の植物組織でもよい）を接木する等して、本発明の有用成分送達媒体を含む植物体を得ることによって、有用成分を送達してもよい。

10

【実施例】

【0102】

以下、本明細書の開示を実施例を挙げて具体的に説明する。以下の実施例は、本開示を説明するためのものであって、本開示を限定するものではない。

20

【実施例1】

【0103】

（2種類の接木植物体の作製）

温室あるいは人工気象器で、培養土を用いて育成した植物を接木に供した。Nicotiana benthamianaは播種後1～2ヶ月の個体を、その他の植物は、数週～数年育成した芽生えあるいは植物苗を用いた。接木処置（割り接ぎ）は、茎あるいは葉柄に施した。台木は、茎あるいは葉柄を真横に切断し、切断面中央部に1～2cm程度の切れ込みを入れて用意した。茎に施す場合は、なるべく節間を利用した。他に、茎の節の位置で割り接ぎを行った場合、台木は主茎と側枝あるいは葉柄の間を割るように1～2cm程度の切れ込みを入れて用意した。穂木は、茎を切断して上部を切り離し、さらに切り口の部位を台木とフィットするようV字型に切削して用意した。一連の切削は片刃のカミソリを用いて行った。台木の茎あるいは葉柄に入れた切れ込みに、穂木の茎をダメージを与えぬよう静かに差し込み、穂木がその位置から動かぬようにパラフィルムで固定した。支持棒を台木及び穂木に添え、水を霧吹きしたプラスチックバックを穂木全体が覆われるように被せ、最後にプラスチックバックのジップを台木の茎が位置する側まで閉じた。その状態で27℃、弱光、連続恒明条件下のインキュベーター内、あるいはガラス温室内で7日間育成し、7日目にプラスチックバックに切れ込みを入れ、下のジップも空け、さらに1日置いた。翌日、中の水が揮発したことを確認して、プラスチックバックを取り外した。その後、24℃、連続恒明条件下のインキュベーター内あるいはガラス温室内で育成を続け、接木後4週間の時点で穂木が枯れずに生存している場合、接木成立とした。なお、植物の育成条件、接木処置（割り接ぎ）の方法、接木後の育成法、接木成立の判断は、以下の接木法においても同様とした。結果を、表1～表9に示す。また、図3に、タバコ属に属する植物組織と接木が成立した植物を被子植物の系統樹上に示す。

30

40

【0104】

【表 1】

樹木				台木			
目	科	属	種	目	科	属	種
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	セリ目	セリ科	ミツバ属	ミツバ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	セリ目	セリ科	ニンジン属	ニンジン
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	サトイモ目	サトイモ科	アンズリウム属	アンズリウム
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	キク目	キク科	エゾギク属	マイクロアスター
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	キク目	キク科	キク属	キク
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	フウチョウソウ属	クレオメ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ツゲ目	ツゲ科	フッキソウ属	フッキソウ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ナデシコ目	ヒユ科	アルテルナンテラ属	センニチコボウ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ナデシコ目	ヒユ科	ホウレンソウ属	ホウレンソウ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ナデシコ目	タデ科	ソバカズラ属	イタドリ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	センリョウ目	センリョウ科	センリョウ属	センリョウ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ウリ目	ウリ科	キュウリ属	キュウリ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	マツムシソウ目	スイカズラ科	ツクバネウツギ属	ツクバネウツギ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	マツムシソウ目	マツムシソウ科	マツムシソウ属	セイヨウマツムシソウ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ツツジ目	ツツジ科	ツツジ属	ツツジ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ツツジ目	ツツジ科	スノキ属	ブルーベリー
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	マメ目	マメ科	ダイズ属	ダイズ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	マメ目	マメ科	ウマゴヤシ属	アルファルファ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	マメ目	マメ科	シナガワハギ属	メリロット
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	マメ目	マメ科	エンドウ属	エンドウ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	マメ目	マメ科	シャジクソウ属	クローバー
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	マメ目	マメ科	フェヌグリーク属	フェヌグリーク
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	マメ目	マメ科	ソラマメ属	ソラマメ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	マメ目	マメ科	ササゲ属	アズキ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ブナ目	ブナ科	コナラ属	クヌギ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ブナ目	ブナ科	コナラ属	ミズナラ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	リンドウ目	キョウチクトウ科	ツルニチニチソウ属	ツルニチニチソウ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	リンドウ目	リンドウ科	ユーストマ属	トルコキキョウ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	リンドウ目	リンドウ科	リンドウ属	リンドウ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	フウロソウ目	フウロソウ科	フウロソウ属	ゼラニウム
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	シソ目	ゴマ科	ゴマ属	ゴマ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	シソ目	オオバコ科	キンギョソウ属	キンギョソウ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	クスノキ目	クスノキ科	ニッケイ属	クスノキ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	キントランノ目	ヤナギ科	ヤマナラシ属	ホワイトボブラ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	キントランノ目	ヤナギ科	ヤナギ属	ウンリユウヤナギ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	キントランノ目	スマミ科	スマミ属	パンジー
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アオイ目	アオイ科	ウタ属	コトシ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アオイ目	アオイ科	バキラ属	バキラ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	マツ目	ヒノキ科	ヒノキ属	ヒノキ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	コショウ目	ドクダミ科	ドクダミ属	ドクダミ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ウラボシ目	オンダ科	ヤブソテツ属	オニヤブソテツ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ヤマモガシ目	ヤマモガシ科	グレビリア属	グレビリア
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	キンボウゲ目	キンボウゲ科	イチリンソウ属	アネモネ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	キンボウゲ目	キンボウゲ科	コンソリダ属	チドリウ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	バラ目	バラ科	オランダイチゴ属	イチゴ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	バラ目	バラ科	リンゴ属	リンゴ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	バラ目	バラ科	バラ属	ミニバラ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ビャクダン目	ビャクダン科	ツクバネ属	ツクバネ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ムクロジ目	ミカン科	ミカン属	ミカン
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ムクロジ目	ムクロジ科	フウセンカズラ属	フウセンカズラ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ユキノシタ目	ユキノシタ科	ヒューケラ属	ヒューケラ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ナス目	ヒルガオ科	サツマイモ属	アサガオ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ブドウ目	ブドウ科	ブドウ属	ヤマブドウ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	マメ目	マメ科	ラッカセイ属	ラッカセイ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	マメ目	マメ科	ミヤコグサ属	L. Burttii
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	キク目	キク科	ステビア属	ステビア
ナス目	ナス科	タバコ属	N. rustica	マメ目	マメ科	ダイズ属	ダイズ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. tabacum	アブラナ目	アブラナ科	タネツケバナ属	ミチタネツケバナ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. tabacum	ウリ目	ウリ科	キュウリ属	キュウリ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. tabacum	ウリ目	ウリ科	カボチャ属	カボチャ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. tabacum	マメ目	マメ科	ダイズ属	ダイズ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. umbratica	マメ目	マメ科	ダイズ属	ダイズ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	セイヨウアブラナ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	カリフラワー
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	キャベツ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	ブロッコリー
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	ナズナ属	ルペラナズナ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	タネツケバナ属	ミチタネツケバナ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	シソ目	シソ科	ラベンダー属	ラベンダー
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	シソ目	シソ科	シソ属	シソ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ナス目	ナス科	トウガラシ属	ピーマン
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	ナス目	ナス科	ナス属	Micro-Tom

10

20

30

40

【表 2】

種木				台木			
目	科	属	種	目	科	属	種
ナス目	ナス科	ツクバネアサガオ属	ベチュニア	キク目	キク科	エゾギク属	マイクロアスター
ナス目	ナス科	ツクバネアサガオ属	ベチュニア	キク目	キク科	キク属	キク
ナス目	ナス科	ツクバネアサガオ属	ベチュニア	リンドウ目	キョウチクトウ科	ツルニチニチソウ属	ツルニチニチソウ
ナス目	ナス科	ツクバネアサガオ属	ベチュニア	キク目	キク科	ステビア属	ステビア
ナス目	ナス科	ツクバネアサガオ属	ベチュニア	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ナス目	ナス科	ツクバネアサガオ属	ベチュニア	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	キャベツ
ナス目	ナス科	ツクバネアサガオ属	ベチュニア	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	ブロッコリー
ナス目	ナス科	トウガラシ属	ピーマン	キク目	キク科	シュンギク属	シュンギク
ナス目	ナス科	トウガラシ属	ピーマン	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ナス目	ナス科	ナス属	トマト ポンテローザ	マメ目	マメ科	ダイズ属	ダイズ
ナス目	ナス科	ナス属	トマト ポンテローザ	マメ目	マメ科	ササゲ属	アズキ
ナス目	ナス科	ナス属	Micro-Tom	キク目	キク科	キク属	キク
ナス目	ナス科	ナス属	Micro-Tom	マメ目	マメ科	ダイズ属	ダイズ
ナス目	ナス科	ナス属	Micro-Tom	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ナス目	ナス科	ナス属	ナス	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ナス目	ナス科	ナス属	Micro-Tom	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana
ナス目	ナス科	ナス属	トマト ポンテローザ	ナス目	ナス科	ナス属	トマト ポンテローザ

10

【表 3】

種木				台木			
目	科	属	種	目	科	属	種
サトイモ目	サトイモ科	アンズリウム属	アンズリウム	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana
キク目	キク科	キク属	キク	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana
ウリ目	ウリ科	キュウリ属	キュウリ	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana
リンドウ目	キョウチクトウ科	ツルニチニチソウ属	ツルニチニチソウ	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana
バラ目	バラ科	オランダイチゴ属	イチゴ	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana
ムクロジ目	ミカン科	ミカン属	ミカン	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana
ブドウ目	ブドウ科	ブドウ属	ヤマブドウ	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana
アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	ブロッコリー	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana
シソ目	シソ科	ラベンダー属	ラベンダー	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana
シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana

20

【表 4】

種木				台木			
目	科	属	種	目	科	属	種
アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	ブロッコリー	ウリ目	ウリ科	キュウリ属	キュウリ
アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	ブロッコリー	キク目	キク科	キク属	キク
アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	ブロッコリー	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana
アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	ブロッコリー	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	ブロッコリー
アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)	アブラナ目	アブラナ科	ナス属	ルベラナズナ
アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)

【表 5】

種木				台木			
目	科	属	種	目	科	属	種
ウリ目	ウリ科	スイカ属	スイカ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ウリ目	ウリ科	キュウリ属	キュウリ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
マメ目	マメ科	ダイズ属	ダイズ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
マメ目	マメ科	ササゲ属	アズキ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
リンドウ目	キョウチクトウ科	ニチニチソウ属	ニチニチソウ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
シソ目	アゼナ科	ツルウリクサ属	トレニア	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
シソ目	オオバコ科	キンギョソウ属	キンギョソウ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
アオイ目	アオイ科	トロロアオイ属	オクラ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
アオイ目	アオイ科	パキラ属	パキラ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
キンボウゲ目	キンボウゲ科	コンソリダ属	チドリソウ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ナス目	ヒルガオ科	サツマイモ属	アサガオ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ナス目	ナス科	トウガラシ属	ピーマン	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ナス目	ナス科	ツクバネアサガオ属	ベチュニア	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ナス目	ナス科	ナス属	Micro-Tom	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ナス目	ナス科	ナス属	ナス	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
シソ目	シソ科	シソ属	シソ 青シソ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
アブラナ目	アブラナ科	ナス属	ルベラナズナ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
アブラナ目	アブラナ科	タネツケバナ属	ミチタネツケバナ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	セイヨウアブラナ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	カリフラワー
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	キャベツ
ナス目	ナス科	ツクバネアサガオ属	ベチュニア	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	キャベツ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	ブロッコリー
ナス目	ナス科	ツクバネアサガオ属	ベチュニア	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	ブロッコリー
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	ナス属	ルベラナズナ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	アブラナ目	アブラナ科	タネツケバナ属	ミチタネツケバナ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. tabacum	アブラナ目	アブラナ科	タネツケバナ属	ミチタネツケバナ

30

40

【表 6】

穂木				台木			
目	科	属	種	目	科	属	種
シソ目	シソ科	シソ属	シソ	キク目	キク科	シュンギク属	シュンギク
シソ目	シソ科	シソ属	シソ	ウリ目	ウリ科	キュウリ属	キュウリ
シソ目	シソ科	シソ属	シソ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
シソ目	シソ科	メボウキ属	バジル	コショウ目	ドクダミ科	ドクダミ属	ドクダミ
シソ目	シソ科	メボウキ属	バジル	マメ目	マメ科	ラッカセイ属	ラッカセイ
シソ目	シソ科	ラベンダー属	ラベンダー	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana

【表 7】

穂木				台木			
目	科	属	種	目	科	属	種
ウリ目	ウリ科	キュウリ属	キュウリ	シソ目	シソ科	シソ属	シソ
リンドウ目	キョウチクトウ科	ツルニチニチソウ属	ツルニチニチソウ	シソ目	シソ科	シソ属	シソ
ツゲ目	ツゲ科	フッキソウ属	フッキソウ	シソ目	シソ科	シソ属	シソ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	シソ目	シソ科	シソ属	シソ
リンドウ目	キョウチクトウ科	ツルニチニチソウ属	ツルニチニチソウ	シソ目	シソ科	メボウキ属	バジル
キク目	キク科	キク属	キク	シソ目	シソ科	メボウキ属	バジル
シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ	シソ目	シソ科	メボウキ属	バジル
リンドウ目	キョウチクトウ科	ツルニチニチソウ属	ツルニチニチソウ	シソ目	シソ科	アキギリ属	サルビア
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	シソ目	シソ科	ラベンダー属	ラベンダー

【表 8】

穂木				台木			
目	科	属	種	目	科	属	種
シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ	リンドウ目	キョウチクトウ科	ツルニチニチソウ属	ツルニチニチソウ
シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ	キク目	キク科	キク属	キク
シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ	マメ目	マメ科	ダイズ属	ダイズ
シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ	ツゲ目	ツゲ科	フッキソウ属	フッキソウ
シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ	コショウ目	ドクダミ科	ドクダミ属	ドクダミ
シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ	ウラボシ目	オシダ科	ヤブソテツ属	オニヤブソテツ
シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ	マメ目	マメ科	ラッカセイ属	ラッカセイ
シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ	ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana
シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)

【表 9】

穂木				台木			
目	科	属	種	目	科	属	種
リンドウ目	キョウチクトウ科	ツルニチニチソウ属	ツルニチニチソウ	シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ
キク目	キク科	キク属	キク	シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ
ウリ目	ウリ科	キュウリ属	キュウリ	シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ
ナス目	ナス科	タバコ属	N. benthamiana	シソ目	ハマウツボ科	コシオガマ属	コシオガマ

【0105】

これらの表及び図3に示すように、ナス科、アブラナ科、シソ科及びハマウツボ科に属する植物は、台木及び/又は穂木として多様な植物と接木成立が可能であった。

【実施例2】

【0106】

(中間台木を用いた2種間の接木植物体の作製)

中間台木法による接木は、台木・中間台木・穂木からなる接木であるため、台木・中間台木間及び中間台木・穂木間で接木処置を行った。接木処置を2カ所同時に行う場合、まず中間台木となる植物の茎(節間を2つ程度含む)を切り出し、本来の茎の伸長方向の先に穂木をアセンプルし、続いてその中間台木・穂木の中間台木側の茎の端と台木の茎をアセンプルした。2カ所の処置を別の日に2回に分けて行う場合、まず台木と中間台木となる植物の間で接木を行い、接木処置後1~2週間の時点で接木の状態が良いことを確認し、中間台木となる植物の上に穂木を接木した。

【0107】

あるいは、台木とする植物と中間台木とする植物、中間台木とする植物と穂木とする植物の間でそれぞれ独立に接木を行い、接木処置後1~2週間の時点で接木の状態が良いことが確認されたものについて、それぞれの中間台木とする側の植物の茎において接木処置を新たに施して、台木・中間台木・中間台木・穂木とした。接木成立例を表10及び11に示す。

【0108】

10

20

30

40

【表 1 0】

穂木				中間台木	台木			
目	科	属	種		目	科	属	種
リンドウ目	キョウチクトウ科	ニチニチソウ属	ニチニチソウ	Nb	マメ目	マメ科	ソラマメ属	ソラマメ
リンドウ目	キョウチクトウ科	ツルニチニチソウ属	ツルニチニチソウ/Nb	Nb	キク目	キク科	キク属	キク
キク目	キク科	キク属	キク	Nb	リンドウ目	キョウチクトウ科	ツルニチニチソウ属	ツルニチニチソウ
キク目	キク科	シュンギク属	シュンギク	Nb	リンドウ目	キョウチクトウ科	ニチニチソウ属	ニチニチソウ
リンドウ目	キョウチクトウ科	ニチニチソウ属	ニチニチソウ	Nb	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
リンドウ目	キョウチクトウ科	ツルニチニチソウ属	ツルニチニチソウ/Nb	Nb	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
キク目	キク科	キク属	キク	Nb	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
キク目	キク科	キク属	キク	Nb	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	プロッコリー
キク目	キク科	シュンギク属	シュンギク	Nb	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ナス目	ナス科	ナス属	Micro-Tom	Nb	マメ目	マメ科	ソラマメ属	ソラマメ
ナス目	ナス科	ナス属	Micro-Tom	Nb	キク目	キク科	キク属	キク
ナス目	ナス科	ナス属	Micro-Tom	ペチュニア	キク目	キク科	キク属	キク
ナス目	ナス科	ツクバネアサガオ属	ペチュニア	Nb	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	カリフラワー
ナス目	ナス科	ツクバネアサガオ属	ペチュニア	Nb	アブラナ目	アブラナ科	アブラナ属	プロッコリー
ナス目	ナス科	ナス属	Micro-Tom	Nb	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)
ナス目	ナス科	ナス属	トマト ポンテローザ	Nb	アブラナ目	アブラナ科	シロイヌナズナ属	シロイヌナズナ (Col)

【表 1 1】

穂木				中間台木	台木			
目	科	属	種		目	科	属	種
リンドウ目	キョウチクトウ科	ニチニチソウ属	ニチニチソウ	コシオガマ	ウリ目	ウリ科	キュウリ属	キュウリ

## 【0109】

表に示すように、*Nicotiana benthamiana*などのナス科タバコ属に属する植物は、互いに異なる科に属するなど、接木和合性に劣ると考えられる植物の植物組織をそれぞれ自らの植物組織を介して接木成立できることがわかった。以上の結果から、ある種の植物組織は、穂木/台木構成の接木によって2以上の植物との接木和合性を肯定できる場合に、当該植物組織を中間台木として用いることで、本来、接木和合性に劣る植物の植物組織であっても接木成立させることができることがわかった。

## 【実施例3】

## 【0110】

(アポプラスチック輸送の確認)

実施例3～9の試験は、*Nicotiana benthamiana*穂木・シロイヌナズナ台木の接木に対して、接木処置後3週目の時点で行った。台木の花茎を根元付近で真横に切断して、台木の花茎ごと穂木を切り取り、台木側の切断面に縦の切れ込みを2～3カ所入れ、1.5 mLチューブに分注しておいた0.5% Toluidine Blue水溶液に切断した茎を挿し、吸水させた。3～6時間後に接木の接合部及び穂木の茎(接木部位に近い領域)について、それぞれ縦断あるいは横断徒手切片を作製して、実体顕微鏡あるいは光学顕微鏡を用いてToluidine Blue試薬の青色が穂木側の道管要素で観察されることを確認・撮影した。結果を図4に示す。図4のAには、接木模式図を示し、B及びCには、台木にトルイジンブルーを吸わせた結果の縦断面及び横断面の観察結果を示す。

## 【0111】

図3に示すように、インクが台木から穂木へと輸送されることがわかった。インクは道管を介して輸送されていることがわかった。

## 【実施例4】

## 【0112】

(シンプラスチック輸送の確認1)

台木の成熟葉(ロゼット葉)5～10枚及び接木部位の下に位置する茎生葉1枚に、シンプラスチック輸送のトレーサーである0.5 mg/mLの5(6)-carboxyfluorescein diacetate (CFDA)を投与した。CFDAのストック溶液は、アセトンを用いて50 mg/mLで調整し、-20℃で保存しているものを実験に使用した。Carboxyfluoresceinの局在パターンを調べる際、道管を経由するアポプラスチック輸送のパターンと簡便に区別するため、アポプラスチック輸送で運ばれるpropidium iodide (PI)もCFDAと同時に投与した。PIは、最終1 mg/mLとなるようにCFDA溶液に加えた。

PCRチューブの先端を切り離したものを器として複数揃え、それぞれに50 $\mu$ L程度のCFDA溶液をアプライしたものを用意した。葉の先端に5mm程度の縦の切れ込みを3~5つ入れ、用意していたCFDA溶液入り器を切れ込みが溶液にさらされるように配置した。少量のCFDA溶液が蒸発するのを防ぐため、接木苗全体をプラスチックバックで覆った。一晚投与を続け、翌日に穂木の頂端領域(成長点から1~2cm)の横断徒手切片を作製して、共焦点顕微鏡による観察・撮影を行った。結果を図5に示す。Aは、接木部位の模式図を示し、Bは穂木の横断切片(接木部位から遠位である頂端領域)の観察結果を示す。

【0113】

図5に示すように、台木の成熟葉に付与したトレーサーは、穂木の篩管から色素が検出された。この結果から、接木部位を介してシンプラスティック輸送が生じていることがわかった。

10

【実施例5】

【0114】

(シンプラスティック輸送の確認2)

mRNAの移動の検出は、RT-PCR法により行った。シロイヌナズナと*Nicotiana benthamiana*を区別するシロイヌナズナに得意的なプライマーを用意した。ポジティブコントロールとして接木をしていないシロイヌナズナ、ネガティブコントロールとして接木をしていない*Nicotiana benthamiana*、そしてシロイヌナズナ台木に接木した*Nicotiana benthamiana*穂木を開始試料として解析を行った。それぞれの試料からTRIzol試薬(Life Technologies)を用いてトータルRNAを抽出し、SuperScriptIII(Life Technologies)を用いてcDNAを合成し、そちらをRT-PCRの鋳型とした。PCR反応は40サイクル行つか、そちらで増幅が確認されないものについては、1st PCR産物の一部を鋳型に2nd PCRをさらに30サイクル行った。PCR産物はアガロースゲルを用いて電気泳動し、ゲルをエチジウムブロマイド染色してバンドパターンを確認した。*Nicotiana benthamiana*穂木の試料から増幅されたバンドは、ゲルを切り出して精製し、プラスミドベクターにクローニングして、シークエンス反応によりシロイヌナズナの配列が増幅されたことを確認した。結果を図6に示す。図中、シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*, At)は、接木をしていないシロイヌナズナ、Nbは接木をしていない*Nicotiana benthamiana*、Nb/Atは、シロイヌナズナ台木上に接木した*Nicotiana benthamiana*穂木を示す。

20

30

【0115】

図6に示すように、Nb/At接木の穂木からAt由来の移動性のmRNAを検出した。この結果から、mRNAが接木部位を超えて台木から穂木へとシンプラスティック輸送されていることがわかった。

【実施例6】

【0116】

(シンプラスティック輸送の確認3)

GFP蛋白質の移動の検出は、シロイヌナズナGFP過剰発現体(35S:GFP)を台木に*Nicotiana benthamiana*を穂木として接木し、接木接合部の横断徒手切片を作製して、共焦点顕微鏡を用いた観察・撮影により行った。結果を図7に示す。Aは接木部位の模式図であり、Bは接木部位の横断切片の観察結果を示し、Cは、Bにおける点線部位の拡大観察結果を示す。

40

【0117】

図7に示すように、GFPがシンプラスティック輸送により接木部位を超えて台木から穂木へと移送されることがわかった。

【実施例7】

【0118】

(道管要素の組織学的観察)

接木部位を切り出し、試料を固定液(2%paraformaldehyde, 2%glutaraldehyde, 0.05M cacodylate buffer pH7.4)に浸した状態で、実体顕微鏡のもとで数百 $\mu$ m厚の

50



横断徒手切片を作製した。続いて、同じ組成の固定液中で脱気を数回繰り返した後、4で一晩固定した。翌日、0.05 M cacodylate bufferで1回につき30分の洗浄を3回行い、その後に別の固定液(2% osmium tetroxide, 0.05 M cacodylate buffer pH 7.4)で4、3時間の固定を行った。試料は、エタノール処理によって脱水した後、Quetol-651樹脂(Nisshin EM)に包埋した。マイクロトームにより150 μm厚の切片を作製し、0.5% Toluidine blue水溶液で染色して、光学顕微鏡で観察・撮影を行った。結果を図8に示す。Aは、接木部位の模式図であって点線は観察箇所を示し、Bは、接木部位の縦断切片の観察結果を示し、C、Dは、それぞれB中の点線部位の拡大観察結果を示す。

【0119】

図8に示すように、穂木中の発達した柔組織内に、道管要素がランダムな方向に形成されていることがわかった。

【実施例8】

【0120】

(篩管要素の組織学的観察)

シロイヌナズナ細胞膜局在型tdTomato発現体(RPS5A:tdTomato-LTI6b)を台木にNicotiana benthamianaを穂木として接木し、接木接合部の縦断徒手切片を作製し、切片を0.1% aniline blue水溶液で染色した後、共焦点顕微鏡を用いて観察・撮影を行った。結果を図9に示す。Aは、接木部位の模式図であって点線は観察箇所を示し、Bは、接木部位の縦断像を示し、C及びDは、他の縦断像を示す。

【0121】

図9に示すように、アニリンブルー染色により篩板に蓄積するカロースを染色するため、篩管の存在に応じて篩管を構成する個々の細胞の末端が染色されて連続した輝点が観察された。これらの結果から、穂木の発達した柔組織内に篩管要素がランダムな方向に形成されていることがわかった。

【実施例9】

【0122】

(原形質連絡のde novoな形成の細胞形態学的な観察)

試料の樹脂ブロックの作製は、道管要素の組織学的観察の場合と同様に行い、ウルトラマイクロトームを用いて120 nm厚の切片を作製して、切片を銅グリッド上にマウントした。そちらを2% uranyl acetate溶液で室温にて15分間染色し、蒸留水での洗浄後、Lead stain solution(Sigma-Aldrich)を用いて室温、3分間の二次染色を行った。試料の観察・撮影は、電子顕微鏡を用いて行った。接木の境界領域は、シロイヌナズナ及びタバコのそれぞれの植物に特徴的な形態を持つプラスチドを指標に同定した。結果を、図10に示す。Aは接木部位の模式図であって点線は観察箇所を示し、Bは、シロイヌナズナのプラスチドを示し、Cは、タバコのプラスチドを示し、Dはシロイヌナズナ及びタバコの境界領域の拡大像を示し、Eは、シロイヌナズナ及びタバコの別の境界領域の拡大像を示す。

【0123】

図10に示すように、接木部位において、シロイヌナズナ及びタバコの原形質連絡が新生されていることがわかった。

【0124】

以上の結果から、ナス科(タバコ属)に属する植物やアブラナ科(シロイヌナズナ属)に属する植物においては、その接木部位において柔組織が発達して合着し、柔組織内には篩管要素及び道管要素がその配向は乱れているものの発達し、細胞レベルでは原形質連絡も新たに形成されており、結果としてアポプラスティック及びシンプラスティックな輸送が果たされ、従来にない形態の接木部位が形成されていることがわかった。こうした互いの柔組織を媒介した輸送及び連絡により異科植物など一般に接木和合性に劣る植物間での接木成立を促進しているものと考えられた。

【実施例10】

10

20

30

40

50

## 【 0 1 2 5 】

実施例 1 0 及び 1 1 の試験は、*Nicotiana benthamiana* 穂木・シダ植物（ヤブソテツ）台木の接木に対して、接木処置後 1 カ月の時点で行った。接木部位を切り出し、試料を固定液（2 % paraformaldehyde, 2 % glutaraldehyde, 0.05 M cacodylate buffer pH 7.4）に浸した状態で、実体顕微鏡のもとで数百  $\mu\text{m}$  厚の横断徒手切片を作製した。続いて、同じ組成の固定液中で脱気を数回繰り返した後、4℃で一晩固定した。翌日、0.05 M cacodylate buffer で 1 回につき 30 分の洗浄を 3 回行い、その後別の固定液（2 % osmium tetroxide, 0.05 M cacodylate buffer pH 7.4）で 4℃、3 時間の固定を行った。試料は、エタノール処理によって脱水した後、Quetol-651 樹脂（Nisshin EM）に包埋した。ミクロトームにより 150  $\mu\text{m}$  厚の切片を作製し、0.5 % Toluidine blue 水溶液で染色して、光学顕微鏡で観察・撮影を行った。結果を図 1 1 に示す。

10

図 1 1 に示されるように、タバコ属植物の組織がシダ植物の維管束に癒着している様子が観察された。

## 【 実施例 1 1 】

## 【 0 1 2 6 】

台木シダ植物（ヤブソテツ）を切断し、切断した葉柄に、シンプラスティック輸送のトレーサーである 0.1 mg/mL の 5(6)-carboxyfluorescein diacetate (CFDA) を投与した。比較として、無処理の台木シダ植物（ヤブソテツ）に接ぎ木した *N. benthamiana* 穂木の茎を調べた。CFDA のストック溶液は、アセトンを用いて 50 mg/mL で調整し、-20℃で保存しているものを実験に使用した。切断した葉柄の先端に 5 mm 程度の縦の切れ込みを 2~3 つ入れ、用意していた CFDA 溶液入りの 1.5 mL チューブを切れ込みが溶液にさらされるように配置した。少量の CFDA 溶液が蒸発するのを防ぐため、溶液入りの 1.5 mL チューブの口をパラフィルムで覆った。8 時間投与を続け、穂木の頂端領域の横断徒手切片を作製して、蛍光顕微鏡による観察・撮影を行った。結果を図 1 2 に示す。図 1 2 A は、台木に CFDA を投与しなかった穂木の横断切片を示し、図 1 2 B は台木に CFDA を投与した穂木の横断切片の観察結果を示す。

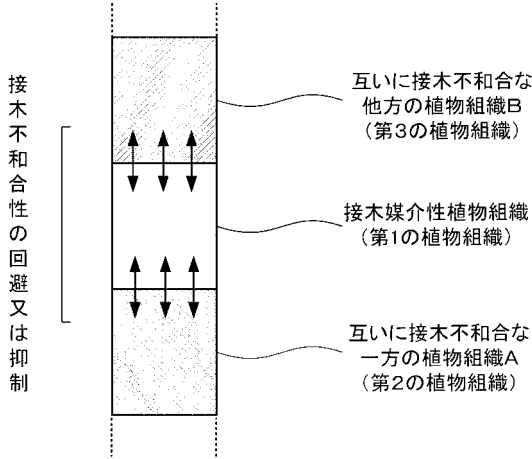
20

図 1 2 に示されるように、台木であるシダ植物に注入したトレーサーが、穂木であるタバコ属植物中で検出された。このことから、シダ植物とタバコ属植物との間で、接木部位を介してシンプラスティック輸送が生じていることが分かった。

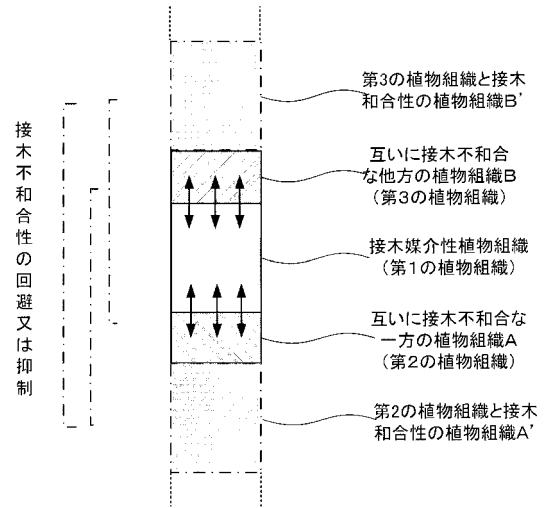
以上の結果から、ナス科（タバコ属）に属する植物は、これとは進化上遥かに遠いシダ植物との間でも、組織の癒着、シンプラスティック輸送が起こり、接木が成立することが示された。このことから、シダ植物よりも進化上近い植物であればどのような植物であっても、ナス科（タバコ属）に属する植物と接木できることが示唆された。

30

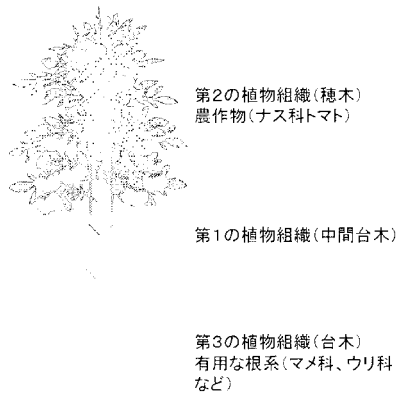
【図1A】



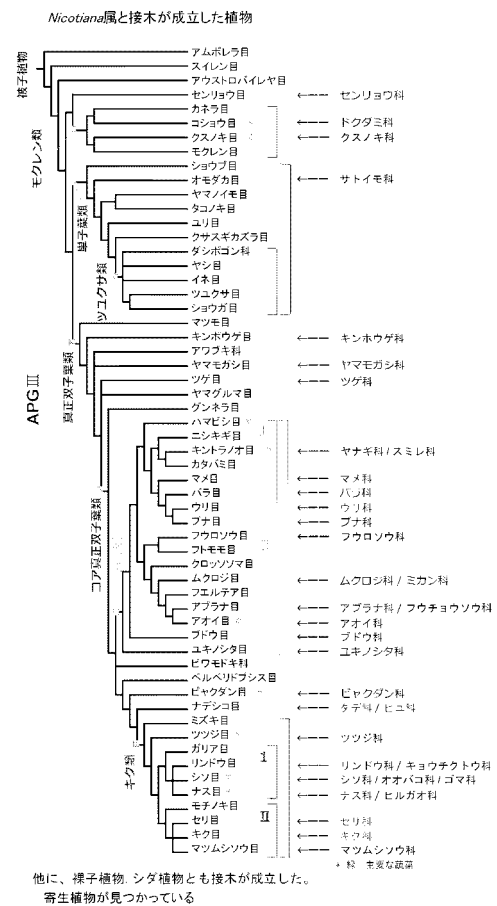
【図1B】



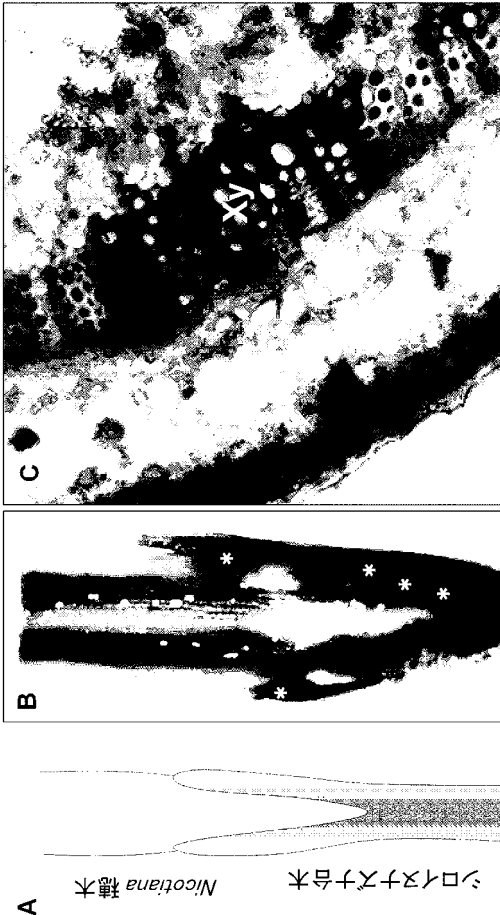
【図2】



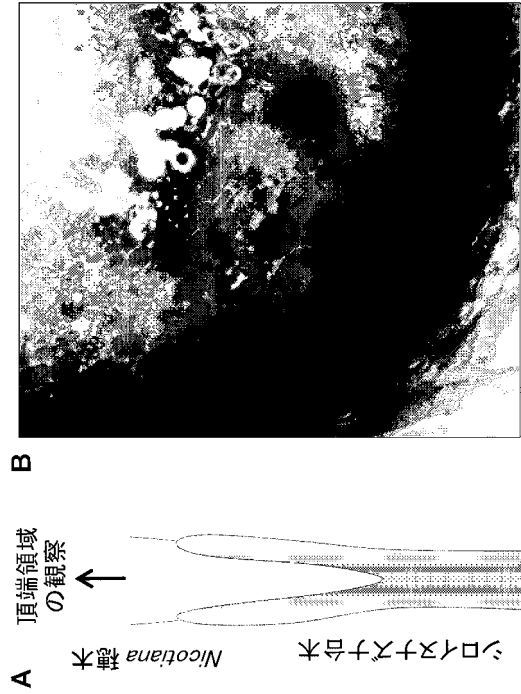
【図3】



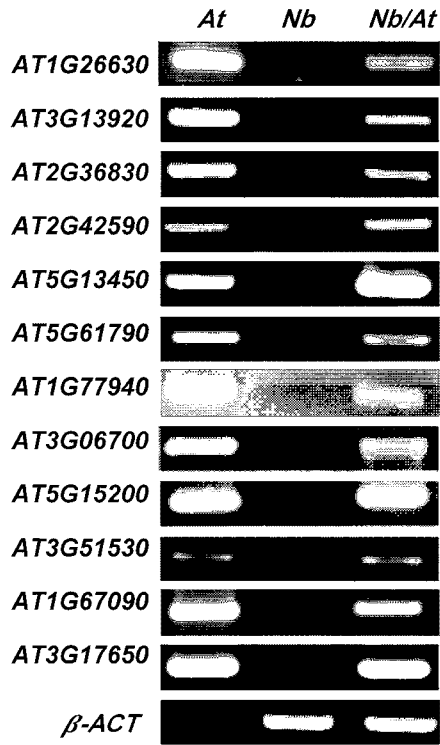
【 図 4 】



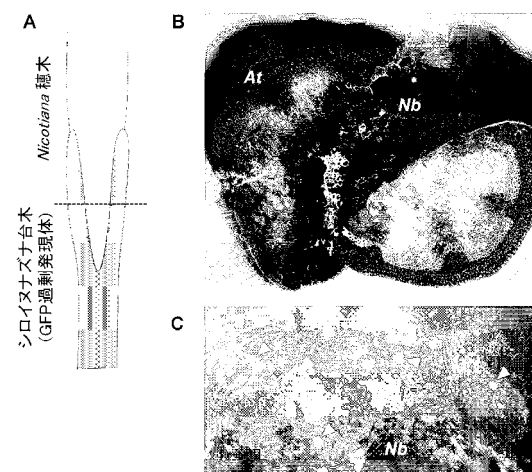
【 図 5 】



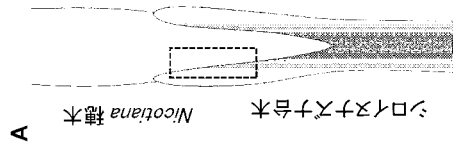
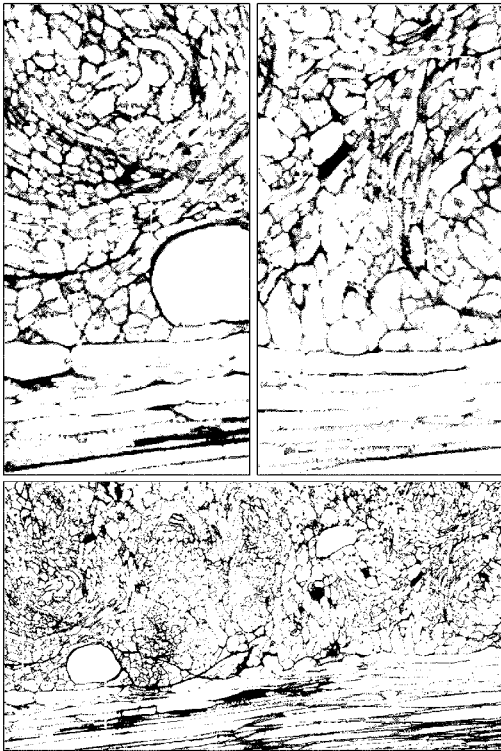
【 図 6 】



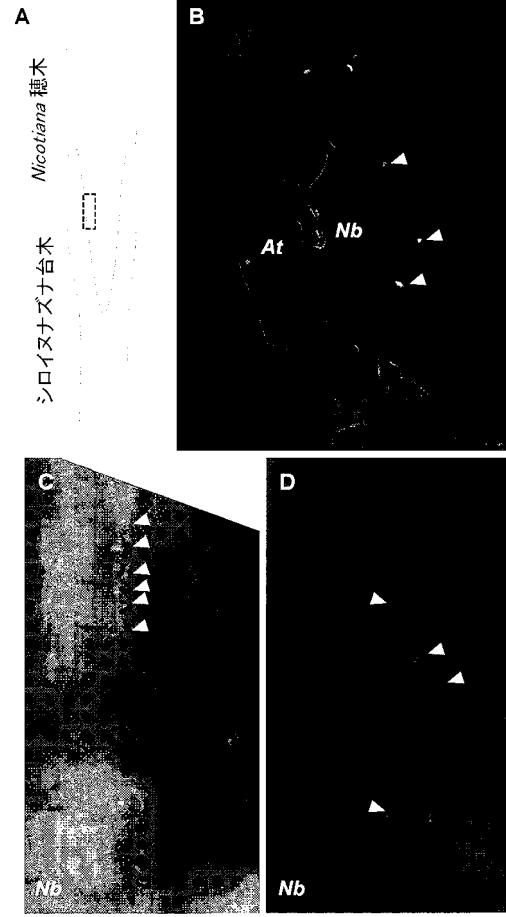
【 図 7 】



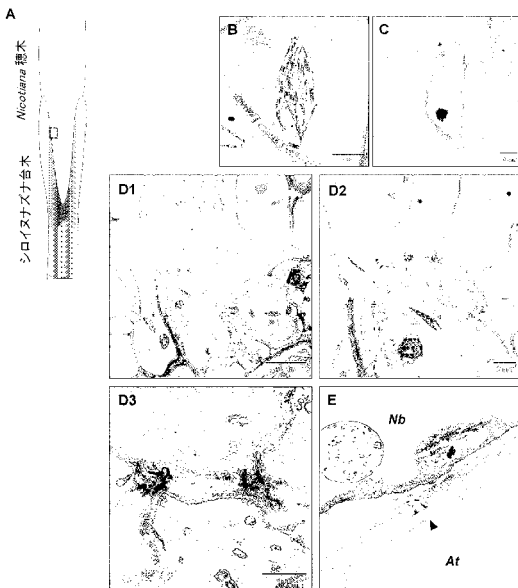
【 図 8 】



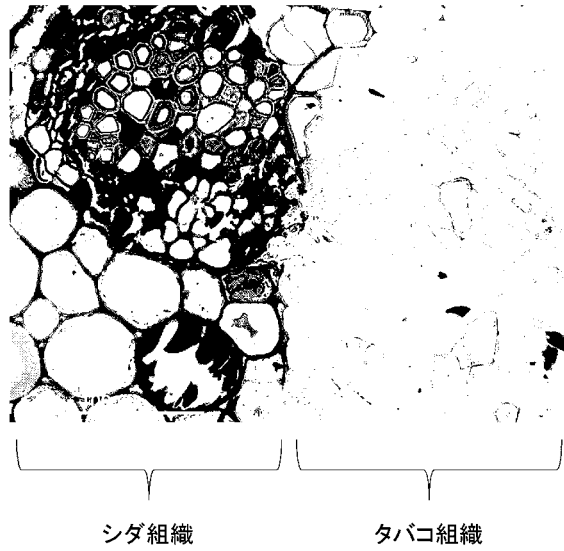
【 図 9 】



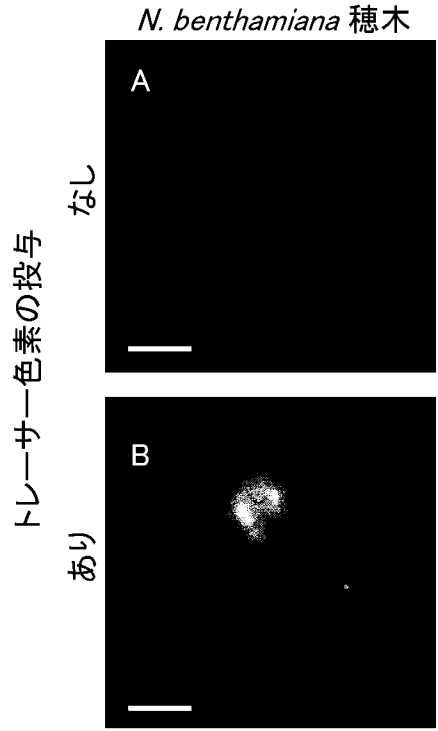
【 図 10 】



【 図 11 】



【 図 1 2 】



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2015/079118
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> A01G1/06(2006.01)i, A01H5/00(2006.01)i, G01N33/46(2006.01)i  According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A01G1/06, A01H5/00, G01N33/46  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2015 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2015 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2015  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2-42920 A (Hiroki SATO), 13 February 1990 (13.02.1990), entire text (Family: none)	1-16
A	JP 2007-135572 A (Sadaichi SATO), 07 June 2007 (07.06.2007), entire text; all drawings (Family: none)	1-16
A	CN 101743820 A (Qunying DU), 23 June 2010 (23.06.2010), entire text; all drawings (Family: none)	1-16
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 30 October 2015 (30.10.15)		Date of mailing of the international search report 10 November 2015 (10.11.15)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer  Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2015/079118

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 6-253680 A (Yanmar Agricultural Equipment Co., Ltd.), 13 September 1994 (13.09.1994), entire text; all drawings (Family: none)	1-16
A	JP 7-143820 A (Yanmar Agricultural Equipment Co., Ltd.), 06 June 1995 (06.06.1995), entire text; all drawings (Family: none)	1-16



国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2015/079118									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A01G1/06(2006.01)i, A01H5/00(2006.01)i, G01N33/46(2006.01)i											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A01G1/06, A01H5/00, G01N33/46											
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2015年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2015年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2015年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2015年	日本国実用新案登録公報	1996-2015年	日本国登録実用新案公報	1994-2015年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2015年										
日本国実用新案登録公報	1996-2015年										
日本国登録実用新案公報	1994-2015年										
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)											
C. 関連すると認められる文献											
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号									
A	JP 2-42920 A (佐藤 宏喜) 1990.02.13, 全文 (ファミリーなし)	1-16									
A	JP 2007-135572 A (佐藤 貞一) 2007.06.07, 全文, 全図 (ファミリーなし)	1-16									
A	CN 101743820 A (杜群英) 2010.06.23, 全文, 全図 (ファミリーなし)	1-16									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。											
* 引用文献のカテゴリー		の日の後に公表された文献									
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの		「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの									
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの		「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの									
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発明日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)		「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの									
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献									
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願											
国際調査を完了した日 30.10.2015		国際調査報告の発送日 10.11.2015									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 門 良成	2B 2907								
		電話番号 03-3581-1101 内線 3237									

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2015/079118
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 6-253680 A (ヤンマー農機株式会社) 1994.09.13, 全文, 全図 (ファミリーなし)	1-16
A	JP 7-143820 A (ヤンマー農機株式会社) 1995.06.06, 全文, 全図 (ファミリーなし)	1-16

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(出願人による申告)平成22年度、独立行政法人科学技術振興機構、戦略的創造研究事業「東山ライブホロニクスプロジェクト」委託研究、産業技術力強化法第19条の適用を受ける特許出願

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。