

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2010年3月25日(25.03.2010)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2010/032765 A1

- (51) 国際特許分類:

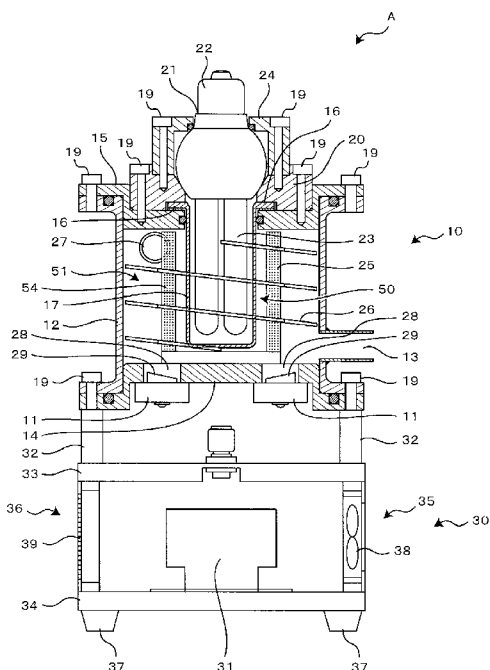
A01N 59/00 (2006.01)	A01P 3/00 (2006.01)	
A01G 7/00 (2006.01)	C02F 1/30 (2006.01)	
A01G 7/06 (2006.01)	C02F 1/32 (2006.01)	
A01N 25/02 (2006.01)	C02F 1/36 (2006.01)	
A01N 59/06 (2006.01)	C02F 1/72 (2006.01)	
A01N 59/16 (2006.01)	C02F 1/74 (2006.01)	
A01N 59/20 (2006.01)	C02F 1/78 (2006.01)	
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2009/066198
- (22) 国際出願日: 2009年9月16日(16.09.2009)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2008-235861 2008年9月16日(16.09.2008) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 財団法人北九州産業学術推進機構(KITAKYUSHU FOUNDATION FOR THE ADVANCEMENT OF INDUSTRY, SCIENCE AND TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒8080135 福岡県北九州市若松区ひびきの2-1 Fukuoka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 田中健一郎 (TANAKA Kenichiro) [JP/JP]; 〒8070871 福岡県北九州市八幡西区浅川学園台4-11-2 Fukuoka (JP). 田中里香 (TANAKA Licca) [JP/JP]; 〒8070871 福岡県北九州市八幡西区浅川学園台4-11-2 Fukuoka (JP). 河野智謙 (KAWANO Tomonori) [JP/JP]; 〒8070876 福岡県北九州市八幡西区浅川日の峯4-13-13 Fukuoka (JP).
- (74) 代理人: 松尾憲一郎 (MATSUO Kenichiro); 〒8100042 福岡県福岡市中央区赤坂1丁目10番17号 しんくみ赤坂ビル7階 Fukuoka (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, 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, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

[続葉有]

(54) Title: WATER THAT EXPRESSES PATHOGEN-RESISTANCE GENES (PR GENE CLUSTERS) TO ENCODE PLANT IMMUNOPROTEINS, A METHOD OF PREVENTING PLANT DISEASES USING THE WATER, AND A DEVICE FOR PRODUCING THE WATER

(54) 発明の名称: 植物免疫賦活蛋白質をコードする病原抵抗性遺伝子 (PR 遺伝子群) を発現させる水、及び同水を用いた植物病害の予防方法、並びに同水の生成装置

[図1]



(57) Abstract: Disclosed is a method of preventing plant diseases that is able to bring about a redox response inside plant cells to induce the expression of pathogen-resistance genes, whereby disease-resistant plants can be raised without the risk of leaving residual ingredients in the soil. By bringing water that contains reactive oxygen species and allows them to be stored and to function for long periods into contact with plants, and by inducing the pathogen-resistance genes possessed by the aforementioned plants, the water containing reactive oxygen is absorbed into the plants to prevent diseases in the aforementioned plants.

(57) 要約: 【課題】植物体細胞内でレドックス反応を引き起こし、病原抵抗性遺伝子発現を誘導させることができ、また、土壌に残留成分を残すおそれがなく、しかも、病気に強い植物を育成することができる植物病害の予防方法を提案する。【解決手段】植物に、活性酸素種を含有し長時間保持機能させることのできる水を接触させて、前記植物が有する病原抵抗性遺伝子を誘導することにより、前記植物の病害を予防することとしたため、活性酸素を含有する水に植物に吸収させることとした。

WO 2010/032765 A1



(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ,

CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：

植物免疫賦活蛋白質をコードする病原抵抗性遺伝子（PR遺伝子群）を発現させる水、及び同水を用いた植物病害の予防方法、並びに同水の生成装置

技術分野

[0001] 本発明は、植物免疫賦活蛋白質をコードする病原抵抗性遺伝子（PR遺伝子群）を発現させる水、及び同水を用いた植物病害の予防方法、並びに同水の生成装置に関する。

背景技術

[0002] 従来、植物の病害を防止するために、植物がもともと有している免疫様の防御機構を利用する手段が知られている。

[0003] すなわち、植物は病原菌等の侵入に対して、自身の抵抗性を向上させる免疫様の防御機構を有しており、この防御機構を惹起させる免疫賦活物質を発現させることで、植物の病害耐性を向上させる。

[0004] この免疫賦活物質を発現させるには、例えば、米国DuPont社のbenzo(1,2,3)thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester (BTH) や、明治製菓のプロベナゾール（商品名：オリゼメート）が用いられている（例えば、特許文献1参照。）。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：特開2006-327995号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] ところが、上記従来の植物病害の予防方法では、薬剤を用いているがゆえに、大量に使用される農繁期においては排水路および河川に薬液が溶出し規制基準を上回ることが懸念されている。さらに環境に対する負荷の懸念例と

して、市販されているプロベナゾール水和剤（ホクホー側条オリゼメート顆粒水和剤）のデータシートには、魚毒性（コイのLC50値（48時間）8 ppm）の注意が喚起されている。

[0007] 一方、本発明者らは、鋭意研究により、活性酸素種が植物の病害耐性遺伝子の発現を誘導する現象を見出した。それゆえ、これらの活性酸素種を植物に接触させれば、植物の病害耐性を向上させることができるものと考えられる。

[0008] しかし、植物への接触手段として、活性酸素種を気体状や霧状として接触させる方法では、活性酸素種が空気と接触するため、大気中の有機物や浮遊細菌類へ作用し消費されるため、作用対象物である植物体に到達する活性酸素種の濃度が低値とのなってしまう、作用発現の為には極めて高い初期濃度の活性酸素種が必要となり、前述の薬物と同様に環境への影響が懸念されることとなる。

[0009] そこで、活性酸素種を水に含ませた状態とし、しかも水中で可及的長時間活性酸素種を維持させ、この水を植物に接触させるのが理想的であると考えられる。

[0010] ところが、これまでこのような活性酸素種を含む水（以下、「活性酸素含有水」という。）を恒常的に生成する方法は確立されず、この水を植物の病害耐性向上に用いることは検討されてこなかった。

[0011] 本発明は、斯かる事情に鑑みてなされたものであって、薬物を有効成分として使用せず、植物体細胞内でレドックス反応を引き起こし、病原抵抗性遺伝子発現を誘導させることのできる活性酸素種を含む水、及び同水を用いた植物病害の予防方法、並びに同水の生成装置を提供する。

課題を解決するための手段

[0012] 上記従来の課題を解決するために、請求項1に係る本発明では、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシルラジカル、一重項酸素、含酸素有機ラジカル種の中から選択された時間的に挙動の異なる第1の活性酸素種と第2の活性酸素種とを含有し、これら第1及び第2の活性酸素種は、一方は

他方に対して反応性が低く、且つ、長時間保持機能させることができるものであり、同活性酸素種のもつ酸化還元力を植物体の細胞外より植物細胞内へ到達させることで、前記植物細胞内でレドックス反応を惹起し、病原抵抗性遺伝子を発現させる活性酸素含有水とした。

[0013] また、請求項 2 に係る本発明では、植物病害の予防方法において、植物に、活性酸素種を含有し長時間保持機能させることのできる水を接触させて、前記植物が有する病原抵抗性遺伝子の発現を誘導し、全身獲得抵抗性を発現させることにより、前記植物の病害を予防することとした。

[0014] また、請求項 3 に係る本発明では、請求項 2 に記載の植物病害の予防方法において、前記活性酸素含有水は、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシルラジカル、一重項酸素、含酸素有機ラジカルのうち少なくとも一つの活性酸素を含有し、植物接触手段により植物体の細胞外より植物細胞内へ活性酸素種のもつ酸化還元力を到達させ、吸収された水により植物細胞内で惹起されたレドックス反応により病原抵抗性遺伝子の発現を誘導させることにより、前記植物の病害を予防することに特徴を有する。

[0015] また、請求項 4 に係る本発明では、請求項 2 に記載の植物病害の予防方法において、前記活性酸素含有水は、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシルラジカル、一重項酸素、含酸素有機ラジカル種の中から選択された時間的に挙動の異なる第 1 の活性酸素種と第 2 の活性酸素種とを含有し、これら第 1 及び第 2 の活性酸素種は、一方は他方に対して反応性が低く、且つ、長時間保持機能させることができ、さらに、前記病害耐性遺伝子を誘導するにあたり、直接的に病原微生物に作用できる第 1 の活性酸素種を速効させ、次いで、植物での病原抵抗性発現を誘導できる第 2 の活性酸素種を遅効させながら、前記植物の病害を予防することに特徴を有する。

[0016] また、請求項 5 に係る本発明では、請求項 2～4 に記載の植物病害の予防方法において、前記活性酸素種は、水に浸漬した触媒体に、紫外線、超音波振動、可視光線、マイクロ波の中の少なくともいずれか 1 つを付与して生じさせたものであることに特徴を有する。

- [0017] また、請求項 6 に係る本発明では、請求項 5 に記載の植物病害の予防方法において、前記水は、前記活性酸素種の前駆物質となる酸素ガス、オゾンガス、塩素ガス、一酸化窒素ガス、アンモニアガスの中の少なくともいずれか 1 つを溶存させていることに特徴を有する。
- [0018] また、請求項 7 に係る本発明では、請求項 5 または請求項 6 に記載の植物病害の予防方法において、前記触媒体は、酸化チタン(TiO_2)、アルミナ(Al_2O_3)、アルマイト、酸化マグネシウム、水酸化マグネシウム、マグネタイト(Fe_3O_4)、酸化亜鉛、酸化タングステン、チタン酸バリウム、チタン酸ストロンチウム、チタン酸ナトリウム、二酸化ジルコニウム、酸化タングステン、水酸化タングステン化合物、 α - Fe_2O_3 、硫化カドミウム、硫化亜鉛、白金、銅、パラジウムの金属酸化イオンおよび金属水酸化イオンにより構成された金属、中の少なくともいずれか 1 つを含有することに特徴を有する。
- [0019] また、請求項 8 に係る本発明では、請求項 5 ~ 7 に記載の植物病害の予防方法において、前記触媒体は、粉状または粒子状または繊維状の形状を有していることに特徴を有する。
- [0020] また、請求項 9 に係る本発明では、請求項 2 ~ 7 に記載の植物病害の予防方法において、前記活性酸素含有水は、紫外線の光源を水中に配設し、しかもその紫外線光源の周囲を、一定の間隙を保持して、繊維体よりなる光触媒体で囲繞することにより、水流を、紫外線光源と光触媒体との間隙を通過して上昇または下降する第 1 水流と、光触媒体の外周を螺旋状に通過して上昇または下降する第 2 水流と、光触媒体の組織中に流出入する第 3 水流とより構成した活性酸素含有水生成装置にて生成したものであることに特徴を有する。
- [0021] また、請求項 10 に係る本発明では、請求項 2 ~ 9 に記載の植物病害の予防方法に使用する活性酸素含有水の生成装置であって、水供給口と活性酸素含有水取出し口とを備えた容器内に配設された紫外線の光源と、同紫外線光源の周囲を一定の間隙を保持して囲繞する、繊維体にて形成された光触媒体と、を備え、容器内に供給された水流を、紫外線光源と光触媒体との間隙を

通過して上昇または下降する第1水流と、光触媒体の外周を螺旋状に通過して上昇または下降する第2水流と、光触媒体の組織中に流出入する第3水流とより構成したことに特徴を有する。

[0022] また、請求項11に係る本発明では、請求項2～9に記載の植物病害の予防方法に使用する活性酸素含有水の生成装置であって、紫外線に対して透明な素材で形成され、水供給口と出水口とを備え、内部に触媒体を収容した容器と、前記水供給口から流入する水の前記容器内での流動方向に超音波を照射する超音波照射部と、前記容器の周囲に配設され、前記触媒体に対して前記容器の外部から紫外線を照射する紫外線照射部と、を備え、前記触媒体の少なくとも一部を、前記超音波照射部から照射される超音波の照射領域と、前記紫外線照射部から照射される紫外線の照射領域とが重なる領域に配設したことに特徴を有する。

[0023] また、請求項12に係る本発明では、前記水供給口から流入した水が前記出水口に向かう際に、前記容器内で流動する方向に対して直交する方向へマイクロ波を照射するマイクロ波照射部を更に備え、前記触媒体の少なくとも一部を、前記マイクロ波照射部から照射されるマイクロ波の照射領域と、前記超音波照射部から照射される超音波の照射領域と、前記紫外線照射部から照射される紫外線の照射領域とが重なる領域に配設したことに特徴を有する。

発明の効果

[0024] 請求項1に係る本発明によれば、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシルラジカル、一重項酸素、含酸素有機ラジカル種の中から選択された時間的に挙動の異なる第1の活性酸素種と第2の活性酸素種とを含有し、これら第1及び第2の活性酸素種は、一方は他方に対して反応性が低く、且つ、長時間保持機能させることができるものであり、同活性酸素種のもつ酸化還元力を植物体の細胞外より植物細胞内へ到達させることで、前記植物細胞内でレドックス反応を惹起し、病原抵抗性遺伝子を発現させる活性酸素含有水としたため、薬物を有効成分として使用せず、植物体細胞内でレドック

ス反応を引き起こし、病原抵抗性遺伝子発現を誘導させることのできる活性酸素種を含む水を提供することができる。

[0025] また、請求項 2 に記載の植物病害の予防方法では、植物に、活性酸素種を含有し長時間保持機能させることのできる水を接触させて、前記植物が有する病原抵抗性遺伝子の発現を誘導し、全身獲得抵抗性を発現させることにより、前記植物の病害を予防することとしたため、活性酸素種を含有する水を植物に吸収させることにより、植物体細胞内でレドックス反応を引き起こし、病原抵抗性遺伝子の発現を誘導させることができ、また、土壌に残留成分を残すおそれがなく、しかも、病気に強い植物を育成することができる。すなわち、薬物を有効成分として使用せず、植物体細胞内でレドックス反応を引き起こし、病原抵抗性遺伝子発現を誘導させることのできる活性酸素種を含む水を提供することができる。

[0026] また、請求項 3 に記載の植物病害の予防方法では、前記活性酸素含有水は、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシルラジカル、一重項酸素、含酸素有機ラジカルのうち少なくとも一つの活性酸素を含有し、植物接触手段により植物体の細胞外より植物細胞内へ活性酸素種のもつ酸化還元力を到達させ、吸収された水により植物細胞内で惹起されたレドックス反応により病原抵抗性遺伝子の発現を誘導させることとしたため、様々な栽培形態において、病気に強い植物を育成することができる。

[0027] また、請求項 4 に記載の植物病害の予防方法では、前記活性酸素種を含有し、長時間保持機能させることのできる水は、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシルラジカル、一重項酸素、含酸素有機ラジカル種の中から選択された第 1 の活性酸素種と第 2 の活性酸素種とを含有し、これら第 1 及び第 2 の活性酸素種は、一方は他方に対して反応性が低く、且つ、長時間保持機能させることができ、さらに、前記病害耐性遺伝子を誘導するにあたり、第 1 の活性酸素種を短時間で速効させ、次いで、第 2 の活性酸素種を遅効させながら前記植物の病害を予防することとしたため、病原抵抗性遺伝子を誘導するにあたり、活性酸素種の感受性の高い植物には第 1 の活性酸素種

を速効させて第2の活性酸素種による障害を防止すると共に、活性酸素種の感受性が低い植物には、第2の活性酸素種によって病原抵抗性遺伝子を持続的に誘導することができ、様々な植物に対して確実に病原抵抗性遺伝子を発現させることができる。また、病原微生物に直接作用する必要の無い植物の病原抵抗性誘導過程（予防段階）においては、第2の遅効性・緩効性の活性酸素種の効果が期待でき、予防段階を過ぎて病原微生物による感染が進行した植物体に対しては、病原微生物の直接的な排除を目的に第1の活性酸素種を選択的に利用することが可能である。

- [0028] また、請求項5に記載の植物病害の予防方法では、前記活性酸素種は、水に浸漬した触媒体に、紫外線、超音波振動、可視光線、マイクロ波の中の少なくともいずれか1つを付与して生じさせたものとしたため、触媒体から高効率で活性酸素種を生成させることができる。
- [0029] また、請求項6に記載の植物病害の予防方法では、前記水は、前記活性酸素種の前駆物質となる酸素ガス、オゾンガス、塩素ガス、一酸化窒素ガス、アンモニアガスの中の少なくともいずれか1つを溶存させていることとしたため、活性酸素種の発生効率をさらに高めることができる。
- [0030] また、請求項7に記載の植物病害の予防方法では、前記触媒体は、酸化チタン(TiO_2)、アルミナ(Al_2O_3)、アルマイト、酸化マグネシウム、水酸化マグネシウム、マグネタイト(Fe_3O_4)、酸化亜鉛、酸化タングステン、チタン酸バリウム、チタン酸ストロンチウム、チタン酸ナトリウム、二酸化ジルコニウム、酸化タングステン、水酸化タングステン化合物、 α - Fe_2O_3 、硫化カドミウム、硫化亜鉛、白金、銅、パラジウムの金属酸化イオンおよび金属水酸化イオンにより構成された金属、中の少なくともいずれか1つを含有することとしたため、水中に活性酸素種を確実に生成させることができる。
- [0031] また、請求項8に記載の植物病害の予防方法では、前記触媒体は、粉状または粒子状または繊維状の形状を有したため、水と触媒体との接触面積を増やして、反応効率を向上させることができる。
- [0032] また、請求項9に記載の植物病害の予防方法では、前記活性酸素含有水は

、紫外線の光源を水中に配設し、しかもその紫外線光源の周囲を、一定の間隙を保持して、繊維体よりなる光触媒体で囲繞することにより、水流を、紫外線光源と光触媒体との間隙を通過して上昇または下降する第1水流と、光触媒体の外周を螺旋状に通過して上昇または下降する第2水流と、光触媒体の組織中に流出入する第3水流とより構成した活性酸素含有水生成装置にて生成したため、水に活性酸素種を高効率で含有させることができ、多くの植物に対して活性酸素含有水を供給することができる。

[0033] また、請求項10に係る本発明によれば、請求項2～9に記載の植物病害の予防方法に使用する活性酸素含有水の生成装置であって、水供給口と活性酸素含有水取出し口とを備えた容器内に配設された紫外線の光源と、同紫外線光源の周囲を一定の間隙を保持して囲繞する、繊維体にて形成された光触媒体と、を備え、容器内に供給された水流を、紫外線光源と光触媒体との間隙を通過して上昇または下降する第1水流と、光触媒体の外周を螺旋状に通過して上昇または下降する第2水流と、光触媒体の組織中に流出入する第3水流とより構成したため、薬物を有効成分として使用せず、植物体細胞内でレドックス反応を引き起こし、病原抵抗性遺伝子発現を誘導させることのできる活性酸素種を含む水を効率よく製造することのできる装置を提供することができる。

[0034] また、請求項11に係る本発明によれば、請求項2～9に記載の植物病害の予防方法に使用する活性酸素含有水の生成装置であって、紫外線に対して透明な素材で形成され、水供給口と出水口とを備え、内部に触媒体を収容した容器と、前記水供給口から流入する水の前記容器内での流動方向に超音波を照射する超音波照射部と、前記容器の周囲に配設され、前記触媒体に対して前記容器の外部から紫外線を照射する紫外線照射部と、を備え、前記触媒体の少なくとも一部を、前記超音波照射部から照射される超音波の照射領域と、前記紫外線照射部から照射される紫外線の照射領域とが重なる領域に配設したため、薬物を有効成分として使用せず、植物体細胞内でレドックス反応を引き起こし、病原抵抗性遺伝子発現を誘導させることのできる活性酸素

種を含む水を効率よく製造することのできる装置を提供することができる。

- [0035] また、請求項 1 2 に係る本発明によれば、前記水供給口から流入した水が前記出水口に向かう際に、前記容器内で流動する方向に対して直交する方向へマイクロ波を照射するマイクロ波照射部を更に備え、前記触媒体の少なくとも一部を、前記マイクロ波照射部から照射されるマイクロ波の照射領域と、前記超音波照射部から照射される超音波の照射領域と、前記紫外線照射部から照射される紫外線の照射領域とが重なる領域に配設したため、薬物を有効成分として使用せず、植物体細胞内でレドックス反応を引き起こし、病原抵抗性遺伝子発現を誘導させることのできる活性酸素種を含む水を、さらに効率よく製造することのできる装置を提供することができる。

図面の簡単な説明

- [0036] [図1]本実施形態に係る活性酸素水生成装置の側面視断面図である。
[図2]本実施形態に係る活性酸素水生成装置の平面視断面図である。
[図3]他の実施形態に係る活性酸素水生成装置の模式説明図である。
[図4]スーパーオキシドアニオンラジカルのマーカーである、 KO_2 のスパイクと、本実施形態により生成されたスーパーオキシドアニオンラジカル濃度の変異を示すグラフである。
[図5]一重項酸素の経時変化を示したグラフである。
[図6]オゾン濃度測定結果を示すグラフである。
[図7]初期濃度2.5ppmのオゾン水における試験結果を示したグラフである。
[図8]TironおよびDABCOによる抑制試験の結果を示したグラフである。
[図9]タバコPR1a遺伝子の発現結果を示したアガロース電気泳動写真である。
[図10]トマトPR-1遺伝子の発現結果を示したアガロース電気泳動写真である。
。
[図11]一重項酸素とスーパーオキシドアニオンラジカルのパルス状刺激投与の模式図である。

発明を実施するための形態

- [0037] 本発明は、活性酸素種を含有する水を生成するにあたり、その効果を検証

する過程において見出された発明であり、特異的に活性酸素種を生成させ、適宜供給することにより植物体で病原抵抗性遺伝子発現を誘導し、全身獲得抵抗性（以下SAR）を獲得させうる点に特徴を有するものである。SARは、ウイルス、バクテリア、菌類など様々な病原微生物に対しての防御反応として知られ、全身的にPR遺伝子群を発現することで獲得できる。特に、本実施形態に係る活性酸素含有水中には、長寿命型となっているスーパーオキシドアニオンラジカルが含まれており、植物に対して効果的に病原抵抗性遺伝子発現を誘導する。

[0038] 元来、植物は潜在的に病原菌の侵入に対して、病原菌に対する抵抗性を向上させる免疫様の防御機構を有している。この潜在的な抵抗性を引き出すことのできる免疫賦活物質を発現させる事により、病気の発生を抑制し、引いては殺菌剤などの農薬の使用量を制限させる目的として、直接病原微生物に作用せず、対象植物の病原微生物への抵抗性を高める、病原抵抗性誘導型の薬物による遺伝子発現が試みられ、さらに遺伝子組換えによる病原抵抗性遺伝子過剰発現植物体の作成など分子遺伝学による抵抗性付与型の品種改良が行なわれている。

[0039] その中でサリチル酸 (Salicylic Acid) を起点として植物が免疫能を獲得する経路が解明され (Salicylic Acid as a Defense-Related Plant Hormone, T. Kawano and T. Furuichi, SALICYLIC ACID A Plant Hormone S. Hayat and A. Ahmad 2007 Springer)、スーパーオキシドアニオンラジカル ($O_2^{\cdot-}$) を介して初期反応より病原抵抗性遺伝子を発現させる経路と、その病原抵抗性遺伝子の発現を受け後期反応が起き、植物体全体で免疫能を獲得する全身獲得抵抗性 (Systemic Acquired Resistance, 一般にSARの略称が使用される) が知られている。サリチル酸誘導の全身獲得抵抗性の指標となるのが、酸性PR-1遺伝子 (PR-1a) に代表されるPR遺伝子群の発現である。上記のサリチル酸依存性の抵抗性誘導経路を利用することで、植物病原細菌および植物病原菌類の防除のみならず、殺菌剤等の従来の農薬では防除が不可能であった植物病原性ウイルスによる感染を予防することが可能となる。

- [0040] そのため植物体内でサリチル酸を誘導する薬剤およびサリチル酸の作用を模倣する薬剤が開発され、現在使用されている薬剤としては、主として米国DuPont社のbenzo(1,2,3)thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester (BTH) および明治製菓のプロベナゾール（商品名：オリゼメート）があり、稲いもち病・白葉枯病・もみ枯細菌病・穂枯れの予防薬、きゅうり・レタス・キャベツ・ブロッコリー・はくさい・ねぎ等の細菌性病害に有効として広く利用されている。
- [0041] しかし、薬剤を用いているがゆえに、大量に使用される農繁期においては排水路および河川に薬液が溶出し規制基準を上回ることが懸念されている。さらに環境に対する負荷の懸念例として、市販されているプロベナゾール水和剤（ホクホー側条オリゼメート顆粒水和剤）のデータシートには、魚毒性（コイのLC50値（48時間）8 ppm）の注意が喚起されている。
- [0042] 活性酸素種は広く自然界、生体内に分布し、その強力な酸化力は細胞膜障害を惹起する殺菌能力がある事が知られ、空気清浄機などでその利用が注目されている。本来活性酸素種とは一般にスーパーオキシドアニオンラジカル($O_2^{\cdot-}$)、過酸化水素水(H_2O_2)、ヒドロキシラジカル($\cdot OH$)および一重項酸素(O_2)などの酸素種を指し、広義では脂質過酸化物($LOOH$, $LOO\cdot$)やハロゲン化酸素($ClO\cdot$)、さらには生体内血管内皮由来弛緩因子として同定された一酸化窒素ラジカル($NO\cdot$)などを示す。血管内皮細胞障害の起因物質としてその存在を発見され、生体内障害伝達物質として扱われている。その障害の原因究明の過程よりその特性が解明され、生体内ではsuperoxide dismutase(SOD)と $NO\cdot$ が $O_2^{\cdot-}$ の消去に預かり、恒常性の維持を行っている事があきらかとなっている。
- [0043] また近年、植物が発芽する際に微量の活性酸素種が発現していることが知られるなど、自然界におけるその役割は未だに解明途中であるとともに、生体外での測定方法および定量技術が開発され、不安定性のため、その寿命は、数ミリ秒程度あるいはそれ以下の極めて短時間しか保持作動することのできないものであり、過酸化水素を除く活性酸素種の、水中で恒常的定量的な

生成は不可能とされてきた。

- [0044] 広義では過酸化水素は活性酸素種の範疇に入っているが、極めて安定な化合物であって、常温での長期保存が可能であり、高濃度での生成も可能であるなど他の活性酸素種とは明らかに異なる。しかしルミノール反応にて濃度測定が極微量より簡易的に測定可能など、生態系および生体内での酸化還元反応すなわちレドックス反応の解明には、汎用性のある刺激伝達物質として組み込まれ、利用されてきた。
- [0045] また、植物細胞内で誘導されるサリチル酸や過酸化水素を実験的に、直接植物体や植物細胞へ付与し、外部から酸化ストレスを加えることによる遺伝子発現の確認が実験的に行なわれている。しかし実際に遺伝子発現を確認させる為には、サリチル酸で0.1~0.5mM、過酸化水素水で2~10mM以上と極めて高濃度の薬物の投与を行なわなければならない、このように本来植物生体内で生じる刺激濃度を大幅に超える濃度で実際に植物に投与した場合は、植物体自体に障害を与え局部的に細胞死が誘導されるばかりでなく、植物に取り込まれずに土壌や水環境に残留する薬剤による環境負荷が問題となるため、実際には農業の現場でそれらを利用することはできない。
- [0046] 他の方法としては、遺伝子導入により病原抵抗性を獲得させる方法がある。しかし遺伝子導入により導かれた品種改良に関しては、周辺生態系や人体への影響を考慮する上で、長期的に遺伝子の安定性および安全性を検証する必要や、他の植物に対して遺伝子の水平拡散等の影響をないものとする義務を負い、しかも拡散のないことの継続した確認の義務をも生じるなど、その使用制限および輸出輸入規制など、圃場での栽培承認に至るまでの法的課題が多く、食材としての利用をになうまでに解決しないといけないハードルや問題点が多い。
- [0047] 現在、水処理技術において、水中の細菌の殺菌及び微生物の駆虫は、主とし紫外線照射とオゾン爆気にて対処しており、水に溶存したオゾンは気化し、大気中に残余オゾンとして拡散するが、残余オゾンはその不安定さのため環境負荷はないとされている。しかし残余オゾンは数時間安定した状態で環

境に対する影響を与え続ける。しばしば成層圏のオゾン層破壊による地球温暖化の加速と混同されるが、オゾンは二酸化炭素より重く地上で生成されたオゾンは成層圏に達することなく地球温暖化を加速させる。対流圏オゾンは、それ自体が強力な温室効果ガスであるため、温室効果ガス全体によりもたらされる地球温暖化のうち20%から30%は対流圏オゾンの強制放射力に由来するとの報告もある (H. Akimoto and K. Sudo. Climate Sensitivity of Ozone. In: Air pollution and its relations to climate change and sustainable development, 2. Climate change and air pollution, 12-14 March, 2007, Gothenburg, Sweden; <http://asta.ivl.se/Workshops/>)。また、最近の報告では、オゾンによる直接的な温室効果に加えて、二酸化炭素を吸収すべき植生への二次的な影響を考慮することで、対流圏オゾンに由来する温室効果は、従来の2倍であるとのシミュレーション結果が報告されている (Nature. 2007; Vol. 448, No. 7155: pp. 791-794)。そのため残留オゾンを目早く消失させるための新たな技術を開発し、オゾン排出総量を削減することが求められている。

[0048] このような状況下において、本発明によれば、一般に殺菌剤などの農薬では防除が不可能であった植物病原性ウイルスに対しても、バクテリアや菌類と同様に防除が可能となるため、通常の農薬よりも広範囲の病原微生物に対する効果が実現できる。また植物の抵抗性誘導型の薬剤 (BTH、プロベナゾール等) では対処が不可能であった、既に植物に付着した病原微生物に対しても、選択的に活性酸素種を発生させることにより、直接的に防除が可能である。このことから多数の薬剤を利用すべき農業の現場において、薬剤の使用を大幅に減少させることが出来る。

[0049] この活性酸素含有水を植物に接触させる手段 (植物接触手段) としては、例えば、植物を浸漬させる水耕栽培溶液としたり、植物の育成する土壌に含浸させたり、植物へ直接かける方法が挙げられる。このようにして植物に吸収された水により、植物内でレドックス反応が惹起され、植物免疫賦活蛋白質 (感染特異的蛋白質 pathogenesis-related protein) をコードする病原抵

抗性遺伝子（PR遺伝子群）を発現させることができる。なお、活性酸素含有水は、気体状や霧状とせずに、植物体に直接接触させることが望ましい。気体状や霧状とすると、大気中の有機物や浮遊細菌類へ作用し消費されるため、活性酸素種の検出半減期（それぞれの活性酸素種は極めて短時間しか持続しないが、生成された活性酸素含有水は、内部でその反応が継続して行われているため、検出される活性酸素種は半減期を有する如く検出される）が短期化し、作用対象物である植物体に到達する活性酸素種の濃度が低値となってしまう、病原抵抗性遺伝子を効率的に発現させることが困難となる。

[0050] 本来であれば超音波振動を付与させることにより、気液境界面（水面）で超音波振動によるエネルギーは、水を霧化させたり、内在する物質にあたり、付着した有機物等を引き離すことにより消費される。

[0051] しかし閉鎖された反応容器内（閉鎖空間内）では、超音波振動によるエネルギーは、消失されず水中で消費されるため、水に溶存した酸素原子に直接作用し、スーパーオキシドアニオンラジカルや一重項酸素などの活性酸素種となることが可能となる点に特徴を有するものである。

[0052] さらに、その閉鎖反応容器内に触媒体を内在させることにより、触媒体に水または流水を接触させること生じる触媒反応を、超音波振動を付与することおよび電磁波を照射させることにより惹起させ、活性酸素種を生成する点に特徴を有するものである。これら一連の反応は、前記超音波振動による水中での活性酸素種発現を増強し、相乗効果をもたらす特徴を有するものである。

[0053] ここで、活性酸素種とは、一般にスーパーオキシドと言われているものであるが、その特性より過酸化水素水（ H_2O_2 ）を除く、スーパーオキシドアニオンラジカル（ $O_2^{\cdot-}$ ）、ヒドロキシラジカル（ $\cdot OH$ ）、一重項酸素（ 1O_2 ）、ハロゲン化酸素（ $XO^{\cdot-}$ 、例として次亜塩素酸イオン（ $ClO^{\cdot-}$ ））、一酸化窒素ラジカル（ NO^{\cdot} ）、ペルオキシナイトレート（ $ONOO^{\cdot-}$ ）、含酸素有機ラジカル（例としてフェノキシラジカル）などのことを言う。

[0054] 水中にできるだけ多くの量の活性酸素種を含有させるためには、従来法で

ある水中に浸漬した光触媒に、紫外線を照射して、光触媒表面に発生した活性酸素種を水中に拡散させる方法が考えられる。ところが、この方法によれば、水の紫外線透過度が低い場合（例えば、水中に懸濁物がある場合や、紫外線吸収物質が含まれている場合）には、紫外線源から発せられた紫外光が水中を透過して光触媒に到達するまでの間で減衰してしまうことから、活性酸素種の発生量が極端に少なくなってしまうことがある。

[0055] さらに、水中に存在する活性酸素種は、一般に寿命が短いと考えられており、例えば、定量的な試薬としてスーパーオキシド標準試薬である KO_2 超酸化カリウムを標準試薬として使用しマーカーとして提示しているが、 KO_2 は極めて物性として不安定なため、DMP0に溶解して輸送され、爆発性物質としてその取扱いが注意される薬品であり、水中における寿命は水中に滴下に後、僅か数ミリ秒単位で消滅してしまい、2秒以上の発光を観察される事はない。
(図4にマーカーとして図示)

[0056] このことは、植物体内でレドックス反応を生起させ、病原抵抗遺伝子の発現誘導を行なうにあたって、活性酸素種と細胞表面のレドックス応答分子が接触して反応を招来する確率を極端に減少させている主な原因となっている。

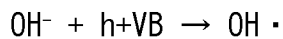
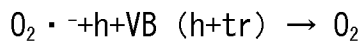
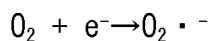
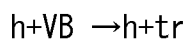
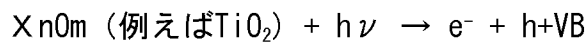
[0057] それゆえ、長時間にわたり活性酸素種を、水中に十分な量で含有させ保持機能させることのできる活性酸素種含有の水の生成が望まれている。

[0058] そこで、本発明者らは、水中へ触媒体を配設し、触媒体から活性酸素種を生じさせる手段として、水中で活性酸素種を生じさせる手段として、超音波振動、紫外線、可視光線、マイクロ波を酸化金属触媒体に付与し、それらの単独もしくは併用相乗効果により活性酸素種を多量に含有した水を生成し、さらには選択的に活性酸素種であるスーパーオキシドアニオンラジカル、一重項酸素等を生成する技術を確立したのである。

[0059] 触媒体に接触させる水は、流水としても良い。流水を触媒体に接触させることで、触媒体の下手側の流水は、活性酸素種を多量に含有した水となり、連続的に活性酸素種含有の水を生成することができる。

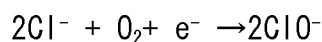
[0060] ここで、これらの反応を生じる代表例として紫外線光源および、酸化チタンを用いた光触媒反応をあげ、水において活性酸素種が生成される過程を説明する。

[0061] 通常、純水H₂Oの場合、水中では特殊状態を除き常に酸素が溶存しており下記反応を加速するが、紫外線によるエネルギー（hν）が金属酸化膜表面の酸化金属原子（X_nO_m、例えばTiO₂やAl₂O₃など）を励起し、遊離電子および正孔（フォトン）を生じ、次のような反応が行われていると考えられる。

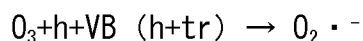
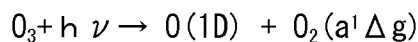


[0062] 酸素が大量に含有されている際は、これらの反応は加速され、大量のO₂^{·-}（スーパーオキシドアニオンラジカル）ならびにOH[·]（ヒドロキシラジカル）が生成される事となる。

[0063] ここに、塩素イオンを含む水が介在した場合は、次のような反応が活性化されていると考えられる。

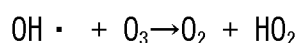


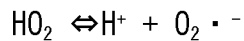
[0064] また、オゾンを含む水が介在した場合は、次のような反応が活性化されていると考えられる。



上の反応は、通常UV-A領域の紫外線によるオゾンの直接的な励起では効率よく進行しないが、光依存的に励起状態となった光触媒体の存在下、一重項酸素の生成を伴う上記反応が進行すると考えられる。

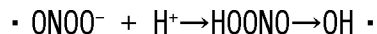
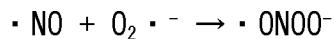
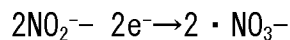
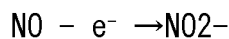
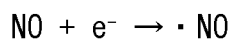
下の式は、以下の3式でも表せる。





オゾン水を前駆物質とするスーパーオキシドアニオンラジカル生成の増加と一重項酸素生成の増加は、後述するように発明者らによって、ウミホタル由来ルシフェリンアナログの化学発光による検証が行なわれており、これらの反応に登場するヒドロキシラジカルの生成も5,5-Dimethyl-1-pyrroline N-oxide (DMP0) をスピントラップ剤として利用した電子スピン共鳴法による検証が発明者らにより行われている。

[0065] さらに一酸化窒素ガスを大量に含む水が介在した場合は、



とより細胞障害性の強力なイオンとなる。

ここで生じる、 $\text{O}_2 \cdot^-$ の生成、 $\cdot \text{NO}$ の生成、 $\cdot \text{ONOO}^-$ の生成、 $\text{OH} \cdot$ の生成は、それぞれ蛍光プローブとの反応、葉酸の酸化アッセイ（蛍光法）、電子スピン共鳴法による発明者らの実験により検証済みである。

[0066] しかもこれらの反応は、電子の移動のみによって生じる反応群であり、それらは容易に可逆性反応となり、生じた2次反応イオンが2次反応前の状態へと戻るため、本来極めて短寿命であるはずの活性酸素種が継続して産生され、あたかも活性半減期を有する活性酸素種を形成しているかのごとく作用させる事が可能となる。

[0067] また、上述したような植物体に病原抵抗性遺伝子を獲得させうる、活性酸素種を含有する水とは、本明細書中では、過酸化水素を除き、スーパーオキシドアニオンラジカル、一重項酸素等の活性酸素種が初期濃度1Lあたり $1 \mu\text{mol}$ 以上含有されているものを指す。ただし現時点で一重項酸素の濃度を簡便に規定できるマーカーが存在しないため、一重項酸素の濃度はスーパーオキシ

ドアニオンラジカルおよびオゾン水濃度に換算して、相当する力価を示すものとする。

[0068] 仮に、活性酸素種が初期濃度 $1\mu\text{mol/L}$ 未満であると、植物体に病原抵抗性遺伝子を獲得させうるための、レドックス反応は誘導できず、実用性に欠けてしまう。

[0069] また、前記活性酸素種を含有した水は、ウミホタルが産生するルフェシリンアナログ (Cypridina luciferin analog) が、スーパーオキシドアニオンラジカルおよび一重項酸素と選択的に反応し、定量的な青色の化学発光を示すことを利用し、スーパーオキシドアニオンラジカルの検出が可能で (Bioluminescence & Chemiluminescence, 2008で発明者らにより公表された手法)、しかもその活性はスーパーオキシド除去剤であるTironの添加にて抑制され、選択的一重項酸素の除去試薬であるDABCOの効果にて一重項酸素との鑑別が可能である。本法を用いて、確実に生成装置外に、活性酸素種を含有した水の効果をもたらす事ができる事を検証することが可能であり、しかも水中で拡散し活性酸素種を保持作用し反応を継続することを検証することができる。

[0070] この活性酸素種含有の水の生成装置に用いる触媒体は、その形状がとくに限定されるものではなく、粒子体、粒状体、ビーズ、繊維体のいずれでもよく、各触媒体の表面は、触媒能を有する金属酸化膜にて被覆することを特徴としている。

[0071] ここで繊維体は、特に限定されるものではないが、例えば、ガラスやセラミックスや不織布で形成するようにしても良い。

[0072] これらの素材を用いた繊維体の表面に触媒能を有する金属酸化膜を形成するためには、適宜公知の方法を用いることができ、例えば、ディップコーティング法を用いるようにしても良い。

[0073] このようにして形成する金属酸化膜は、主としてアルミナ、水酸化アルミニウム、酸化チタン、酸化マグネシウム、水酸化マグネシウム、酸化亜鉛、酸化タングステン、チタン酸バリウム、チタン酸ストロンチウム、チタン酸

ナトリウム、二酸化ジルコニウム、酸化タングステン、水酸化タングステン化合物、 α -Fe₂O₃、硫化カドミウム、硫化亜鉛、白金、銅、パラジウム等の金属酸化物より構成すると良い。

[0074] これらの物質からなる金属酸化膜を形成することにより、水または流水中に効率的に活性酸素種を生じさせることができる。

[0075] また、前記繊維体をアルミニウム繊維体とし、同アルミニウム繊維体の表面に、膜厚30nm以上のアルミナ被膜を焼結して形成するようにしても良い。

[0076] このアルミナ被膜を有するアルミニウム繊維体を集合させて形成した触媒体は、活性酸素種を効率的に生成できるのは勿論のこと、ディップコーティング法にて酸化チタン皮膜のコーティングを施した光触媒体を用いても良い。

[0077] また、活性酸素種を含有した水の生成装置は、電磁波の1種である紫外線の光源を水中に配設し、しかもその紫外線光源の周囲を、一定の間隙を保持して、繊維体よりなる触媒体で囲繞することにより、水流を、紫外線光源と触媒体との間隙を通過して上昇または下降する第1水流と、触媒体の外周を螺旋状に通過して上昇または下降する第2水流と、触媒体の組織中に流出入する第3水流とより構成すると良い。

[0078] 具体的には図面を用いて後に詳述するが、筒状の触媒体の内周面と紫外線光源との間に形成した間隙を上昇または下降する第1水流と、触媒体の外表面を螺旋状に周回する第2水流とを形成することで、触媒体に水流を満遍なく接触させることができるとともに、同触媒体を繊維集合体として形成しているため、第1水流から触媒体の内部を通過して第2水流へと合流する第3水流を形成することができ、触媒体の内方の水も効果的に流動させて活性酸素種の生成をさらに効果的なものとすることができる。

[0079] ここで用いる超音波振動子の効果は、触媒体上で惹起された触媒反応により電子および正孔を生じさせるのみならず、触媒体を細かく振動させて、光触媒反応により生じる活性酸素種の生成をよりスムーズに行なわせ、遊走可能とすることができる。触媒体が繊維状である場合には、装置内部で繊維状

触媒体の相対的位置は固定されるが、各々の繊維は自由端を有し、相互に絡み合い接触し形態を維持している。

[0080] すなわち、繊維表面を流れる水の流速が、繊維が超音波振動により超高速で移動することにより界面境界流速が飛躍的に高まるため、水中に放出される事が可能となる。

[0081] すなわち、これらの超音波は、触媒体からの活性酸素種の遊離を促進すると共に、超音波と紫外線の波長の相互干渉作用により互いに反応を増強させている。

[0082] 超音波振動子は、例えば、高周波超音波（一般に500kHz以上といわれている）を生じさせる霧化用超音波振動子（高周波超音波振動子）を使用することが推奨される。

[0083] この霧化用超音波振動子から発生する高周波超音波振動は、触媒体の洗浄能力は低いものの、その強力なキャビテーションエネルギーは、水中に溶存する酸素原子に直接作用し、活性酸素種を発現するのみならず、金属酸化膜上での触媒反応を惹起させ、しかも触媒反応で生じる電子や活性酸素種等を水中へ振り払う程度の力は十分有している。

[0084] また、使用する超音波は中周波超音波（101～500kHz）としても良い。中周波超音波振動子より発せられる中周波超音波を使用する際は、触媒体に超音波が当たった際に、音波の回折性が高まり、密閉容器内での水の攪拌をさらに強めることができ、触媒体から活性酸素種を効率良く遊離させることができるが、触媒体の劣化は高周波振動子に比して否めないものとなる。しかし、この中周波超音波の作用により、触媒体へ付着した汚れ成分等の比較的分子量の大きな物質に対する洗浄効果を生起する事が可能となる。

[0085] 但し、100kHz以下の低周波超音波は、触媒体の変形や、触媒体に形成した触媒反応面の剥離損傷を生じさせるおそれがあり、しかも活性酸素種の生成効率が悪いため、あまり好ましくない。

[0086] また、触媒体に接触させる水中または流水中には、前述の如く予め所定のガスを混入させておくことにより、所望の活性酸素種との反応物を生成させ

るようにしても良い。ガス濃度の調整に際しては、水そのものを分解して溶存する酸素濃度および水素濃度を調節することも可能である。

- [0087] すなわち、触媒体の触媒機能を付与する前の水または流水に、酸素ガス、オゾンガス、塩素ガス、一酸化窒素ガス、アンモニアガスを混入させることにより、水中または流水中に、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシラジカル、一重項酸素、過酸化水素水 (H_2O_2)、次亜塩素酸イオン (ClO^-)、一酸化窒素ラジカル ($NO \cdot$)、ペルオキシナイトレート ($ONOO \cdot$) などの種々の活性酸素種を生じさせることができる。
- [0088] また、前記活性酸素種を含有した水は、化学的処理および／または物理的処理により、活性の制御が可能となるようにしても良い。
- [0089] 具体的には、触媒体に接触させる水または流水の添加物、溶存酸素濃度、溶存オゾン濃度、温度、pH、粘度等を調整することにより、活性酸素種の活性を制御することが可能である。
- [0090] 活性酸素含有水中の活性酸素量は、前述のように、一定の半減期を有して減少していくのであるが、本発明においては、活性酸素種を含有した水の生成装置に活性酸素濃度制御部を設けることにより活性酸素種濃度の減少速度を変化させることができる。
- [0091] さらに、本発明者らは、水中では水温の上昇とともに溶存酸素濃度が低下し、溶存酸素濃度を高めた水は放置すると、時間経過とともに酸素濃度は減少するが、同様に活性酸素種は水中での溶存酸素濃度、温度、pH変化に応じて、その活性（濃度）および寿命（作用発現持続時間）が変化することを見出している。さらに通常、水に溶解した酸素の $10^{-7} \sim 10^{-8}\%$ は、恒常的にスーパーオキシドアニオンラジカルを含有している現象を明らかにし、活性酸素種を含有した水の生成装置はその含有比率を変化させ、 $10^{-4} \sim 10^{-6}\%$ とすることにより、活性酸素種の持つ強力な酸化力が発現させることとなることを見出している。
- [0092] すなわち、活性酸素種生成能には、溶存酸素濃度および水温、pHが深く関与しており、例えば活性酸素種を含有した水の生成装置へ導く水をあらか

じめ、電離分解法により酸性水とアルカリ水に分離した後、アルカリ水のみを冷却し、酸素を付与した後、生成装置内へ導き、殺菌や駆虫・有機物分解が必要とされる処理槽へ導き一定時間処理を行なった後、さらに貯留させていた酸性水を添加することにより、活性酸素種の寿命を著しく短縮させることによる活性酸素濃度制御方法を確立している。

[0093] これらの制御方法および濃度変化は、酸素ガスを付加ガス装置に供給した場合においての特徴であるが、これと同じ現象は付加ガスの種類をオゾンガス、塩素ガス、一酸化窒素ガス、アンモニアガスとしても同様の現象が発現する。

[0094] また、活性酸素濃度制御部では、活性酸素種の濃度の減少速度を加減する手段として、溶存イオン濃度（例えば銅イオンやアルミニウムイオン、鉄イオンなど）および水溶液pH調整や、Tironなどのスーパーオキシド除去剤など薬物添加などの処理の化学的手段または気相の減圧装置、水槽温度制御装置等の物理的手段を備えてもよい。

[0095] このように活性酸素濃度制御部を備えているので、本発明による活性酸素種を含有した水の生成装置で生成した活性酸素含有水を活性酸素の活用を求める期間中は気相の圧力を高めに保持するか水槽温度を低めに保つことにより高濃度の活性酸素を維持するよう減少速度を遅くし、その後においては、気相の圧力を真空ポンプなどにより減圧するか水槽温度を高めにするにより減少速度を速くすることができる。

[0096] 減少速度を速くするためには、Tiron、DABCOなどの活性酸素種除去剤またはチオール類などの還元剤を添加すると、急速な除去が可能となる。

[0097] このような活性酸素濃度の制御は、活性酸素含有水の活性を所定の期間中のみ高め、その後は通常の水として不活性状態に戻す、という効果をもたらす。物理的手段による場合は、化学的手段による場合に比べて、残存物質の環境影響を最小限にすることができ、物理的手段としては、上記に述べた真空ポンプなどの気圧の操作手段や水槽温度制御装置のほか、水ポンプや抜気法による攪拌、電気的中和などが適用可能である。

- [0098] なお、活性酸素濃度制御部は、後に詳述する活性酸素種を含有した水の生成装置に付設することで、同活性酸素種を含有した水の生成装置をコンパクトに構成することができるが、これに限定されるものではなく、たとえば、活性酸素含有水の通水経路中に活性酸素濃度制御部を配設するように、活性酸素種を含有した水の生成装置と活性酸素濃度制御部とを別体に設けるようにしても良い。
- [0099] また、前述の活性酸素種を含有した水の生成装置に配設した活性酸素の発生を助長する超音波振動子とは別に、前記超音波振動子から発せられる超音波を減衰させる超音波を発振する超音波振動子（以下、減衰超音波振動子という）を配設し、活性酸素の発生量を調節可能としても良い。
- [0100] すなわち、減衰超音波振動子から発振される超音波の周波数を、超音波振動子から発振される超音波と干渉して減衰できる周波数とする。
- [0101] このような構成とすることにより、超音波振動子に流れる電流と、減衰超音波振動子に流れる電流とを適宜調整することにより、活性酸素の発生量を調整することができる。
- [0102] しかも、活性酸素の発生量を電氣的に調整することが可能となるため、薬剤などによる調整に比して、さらに細かな調整を行うことができる。
- [0103] 以下、本発明に係る実施形態について、実施例を示しながら更に詳細に説明する。
- [0104] 〔活性酸素含有水生成装置の具体的構成〕
まず、図1及び図2を参照しながら、本実施形態に係る活性酸素種を含有した活性酸素含有水生成装置Aについて説明する。図1は、本実施形態に係る活性酸素含有水生成装置Aの側部断面図、図2は反応部10近傍の平面視における断面図を示している。
- [0105] 本実施形態に係る活性酸素含有水生成装置Aは、水（流水）を供給することにより、活性酸素種を含有する水を生成する生成反応槽であり、流水経路を備える反応部10と、同反応部10に配設した超音波振動子11の駆動を制御する制御部30とで構成している。

- [0106] 反応部 10 は、水（流水）の受入れ口となる給水口 13 と、活性酸素含有の水の取出し口（流出口）となる出水口 27 とを形成した略円筒形状の反応部外筒 12 を備えており、同反応部外筒 12 の底部開口を反応部底板 14 で閉塞し、上部開口をセル係止部材 15 で覆っている。
- [0107] また、反応部外筒 12 は、図 2 にも示すように、その外周面に目視窓 40 を形成しており、反応部外筒 12 の内部の様子を観察できるようにしている。
- [0108] この目視窓は用途により設置しないでも良いのは無論のことである。
- [0109] 目視窓 40 は、反応部外筒 12 の外周面の一部切欠した部分に、所定形状の穴を穿設した窓枠体 41 を配設し、同窓枠体 41 にガラスやアクリル等の透明な素材で形成した透明板 42 にて穴を閉塞するように嵌め合わせて、さらに外方から透明板押さえ体 43 で、前記透明板 42 を固定して形成しているものである。
- [0110] まず、反応部外筒 12 の上部近傍について説明すると、セル係止部材 15 は、その平面視中央部に穿設した穴を有する略ドーナツ形状としており、反応部外筒 12 にボルト 19 で固定されている。
- [0111] セル係止部材 15 の穴には、透明な素材で形成した鏝部 16 を有するカップ形状のセル体 17 を装着しており、具体的には、セル体 17 をセル係止部材 15 の中央に穿設された穴を介して反応部外筒 12 の内方へ挿入するとともに、鏝部 16 をセル係止部材 15 の穴の周端部に係止させて装着している。
- [0112] セル体 17 は、電磁波の透過効率の高い素材で形成しており、例えば、石英ガラスで形成することができる。
- [0113] また、セル係止部材 15 の穴の内壁面には、弾性体により形成されたパッキン 18 が配設されており、セル係止部材 15 の穴の内壁面とセル体 17 との間に生じる隙間を埋めて、水（流水）がセル体 17 の上部へ漏れないようにしている。
- [0114] また、セル体 17 は、鏝部 16 をセル体押さえ部材 20 とセル係止部材

- 15とで挟み込んで、セル体17の上方への移動を規制しており、ボルト19にてセル体押さえ部材20をセル体係止部材15に固定している。
- [0115] また、セル体押さえ部材20には、その中央部に電磁波発生装置挿入孔を穿設して、平面視略ドーナツ形状としており、この電磁波発生装置挿入口に、電磁波発生装置21を挿入可能としている。
- [0116] なお、本実施形態に係る活性酸素種を含有した水の生成装置において、電磁波発生装置21は、一般に電球型蛍光灯と呼ばれる形状とした紫外線管（ブラックライト、有効紫外線波長356nm）を一例として示しており、これを殺菌灯（有効紫外線波長256nm）や高輝度LEDとしても良く、さらに電子レンジ等で用いるマイクロ波発生装置としても良い。
- [0117] この電磁波発生装置21の上部に形成した通電部22に電球ソケット等を連結して通電することにより、電磁波を放射するものである。
- [0118] そして、電磁波発生装置挿入口に電磁波発生装置21を挿入することにより、同電磁波発生装置21の管部23をセル体17の内部に望ませて、セル体17を介して反応部外筒12の内部へ電磁波を照射可能としている。
- [0119] また、電磁波発生装置21は、セル体押さえ部材20に電磁波発生装置固定部材24を用いて固定しており、セル体押さえ部材20と電磁波発生装置固定部材24とはボルト19にて連結固定している。
- [0120] このような構造とすることにより、例えば、活性酸素含有水生成装置Aに通水している状態であっても、通水を止めることなく、電磁波発生装置21の交換をすることができる。
- [0121] 次に、反応部外筒12の内部構造について説明する。反応部外筒12の内部には、セル体17の外周面を囲繞する筒状に形成した触媒体25を配設しており、同触媒体25の更に外周には、反応部外筒12の内壁面に沿って螺旋状に形成した螺旋板26を形成している。
- [0122] セル体17の外周面と、触媒体25の内周面との間には、水を上下方向へ流通可能とした第1流路50を形成している。
- [0123] また、触媒体25の外周面と反応部外筒12の内周面との間で、触媒体2

5の外周面を複数回周回するように形成した螺旋板26の、上下方向に重複する板と板との間は、同螺旋板26に沿って螺旋状に上昇しながら流水する第2水流の流路となる第2流路51としている。

- [0124] 触媒体25は、直径50~200 μ m程度（本実施形態では、100 μ m）とした金属繊維体の集合体であるの繊維体で形成したものであり、同繊維体は、アルミニウム繊維の表面にアルミナ被膜を焼結させて形成したアルミナ繊維に酸化チタンを被覆させた繊維体など、種々の繊維体を目的に応じて種類や量を変更する事ができる。
- [0125] 特に、本実施形態にて使用した触媒体25は、超音波振動により振動する自由端を有した繊維体で形成し、超音波振動を触媒体25に付与することによって、触媒体25の繊維の自由端を振動させて触媒体25の表面と接触しながら流れる水の流速を高めることができ、多量の活性酸素種が触媒体表面を流れる水に拡散することとしている。なお、ここで「自由端」とは、繊維状物質の集合体における繊維の各端部を示す言葉である。
- [0126] 具体的には、各繊維の1本1本が有する表面積を集合した広大な表面積を備える触媒体25の表面から活性酸素種が生じると同時に、この発生した活性酸素種は速やかに超音波の振動によって触媒体25の表面から振るい落とされて大量に水中に遊離する。
- [0127] そして、触媒体25の表面には即時に新たな活性酸素種が生じ、再び超音波の振動にあわせて振るい落とされ、また水中に遊離することとなる。
- [0128] これが瞬時の間に幾度となく繰り返されることとなるため、極めて効率良く水中に活性酸素種を含ませることができる。
- [0129] また直径50~200 μ m程度の繊維状とした触媒体25は、たとえば板状の触媒体と比較して、超音波の細かい振動に合わせて振動を起こしやすく、光触媒体の表面からより容易に活性酸素種を遊離させることができる。
- [0130] さらに、触媒体25に多量に存在する金属製繊維の末端部分は、超音波振動下で自由端として振る舞うので、触媒体から効率良く活性酸素種を水中へ振るい落とすことができる。

- [0131] すなわち、触媒体 25 で生じた活性酸素種を水中に効率よく分散させるべく、触媒体 25 は自由端を有する繊維体で形成し、さらに、超音波振動を付与して、触媒体 25 の自由端と水流との相対速度を飛躍的に向上させることとしたため、活性酸素含有水を生成することができる。
- [0132] しかも、水に活性酸素種の機能を付与し、この水を活性酸素含有水として活性酸素含有水生成装置 A から排出して取出すことを可能となるように構成している。
- [0133] それゆえ、水中に溶存させた活性酸素種の前駆物質に応じて、スーパーオキシドアニオンラジカルや一重項酸素を大量に遊離させることが可能となり、活性酸素含有水生成装置 A から取り出した後の活性酸素含有水であっても、長時間に亘り活性酸素種を維持し続けることができ、植物体が有する病原抵抗性遺伝子を誘導することが可能となったのである。
- [0134] 図 1 及び図 2 の説明に戻ると、触媒体 25 は、第 1 流路 50 と第 2 流路 51 の間で水を流通させることができ、この触媒体 25 を通過して流れる第 3 水流の流路を第 3 流路 52 としている。
- [0135] ここで、第 2 流路 51 の始端部、すなわち、螺旋板 26 の下端部は、図 2 に示す断面図において、反応部外筒 12 の外周側面下部に設けた給水口 13 に対向するように設けている。
- [0136] このような形状とすることで、給水口 13 から供給された水は、第 1 流路 50 よりも第 2 流路 51 に流れやすくすることができ、第 1 流路 50 と第 2 流路 51 との間には、流速の違いによる圧力差が生じる。
- [0137] したがって、触媒体 25 に形成された第 3 流路 52 の第 3 水流を効率的に生じさせることができ、触媒体 25 で発生した活性酸素種を効果的に水中（流水中）へ含有させることができる。
- [0138] そして、活性酸素種を含有した水（流水）は、反応部外筒 12 の外周面上部に形成した出水口 27 から流出させて取出し可能としている。
- [0139] 次に、反応部外筒 12 の下部近傍について説明する。反応部外筒 12 の底面部開口は、反応部底板 14 で閉塞されており、同反応部底板 14 には、超

音波振動子 11 の一部を反応部外筒 12 の内部に露出させるための露出孔 28 が穿設されている。

[0140] 超音波振動子 11 は、反応部底板 14 の下部に複数個（本実施形態では 2 個）配設されており、同超音波振動子 11 の振動板 29 を前述の露出孔 28 から反応部外筒 12 の内方へ露出させて、超音波振動が反応部外筒 12 を満たす水（水流）や、触媒体 25 に付与されるようにしている。

[0141] また、超音波振動子 11 に配設された振動板 29 は、水平方向に対して所定角度をもって斜めに配設されており、触媒体 25 に効率的に超音波振動が付与されるようにしている。

[0142] 次に、反応部 10 の下方に配設した制御部 30 について説明する。

[0143] 制御部 30 と反応部 10 とは、支柱 32 を介して取り付けられている。

[0144] 制御部 30 は、内部に超音波発振装置 31 を内蔵した箱状に形成しており、具体的には、制御部 30 の上部を閉塞する制御部盖板 33 と、下部を閉塞する制御部底板 34 とを備えており、制御部 30 の対向する両側面には、収納した超音波発振装置 31 を冷却するための吸気口 35 と排気口 36 とをそれぞれ配設している。

[0145] 制御部底板 34 の上面には、超音波発振装置 31 を配設しており、同超音波発振装置 31 は、図示しない電源から通電することにより、所定の周波数を有する電気信号を形成し、接続した超音波振動子 11 に伝達して超音波を発生させる役割を担っている。

[0146] また、制御部底板 34 の下面側には、弾性素材で形成した脚体 37 を配設しており、超音波振動子 11 の駆動に伴って発生する活性酸素含有水生成装置 A の振動が周辺に伝搬するのを防止している。

[0147] 吸気口 35 には、図示しない電源によって駆動する冷却ファン 38 を設ける一方、排気口 36 に空気が流通可能な網目を備えるメッシュ板 39 を配設して、冷却ファン 38 で生じさせた空気流で超音波発振装置 31 を冷却して、メッシュ板 39 を介して排気可能としている。

[0148] 上述してきたように、本実施形態に係る活性酸素含有水生成装置 A は、係

る構成とすることにより、以下のように駆動することとなる。

- [0149] まず、給水口 13 に水（流水）を供給すると、反応部 10 の内部（反応部外筒 12 の内部）は水で徐々に満たされて、触媒体 25 は水中に水没する。また、出水口 27 からは、水が流出する。
- [0150] 第 1 流路 50 にはセル体 17 の外表面と触媒体 25 の内周面との間を流通する第 1 水流が生じ、また、第 2 流路には、螺旋板 26 に沿って上昇する第 2 水流が生じる。
- [0151] ここで、第 2 流路について見ると、第 2 水流が反応部外筒 12 の内周面に沿って遠心力を持ちながら上昇することとなるため、反応部外筒 12 の内周面近傍における水圧と、触媒体 25 の外表面近傍における水圧とを比較すると、触媒体 25 の外表面近傍における水圧が低くなる。
- [0152] また、給水口 13 より直接第 1 流路に流入する第 1 水流も、給水口 13 と出水口 27 とを短距離で結ぶバイパスを流れる水であるため、抵抗による圧力損失の少なく、比較的高い圧力を有している。
- [0153] したがって、触媒体 25 の内外周面近傍では、第 1 流路 50 と第 2 流路 51 との水圧の差により、主に、第 1 流路 50 から触媒体 25 の内部を通過して第 2 流路へと至る（第 3 流路を通る）第 3 水流が生じる。
- [0154] このような状態において、超音波発振装置 31 に通電すると、超音波振動子 11 より超音波が発せられ、反応部 10 内の水（流水）や触媒体 25 に超音波が付与される。
- [0155] 超音波が付与された触媒体 25 の表面では、活性酸素種が生じ、触媒体 25 近傍の水に活性酸素種が遊離することとなる。
- [0156] また、触媒体 25 内部で生じた活性酸素種についても、第 3 水流により、第 2 水流と合流して、活性酸素種含有の水が生成されることとなる。そして、この活性酸素種含有の水は、出水口 27 から流出して、さまざまな用途に利用される。
- [0157] 加えて、電磁波発生装置 21 の通電部 22 に通電すると、管部 23 から電磁波が発せられ、セル体 17 を介して触媒体 25 に電磁波が照射されること

となる。

[0158] これにより、触媒体 25 表面に生じる活性酸素種は更に増加することとなり、より多くの活性酸素種を含有する水を生成させることができる。

[0159] [活性酸素含有水生成装置の他の実施形態]

次に、他の実施形態に係る活性酸素含有水生成装置 B の具体的な構成について図 3 を参照しながら説明する。なお、以下の活性酸素含有水生成装置 B の説明において、前述した構成と同様の構成に関しては同じ符号を付して説明を省略する。

[0160] 活性酸素含有水生成装置 B には、給水管 60 と出水管 61 とが接続されており、給水管 60 より供給される水に活性酸素種を含有させ、出水管 61 より取り出し可能に構成することで、活性酸素含有水をインラインで生成可能としている点に特徴を有している。

[0161] 具体的には、活性酸素含有水生成装置 B は、紫外線やマイクロ波の吸収が少ない素材、すなわち、紫外線やマイクロ波に対して透明な素材にて形成した透明の管状本体 62 の上下開口をそれぞれ上部蓋体 63 と、超音波発振装置 31 とで閉塞して密閉状の容器を形成している。なお、管状本体 62 を構成する紫外線やマイクロ波に対して透明な素材は、例えば、石英ガラスやアクリル樹脂等を挙げることができる。

[0162] また、管状本体 62 の壁面に給水管 60 の給水口 13 と、出水管 61 の出水口 27 とを通水可能に臨ませており、給水管 60 より給水口 13 を介して供給された水は、管状本体 62 内で活性酸素含有水となって、出水口 27 を介して管状本体 62 より出水するよう構成している。

[0163] また、管状本体 62 の内部には、触媒体 25 を収容し充填している。なお、図中符号 68 は、触媒体 25 が出水管 61 へ流出するのを防止するための円板形状のメッシュ体であり、取付固定具 66 により管状本体 62 の内壁面に固定している。

[0164] この触媒体 25 は、前述の活性酸素含有水生成装置 A にて使用した超音波振動により振動する自由端を有した繊維体であり、内部は液体が流通可能か

つ、紫外線も管状本体 6 2 内壁面から内部方向へ 1.5 cm 程度透過可能な程度に連通した間隙が形成されている。そして、触媒体 2 5 は、管状本体 6 2 の周囲に配設した紫外線照射部としての紫外線ランプ 6 7 から放射される紫外線を受けて励起し、水に活性酸素種を含有させる。すなわち、本他の実施形態に係る活性酸素含有水生成装置 B では、紫外線ランプ 6 7 を、触媒体 2 5 に対して紫外線を照射可能となるように、容器の周囲に配設しているため、管状本体 6 2 の内部ほぼ全域が紫外線照射領域となっている。

[0165] また、管状本体 6 2 の一端側開口に配設した超音波照射部としての超音波発振装置 3 1 は、水中に超音波を出射する振動板 2 9 を備えており、この振動板 2 9 を管状本体 6 2 の内面底部に露出させた状態で配置し、触媒体 2 5 や触媒体 2 5 の間隙を通過する水に超音波を照射可能としている。この超音波発振装置 3 1 の振動板 2 9 は、10～15 cm 以内に後述するマイクロ波照射域 M が含まれる位置に配設するのが好ましい。この距離の範囲（超音波照射領域）を越えると、超音波発振装置 3 1 の出力にもよるが、実用的な超音波発振装置 3 1 を用いた場合において超音波の減衰が著しく、触媒体 2 5 や水に十分な超音波を照射することができなくなるおそれがある。

[0166] また、管状本体 6 2 の外壁面部には、図示しないマイクロ波発生器から伸延するマイクロ波供給管 6 4 と、マイクロ波戻り管 6 5 とを配設しており、マイクロ波供給管 6 4 から放射されたマイクロ波は管状本体 6 2 の壁を透過し、触媒体 2 5 内部を通過して（図中左から右へ向かう白抜きの矢印で示す）再び管状本体 6 2 を透過し、マイクロ波戻り管 6 5 へ至る。なお、図中破線枠で示す部位は、マイクロ波が通過するマイクロ波照射域 M である。また、マイクロ波供給管 6 4 とマイクロ波戻り管 6 5 とは、マイクロ波照射部としての役割を担うものである。

[0167] ここで、マイクロ波供給管 6 4 と管状本体 6 2 の当接部分から、マイクロ波戻り管 6 5 と管状本体 6 2 との当接部分までの間に形成されるマイクロ波照射域 M の長さは、マイクロ波の出力等にもよるが、おおよそ 1～3 cm 程度とするのが好ましい。1 cm を下回ると、触媒体 2 5 中を流れる水や活性

酸素含有水の流量が低下することとなり、また、3 cmを越えると触媒体25や水にマイクロ波が全て吸収され、マイクロ波が照射されない触媒体25や水が存在する可能性があるため好ましくない。

[0168] このような構成を有する活性酸素含有水生成装置Bにおいて、給水管60より供給される水は、給水口13を介して管状本体62の内部に至り、管状本体62の内周壁に沿って触媒体25内部で螺旋状の流路や、触媒体25の間隙を縫う流路を通過しながら、全体的に矢印Rの方向へ流動し出水口27へ移動する。

[0169] ここで超音波発振装置31の振動板29より超音波が付与されるとともに、マイクロ波供給管64からマイクロ波が照射され、水中で光触媒類似反応を惹起させることが可能となる。すなわちマイクロ波によるエネルギーが金属酸化膜表面の酸化金属原子(X_nO_m、例えばTiO₂やAl₂O₃など)を励起し、遊離電子および正孔(フォトン)を生じ、紫外線と同時にマイクロ波によるエネルギーを相乗的に付与された触媒体は、水中に活性酸素種を大量に生成させることとなる。

[0170] そして、管状本体62内を矢印Rで示す方向へ流動して活性酸素種を大量に含む活性酸素含有水となってメッシュ体68に至り、出水口27を介して61へ至り出水することとなる。なお、給水口13より管状本体62へ供給された水は、管状本体62の内壁面に沿って旋回したり、触媒体25の間隙を縫って移動するなど複雑な流路をたどるが、全体的には出水口27へ向かって矢印Rで示す方向へ流動する。

[0171] このように、活性酸素含有水生成装置Bによっても水に活性酸素を含有させて活性酸素含有水とすることができ、しかも、水に対して超音波と、マイクロ波と、紫外線とを同時に照射することができるため、高効率で水に活性酸素を含有させることができる。換言すれば、触媒体25の少なくとも一部を、マイクロ波照射部から照射されるマイクロ波の照射領域と、超音波照射部から照射される超音波の照射領域と、紫外線照射部から照射される紫外線の照射領域とが重なる領域に配設しているため、水に活性酸素種を効率よく

含有させることができることとなる。

[0172] また、活性酸素含有水生成装置B自体もインラインで使用可能であり、コンパクトな構成とすることができる。

[0173] なお、この活性酸素含有水生成装置Bにおける触媒体25は、前述の繊維体を管状本体62に充填して使用したが、これに限定されるものではなく、前述の繊維体を綿状に集積し形成したものや、粉状やビーズ状とした触媒（例えば、粒状の担体に触媒をコーティングしたもの等）を触媒体25として収容しても良い。

[0174] 次に、活性酸素含有水生成装置Aにて生成した活性酸素種含有の水に含まれる活性酸素の含有量の測定を行った。

[0175] 各種活性酸素種の発現確認に際して、貯水槽より、小型遠心ポンプ（日本メトロニック株式会社製バイオポンプ）を用いて、膜型人工肺（Sol in株式会社製シンセシスM）を用いた前駆物質付加装置へ循環水を導き、溶存前駆物質濃度を強制的に上昇させ、活性酸素含有水生成装置Aへ循環水を供給し、活性酸素を発現させ含有した水とした後、貯水槽に復する循環系を発現確認の実験系として確立した。

[0176] このシステムにて循環する水の流量は500ml/分～20L/分、水温および溶存酸素濃度は、水温0℃～43℃、溶存酸素濃度1～45mg/Lの範囲で一定に制御する事が可能となる。

[0177] しかも酸素濃度をあげるために直接酸素を回路内へ投与する際に生じるバブリングの影響を排除する事が可能となる。この前駆物質付加装置は膜型人工肺に限定されるものではなく、溶存ガス濃度が調節できれば、いかなる手段を用いても問題ない。実際に利用する際には直接バブリングして、ガスを混入させても良く、更に混入したガス気泡を攪拌装置にて小さくして混和させたり、小さな気泡に対して超音波振動を加えることにより更に小さな分子状の気体として水中に溶解させることにより溶存ガス濃度を調節しても良い。

[0178] またここでは調節するガス濃度は酸素濃度を例として上げ、溶存酸素濃度

の調節を取り上げたが、目的とする活性酸素種の種類により、オゾンやオゾンを大量に含んだ酸素（セラミックオゾナイザーに純酸素を付与すると、300 ppmのオゾンを含む高濃度酸素を生成する事が可能である。）、一酸化窒素ガス、塩素ガス等を混入させて、溶存ガス濃度を調節する事が可能である。

- [0179] 霧化超音波振動子を装置内へ内在させることによる、循環水の減少は殆ど認められない。
- [0180] 水道水10Lを循環流量15L/minにて循環させ、前駆物質として酸素を付加し、溶存酸素濃度30mg/Lとし、活性酸素含有水生成装置Aに配設する超音波振動子1は霧化用2.4MHz超音波振動子（HM-2412、霧化能力 250 ± 50 ml/h（水、25°C））もしくは霧化用1.6MHz超音波振動子（HM-1630、霧化能力 575 ± 125 ml/h（水、25°C））を2台直列して配設し、電磁波発生装置2としてブラックライト（東芝ライテック社製EFD15BLB、ピーク波長352nm、紫外線出力1.8W）を用いて以下の確認を行なった。
- [0181] 以下、混同を避けるために、「活性酸素種を多量に含し、長時間保持作用することの出来る水」を「ROS-W（Reactive Oxygen Species Water）」、「スーパーオキシドアニオンラジカルを大量に含有し、長時間保持作用させることの出来る水」を「SA-W（Superoxide Anion radical Water）」、「一重項酸素を大量に含有し、長時間保持作用させることの出来る水」を「SO-W（Singlet Oxygen rich Water）」と表記することとする。
- [0182] [スーパーオキシドアニオンラジカルの産生確認]
- 水中のスーパーオキシドアニオンラジカルの測定は、スーパーオキシドに特異的で一重項酸素にもある程度の反応性を示す化学発光試薬であるウミホタル由来ルシフェリンアナログ（以下CLAと略す）を用い、CLA依存性の化学発光をルミノメータで検出し記録した。
- [0183] また、試料の採取のタイミングは、反応開始直前、反応開始後15分、反応開始後30分とし、それぞれの時間において、貯水槽内の溶液500 μ lをマイクロピペットで採取し、あらかじめCLAを添加した25mM磷酸カリウム緩衝液（pH

7.0) 500 μ lに加え (1 : 1 混合、計 1ml)、CLA発光を滴下後5分間測定した。発光強度は、相対ルミネッセンス強度単位 (relative luminescence unit、以下rluとする) として標記した。

[0184] 図4にCLA発光によって求めたスーパーオキシドアニオンラジカルの濃度の経時変化の結果を示す。図4にも示すように、貯水槽から取り出し、即ち触媒との反応の場から隔離し、ルミノメータ内に放置したにもかかわらず、活性酸素含有水からは長時間持続するCLA発光が確認できた。本来であれば、スパイク状のCLA発光が認められるべきであるが、図4の如く、測定開始後10分間にわたり、発光量が漸増し、その後緩やかに減少した。

[0185] 一般に、スーパーオキシドアニオンラジカルは非常に反応性に富み不安定なため、水中では瞬時に消失するとされる。

[0186] しかし、この結果より活性酸素含有水生成装置Aを通過した水、すなわち、活性酸素含有水は、装置外でも長時間にわたってスーパーオキシドアニオンラジカルの生成が継続して行われていることが検証された。

[0187] しかもその時間は極めて長時間で、検出開始より30分を越えてもなお、その反応が継続していた。

[0188] また図5に示すように、活性酸素含有水生成装置A内で水を循環させる時間が長くなるにしたがい、スーパーオキシドアニオンラジカルの量は増加し、採取後も経過時間とともに、生成量が増加する事が示された。

[0189] 一般にCLAはスーパーオキシドアニオンラジカルの特異的検出試薬として用いられるが、一重項酸素に対してもある程度の反応性を示すことが知られる。

[0190] そこで、観察された化学発光がスーパーオキシドアニオンラジカルの生成を反映したものであることを検証するために、スーパーオキシドの除去剤であるTironおよび一重項酸素の除去剤であるDABCOを添加することで、今回示されたCLA発光がスーパーオキシドアニオンラジカル単独の生成を反映したものであることが確認できた。

[0191] 同様に過酸化水素の検出も化学発光基質としてルミノールを用い、検出用

触媒としてセイヨウワサビペルオキシダーゼを利用し、中性のpH条件での検出をおこなった。

[0192] その結果、ルミノール発光が検出され、1~20nmol/Lと極めて低濃度の過酸化水素が、活性酸素含有水生成装置 A を通過した水中に存在することが明らかになった。

[0193] しかしその生成量は測定時ごとに変動し、活性酸素水種の反応過程に過酸化水素水が関与している事が示唆された。しかし、含有する過酸化水素は極めて濃度が低く、細胞外刺激による生体へのレドックス反応を惹起させることは出来ない。

[0194] さらに反応にオゾンが関与する事が考慮されるため、ガス検知管にて貯水槽付近の空気中のオゾン検知を行なったが、全く検出されず、循環水中におけるインディゴカーミンによる比色法でオゾン発生の有無を確認したが、全く検出されず、オゾンの発生は極めて少ないことを確認した。

[0195] また、有機溶媒中に KO_2 （超酸化カリウム）を溶解した KO_2 溶液をCLA溶液に添加し、CLA依存性の化学発光によるスーパーオキシドアニオンの検量線を作製した。一般には、 KO_2 をクラウンエーテル系有機溶媒中に溶存しスーパーオキシドの定量に用いる手法が利用されるが、疎水性環境ではなく、水溶液中のCLAとの反応を可能にするため、有機溶媒としてはジメチルスルホキシド（DMSO）を利用した。この手法により、 KO_2 溶液添加によるCLA発光を誘導でき、スーパーオキシドアニオンの検量線の作成を行なった。

[0196] その結果、活性酸素含有水生成装置 A にて生成した活性酸素含有の水は、特徴としてSA-W、すなわち、スーパーオキシドアニオンラジカルを大量に含有し、長時間保持作動する事が可能な水として生成する事が可能であり、最大200 μ mol/Lのスーパーオキシドアニオンラジカルが含まれていることが示された。

[0197] 〔一重項酸素の産生確認〕

次に、前述のスーパーオキシドアニオンラジカルの生成確認を行なったシステムと同様の循環系において、循環させる水を初期濃度2.5ppmのオゾン水1

0Lを用いて前述と同様の測定を行なった。活性酸素種生成の前駆物質としてオゾンを含むオゾン水生成には電離法を用いて生成をおこなう株式会社アイ電子社工業製クイックオゾン10を用い、溶存オゾン濃度はインディゴカーミンによる比色法でオゾン濃度を測定した。

- [0198] 図6に示すように、前駆物質として初期濃度2.5ppmのオゾンを含むオゾン水は、触媒体との反応を行なわない場合、約30分にわたり1.5ppm程度の濃度を維持する。既知の技術として、殺菌灯レベルの紫外線にてオゾンは分解する事が知られている。しかし、光触媒反応を惹起するUV-A (365nm) ではオゾンの分解は促進されず、高濃度のオゾンが持続する。
- [0199] 初期濃度2.5ppmのオゾン水にて、行なった結果を図7に示す。触媒体の存在のもと、紫外線 (UV-A) 照射+超音波振動を付与直後より5分間にわたり、CLA発光は最大値1000000 [rlu] を超過する爆発的な化学発光を生じ、反応開始後3分の時点でオゾン濃度は0.2ppmとほとんどオゾン活性を有しないレベルにまで分解される。
- [0200] この反応開始後3分目のサンプルに対して、スーパーオキシド除去剤であるTironおよび一重項酸素除去剤であるDABCOを添加することによる抑制試験を行なった結果を図8に示す。
- [0201] 図8より、スパイク状のCLA発光の大部分は一重項酸素の生成によるものである事が判明した。一重項酸素のスケールに該当するマーカーが無い場合、スーパーオキシドアニオンラジカル換算で1.7mM/Lと極めて高濃度の活性酸素種を生成する事が可能である事が判明した。処理を行なう水をオゾン水とした場合、S0-W、すなわち、一重項酸素を大量に含有し、長時間保持作動する事が可能な水として恒常的に生成する事が可能となった。
- [0202] 次に、これらSA-WおよびS0-Wを用いて、植物に対してPR遺伝子の発現を伴うSAR発現効果を観察した。
- [0203] PR遺伝子群発現の確認は、植物試料より抽出したRNAを逆転写酵素 (RT) によりcDNAに変換後に行なうPCR法 (RT-PCR法) にて、発現の確認を行なった。
- [0204] 病原抵抗性遺伝子は植物種により同一の遺伝子が発現し、植物種が異なる

と遺伝子の配列が異なり、異なる名称で呼ばれることがある。タバコ (*Nicotiana tabacum* L.) ではSARの指標となるサリチル酸応答性のPR遺伝子群の最も代表的な遺伝子はPR1a遺伝子であり、トマト (*Solanum lycopersicum*) でも同様にPR-1遺伝子が同定されている。

- [0205] オゾン感受性（活性酸素に対する耐性が低い性質を有する）系統のタバコであるBel-W3系統および、オゾン耐性系統（活性酸素に対する耐性が高い品種）のタバコであるBel-B系統の植物体および細胞は、共通の病原抵抗性遺伝子PR1aを有している。トマトのPR1遺伝子の配列は異なるため、RT-PCRによる発現検出には、タバコとは異なるDNA配列を有するプライマーが必要である。
- [0206] 病原抵抗性遺伝子発現の確認に使用したタバコPR1a同遺伝子中の423bpの領域を増幅するプライマー（5' -GTAATATCCCACTGTTGCCGTGCC-3' と5' -CGTGAAATGGACGTAGGTCG-3'）は、タバコPR1a cDNAの塩基配列から設計し、同様にタバコActin cDNAの塩基配列より、プライマー（5' -GGTTAAGGCTGGATTTGCTG-3' と5' -CCACCACCTTGATCTTCATG-3'）を設計し、刺激により発現量が左右されない遺伝子として対照実験に使用した。PCR時のアニリング温度(T_m)およびPCRサイクル数(cycle)は、タバコPR1aでは T_m : 58, Cycle: 30、タバコActinでは T_m : 60, Cycle: 30で行なった。
- [0207] またトマトPR-1遺伝子の393bpを増幅するプライマー（5' -CTTCTCATGGTATTAGCC-3' と5' -CCACCATCCGTTGTTGC-3'）は、トマトPR-1遺伝子のcDNAの塩基配列から設計し、同様にトマトActin cDNAの塩基配列より、プライマー（5' -CACACTGTCCCTATTTACGA-3' と5' -GTAATAACTTGTCCATCAGG-3'）を設計し対照として使用した。PCR時の遺伝子結合を行なうアニリング温度(T_m)およびPCRサイクル数(cycle)は、トマトPR-1では T_m : 54.8, Cycle: 30、トマトActinでは T_m : 58, Cycle: 30で行なった。
- [0208] まず、図9にタバコPR1a遺伝子の発現を検証したアガロース電気泳動写真を示す。図9で示したデータは、酸化ストレスに対する感受性の高いBel-W3系統の植物体から調整したリーフディスク（直径10mm、1処理区に25枚づつ）を直径6cmのプラスチックシャーレ内に静置し、30mlのSA-W（触媒体存在下

、紫外線、超音波を最適化した条件で30分以上循環した水10L（スーパーオキシドアニオンラジカル濃度 $200\ \mu\text{mol/L}$ ）からピペットにより採取）またはS0-W（活性酸素種前駆物質として初期濃度2.5ppmのオゾンを含む10Lのオゾン水を満たした装置内で触媒体存在下、紫外線、超音波を最適化した条件で、3分間反応を行なった時点でピペットにより採取）を添加後、12時間、あるいは24時間、室温（遮光条件下）で放置し、遺伝子発現を促した試料から凍結破碎後にRNAを抽出し、RT-PCRにより目的の遺伝子の発現解析を行ったものである。

[0209] 図9では、（1）対象実験区（リーフディスク調整直後、図中にControlと記載）、

（2）SA-Wを添加し、12時間放置後の試料（図中にSA-W 12Hと記載）、（3）SA-W添加後24時間後の試料（図中にSA-W 24Hと記載）、（4）S0-W添加後12時間目の試料（図中にS0-W 12Hと記載）、（5）S0-W添加後24時間目の試料（図中にS0-W 24Hと記載）の結果を示した。このことから明らかなように、刺激により発現レベルが変化しないアクチン遺伝子と比較して、PR1a遺伝子の発現レベルが大きく上昇したことから、SA-WおよびS0-WによってPR1a遺伝子の発現が誘導されたことが示されている。なお、図9では、リーフディスク作成直後のデータを対照実験として示したが、水道水添加によるPR1a遺伝子発現誘導が12時間目、24時間目に起きないことも確認している。

[0210] また、注目すべき点として、S0-Wは、SA-Wに比して早期に病原抵抗性遺伝子の発現が誘導されている点にある。

[0211] このことは一重項酸素がより強力なレドックス反応を誘導し、細胞内刺激を経て病原抵抗性遺伝子の発現を生じること示していると考えられる。

[0212] 一方、酸化ストレスに対して感受性の低いBel-B系統のタバコ植物体から調整したリーフディスクに上記の条件でSA-WおよびS0-Wを添加した場合も、Bel-W3系統よりも低レベルではあるが、PR-1a遺伝子の発現誘導が確認できた。両系統のタバコの間での発現誘導の程度の差は、両系統間に本来存在する酸化ストレスに対する感受性の差によると考えられる。同様の差は、両系統の

タバコの植物体に直接SA-Wを添加した場合のPR-1aの発現誘導実験でも確認されている。即ち、Bel-W3の植物体では、短時間のSA-W処理であっても顕著なPR-1aの発現誘導が認められ、Bel-B系統の植物体では、より強いレベルの処理が必要であった。

[0213] この結果は、1回の刺激のみでしかも、葉への直接付加によりPR-1a遺伝子の発現誘導が確認できたことが、特筆すべき事であり、刺激を確実にを行うために、複数回の投与および持続的投与により、効果的にPR-1a遺伝子の発現をさせ、植物体全体のSAR誘導を確実にする事が可能となる事を示す。

[0214] さらに、このように、植物が本来持つ酸化ストレスに対する感受性の違いを考慮して、SA-WおよびSO-Wによる処理の程度（濃度、処理時間、処理のタイミングなど）を変化させることにより、効果的な病原抵抗性の付与が実現できるといえる。

[0215] 一方、SA-WおよびSO-WによるタバコのPR-1a遺伝子の発現誘導効果は、細胞レベルでの実験でも確認できた。即ち、MS液体培地で培養したBel-W3由来の懸濁培養細胞（23°Cでの培養5日目の対数増殖期にある細胞）に対するSA-W（スーパーオキシドアニオンラジカル濃度200 $\mu\text{mol/L}$ ）およびSO-Wの添加実験（1~12時間後にRNAを抽出し、上記と同様のRT-PCR実験にて実証）においても確認できた。

[0216] 上述の結果から、本実施形態にて生成した活性酸素含有水は、タバコの植物体表面、リーフディスク表面、および細胞の表面に接触させることにより、酸化ストレス応答反応を介してタバコPR-1a遺伝子の発現を誘導できることが示された。このように植物体レベル、組織レベル、細胞レベルで同様の結果を得たことにより、活性酸素水の効果は、PR遺伝子の発現誘導に至る細胞生物学的な反応が全身で認められたことを示すものであり、全身獲得抵抗性の特徴をよくあらわしている。

[0217] すなわち、活性酸素含有水により、タバコの病原抵抗性遺伝子を発現させて、タバコの病害を予防可能であることが示唆された。

[0218] 次に、図10に分子遺伝学のモデル材料として利用される小型のトマト品

種（マイクロトム、図中にはMicro-Tomと表記）の植物体にSA-WおよびSO-Wを添加した場合のPR-1遺伝子の発現誘導を検証したアガロース電気泳動写真を示す。この実験では、発芽後約1ヵ月間鉢植えの状態で生育させた植物体を、水耕栽培と同様の条件を再現するために、水道水中で洗浄し、根系から土壌を取り除き、300mlビーカー内に静置し、約100mlの水道水、SA-W（スーパーオキシドアニオンラジカル濃度 $200\ \mu\text{mol/L}$ ）、SO-Wに浸して植物体からそれぞれの水を吸収させ、24時間放置し、液体窒素による凍結・破碎後、RNAを抽出し、RT-PCRによりPR-1遺伝子の発現を解析した。その結果、図10に示すように、SO-WおよびSA-W処理によりPR-1遺伝子の発現が顕著な増大を見せた。

[0219] また24時間目の試料では、SO-Wに比してSA-Wの方が、遺伝子発現誘導効果が高いというデータが得られた。しかし、SA-WとSO-Wの効果は、タバコ（Bel-W3）のデータ（図9）でも明らかのように、それぞれ異なるタイミングで最大の効果を示す傾向があるため、目的に応じた利用が可能である。

[0220] 上述の結果から、本実施形態にて生成した活性酸素含有水は、SA-W、SO-W共に、トマト（マイクロトム）の植物体表面に接触させることにより、トマトPR-1遺伝子の発現を誘導できることが示された。

[0221] すなわち、活性酸素含有水により、トマトの病原抵抗性遺伝子を発現させて、トマトの病害を予防可能であることが示唆された。

[0222] 上記に結果を示した、タバコとトマトは、植物分類学的に属を超えて異なる植物である。またそれぞれ、葉を主要な生産物とする作物を代表する植物種と果実を生産物とする作物を代表する植物種であり、農業上の重要性は言うまでもなく、学術的にも、それぞれ、農学および植物生理学の重要なモデル植物材料とされている。それゆえ、図9及び図10に示した結果より、活性酸素含有水は、種や属を超えたあらゆる植物に対して病原抵抗性遺伝子を誘導しその遺伝子産物を発現させて、その植物の病害を予防可能であるものと考えられる。

[0223] ところで、上述の病原抵抗性遺伝子の誘導では、SA-WとSO-Wとをそれぞれ単独に用いて誘導することとしたが、これらを組み合わせた活性酸素含有水

を調製または生成し、所定の植物に用いるようにしても良い。

[0224] すなわち、一重項酸素を含むS0-Wと、一重項酸素よりも反応性が低く、且つ、長時間保持機能を有する（長寿命の）スーパーオキシドアニオンラジカルを含むSA-Wとを混合したり、また、一重項酸素とスーパーオキシドアニオンラジカルとを含有する水を直接生成して得た活性酸素含有水を、植物に接触させて、同植物の病原抵抗性遺伝子を誘導するようにしても良い。

[0225] この場合、第1の活性酸素として一重項酸素を用い、第2の活性酸素としてスーパーオキシドアニオンラジカルを使用することとなる。なお、第1の活性酸素と第2の活性酸素とは、これらに限定されるものではなく、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシルラジカル、一重項酸素、含酸素有機ラジカルの中から適宜選ばれるものである。ただし、第1及び第2の活性酸素は、一方は他方に対して反応性が低く、且つ、長時間保持機能させることができるものである。

[0226] 一重項酸素とスーパーオキシドアニオンラジカルとを含有する活性酸素含有水は、具体的には、図11に示すように、一重項酸素による反応が、スーパーオキシドアニオンラジカルによる反応よりもスパイク状に突出するような反応性バランスを持つ割合で存在させるのが望ましい。なお、図11は、一重項酸素とスーパーオキシドアニオンラジカルとを含有する活性酸素含有水の反応性の経時変化を示すグラフであり、縦軸に反応性（CLA発光量）、横軸に時間をとっている。

[0227] 図11にも示す1スパン分に着目すると、スーパーオキシドアニオンラジカルは一重項酸素に比して長寿命且つ反応性が低いため遅効性でありベースラインを形成している。

[0228] 一方、一重項酸素は、短寿命且つ反応性が高いため即効性であり、スパイク状のピークを形成している。

[0229] このような活性酸素含有水を植物に対して数スパン連続的に使用することで、植物が有する病原抵抗性遺伝子を発現し続けることができ、常時病気に強い植物とすることができるのである。

- [0230] 付言すれば、遅効性を有するスーパーオキシドアニオンラジカルによって、植物に対し常時負荷を与えつつ、一重項酸素によって、植物に短時間でより大きい負荷をパルス状に与えることにより、SA-WやSO-Wを単独で使用した場合に比して、病原抵抗性遺伝子の発現効率を更に向上させることができる。
- [0231] また、反応性が高く即効性の一重項酸素は、植物に感染した細菌やウイルス等の微生物を殺滅する役割を果たすと共に、反応性が比較的強く遅効性のスーパーオキシドアニオンラジカルは、一重項酸素によって微生物汚染が抑えられた状態の植物において、徐々に病原抵抗性遺伝子の発現を行うという効果も有している。
- [0232] さらに、特徴的な点として、活性酸素含有水に含まれるスーパーオキシドアニオンラジカルや一重項酸素は、過酸化水素や、従来植物の病原抵抗性遺伝子の用いられているサリチル酸等の芳香族化合物に比して極端に寿命が短いため、土壌中や植物中に蓄積されることがなく、土壌汚染やヒトへの健康被害を生じさせるおそれがない。このことは、SA-WやSO-Wを単独で使用した場合においても同様のことが言える。
- [0233] また24時間連続して、触媒体存在下、紫外線と超音波を最適化した条件で循環を続けた10LのSA-W（スーパーオキシドアニオンラジカル濃度 $200\ \mu\text{mol/L}$ ）に発泡スチロール製の浮体に固定した状態で維持したマイクロトム植物体においても、顕著なPR-1の発現を確認している。このとき24時間連続で反応を続けるSA-Wとの接触を続けたにも係わらず、植物体へのダメージは全く確認できなかった。このことは、SA-Wを実際にトマトの水耕栽培に用いた場合、連続でSA-Wを処理する方法で、効率的に病原抵抗性の付与を行なうことが可能であることを示唆している。
- [0234] 植物自体へのダメージが低いことは、細胞レベルの実験でも確認している。即ち、タバコ（Bel-W3、Bel-B）由来の懸濁培養細胞およびマイクロトム由来の懸濁培養細胞にSA-W（スーパーオキシドアニオンラジカル濃度 $200\ \mu\text{mol/L}$ ）およびSO-Wを添加し、12時間経過後も細胞死が全く誘導されなかった。一

方、オゾン水を添加した実験区では、細胞死が誘導された。このことは、オゾン水と比較して、SA-WおよびSO-Wが植物に対して低毒性でありながら、細胞への適度な酸化ストレスの付与に成功していることを示している。この農作物への処理に適した程度の酸化ストレスの付与が、SARの発現による植物への病原抵抗性の付与には重要である。

- [0235] 上述してきたように、本実施形態に係る植物病害の予防方法によれば、植物に、活性酸素種を含有し長時間保持機能させることのできる活性酸素含有水を接触させて、前記植物が有する病原抵抗性遺伝子を誘導することにより、前記植物の病害を予防することとしている。
- [0236] したがって、図9及び図10を用いて説明したように、植物の属や種を超えて、その植物が有する病原抵抗性遺伝子を誘導することができるのである。
- [0237] さらに水道水10Lを循環流量15L/minにて循環させ、前駆物質として酸素を付加し、溶存酸素濃度30mg/Lとし、活性酸素含有水生成装置Aに配設する超音波振動子11は霧化用2.4MHz超音波振動子(HM-2412、霧化能力250±50ml/h(水、25°C))1台のみを配設し、電磁波発生装置21としてブラックライト(東芝ライテック社製EFD15BLB、ピーク波長352nm、紫外線出力1.8W)を用いて上述の実験を行なった。
- [0238] 生成されたSA-Wの、スーパーオキシドアニオンラジカル濃度50μmol/Lとなり、上述の病原抵抗性遺伝子の誘導は、達成できず、実験植物であるシロイナズナを用いた各種転換酵素の欠損遺伝子株で検討した結果、カルシウムチャンネルが、低濃度のスーパーオキシドアニオンラジカルでは、解放されず、逆に閉鎖される機所がある事が、判明した。スーパーオキシドアニオンラジカル濃度50μmol/Lが、反応誘導の下限值と考えられた。
- [0239] 最後に、上述した各実施の形態の説明は本発明の一例であり、本発明は上述の実施の形態に限定されることはない。このため、上述した各実施の形態以外であっても、本発明に係る技術的思想を逸脱しない範囲であれば、設計等に応じて種々の変更が可能であることは勿論である。

符号の説明

- [0240] A 活性酸素含有水生成装置
B 活性酸素含有水生成装置
- 1 0 反応部
- 1 1 超音波振動子
- 1 3 給水口
- 1 7 セル体
- 2 1 電磁波発生装置
- 2 5 触媒体
- 2 6 螺旋板
- 2 7 出水口
- 2 9 振動板
- 3 1 超音波発振装置
- 5 0 第1流路
- 5 1 第2流路
- 5 2 第3流路
- 6 1 螺旋流路
- 6 2 吹き抜け空間

請求の範囲

- [請求項1] スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシルラジカル、一重項酸素、含酸素有機ラジカル種の中から選択された時間的に挙動の異なる第1の活性酸素種と第2の活性酸素種とを含有し、これら第1及び第2の活性酸素種は、一方は他方に対して反応性が低く、且つ、長時間保持機能させることができるものであり、同活性酸素種のもつ酸化還元力を植物体の細胞外より植物細胞内へ到達させることで、前記植物細胞内でレドックス反応を惹起し、病原抵抗性遺伝子を発現させる活性酸素含有水。
- [請求項2] 植物に、活性酸素種を含有し長時間保持機能させることのできる活性酸素含有水を接触させて、前記植物が有する病原抵抗性遺伝子の発現を誘導することにより、前記植物の病害を予防する植物病害の予防方法。
- [請求項3] 前記活性酸素含有水は、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシルラジカル、一重項酸素、含酸素有機ラジカルのうち少なくとも一つの活性酸素を含有し、植物接触手段により植物体の細胞外より植物細胞内へ活性酸素種のもつ酸化還元力を到達させ、吸収された水により植物細胞内で惹起されたレドックス反応により病原抵抗性遺伝子の発現を誘導させることにより、前記植物の病害を予防することを特徴とする請求項2に記載の植物病害の予防方法。
- [請求項4] 前記活性酸素含有水は、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシルラジカル、一重項酸素、含酸素有機ラジカル種の中から選択された時間的に挙動の異なる第1の活性酸素種と第2の活性酸素種とを含有し、これら第1及び第2の活性酸素種は、一方は他方に対して反応性が低く、且つ、長時間保持機能させることができ、
- さらに、前記病害耐性遺伝子を誘導するにあたり、直接的に病原微生物に作用できる第1の活性酸素種を速効させ、次いで、植物での病原抵抗性発現を誘導できる第2の活性酸素種を遅効させながら、前記

植物の病害を予防することを特徴とする請求項 2 に記載の植物病害の予防方法。

[請求項5] 前記活性酸素種は、水に浸漬した触媒体に、紫外線、超音波振動、可視光線、マイクロ波の中の少なくともいずれか 1 つを付与して生じさせたものであることを特徴とする請求項 2 から請求項 4 に記載の植物病害の予防方法。

[請求項6] 前記水は、前記活性酸素種の前駆物質となる酸素ガス、オゾンガス、塩素ガス、一酸化窒素ガス、アンモニアガスの中の少なくともいずれか 1 つを溶存させていることを特徴とする請求項 5 に記載の植物病害の予防方法。

[請求項7] 前記触媒体は、酸化チタン (TiO_2)、アルミナ (Al_2O_3)、アルマイト、酸化マグネシウム、水酸化マグネシウム、マグネタイト (Fe_3O_4)、酸化亜鉛、酸化タングステン、チタン酸バリウム、チタン酸ストロンチウム、チタン酸ナトリウム、二酸化ジルコニウム、酸化タングステン、水酸化タングステン化合物、 α - Fe_2O_3 、硫化カドミウム、硫化亜鉛、白金、銅、パラジウムの金属酸化イオンおよび金属水酸化イオンにより構成された金属、中の少なくともいずれか 1 つを含有することを特徴とする請求項 5 または請求項 6 に記載の植物病害の予防方法。

[請求項8] 前記触媒体は、粉状または粒子状または繊維状の形状を有していることを特徴とする請求項 5 ~ 7 に記載の植物病害の予防方法。

[請求項9] 前記活性酸素含有水は、紫外線の光源を水中に配設し、しかもその紫外線光源の周囲を、一定の間隙を保持して、繊維体よりなる光触媒体で囲繞することにより、水流を、紫外線光源と光触媒体との間隙を通過して上昇または下降する第 1 水流と、光触媒体の外周を螺旋状に通過して上昇または下降する第 2 水流と、光触媒体の組織中に流出入する第 3 水流とより構成した活性酸素含有水生成装置にて生成したものであることを特徴とする請求項 2 ~ 7 に記載の植物病害の予防方法。

[請求項10] 請求項2～9に記載の植物病害の予防方法に使用する活性酸素含有水の生成装置であって、

水供給口と活性酸素含有水取出し口とを備えた容器内に配設された紫外線の光源と、

同紫外線光源の周囲を一定の間隙を保持して囲繞する、繊維体にて形成された光触媒体と、を備え、

容器内に供給された水流を、紫外線光源と光触媒体との間隙を通過して上昇または下降する第1水流と、光触媒体の外周を螺旋状に通過して上昇または下降する第2水流と、光触媒体の組織中に流出入する第3水流とより構成したことを特徴とする活性酸素含有水生成装置。

[請求項11] 請求項2～9に記載の植物病害の予防方法に使用する活性酸素含有水の生成装置であって、

紫外線に対して透明な素材で形成され、水供給口と出水口とを備え、内部に触媒体を収容した容器と、

前記水供給口から流入する水の前記容器内での流動方向に超音波を照射する超音波照射部と、

前記容器の周囲に配設され、前記触媒体に対して前記容器の外部から紫外線を照射する紫外線照射部と、を備え、

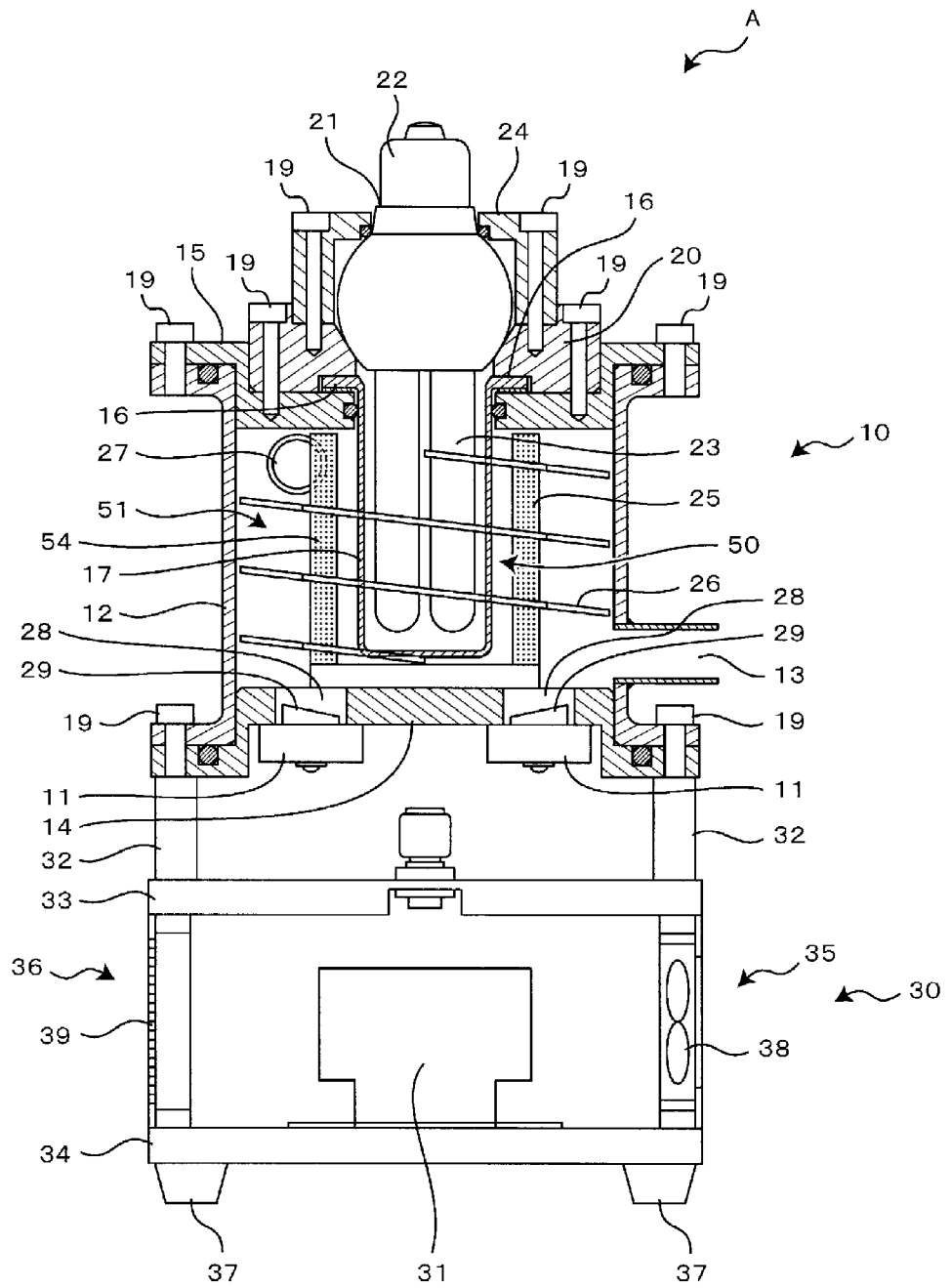
前記触媒体の少なくとも一部を、前記超音波照射部から照射される超音波の照射領域と、前記紫外線照射部から照射される紫外線の照射領域とが重なる領域に配設したことを特徴とする活性酸素含有水生成装置。

[請求項12] 前記水供給口から流入した水が前記出水口に向かう際に、前記容器内で流動する方向に対して直交する方向へマイクロ波を照射するマイクロ波照射部を更に備え、

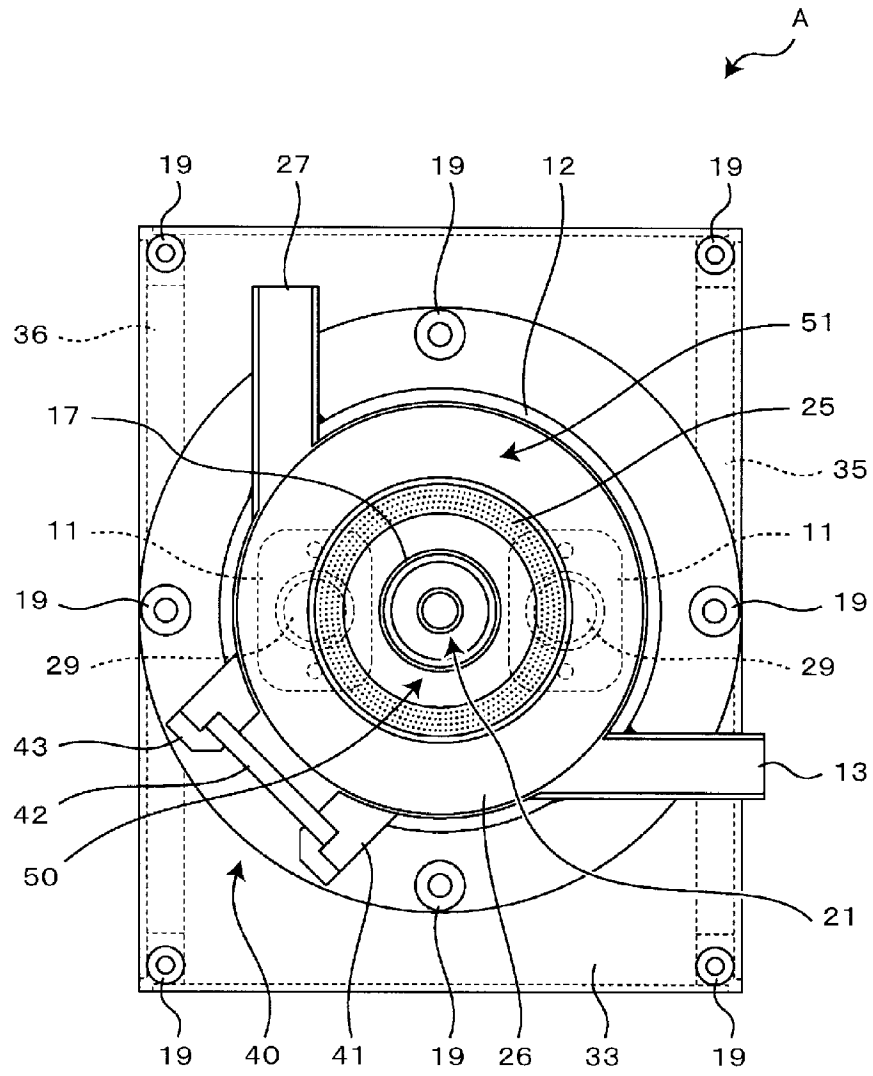
前記触媒体の少なくとも一部を、前記マイクロ波照射部から照射されるマイクロ波の照射領域と、前記超音波照射部から照射される超音波の照射領域と、前記紫外線照射部から照射される紫外線の照射領域

とが重なる領域に配設したことを特徴とする請求項 1 1 に記載の活性酸素含有水生成装置。

[図1]

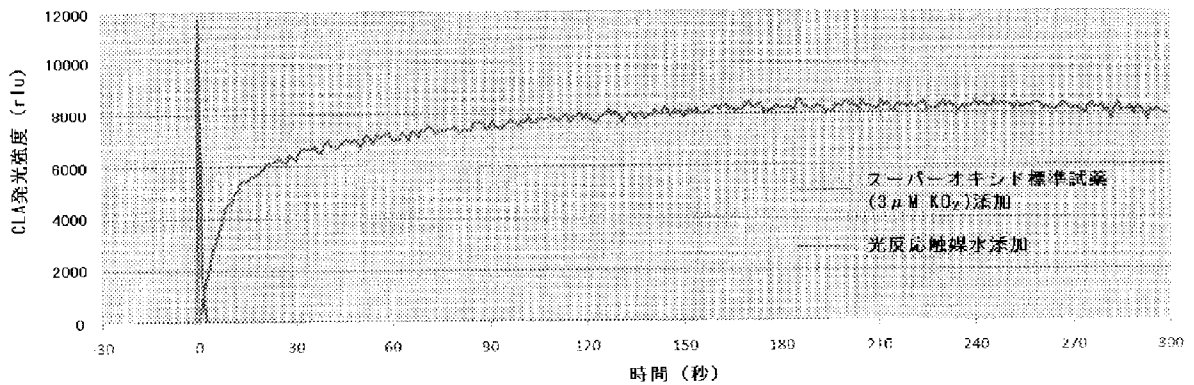


[図2]

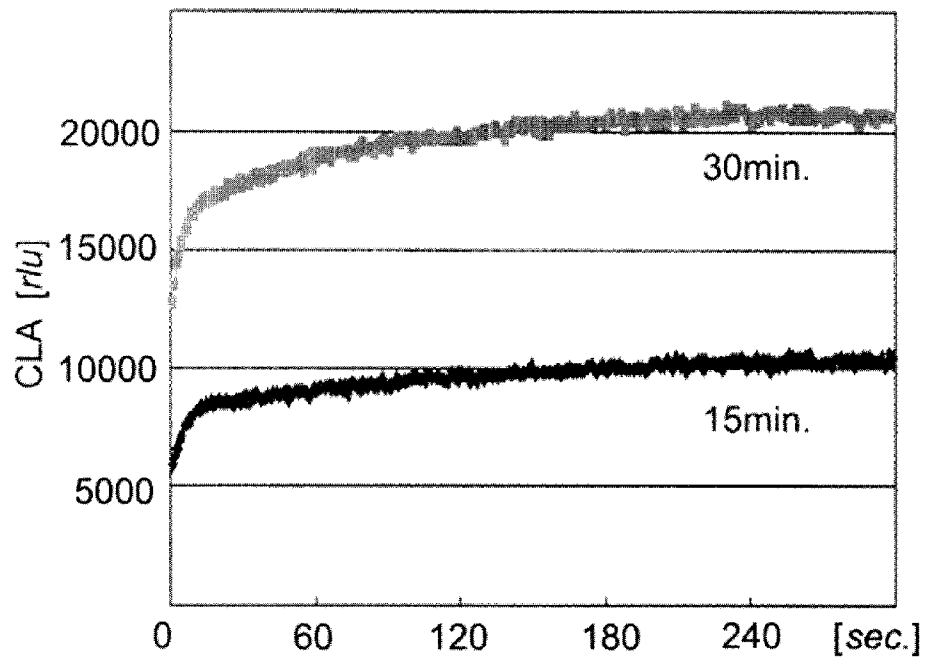


[図4]

CLA 発光による
スーパーオキシドアニオンラジカルの濃度の経時変化

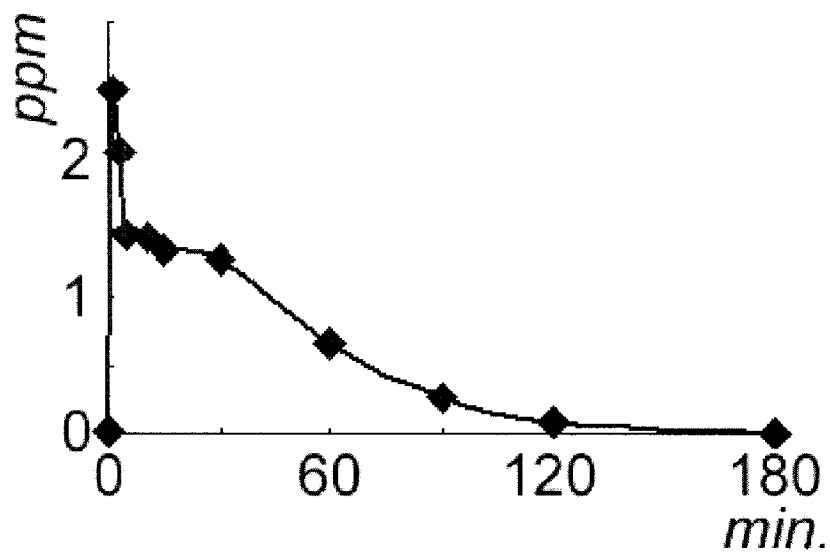


[図5]



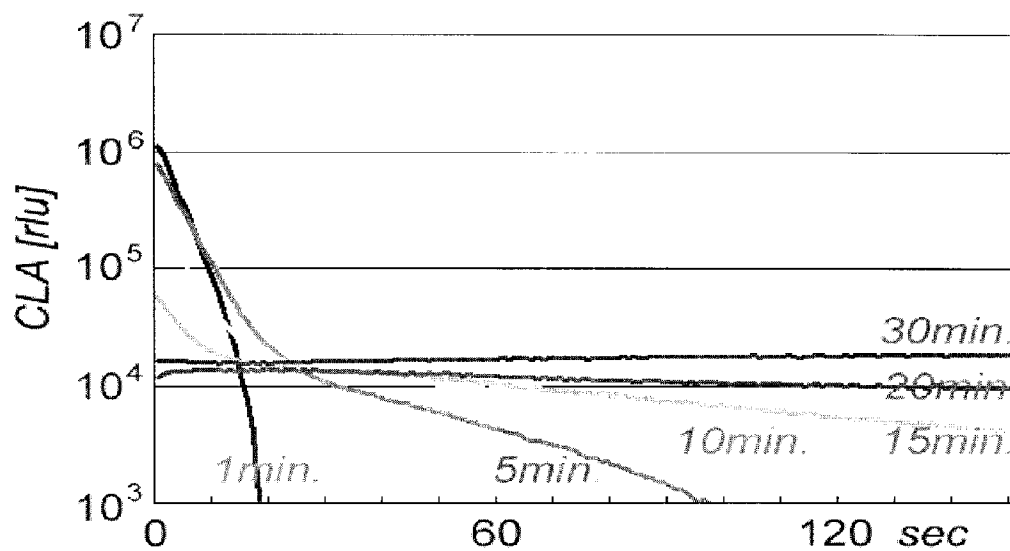
[図6]

オゾン濃度測定結果



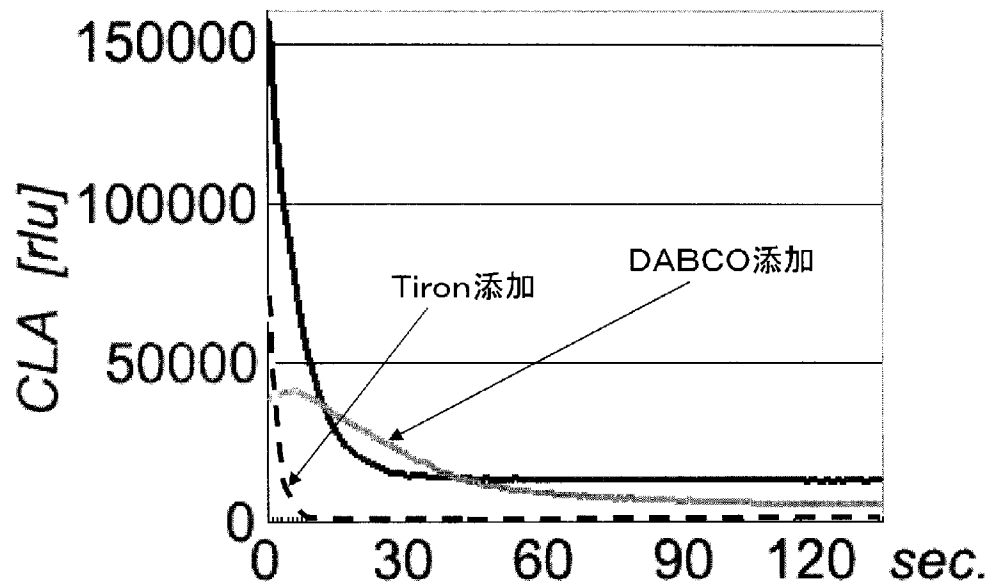
[図7]

初期濃度2.5ppmのオゾン水における試験結果

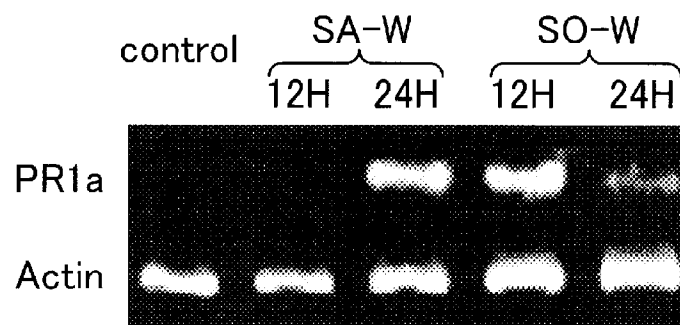


[図8]

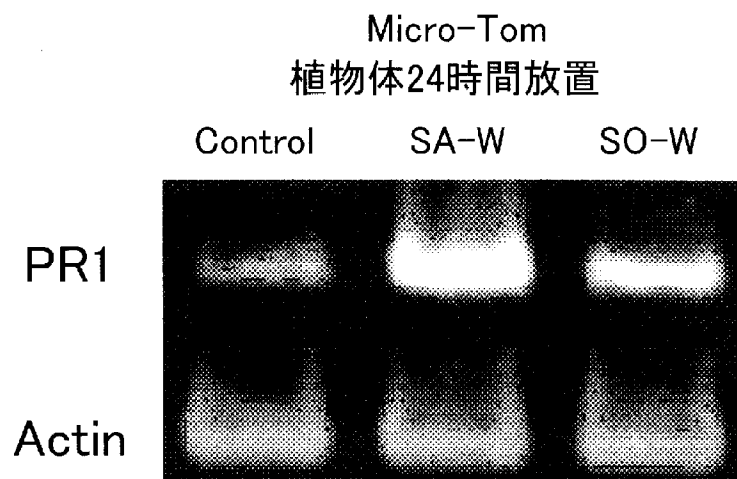
TironおよびDABCOによる抑制試験



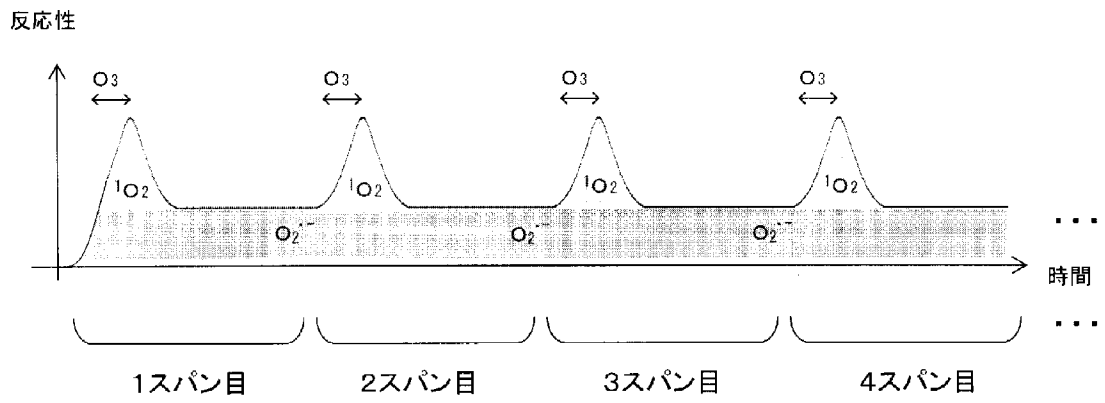
[図9]



[図10]



[図11]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/066198

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A01N59/00, A01G7/00, A01G7/06, A01N25/02, A01N59/06, A01N59/16, A01N59/20, A01P3/00, C02F1/30, C02F1/32, C02F1/36, C02F1/72, C02F1/74, C02F1/78

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	1996-2009
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2009	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2009

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CiNii, BIOSIS (STN), JSTPlus (JDreamII), JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	JP 11-75549 A (Hiroshi KAWAI), 23 March 1999 (23.03.1999), paragraphs [0016], [0028], [0029], [0033] & WO 1999/012409 A1	2, 3 5-9 1, 4
X Y A	WO 2007/043592 A1 (K2R Co., Ltd.), 19 April 2007 (19.04.2007), paragraphs [0099] to [0315]; fig. 3 to 5 & JP 4195499 B & EP 1950179 A1 & KR 10-2008-0067340 A & CN 101326126 A	10, 11 5-9, 12 1, 4
Y	JP 2004-330146 A (Nihon Trim Co., Ltd.), 25 November 2004 (25.11.2004), paragraphs [0033], [0043] (Family: none)	12

 Further documents are listed in the continuation of Box C. 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
18 November, 2009 (18.11.09)Date of mailing of the international search report
01 December, 2009 (01.12.09)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/066198

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 2008-142647 A (K2R Co., Ltd.), 26 June 2008 (26.06.2008), entire text (Family: none)	1-12
A	Ken'ichi OGAWA, "Redox to Shokubutsu no Seicho · Seiri Chosetsu", Regulation of Plant Growth & Development, 02 December 2002 (02.12.2002), vol.37(2), pages 126 to 138	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/066198

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

(International Patent Classification (IPC))

A01N59/00(2006.01)i, A01G7/00(2006.01)i, A01G7/06(2006.01)i,
A01N25/02(2006.01)i, A01N59/06(2006.01)i, A01N59/16(2006.01)i,
A01N59/20(2006.01)i, A01P3/00(2006.01)i, C02F1/30(2006.01)i,
C02F1/32(2006.01)i, C02F1/36(2006.01)i, C02F1/72(2006.01)i,
C02F1/74(2006.01)i, C02F1/78(2006.01)i

(According to International Patent Classification (IPC) or to both national
classification and IPC)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. 特別ページ参照

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. A01N59/00, A01G7/00, A01G7/06, A01N25/02, A01N59/06, A01N59/16, A01N59/20, A01P3/00, C02F1/30, C02F1/32, C02F1/36, C02F1/72, C02F1/74, C02F1/78

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

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2009年
日本国実用新案登録公報	1996-2009年
日本国登録実用新案公報	1994-2009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)

CiNii, BIOSIS (STN), JSTPlus (JDreamII), JST7580 (JDreamII)

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
X Y A	JP 11-75549 A (河合 博) 1999.03.23, 【0016】、【0028】、 【0029】、【0033】 & WO 1999/012409 A1	2, 3 5-9 1, 4
X Y A	WO 2007/043592 A1 (有限会社K2R) 2007.04.19, 【0099】 - 【0315】、【図3】 - 【図5】 & JP 4195499 B & EP 1950179 A1 & KR 10-2008-0067340 A & CN 101326126 A	10, 11 5-9, 12 1, 4

C欄の続きにも文献が列挙されている。

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

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの
- 「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
- 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行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)
- 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「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
- 「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
- 「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
- 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

18.11.2009

国際調査報告の発送日

01.12.2009

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
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)

坂田 誠

2B

4012

電話番号 03-3581-1101 内線 3237

C (続き) . 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
Y	JP 2004-330146 A (株式会社日本トリム) 2004. 11. 25, 【0033】、 【0043】 (ファミリーなし)	1 2
A	JP 2008-142647 A (有限会社K 2 R) 2008. 06. 26, 全文 (ファミリーなし)	1 - 1 2
A	小川 健一, レドックスと植物の生長・生理調節, 植物の生長調節, 2002. 12. 02, Vol. 37(2), pp. 126-138	1 - 1 2

発明の属する分野の分類

A01N59/00(2006.01)i, A01G7/00(2006.01)i, A01G7/06(2006.01)i, A01N25/02(2006.01)i,
A01N59/06(2006.01)i, A01N59/16(2006.01)i, A01N59/20(2006.01)i, A01P3/00(2006.01)i,
C02F1/30(2006.01)i, C02F1/32(2006.01)i, C02F1/36(2006.01)i, C02F1/72(2006.01)i,
C02F1/74(2006.01)i, C02F1/78(2006.01)i