

(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
2022年9月29日(29.09.2022)



(10) 国際公開番号

WO 2022/202909 A1

(51) 国際特許分類:

A01G 7/00 (2006.01) *G01N 21/64* (2006.01)
G01N 33/48 (2006.01) *G01N 27/48* (2006.01)

NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT,
QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(21) 国際出願番号: PCT/JP2022/013573

(22) 国際出願日: 2022年3月23日(23.03.2022)

(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 2021-049789 2021年3月24日(24.03.2021) JP

(71) 出願人: 日本電気株式会社 (NEC CORPORATION) [JP/JP]; 〒1088001 東京都港区芝五丁目7番1号 Tokyo (JP).

(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, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) 発明者: 前田 勝美 (MAEDA Katsumi); 〒1088001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP).

添付公開書類:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(74) 代理人: 伊藤 克博 (ITO Katsuhiko); 〒1030025 東京都中央区日本橋茅場町2丁目13番11号 サンアイ茅場町ビル4階 Tokyo (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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,

(54) **Title:** METHOD FOR SENSING METHYL SALICYLATE, METHYL SALICYLATE SENSOR, AND METHOD FOR DETECTING INFECTION OF DISEASE IN PLANT

(54) 発明の名称: サリチル酸メチルをセンシングする方法、サリチル酸メチルセンサー、及び植物の病気感染の検出方法

(57) **Abstract:** Provided is a method for sensing methyl salicylate, which is a plant hormone released when an infection of a disease occurs, in cultivation of plants including agricultural crops, and thereby detecting, on site, an infection of a disease in a plant in an early stage. The present invention can detect an infection of a disease in a plant in an early stage by using, as a receptor for sensing, a zinc compound that selectively recognizes methyl salicylate, which is a plant hormone released when a plant is infected with a pathogenic microbe, and forms a complex, and by using a change in fluorescent emission or in electrochemical behavior after the zinc compound had reacted with methyl salicylate.

(57) 要約: 農作物を含む植物の栽培において、病気感染した際に放出される植物ホルモンであるサリチル酸メチルをセンシングする方法を提供し、それによって植物の病気感染を早期に、その場で検出する方法を提供する。植物が病原菌感染の際に放出する植物ホルモンであるサリチル酸メチルを選択的に認識して錯体を形成する亜鉛化合物をセンシングのレセプターとして利用し、サリチル酸メチルと反応した後の蛍光発光現象や電気化学的挙動の変化を利用することによって、植物の病気感染を早期に検出することができる。



WO 2022/202909 A1

明 細 書

発明の名称：

サリチル酸メチルをセンシングする方法、サリチル酸メチルセンサー、及び植物の病気感染の検出方法

技術分野

[0001] 本発明は、植物が病気に感染した際に放出する植物ホルモンであるサリチル酸メチルのセンシング方法、サリチル酸メチルセンサー、及び植物の病気感染を早期に検出する方法等に関する。

背景技術

[0002] 植物は、糸状菌等の病原菌の感染を受けたり、害虫等による食害を受けたり、さらに環境の変動によるストレスを受けたりすると、それに対抗して独自の防御機構が働くことが知られている。具体的には、植物は病原菌による感染を受けると感染した場所でシグナル物質であるサリチル酸を合成する。そして、サリチル酸が師管組織を經由して植物体内を移動し、未感染組織に防御機構を誘導することで、結果として病原菌に対して全身で抵抗性を発現する（全身獲得抵抗性）。また、害虫による食害を受けることでエチレンやジャスモン酸を合成し、サリチル酸と同様に植物体内を移動することで全身に防御機構を誘導する（誘導全身抵抗性）。さらに乾燥、低温、塩害などの生育環境の変動に対してはアブシジン酸を植物体内で合成し環境ストレスに適用することが知られている。

[0003] また、植物は病原菌感染や害虫による食害を受けた際に、被害を受けた植物自身だけでなく、周囲の植物にも知らせるメカニズムが存在することが知られている（非特許文献1）。具体的には、病原菌に感染した際に合成されるサリチル酸はメチル化されてサリチル酸メチルになり、揮発性シグナル物質として植物から放出されて周囲の植物に病原菌の感染を知らせることで予め防御機構を促す。また、害虫の被害の際に合成されるジャスモン酸もメチル化されてジャスモン酸メチルとなり揮発性シグナルとなり植物から放出さ

れることで、周囲の植物に予め抵抗性を誘導することが知られている。

[0004] このように植物は病害虫による被害を受けた際にシグナル物質として植物ホルモンを放出することが知られており、そのシグナル物質をいち早くセンシングすることで病害虫被害を早期に検出することが可能となる。

[0005] 害虫被害の際に揮発性シグナルとして放出されるジャスモン酸をセンシングすることで被害の早期発見する方法として、栽培している農作物の傍に、発光タンパク質遺伝子を有するモニター植物と一緒に栽培し、そして農作物が害虫被害を受けた際に放出されたジャスモン酸メチルをモニター植物が感知してモニター植物が発光する現象を利用する方法が開示されている（特許文献1）。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：WO 2019/082942号公報

非特許文献

[0007] 非特許文献1：J. Japan Association on Odor Environment, Vol.36, No.3, 153-155(2005).

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明の課題は、農作物を含む植物の栽培において、病気感染した際に放出される植物ホルモンであるサリチル酸メチルをセンシングする方法、及びサリチル酸メチルセンサーを提供し、それによって植物の病気感染を早期に、その場で検出する方法を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明の一態様は、揮発性植物ホルモンであるサリチル酸メチルを選択的に認識して錯体を形成する亜鉛化合物をセンサーのレセプターとして利用する。また、本発明の一態様はサリチル酸メチルと亜鉛化合物が反応して生成した錯体の蛍光発光現象を利用することによって、植物の病気感染を早期に

検出する。さらに、本発明の一態様はサリチル酸メチルと亜鉛化合物が反応して、電気化学的挙動が変化する現象を利用することによって、植物の病気感染を早期に検出する。

発明の効果

[0010] 本発明によると、亜鉛化合物をセンサーのレセプターに用いることにより、植物が病原菌に感染した際に放出される揮発性植物ホルモンのサリチル酸メチルを選択的にセンシングができる。さらに、本発明の一態様によると、植物の病原菌による感染を早期に検出することができる。

図面の簡単な説明

[0011] [図1A]実施例1において蛍光発光を確認した写真である。
[図1B]実施例1において蛍光発光を確認した写真である。
[図2A]比較例1において蛍光発光を確認した写真である。
[図2B]比較例1において蛍光発光を確認した写真である。
[図3]実施例2において蛍光発光を確認した写真である。
[図4]実施例3において蛍光発光を確認した写真である。
[図5]実施例4において蛍光発光を確認した写真である。
[図6]実施例5で得られた蛍光スペクトル曲線を示す図である。
[図7]実施例6で得られた蛍光スペクトル曲線を示す図である。
[図8]実施例7で得られたZnA/MSA混合溶液の蛍光スペクトル曲線を示す図である。
[図9]実施例7で得られたMSAの比率と蛍光強度の関係をプロットした図である。
[図10]実施例8において蛍光発光を確認した写真である。
[図11]実施例9において得られた電流－電圧曲線（サイクリックボルタモグラム）を示す図である。
[図12]本実施形態のサリチル酸メチルセンサーの構成の概要図の一例である。

発明を実施するための形態

[0012] 以下に、本発明を実施するための形態について図面等を用いて説明する。

ただし、以下に述べる実施形態には、本発明を実施するために技術的に好ましい限定がされているが、発明の範囲を以下に限定するものではない。

[0013] 本発明者らは、上述の課題を解決するために鋭意研究を重ねた。その結果、植物が病原菌に感染した際に放出する揮発性シグナル物質であるサリチル酸メチルは亜鉛化合物を用いることで選択的にセンシングできることを見出し、本発明を完成した。さらに、本発明者らは、サリチル酸メチルと亜鉛化合物が反応して形成された錯体からの蛍光発光現象を利用したり、電気化学的挙動の変化を利用したりすることにより、植物の病原菌による感染を早期に検出することができることを見出した。

[0014] 以下に、本実施形態について詳述する。

＜サリチル酸メチルのレセプター：亜鉛化合物＞

サリチル酸メチルをセンシングするためのレセプターに利用できる亜鉛化合物としては、特に限定はされないが、カルボン酸亜鉛等の有機酸亜鉛、ハロゲン化亜鉛、またはそれらの水和物が好ましい。亜鉛化合物として、例えば、酢酸亜鉛（ⅠⅠ）、ギ酸亜鉛（ⅠⅠ）二水和物、酪酸亜鉛（ⅠⅠ）、しゅう酸亜鉛二水和物、ヘキサン酸亜鉛（ⅠⅠ）、プロピオン酸亜鉛（ⅠⅠ）、安息香酸亜鉛（ⅠⅠ）、オクタン酸亜鉛（ⅠⅠ）、オレイン酸亜鉛（ⅠⅠ）、硝酸亜鉛（ⅠⅠ）、塩化亜鉛（ⅠⅠ）等の化合物が挙げられるが、これらだけに限定されるものではない。亜鉛化合物は、一種を単独で用いてもよいし、二種以上を組み合わせ用いてもよい。

[0015] 例えば、酢酸亜鉛（ⅠⅠ）はサリチル酸メチルと下記式（１）に示す反応により錯体を形成することでサリチル酸メチルを選択的に認識することができる。

[0016]

[化1]



式 (1)

[0017] よって、本発明の一部の実施形態は、亜鉛化合物とサリチル酸メチルとを反応させて錯体を形成する工程を含む、サリチル酸メチルの検出方法に関する。

[0018] また、本発明の一部の実施形態は、サリチル酸メチルを選択的に認識するレセプターとして、亜鉛化合物を用いる、サリチル酸メチルのセンシング方法に関する。

[0019] 一部の実施形態では、亜鉛化合物として、酢酸亜鉛(11)が用いられる。

[0020] 一部の実施形態では、亜鉛化合物とサリチル酸メチルとの反応は溶液で行われる。溶液は、例えば、ジメチルスルホキシド溶液、メタノール溶液、または水溶液でありうるが、これらに限定されるものではない。一部の実施形態において、亜鉛化合物の濃度は、例えば、 $0.00001 \text{ mol/L} \sim 5 \text{ mol/L}$ の範囲内、例えば、 $0.00004 \text{ mol/L} \sim 1 \text{ mol/L}$ の範囲内の濃度でありうる。

[0021] 一部の実施形態では、亜鉛化合物とサリチル酸メチルとの反応は亜鉛化合物を含有する固体媒体中で行われる。固体媒体は、例えば、紙またはガラス(例えば、ガラス繊維、多孔質ガラス基板等)、または樹脂(例えば、ポリメチルメタクリレート、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル、ポリスチレン、ナイロン樹脂、ポリアミド、ポリカーボネート、ポリエチレンテレフタレート、ポリブチレンテレフタレート、ポリフェニレンオキサイド、水溶性ポリマー(セルロース系、アガロース、でんぷん系、アルギン酸ナトリウム、アクリル酸系、アクリルアミド系、ポリビニルアルコール、ポ

リエチレンオキシド、ポリビニルピロリドン等）でありうるが、これらに限定されるものではない。

[0022] ＜蛍光発光現象＞

亜鉛化合物とサリチル酸メチルの反応により生成した錯体は、新たに蛍光発光を示す。具体的には、亜鉛化合物とサリチル酸メチルの反応で形成された錯体に、波長が200～400 nmの励起光をあてることで蛍光発光を示す。一方、亜鉛化合物のみではほとんど蛍光発光を示さず、これによってサリチル酸メチルを検出することが可能となる。

[0023] よって、本発明の一部の実施形態は、（i）亜鉛化合物とサリチル酸メチルとを反応させて錯体を形成する工程、（ii）錯体に励起光をあてる工程、（iii）錯体が発する蛍光を検出する工程を含む、サリチル酸メチルの検出方法に関する。一部の実施態様では、励起波長として200～400 nmの範囲内の適切な波長が選択される。さらに、一部の実施形態では、検出された蛍光の強度をあらかじめ決められた参照値と比較することにより、サリチル酸メチルの濃度を決定する工程も実施されうる。

また、本発明の一部の実施形態は、サリチル酸メチルが、亜鉛化合物と反応して、亜鉛錯体を形成することで蛍光発光する現象を利用する、サリチル酸メチルのセンシング方法に関する。

[0024] ＜電気化学的挙動＞

亜鉛化合物とサリチル酸メチルの反応により生成した錯体は、レセプターの亜鉛化合物とは異なる電気化学的挙動を示す。具体的には、亜鉛化合物とサリチル酸メチルから成る錯体を含有する電気化学セルのサイクリックボルタンメトリの測定により、ある特定の電位付近で電流値の大きな変化が生ずる。これによって、この電流値をモニターすることでサリチル酸メチルを検出することが可能となる。

[0025] よって、本発明の一部の実施形態は、（i）溶液中で亜鉛化合物とサリチル酸メチルとを反応させて錯体を形成する工程、（ii）一定の電圧下で流れる電流を測定する工程、（iii）錯体の形成により生じる電流値の変化

を検出する工程を含む、サリチル酸メチルの検出方法に関する。一部の実施形態では、電圧の値として $-1 \sim 2 \text{ V}$ (v s. NHE) の範囲内の適切な値が選択される。溶液は、支持電解質として、例えば、テトラブチルアンモニウムパークロレート等を含みうるが、これに限定はされない。さらに、一部の実施形態では、検出された電流値の変化をあらかじめ決められた参照値と比較することにより、サリチル酸メチルの濃度を決定する工程も実施されうる。

[0026] また、本発明の一部の実施形態は、亜鉛化合物が、サリチル酸メチルとの反応により錯体を生成し、その錯体の電気化学的挙動が亜鉛化合物とは異なる現象を利用する、サリチル酸メチルのセンシング方法に関する。

[0027] さらに、本発明の一部の実施形態は、亜鉛化合物が、サリチル酸メチルとの反応により錯体を生成し、その錯体のある電位領域での電流値が亜鉛化合物とは異なる現象を利用する、サリチル酸メチルのセンシング方法に関する。

[0028] 一部の実施形態において、本発明のサリチル酸メチルのセンシング方法は、農作物の病原菌感染の検出のために用いられうる。

[0029] <サリチル酸メチルセンサー>

図12に、本実施形態のサリチル酸メチルセンサーの構成の概要図の一例を示す。本実施形態の亜鉛化合物をレセプターに用いたサリチル酸メチルセンサー1は、少なくともサリチル酸メチル(MSA)の認識部2と、該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを検出する検出部3から構成される。認識部2には、少なくともレセプターである亜鉛化合物を含む。亜鉛化合物は、サリチル酸メチル以外の他の植物ホルモン、例えばジャスモン酸メチルとは反応せず認識しないため、サリチル酸メチルを選択的に認識することができる。前記検出部3は、前記サリチル酸メチルの認識部2にサリチル酸メチルが認識されたことを光学的、及び／または電気化学的に検出できるように構成されている。例えば、光学的な検出部では、亜鉛化合物とサリチル酸メチルで生成した錯体の蛍光発光を検出するため、少なくとも励起光源と

検出素子から構成され、蛍光強度の変化からサリチル酸メチルの検出並びにその濃度を測定する。また、電気化学的な検出部では電気化学的挙動の変化を検出するため、例えば亜鉛化合物とサリチル酸メチルの反応で生成した錯体の酸化還元反応により生じる電流を検出するように電極を有する電気化学セル（検出素子）を構築して、該電気化学セルの電気化学的挙動の変化（例えば、ある電位での電流値の変化）を用いてサリチル酸メチルの検出、及びその濃度を測定する。

[0030] よって、本発明の一部の実施形態は、サリチル酸メチルを検出するサリチル酸メチルセンサーであって、サリチル酸メチルを選択的に認識するレセプターである亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを検出する検出部を少なくとも備えているサリチル酸メチルセンサーに関する。一部の実施形態において、本発明のサリチル酸メチルセンサーは、農作物が病原菌に感染した際に放出される植物ホルモンのサリチル酸メチルを検出する。よって、本発明のサリチル酸メチルセンサーは、農作物の病原菌感染検出用のセンサーとして用いられうる。一部の実施形態において、本発明のサリチル酸メチルセンサーは、ジャスモン酸メチルに比べて、サリチル酸メチルを選択的に検出することができる。

[0031] また、本発明の一部の実施形態は、サリチル酸メチルを検出するサリチル酸メチルセンサーであって、（i）亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、（i i）該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを光学的に検出する検出部を少なくとも備えているサリチル酸メチルセンサーに関する。一部の実施形態において、光学的な検出部は、少なくとも励起光源と検出素子とを含む。一部の実施形態において、本発明のサリチル酸メチルセンサーは、観測された蛍光強度の変化に基づき、サリチル酸メチルの検出及び／または濃度測定を行うことができる。

[0032] さらに、本発明の一部の実施形態は、サリチル酸メチルを検出するサリチル酸メチルセンサーであって、（i）亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、（i i）該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを電気

化学的に検出する検出部を少なくとも備えているサリチル酸メチルセンサーに関する。一部の実施形態において、電気化学的な検出部は、亜鉛化合物とサリチル酸メチルが形成する錯体の酸化還元反応により生じる電流を検出する電極を有する電気化学セルを含む。一部の実施形態において、本発明のサリチル酸メチルセンサーは、電気化学セルの電流値の変化に基づき、サリチル酸メチルの検出及び／または濃度測定を行うことができる。

[0033] 一部の実施態様では、検出部は、サリチル酸メチルの検出及び／または濃度測定を処理するプログラムを実行するコンピュータを含みうる。そのようなプログラムは、例えば、コンピュータに、光学的及び／または電気化学的な検出素子からの信号を受信する段階、受信した信号を分析してサリチル酸メチルの有無及び／またはその濃度を決定する段階、並びに、分析結果を出力する段階を実行させるプログラムでありうる。一部の実施態様において、受信した信号の分析は、例えば、受信した信号をあらかじめ決められた参照値と比較することにより、サリチル酸メチルの有無及び／またはその濃度を決定することを含みうる。また、一部の実施態様において、分析結果は、例えば、センサーに接続されたディスプレイ装置、またはネットワークを介して接続された他の機器等へ出力されうる。

[0034] よって、本発明の一部の実施形態は、サリチル酸メチルを検出するサリチル酸メチルセンサーであって、サリチル酸メチルを選択的に認識するレセプターである亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを検出する検出部を少なくとも備え、該検出部が検出素子とコンピュータを含むサリチル酸メチルセンサーであって、コンピュータに、（i）光学的及び／または電気化学的な検出素子からの信号を受信する段階、（i i）受信した信号を分析してサリチル酸メチルの有無及び／またはその濃度を決定する段階、並びに（i i i）分析結果を出力する段階を実行させるプログラムを有するサリチル酸メチルセンサーに関する。

[0035] <農作物の病原菌感染を早期に検出する方法>

本発明のサリチル酸メチルセンサーの用途の一つとして、サリチル酸メチルセンサーを農作物が植えられている傍らに設置し、センサーによりサリチル酸メチルを検出することによって、農作物の病原菌感染を早期に検出することが可能である。

[0036] よって、本発明の一部の実施形態は、サリチル酸メチルセンサーを農作物の近傍に設置し、該センサーによりサリチル酸メチルを検出することにより農作物の病原菌感染を検出する方法に関する。一部の実施態様において、サリチル酸メチルセンサーは、サリチル酸メチルを選択的に認識するレセプターである亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを検出する検出部を少なくとも備えている、サリチル酸メチルセンサーである。また、一部の実施態様において、サリチル酸メチルセンサーは、（i）亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、（ii）該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを光学的及び／又は電気化学的に検出する検出部、を少なくとも備えている、サリチル酸メチルセンサーである。

[0037] 監視対象となりうる農作物としては、例えば、キュウリ、スイカ、トマト、ナス、ピーマン、パプリカ、ピクルス、シシトウ、メロン、ハクサイ、キャベツ、ダイコン、レタス、ネギ、ブロッコリー、タマネギ、ニンニク、ヤマノイモ、アスパラガス、ニンジン、バレイショ、セルリー、タバコ、イネ、イチゴが挙げられるが、これらに限定はされない。

[0038] 検出されうる病害としては、例えば、輪紋病、白星病、褐色輪紋病、葉かび病、萎凋病、根腐萎凋病、半身萎凋病、褐色根腐病、灰色疫病、根腐病、黒点根腐病、白絹病、苗立枯病、褐斑病、べと病、うどんこ病、灰色かび病、炭疽病、黒星病、菌核病、つる枯病、斑点病、疫病、モザイク病、黄化えそ病、黄化葉巻病、青枯病、軟腐病、かいよう病、茎えそ細菌病、黒班細菌病、斑点細菌病等が挙げられるが、これらに限定はされず、また、検出されうる病原菌感染としては、上記の病害の原因菌による感染が挙げられるが、これらに限定はされない。

[0039] 本開示の文脈において、センサーを農作物の近傍に設置すると言った場合、用語「近傍」の例としては、例えば、監視対象の農作物から2 m以内、1 m以内、75 cm以内、50 cm以内、40 cm以内、30 cm以内、20 cm以内、10 cm以内、または5 cm以内の距離が挙げられるが、これらに限定はされず、適切な距離が種々の要因を考慮して適宜選択される。当業者であれば、センサーを設置する位置を様々な条件を考慮した上で適宜設定することが可能であろう。

[0040] さらに、本発明の一部の実施形態は、農作物の病原菌感染の検出における、サリチル酸メチルセンサーの使用に関する。また、本発明の一部の実施形態は、サリチル酸メチルセンサーの製造における、亜鉛化合物の使用に関する。

実施例

[0041] 以下、実施例を挙げて本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はこれらの例に限定されるものではない。

[0042] (実施例1)

酢酸亜鉛(II) (ZnA) 0.1 gをメタノール3 mlに溶解した溶液0.2 mlを円形ろ紙(45 mmφ)に滴下し乾燥させて、ZnAを含むろ紙を得た。得られたろ紙にUVランプ(波長365 nm)で励起させて蛍光発光があるか確認した(図1Aの(a))。次にそのろ紙に植物が病原菌に感染した際に放出するサリチル酸メチル(MSA)のアセトニトリル溶液(0.1 mol/L) 0.03 mlを滴下し乾燥させ、得られたろ紙に同様にUVランプで励起させて蛍光発光があるか確認した(図1Bの(b))。その結果、(a)は発光せず、ZnAはサリチル酸メチルと反応し、蛍光発光を示し、サリチル酸メチルをセンシングできることが分かった。

[0043] (比較例1)

酢酸亜鉛(II) (ZnA) 0.1 gをメタノール3 mlに溶解した溶液0.2 mlを円形ろ紙(45 mmφ)に滴下し乾燥させて、ZnAを含むろ紙を得た。得られたろ紙にUVランプ(波長365 nm)で励起させて蛍光

発光があるか確認した（図2Aの（a））。次にそのろ紙に植物が害虫被害を受けた際に放出するシグナル物質であるジャスモン酸メチル（MJA）のアセトニトリル溶液（0.1m^ol/L）0.03m^lを滴下し乾燥させ、得られたろ紙に同様にUVランプで励起させて蛍光発光があるか確認した（図2Bの（b））。その結果、ZnAはジャスモン酸メチルとは反応せず、蛍光発光を示さないことが分かった。

[0044] 実施例1と比較例1の結果から、ZnAは植物が病原菌感染時に放出するサリチル酸メチルを選択的にセンシングできることが分かった。

[0045] （実施例2）

酢酸亜鉛（II）（ZnA）0.1gをメタノール3m^lに溶解した溶液0.2m^lを円形ろ紙（45mm Φ ）に滴下し乾燥させて、ZnAを含むろ紙を得た。次にこのろ紙とサリチル酸メチル0.05gをシャーレに入れたものを容量約1.8Lのデシケータ内に直接接触しないように静置し保管した。1時間後にろ紙を取り出し、ろ紙にUVランプ（波長365nm）で励起させて蛍光発光があるか評価した結果、青白い色の蛍光が確認された（図3）。この結果から、植物が病原菌感染の際に放出するサリチル酸メチルを揮発性シグナルとしてセンシングできることが分かった。

[0046] （実施例3）

プロピオン酸亜鉛（II）（ZnP）0.01gをメタノール3m^lに溶解した溶液0.2m^lを円形ろ紙（45mm Φ ）に滴下し乾燥させて、ZnPを含むろ紙を得た。このろ紙とサリチル酸メチル0.05gをシャーレに入れたものを容量約1.8Lのデシケータ内に直接接触しないように静置し保管した。3時間後にろ紙を取り出し、未処理のろ紙と一緒にUVランプ（波長365nm）で励起させて蛍光発光があるか評価した結果、青白い色の蛍光が確認された（図4（b））。一方、未処理のろ紙では蛍光発光が見られなかった（図4（a））。この結果から、植物が病原菌感染の際に放出するサリチル酸メチルを揮発性シグナルとしてセンシングできることが分かった。

[0047] (実施例4)

プロピオン酸亜鉛 (I I) (Z n P) 0. 0 1 g をメタノール 3 m l に溶解し、Z n P 溶液を調製した。次に Z n P 溶液 1 m l に M S A を 1 滴加えて M S A 含有の Z n P 溶液を調製した。また、Z n P 溶液 1 m l に M J A を 1 滴加えて M J A 含有の Z n P 溶液を調製した。得られた 3 種の溶液に U V ランプ (波長 3 6 5 n m) で励起させて蛍光発光があるか確認した (図 5)。その結果、Z n P のみの溶液 (a)、及び M J A を加えた溶液 (c) では蛍光発光がみられなかったが、M S A を加えた溶液 (b) では、青白い蛍光発光を示し、サリチル酸メチルを選択的にセンシングできることが分かった。

[0048] (実施例5)

[蛍光スペクトル測定]

プロピオン酸亜鉛 (I I) (Z n P) の D M S O 溶液 (濃度 1. 5 m m o l / L) 0. 9 m l とサリチル酸メチル (M S A) の D M S O 溶液 (濃度 1. 5 m m o l / L) 0. 1 m l を混合し、1 0 分後に 2 0 倍に希釈してその溶液を石英セルに入れ、励起波長 3 6 5 n m で蛍光スペクトルを測定した。また、Z n P の D M S O 溶液 (濃度 1. 5 m m o l / L) 0. 9 m l と D M S O 0. 1 m l を混合し、さらに 2 0 倍に希釈してその溶液を石英セルに入れ、励起波長 3 6 5 n m で蛍光スペクトルを測定した。同様に、M S A の D M S O 溶液 (濃度 1. 5 m m o l / L) 0. 1 m l と D M S O 0. 9 m l を混合し、さらに 2 0 倍に希釈してその溶液を石英セルに入れ、励起波長 3 6 5 n m で蛍光スペクトルを測定した。得られた蛍光スペクトル曲線を図 6 に示す。実線は Z n P + M S A の蛍光スペクトル、一点鎖線は Z n P のみの蛍光スペクトル、破線は M S A のみの蛍光スペクトルを表す。この結果から、Z n P はそれ自身では蛍光を示さないが M S A と反応することで蛍光発光 (極大波長 4 1 8 n m) を示すことが分かった。また、M S A 単体では蛍光強度は非常に小さいことも分かった。

[0049] (実施例6)

[蛍光スペクトル測定]

硝酸亜鉛（I I）六水和物（Z n N）のDMSO溶液（濃度1．5 mmol / L）0．9 mlとサリチル酸メチル（MSA）のDMSO溶液（濃度1．5 mmol / L）0．1 mlを混合し、10分後に20倍に希釈してその溶液を石英セルに入れ、励起波長365 nmで蛍光スペクトルを測定した。また、Z n NのDMSO溶液（濃度1．5 mmol / L）0．9 mlとDMSO 0．1 mlを混合し、さらに20倍に希釈してその溶液を石英セルに入れ、励起波長365 nmで蛍光スペクトルを測定した。同様に、MSAのDMSO溶液（濃度1．5 mmol / L）0．1 mlとDMSO 0．9 mlを混合し、さらに20倍に希釈してその溶液を石英セルに入れ、励起波長365 nmで蛍光スペクトルを測定した。得られた蛍光スペクトル曲線を図7に示す。実線はZ n N + MSAの蛍光スペクトル、一点鎖線はZ n Nのみの蛍光スペクトル、破線はMSAのみの蛍光スペクトルを表す。この結果から、Z n Nはそれ自身では蛍光を示さないがMSAと反応することで蛍光発光（極大波長418 nm）を示すことが分かった。

[0050]（実施例7）

[蛍光強度の定量性評価]

Z n Aのメタノール溶液（濃度0．01 mol / L）0．15 mlとMSAのメタノール溶液（濃度0．02 mol / L）0．15 mlを加え、10分後に10倍に希釈してその溶液を石英セルに入れ、励起波長343 nmで蛍光スペクトルを測定した結果、図8に示す蛍光スペクトル曲線が得られた。その時の蛍光強度が一番強いピーク波長は381 nmであった。次に、Z n Aのメタノール溶液a（濃度0．01 mol / L）0．9 mlとMSAのメタノール溶液b（濃度0．02 mol / L）0．1 mlを加え、10分後に200倍に希釈して励起波長343 nmで蛍光スペクトルを測定し、波長381 nmでの蛍光強度を求めた。同様にZ n A溶液a 0．8 mlとMSA溶液b 0．2 mlでの蛍光強度、さらにZ n A溶液a 0．7 mlとMSA溶液b 0．3 mlでの蛍光強度を求めた。得られた蛍光強度をプロットしたものを図9に示す。この結果から、MSAの比率が増大するとともに蛍光強度

も増大しており、MSAを定量的に検出できることが分かった。図9の横軸は、「MSA溶液bの容量／（MSA溶液bの容量＋ZnA溶液aの容量）」を表し、縦軸は蛍光強度を表す。

[0051] （実施例8）

[亜鉛化合物含有アガロースゲルによるMSAの検出]

酢酸亜鉛（ZnA）0.0459gとアガロース0.5gを水25mlに分散させ、95℃で加熱攪拌することでアガロースを溶解してゾル化した。その後、放冷することによりZnA含有のゲルを得た。得られたZnA含有ゲルの一部を入れたシャーレと、サリチル酸メチル12mgを入れた別のシャーレをデシケータ内に直接接触しないように静置して保管した。24時間後にゲルを取り出し、UVランプ（波長365nm）で励起させて蛍光発光があるか評価した結果、青白い蛍光が確認された（図10（b））。一方、未曝露（サリチル酸メチルに曝露していない）のZnA含有ゲルでは蛍光発光が見られなかった（図10（a））。この結果から、ZnA含有ゲルは、植物が病原菌感染の際に放出するサリチル酸メチルを揮発性シグナルとしてセンシングできることが分かった。

[0052] （実施例9）

[電気化学的挙動の測定]

支持電解質としてテトラブチルアンモニウムパークロレート（TBA）をDMSOに溶解し電解液を調製し（濃度：0.1mol/L）、ガラス容器に電解液10mlを入れ、作用極、対極、参照電極から成る三電極方式の電気化学セルを構成した。なお作用極にはグラッシーカーボン、対極にはPt、参照電極にはAg/Ag⁺電極を用いた。そこにプロピオン酸亜鉛（ZnP）のDMSO溶液（濃度：0.1mol/L）を1ml加え、室温でサイクリックボルタンメトリ（CV）を測定した（掃引電位：-0.8～1.2V、掃引速度：0.1V/s）。

[0053] 次にそこにサリチル酸メチル（MSA）のDMSO溶液（濃度：0.1mol/L）を1ml加え、同様にCV測定を行った。

[0054] 得られた電流－電圧曲線（サイクリックボルタモグラム）を図 11 に示す。破線は Zn P のみ、実線は Zn P に M S A を添加した後の測定結果である。この結果から、M S A 添加後には、添加前に比べて、電位が -0.09 V と -0.46 V に新たに還元ピークが現れることが分かった。このことは、例えば M S A との反応前後で電流値が大きく変化する電圧（ Ag / Ag^+ 電極に対して -0.09 V と -0.46 V ）で電極に流れる電流値をモニターすることで、電流値の変化によりサリチル酸メチルをセンシングできることを示している。

[0055] 上記の実施形態の一部または全部は、以下の付記のようにも記載されうるが、本出願の開示事項は以下の付記に限定されない。

（付記 1）

サリチル酸メチルをセンシングする方法であり、サリチル酸メチルを選択的に認識するレセプターに亜鉛化合物を用いるセンシング方法。

（付記 2）

亜鉛化合物が酢酸亜鉛（11）、ギ酸亜鉛（11）二水和物、酪酸亜鉛（11）、しゅう酸亜鉛二水和物、ヘキサン酸亜鉛（11）、プロピオン酸亜鉛（11）、酒石酸亜鉛（11）二水和物、安息香酸亜鉛（11）、オクタン酸亜鉛（11）、オレイン酸亜鉛（11）、硝酸亜鉛（11）及び塩化亜鉛（11）からなる群より選ばれる少なくとも一種の化合物である付記 1 に記載のセンシング方法。

（付記 3）

サリチル酸メチルが亜鉛化合物と反応して錯体を形成することで蛍光発光する現象を利用する付記 1 または 2 に記載のセンシング方法。

（付記 4）

亜鉛化合物とサリチル酸メチルの反応により電気化学的挙動が変化する現象を利用する付記 1 ～ 3 のいずれか一項に記載のセンシング方法。

（付記 5）

亜鉛化合物とサリチル酸メチルの反応により生じる電流値の変化を利用す

る付記４に記載のセンシング方法。

(付記６)

サリチル酸メチルを検出するサリチル酸メチルセンサーであって、

i) 亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、

i i) 該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを検出する検出部

を少なくとも備えているサリチル酸メチルセンサー。

(付記７)

付記６に記載のサリチル酸メチルセンサーを農作物の近傍に設置し、該サリチル酸メチルセンサーによりサリチル酸メチルを検出することにより農作物の病原菌感染を検出する方法。

(付記８)

サリチル酸メチルを検出するサリチル酸メチルセンサーであって、サリチル酸メチルを選択的に認識するレセプターである亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを検出する検出部を少なくとも備え、該検出部が光学的及び／または電気化学的な検出素子とコンピュータを含み、該コンピュータに、

i) 光学的及び／または電気化学的な検出素子からの信号を受信する段階、

i i) 受信した信号を分析してサリチル酸メチルの有無及び／またはその濃度を決定する段階、並びに

i i i) 分析結果を出力する段階

を実行させるプログラムを有するサリチル酸メチルセンサー。

(付記９)

サリチル酸メチルを検出するサリチル酸メチルセンサーを制御するプログラムであって、該サリチル酸メチルセンサーが、サリチル酸メチルを選択的に認識するレセプターである亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを検出する検出部を少なくとも備え、該検出部が光学的及び／または電気化学的な検出素子とコンピュータを含むことを特徴とし、該コンピュータに、

i) 光学的及び／または電気化学的な検出素子からの信号を受信する段階、
i i) 受信した信号を分析してサリチル酸メチルの有無及び／またはその濃度を決定する段階、並びに
i i i) 分析結果を出力する段階
を実行させるプログラム。

(付記 1 0)

(i) 亜鉛化合物と、サリチル酸メチルとを反応させて錯体を形成する工程、(i i) 錯体に励起光をあてる工程、及び(i i i) 錯体が発する蛍光を検出する工程を含む、サリチル酸メチルの検出方法。

(付記 1 1)

励起光の励起波長として200～400nmの範囲内の波長を用いる付記10に記載の検出方法。

(付記 1 2)

検出された蛍光の強度をあらかじめ決められた参照値と比較することにより、サリチル酸メチルの濃度を決定する工程をさらに含む付記10または11に記載の検出方法。

(付記 1 3)

(i) 溶液中で亜鉛化合物と、サリチル酸メチルとを反応させて錯体を形成する工程、(i i) 一定の電圧下で溶液に流れる電流を測定する工程、及び(i i i) 錯体の形成により生じる電流値の変化を検出する工程を含む、サリチル酸メチルの検出方法。

(付記 1 4)

電圧の値が-1～2Vの範囲内である付記13に記載の検出方法。

(付記 1 5)

溶液が、支持電解質として、テトラブチルアンモニウムパークロレートを含む付記13または14に記載の検出方法。

(付記 1 6)

検出された電流値の変化をあらかじめ決められた参照値と比較することに

より、サリチル酸メチルの濃度を決定する工程をさらに含む付記 13～15 のいずれか一項に記載の検出方法。

(付記 17)

亜鉛化合物が酢酸亜鉛 (11)、ギ酸亜鉛 (11) 二水和物、酪酸亜鉛 (11)、しゅう酸亜鉛二水和物、ヘキサン酸亜鉛 (11)、プロピオン酸亜鉛 (11)、酒石酸亜鉛 (11) 二水和物、安息香酸亜鉛 (11)、オクタン酸亜鉛 (11)、オレイン酸亜鉛 (11)、硝酸亜鉛 (11) 及び塩化亜鉛 (11) からなる群より選ばれる少なくとも一種の化合物である付記 10～16 のいずれか一項記載の検出方法。

(付記 18)

サリチル酸メチルを検出するサリチル酸メチルセンサーであって、(i) 亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、(ii) 該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを光学的に検出する検出部を少なくとも備えているサリチル酸メチルセンサー。

(付記 19)

光学的な検出部が、少なくとも励起光源と検出素子とを含む付記 18 に記載のサリチル酸メチルセンサー。

(付記 20)

サリチル酸メチルを検出するサリチル酸メチルセンサーであって、(i) 亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、(ii) 該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを電気化学的に検出する検出部を少なくとも備えているサリチル酸メチルセンサー。

(付記 21)

電気化学的な検出部が、亜鉛化合物とサリチル酸メチルが形成する錯体の酸化により生じる電流を検出する電極を有する電気化学セルを含む付記 20 に記載のサリチル酸メチルセンサー。

(付記 22)

付記 8 および 18～21 のいずれか一項に記載のサリチル酸メチルセンサ

一を農作物の近傍に設置し、該サリチル酸メチルセンサーによりサリチル酸メチルを検出することにより農作物の病原菌感染を検出する方法。

(付記 2 3)

該センサーを農作物から 2 m 以内に設置することを特徴とする、付記 7 または付記 2 2 に記載の農作物の病原菌感染を検出する方法。

[0056] この出願は、2021年3月24日に提出された日本出願特願2021-049789を基礎とする優先権を主張し、その開示の全てをここに取り込む。

[0057] 以上、実施形態及び実施例を参照して本願発明を説明したが、本願発明は上記実施形態及び実施例に限定されるものではない。本願発明の構成や詳細には、本願発明の範囲内で当業者が理解し得る様々な変更をすることができる。

産業上の利用可能性

[0058] 本発明の実施形態による亜鉛化合物を植物ホルモンであるサリチル酸メチルを検出するレセプターに用いたセンシングは、サリチル酸メチルと選択的に錯体を形成し、且つ蛍光発光現象や電気化学的挙動の変化を発現することから、植物が病原菌感染の際に放出する植物ホルモンであるサリチル酸メチルを選択的に検出することを可能とする。

そして、亜鉛化合物を認識部とするセンサーを用いることで、植物の病気感染を早期に検出することができ、具体的には農作物の病気感染を早期に検出できるセンサーとしてハウス等の施設園芸での農業ICT用の新たなセンサーとして利用することができる。

符号の説明

- [0059] 1 サリチル酸メチルセンサー
2 認識部
3 検出部

請求の範囲

- [請求項1] サリチル酸メチルをセンシングする方法であり、サリチル酸メチルを選択的に認識するレセプターに亜鉛化合物を用いるセンシング方法。
- [請求項2] 前記亜鉛化合物が酢酸亜鉛（ⅠⅠ）、ギ酸亜鉛（ⅠⅠ）二水和物、酪酸亜鉛（ⅠⅠ）、しゅう酸亜鉛二水和物、ヘキサン酸亜鉛（ⅠⅠ）、プロピオン酸亜鉛（ⅠⅠ）、酒石酸亜鉛（ⅠⅠ）二水和物、安息香酸亜鉛（ⅠⅠ）、オクタン酸亜鉛（ⅠⅠ）、オレイン酸亜鉛（ⅠⅠ）、硝酸亜鉛（ⅠⅠ）及び塩化亜鉛（ⅠⅠ）からなる群より選ばれる少なくとも一種の化合物である請求項1に記載のセンシング方法。
- [請求項3] サリチル酸メチルが亜鉛化合物と反応して錯体を形成することで蛍光発光する現象を利用する請求項1または2に記載のセンシング方法。
- [請求項4] 亜鉛化合物とサリチル酸メチルの反応により電気化学的挙動が変化する現象を利用する請求項1～3のいずれか一項に記載のセンシング方法。
- [請求項5] 亜鉛化合物とサリチル酸メチルの反応により生じる電流値の変化を利用する請求項4に記載のセンシング方法。
- [請求項6] サリチル酸メチルを検出するサリチル酸メチルセンサーであって、
 i) 亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、
 ii) 該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを検出する検出部
を少なくとも備えているサリチル酸メチルセンサー。
- [請求項7] 請求項6に記載のサリチル酸メチルセンサーを農作物の近傍に設置し、該サリチル酸メチルセンサーによりサリチル酸メチルを検出することにより農作物の病原菌感染を検出する方法。
- [請求項8] サリチル酸メチルを検出するサリチル酸メチルセンサーであって、サリチル酸メチルを選択的に認識するレセプターである亜鉛化合物を

有するサリチル酸メチルの認識部と、該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを検出する検出部を少なくとも備え、該検出部が光学的及び／または電気化学的な検出素子とコンピュータを含み、該コンピュータに、

i) 光学的及び／または電気化学的な検出素子からの信号を受信する段階、

i i) 受信した信号を分析してサリチル酸メチルの有無及び／またはその濃度を決定する段階、並びに

i i i) 分析結果を出力する段階

を実行させるプログラムを有する、サリチル酸メチルセンサー。

[請求項9]

サリチル酸メチルを検出するサリチル酸メチルセンサーを制御するプログラムであって、該サリチル酸メチルセンサーが、サリチル酸メチルを選択的に認識するレセプターである亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを検出する検出部を少なくとも備え、該検出部が光学的及び／または電気化学的な検出素子とコンピュータを含むことを特徴とし、該コンピュータに、

i) 光学的及び／または電気化学的な検出素子からの信号を受信する段階、

i i) 受信した信号を分析してサリチル酸メチルの有無及び／またはその濃度を決定する段階、並びに

i i i) 分析結果を出力する段階

を実行させるプログラム。

[請求項10]

(i) 亜鉛化合物と、サリチル酸メチルとを反応させて錯体を形成する工程、(i i) 錯体に励起光をあてる工程、及び(i i i) 錯体が発する蛍光を検出する工程を含む、サリチル酸メチルの検出方法。

[請求項11]

励起光の励起波長として200～400nmの範囲内の波長を用いる請求項10に記載の検出方法。

- [請求項12] 検出された蛍光の強度をあらかじめ決められた参照値と比較することにより、サリチル酸メチルの濃度を決定する工程をさらに含む請求項10または11に記載の検出方法。
- [請求項13] (i) 溶液中で亜鉛化合物と、サリチル酸メチルとを反応させて錯体を形成する工程、(ii) 一定の電圧下で溶液に流れる電流を測定する工程、及び(iii) 錯体の形成により生じる電流値の変化を検出する工程を含む、サリチル酸メチルの検出方法。
- [請求項14] 電圧の値が $-1 \sim 2$ Vの範囲内である請求項13に記載の検出方法。
- [請求項15] 溶液が、支持電解質として、テトラブチルアンモニウムパークロレートを含む請求項13または14に記載の検出方法。
- [請求項16] 検出された電流値の変化をあらかじめ決められた参照値と比較することにより、サリチル酸メチルの濃度を決定する工程をさらに含む請求項13～15のいずれか一項に記載の検出方法。
- [請求項17] 亜鉛化合物が酢酸亜鉛(II)、ギ酸亜鉛(II)二水和物、酪酸亜鉛(II)、しゅう酸亜鉛二水和物、ヘキサン酸亜鉛(II)、プロピオン酸亜鉛(II)、酒石酸亜鉛(II)二水和物、安息香酸亜鉛(II)、オクタン酸亜鉛(II)、オレイン酸亜鉛(II)、硝酸亜鉛(II)及び塩化亜鉛(II)からなる群より選ばれる少なくとも一種の化合物である請求項10～16のいずれか一項記載の検出方法。
- [請求項18] サリチル酸メチルを検出するサリチル酸メチルセンサーであって、(i) 亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、(ii) 該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを光学的に検出する検出部を少なくとも備えているサリチル酸メチルセンサー。
- [請求項19] 光学的な検出部が、少なくとも励起光源と検出素子とを含む請求項18に記載のサリチル酸メチルセンサー。
- [請求項20] サリチル酸メチルを検出するサリチル酸メチルセンサーであって、

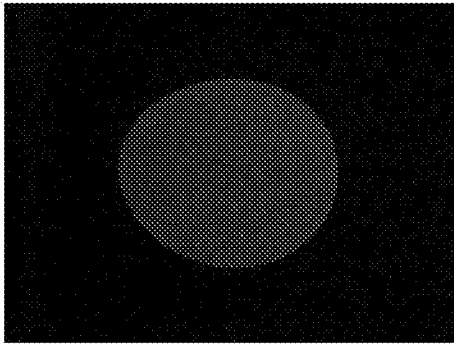
(i) 亜鉛化合物を有するサリチル酸メチルの認識部と、(ii) 該認識部にサリチル酸メチルが認識されたことを電気化学的に検出する検出部を少なくとも備えているサリチル酸メチルセンサー。

[請求項21] 電気化学的な検出部が、亜鉛化合物とサリチル酸メチルが形成する錯体の酸化により生じる電流を検出する電極を有する電気化学セルを含む請求項20に記載のサリチル酸メチルセンサー。

[請求項22] 請求項8および18～21のいずれか一項に記載のサリチル酸メチルセンサーを農作物の近傍に設置し、該サリチル酸メチルセンサーによりサリチル酸メチルを検出することにより農作物の病原菌感染を検出する方法。

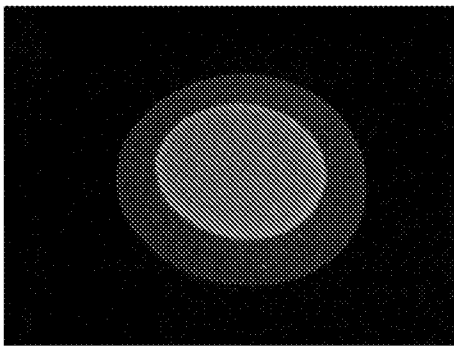
[請求項23] 該センサーを農作物から2 m以内に設置することを特徴とする、請求項7または請求項22に記載の農作物の病原菌感染を検出する方法。

[図1A]



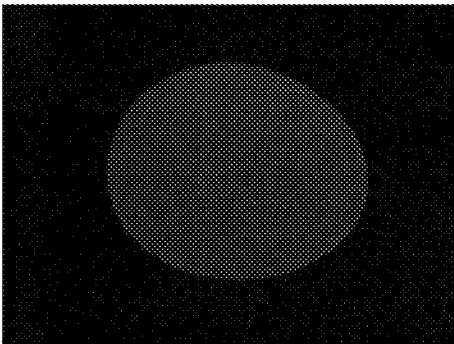
(a)

[図1B]



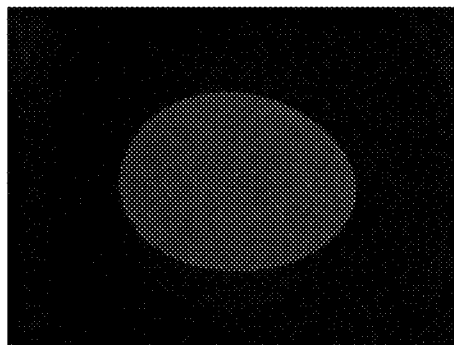
(b)

[図2A]



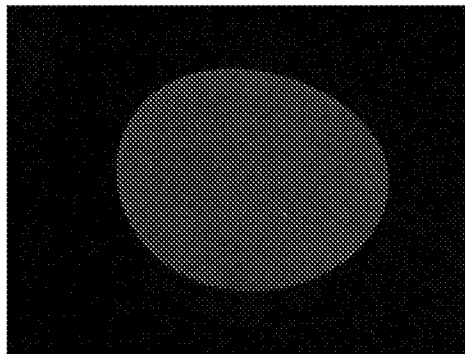
(a)

[図2B]

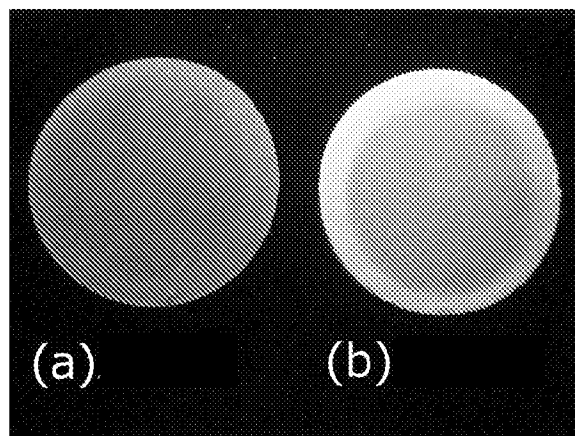


(b)

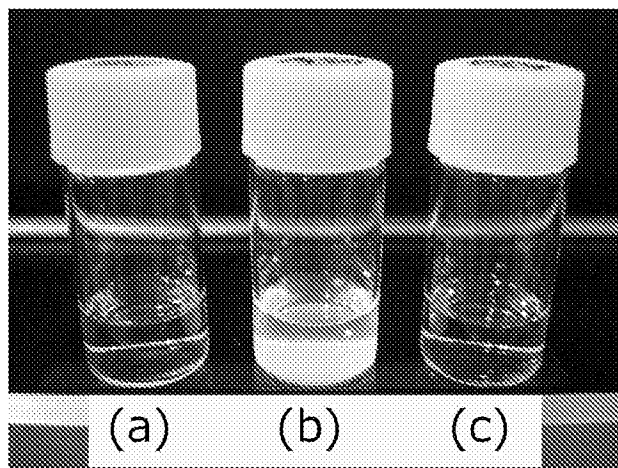
[図3]



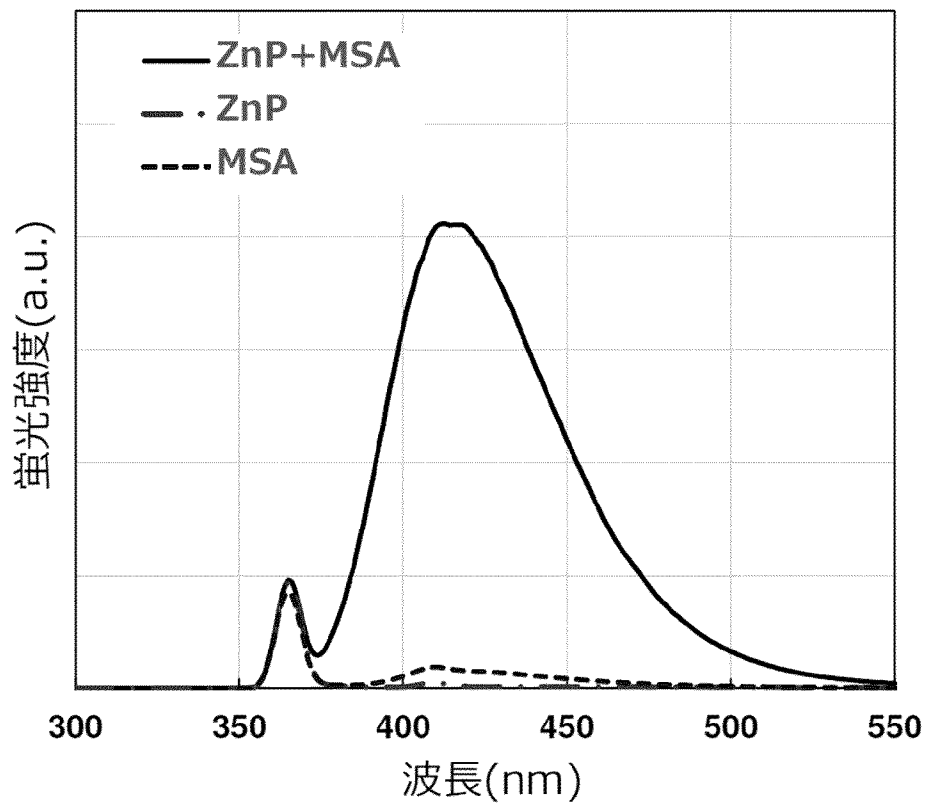
[図4]



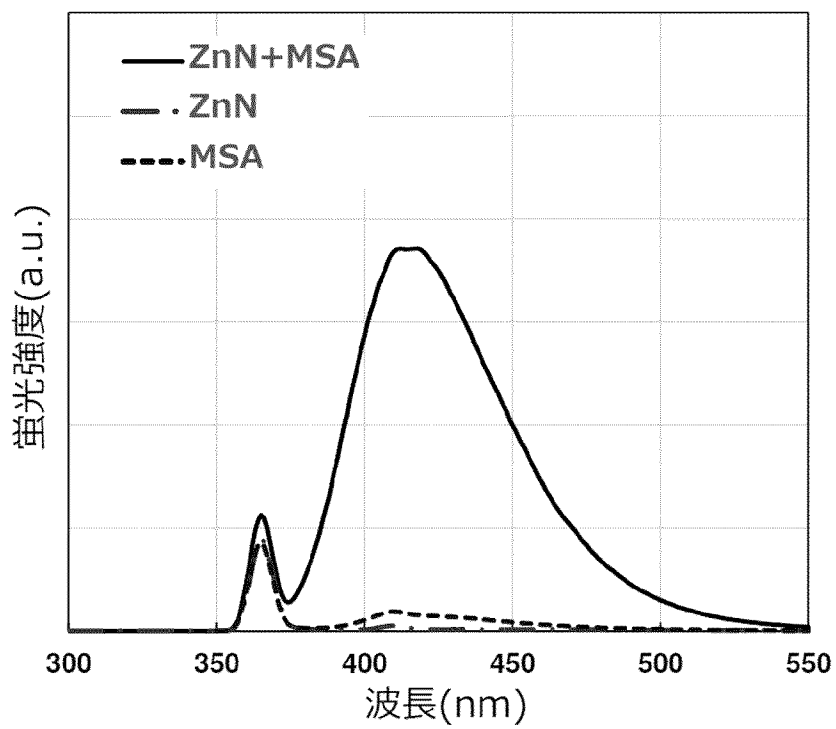
[図5]



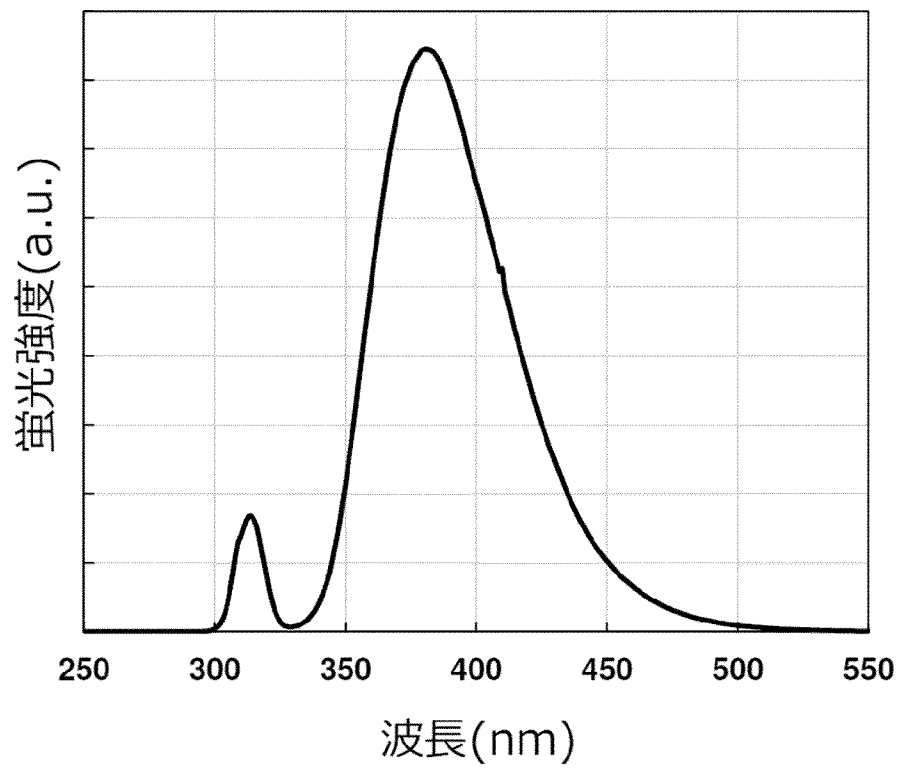
[図6]



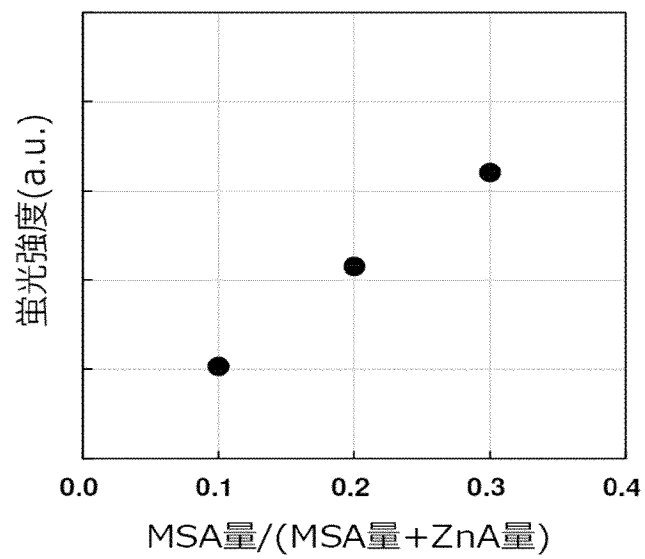
[図7]



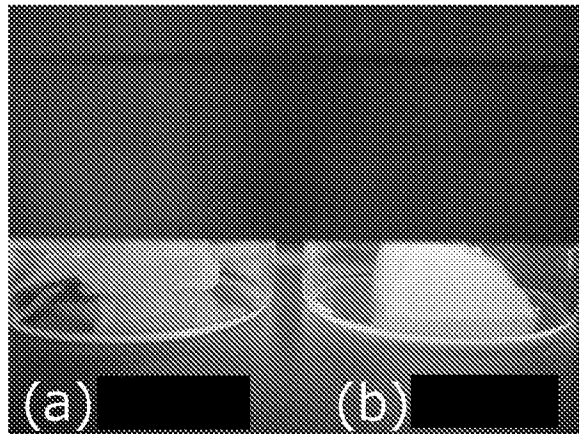
[図8]



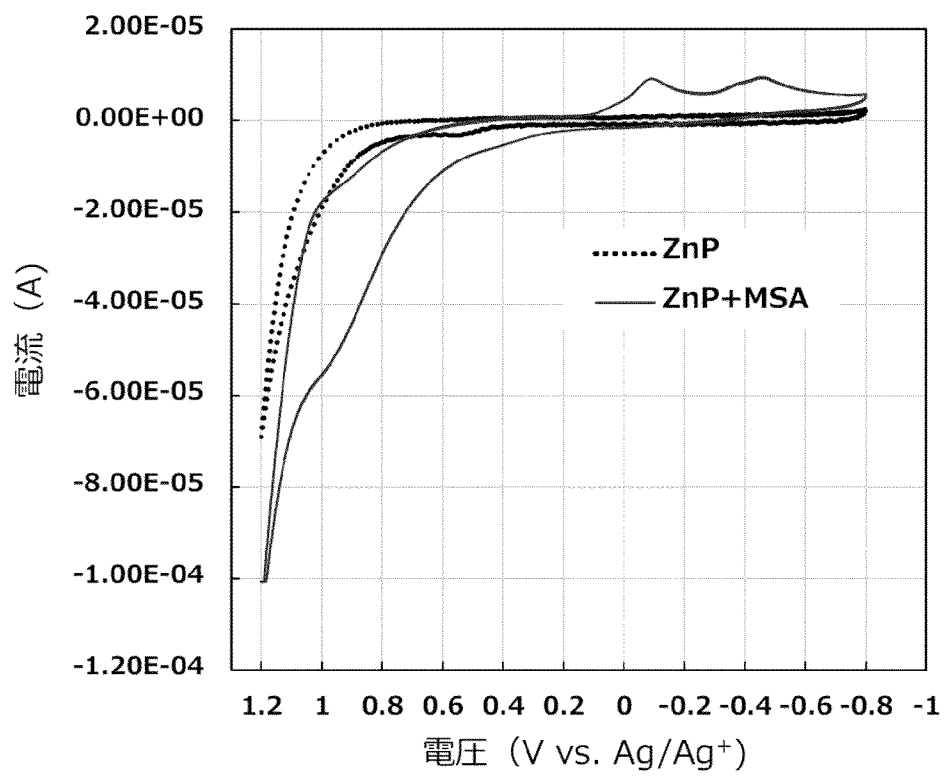
[図9]



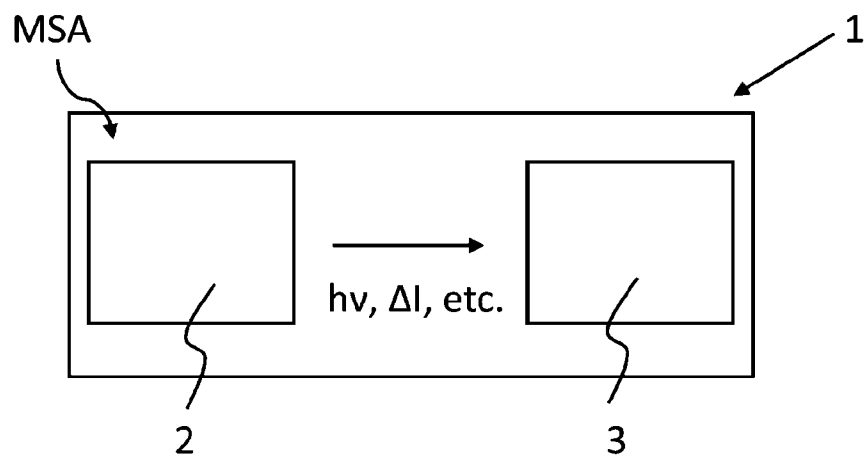
[図10]



[図11]



[図12]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/013573

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**A01G 7/00**(2006.01)i; **G01N 33/48**(2006.01)i; **G01N 21/64**(2006.01)i; **G01N 27/48**(2006.01)i

FI: A01G7/00 603; G01N33/48 N; G01N27/48 Z; G01N21/64 Z

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)

A01G7/00; G01N33/48; G01N21/64; G01N27/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996

Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2022

Registered utility model specifications of Japan 1996-2022

Published registered utility model applications of Japan 1994-2022

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2018/0142277 A1 (UNIVERSITY OF GEORGIA RESEARCH FOUNDATION, INC.) 24 May 2018 (2018-05-24) paragraphs [0013], [0022], [0043]-[0045], fig. 2B, 11B, 32A, 32B, 33, 34A	1-23
A	JP 2005-298349 A (MELJI SEIKA KAISHA) 27 October 2005 (2005-10-27) paragraph [0053]	1-23
A	MALAMY, Jocelyn P. et al. Salicylic Acid: A Likely Endogenous Signal in the Resistance Response of Tobacco to Viral Infection. Science. 1990, 250, 1002-1004 entire text, all drawings	1-23
A	METRAUX, J. P. et al. Increase in Salicylic Acid at the Onset of Systemic Acquired Resistance in Cucumber. Science. 1990, 250, 1004-1006 entire text, all drawings	1-23

☐ 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

06 June 2022

Date of mailing of the international search report

14 June 2022

Name and mailing address of the ISA/JP

Japan Patent Office (ISA/JP)
3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2022/013573

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
US	2018/0142277	A1	24 May 2018	US 2020/0115730 A1 entire text, all drawings WO 2016/168585 A1	
JP	2005-298349	A	27 October 2005	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A01G 7/00(2006.01)i; G01N 33/48(2006.01)i; G01N 21/64(2006.01)i; G01N 27/48(2006.01)i FI: A01G7/00 603; G01N33/48 N; G01N27/48 Z; G01N21/64 Z														
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）） A01G7/00; G01N33/48; G01N21/64; G01N27/48														
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>1971-2022年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2022年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2022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	1971-2022年	日本国実用新案登録公報	1996-2022年	日本国登録実用新案公報	1994-2022年				
日本国実用新案公報	1922-1996年													
日本国公開実用新案公報	1971-2022年													
日本国実用新案登録公報	1996-2022年													
日本国登録実用新案公報	1994-2022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	US 2018/0142277 A1 (UNIVERSITY OF GEORGIA RESEARCH FOUNDATION, INC.) 24.05.2018 (2018 - 05 - 24) [0013][0022][0043]-[0045], Figs. 2B, 11B, 32A, 32B, 33, 34A	1-23												
A	JP 2005-298349 A (明治製菓株式会社) 27.10.2005 (2005 - 10 - 27) [0053]	1-23												
A	MALAMY, Jocelyn P. et al., Salicylic Acid: A Likely Endogenous Signal in the Resistance Response of Tobacco to Viral Infection, Science, 1990, 250, 1002-1004 全文全文	1-23												
A	METRAUX, J. P. et al., Increase in Salicylic Acid at the Onset of Systemic Acquired Resistance in Cucumber, Science, 1990, 250, 1004-1006 全文全文	1-23												
☐ 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。														
<table border="0"> <tr> <td>* 引用文献のカテゴリー</td> <td>“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抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</td> </tr> <tr> <td>“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</td> <td>“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</td> </tr> <tr> <td>“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</td> <td>“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</td> </tr> <tr> <td>“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）</td> <td>“&” 同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td></td> </tr> <tr> <td>“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</td> <td></td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー	“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抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの	“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	“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	“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	“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	“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）	“&” 同一パテントファミリー文献	“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	
* 引用文献のカテゴリー	“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抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの													
“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	“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													
“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	“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													
“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）	“&” 同一パテントファミリー文献													
“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														
国際調査を完了した日 06.06.2022		国際調査報告の発送日 14.06.2022												
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		権限のある職員（特許庁審査官） 竹中 靖典 2B 9507 電話番号 03-3581-1101 内線 3237												

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2022/013573

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
US	2018/0142277	A1	24.05.2018	US	2020/0115730	A1	
				全文全図			
				WO	2016/168585	A1	
				(ファミリーなし)			
JP	2005-298349	A	27.10.2005				