

(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22日(22.09.2022)

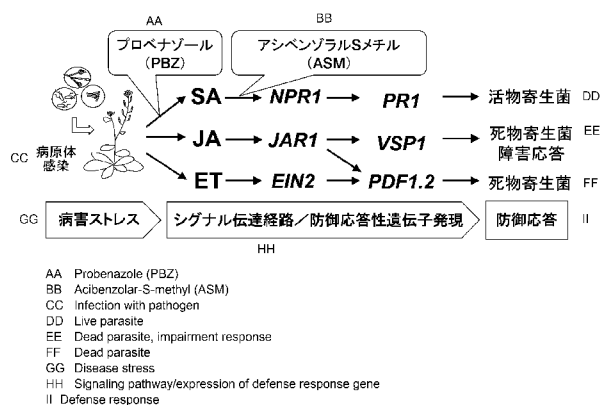


(10) 国際公開番号
WO 2022/196649 A1

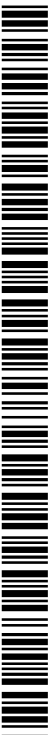
- (51) 国際特許分類:
A01N 43/30 (2006.01) A01P 3/00 (2006.01)
A01H 3/04 (2006.01) A01P 21/00 (2006.01)
A01P 1/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2022/011401
- (22) 国際出願日: 2022年3月14日(14.03.2022)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2021-046236 2021年3月19日(19.03.2021) JP
- (71) 出願人: 国立大学法人横浜国立大学(NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION YOKOHAMA NATIONAL UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒2408501 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台79番1号 Kanagawa (JP).
- (72) 発明者: 平塚 和之 (HIRATSUKA Kazuyuki); 〒2408501 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台79番1号 国立大学法人横浜国立大学内 Kanagawa (JP). 小倉 里江子 (OGURA Rieko); 〒2408501 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台79番1号 国立大学法人横浜国立大学内 Kanagawa (JP).
- (74) 代理人: 弁理士法人志賀国際特許事務所 (SHIGA INTERNATIONAL PATENT OFFICE); 〒1006620 東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 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,

(54) Title: METHOD FOR INDUCING PLANT RESISTANCE, PLANT RESISTANCE-INDUCING AGENT AND BIOSTIMULANT

(54) 発明の名称: 植物抵抗性の誘導方法、植物抵抗性誘導剤及びバイオスティミュラント



(57) Abstract: The present invention pertains to a method for inducing plant resistance, said method comprising applying a plant resistance-inducing agent to the plant and thus activating salicylic acid signaling pathway (SA pathway) and jasmonic acid and/or ethylene signaling pathways (JA pathway and/or ET pathway), wherein the active ingredient of the plant resistance-inducing agent is a low-molecular compound and this single active ingredient activates the SA pathway and JA and/or ET pathways.



WO 2022/196649 A1

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, 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.

- (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).

添付公開書類 :

- 国際調査報告 (条約第21条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

(57) 要約 : 本発明は、植物の抵抗性を誘導する方法であって、植物に、植物抵抗性誘導剤を施用し、サリチル酸シグナル伝達系 (S A系)、並びにジャスモン酸及び/又はエチレンシグナル伝達系 (J A系及び/又はE T系) を活性化させることを含み、前記植物抵抗性誘導剤の有効成分が、低分子化合物であり、1種の前記有効成分により、前記S A系、並びに前記J A系及び/又はE T系を活性化するものである、植物抵抗性の誘導方法に関する。

明 細 書

発明の名称：

植物抵抗性の誘導方法、植物抵抗性誘導剤及びバイオスティミュラント 技術分野

[0001] 本発明は、植物抵抗性の誘導方法、植物抵抗性誘導剤及びバイオスティミュラントに関する。

本願は、2021年3月19日に、日本に出願された特願2021-046236号に基づき優先権を主張し、その内容をここに援用する。

背景技術

[0002] 植物は糸状菌や細菌、ウィルスなど様々な病原微生物の侵入・攻撃を受ける。それらに対抗するために植物は防御機構を発達させている。防御機構には様々な段階があり、まず病原が侵入する前の段階では細胞壁による物理的障壁や葉の気孔開閉などにより病原侵入を阻止する。病原が侵入した後でも植物細胞が病原侵入を認識し、侵入個所に多糖類を蓄積することで感染の進行を阻害する機構を持つ。さらに、植物は病原の感染部位だけでなく、感染を受けた部位からシグナルを全身に伝達することで非感染部位においても抵抗性を強化する機構を持つ。この機構には植物ホルモンや多数の遺伝子の発現が関与している。

[0003] 図1は、植物の抵抗性誘導に関わるシグナル伝達経路を説明する図である。

全身に抵抗性を誘導する機構として、植物ホルモンであるサリチル酸 (salicylic acid; SA) がシグナル伝達に関与する全身獲得抵抗性 (Systemic Acquired Resistance; SAR) があり、近年研究が進んでいる。SARによる防御応答は、植物自体の病害抵抗性を強化するために広範囲な病原に対抗することができることが明らかになっている。

[0004] SAは主に、生きた細胞から栄養をとる病原体である「活物寄生性病原菌」に対する抵抗性を誘導することが知られている。活物寄生性病原菌は植物

細胞から養分を吸い取り、植物と共存する形態をとることが多い。活物寄生性病原菌としてイネいもち病菌や炭疽病菌などがある。

[0005] SARを誘導する活性を有する化合物は、抵抗性誘導剤または植物活性化剤として実用化され、主に我が国のイネの病害防除に有効な資材として活用されている。プロベナゾール（PBZ、商品名オリゼメート）の例では、開発後40年以上経過しているにもかかわらず、年間100億円程度の売り上げがある。プロベナゾールの他にもSARを誘導する活性を有する抵抗性誘導剤または植物活性化剤が複数あり、アシベンゾラルSメチル（ASM）、パリダマイシンA（VMA）、ベンゾチアジアゾール（BTH）、チアジニル（TDL）、イソチアニルなどが知られている。

[0006] 一方、SARと異なる作用機構で働く病害抵抗性発現の仕組みも知られている。誘導抵抗性（Induced Systemic Resistance: ISR）は、SARと異なりSAには依存せず、植物ホルモンであるジャスモン酸（jasmonic acid:JA）に依存した病害抵抗性発現の経路により誘導されることが知られている（図1参照）。ISRでは、誘導される防御応答遺伝子及び抵抗対象として有効な病原体の種類も、SARとは異なっていることが判明している。

[0007] JAは主に、死細胞から栄養をとる病原体である「腐生性病原菌」（「死物寄生菌」ともいう。）に対する抵抗性、及び害虫による食害等の「傷害」に対する防御応答を誘導する。代表的な腐生性病原菌として灰色かび病菌がある。灰色かび病菌はほとんど全ての植物に感染するとともに、薬剤耐性菌が非常に発生しやすい。しかし、SARを誘導する活性を有する化合物では腐生性病原菌に対する防除効果に乏しく、プロベナゾール等の既存の植物活性化剤では、灰色かび病菌のような腐生性病原菌に対して無効である。

[0008] 従って、ISR系を誘導する活性を有する化合物があれば、既存のSAR系の抵抗性誘導剤では対処できないタイプの病害にも有効な、新規の病害虫防除資材として活用できる可能性がある。しかし、これまでの研究では、商業的に利用可能な程度にそのような活性を有する低分子化合物は見出されていない。ベスタチン（Bestain）はJAシグナルを特異的に活性化させる化合物であ

ると報告されている（非特許文献1）。

[0009] また、JAシグナル伝達系の他に、植物ホルモンであるエチレン（ethylene：ET）に依存した病害抵抗性発現の経路が知られており、JAと同様に「死物寄生菌」に対する防御応答を誘導する。これまでに、JA/ETシグナル伝達系による防御活性化誘導化合物として、ヘキサ酸、アラキドン酸、N-アシルアミド（アルカミド）などが知られている（非特許文献2～4）。これらはいずれもPDF1.2やVSP2を含むJA応答性遺伝子の発現を誘導し、灰色かび病菌の病斑形成の抑制等に効果があることが、シロイヌナズナを用いて示されている。また、ヘキサ酸、アラキドン酸の処理においてはトマトにおいても同様にその病斑形成の抑制が観察されている（非特許文献5）。これは、JA系抵抗性誘導剤が灰色かび病防除に有効であることを示している。しかし、これらの薬剤の有効性は高濃度処理を必要とするなどの問題点もある。

[0010] 抵抗性誘導剤は植物に作用し、それ自体には殺菌活性が無いため、薬剤耐性菌が出現し難く、低環境負荷な薬剤として近年注目されている。しかし、現在実用化されている抵抗性誘導剤は、SAシグナル伝達系に作用するPBZやASMなどだけであり、JA/E T系のシグナル伝達系に作用する抵抗性誘導剤は実用化されていない。

[0011] 発明者らのこれまでの研究により、SAシグナル伝達系に作用する抵抗性誘導剤（特許文献1）、及びJAシグナル伝達系に作用する抵抗性誘導剤（特許文献2）が提供されている。

先行技術文献

特許文献

[0012] 特許文献1：特開2017-197456号公報

特許文献2：国際公開第2016/006351号

非特許文献

[0013] 非特許文献1：Zheng W, Zhai Q, Sun J, Li CB, Zhang L, Li H, Zhang X, Li S, Xu Y, Jiang H, Wu X, Li C. Bestatin, an inhibitor of aminopeptidases, provides a chemical genetics approach to dissect jasmonate sign

aling in Arabidopsis. Plant Physiol. (2006) 141, 1400–1413.

非特許文献2 : Kravchuk Z, Vicedo B, Flors V, Camanes G, Gonzalez-Bosch C, Garcia-Agustin P (2011) Priming for JA-dependent defenses using hexanoic acid is an effective mechanism to protect Arabidopsis against *B. cinerea*. J Plant Physiol 168: 359–366

非特許文献3 : Mendez-Bravo A, Calderon-Vazquez C, Ibarra-Laclette E, Raya-Gonzalez J, Ramirez-Chavez E, Molina-Torres J, Guevara-Garcia AA, Lopez-Bucio J, Herrera-Estrella L (2011) Alkamides activate jasmonic acid biosynthesis and signaling pathways and confer resistance to *Botrytis cinerea* in Arabidopsis thaliana. PLoS One 6 e27251

非特許文献4 : Savchenko T, Walley JW, Chehab EW, Xiao Y, Kaspi R, Pye MF, Mohamed ME, Lazarus CM, Bostock RM, Dehesh K (2010) Arachidonic acid: an evolutionarily conserved signaling molecule modulates plant stress signaling networks. Plant Cell 22: 3193–205

非特許文献5 : Vicedo B, Flors V, de la O Leyva M, Finiti I, Kravchuk Z, Real MD, Garcia-Agustin P, Gonzalez-Bosch C (2009) Hexanoic acid-induced resistance against *Botrytis cinerea* in tomato plants. Mol Plant Microbe Interact 22:1455–65

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0014] 上記のように、JAシグナルを活性化させる化合物は複数報告されているが、実用化には至っていない。また、通常、SAシグナル伝達系を活性化させることにより、JA/E Tシグナル伝達系が抑制されるため、SAシグナル伝達系及びJA/E Tシグナル伝達系の両方の伝達系を活性化させる、植物抵抗性誘導制御活性に優れた抵抗性誘導剤は知られていない。

本発明は上記事情に鑑みてなされたものであり、植物抵抗性誘導活性に優れた植物抵抗性の誘導方法、及び植物抵抗性誘導剤の提供を課題とする。

また本発明は、バイオスティミュラントの提供を課題とする。

課題を解決するための手段

[0015] 本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意検討した結果、SAシグナル伝達系及びJA/EIシグナル伝達系の両方の伝達系を活性化させることが可能であり、それにより、非常に優れた抵抗性を誘導可能であること見出し、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は以下の態様を有する。

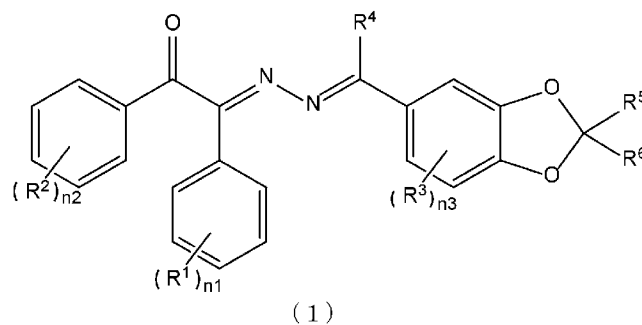
[0016] [1] 植物の抵抗性を誘導する方法であって、

植物に、植物抵抗性誘導剤を施用し、サリチル酸シグナル伝達系、並びにジャスモン酸及び／又はエチレンシグナル伝達系を活性化させることを含み、

前記植物抵抗性誘導剤の有効成分が、低分子化合物であり、1種の前記有効成分により、前記サリチル酸シグナル伝達系、並びに前記ジャスモン酸及び／又は前記エチレンシグナル伝達系を活性化するものである、植物抵抗性の誘導方法。

[2] 前記植物抵抗性誘導剤が、下記一般式(1)で表される化合物又はその塩を有効成分として含有する、前記[1]に記載の方法。

[化1]



[式(1)中、

R¹、R²及びR³は、それぞれ独立して、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、水酸基、ハロゲン原子、又は炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

R⁴は、水素原子、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基又

は炭素数 2～4 の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

R⁵及びR⁶は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数 1～4 の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、炭素数 2～4 の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基、又はハロゲン原子を表す。

n₁はR¹の数を表し、0～5のいずれかの整数であり、n₁が2以上のとき、R¹同士は互いに同一でも異なってもよい。n₂はR²の数を表し、0～5のいずれかの整数であり、n₂が2以上のとき、R²同士は互いに同一でも異なってもよい。n₃はR³の数を表し、0～3のいずれかの整数であり、n₃が2以上のとき、R³同士は互いに同一でも異なってもよい。

]

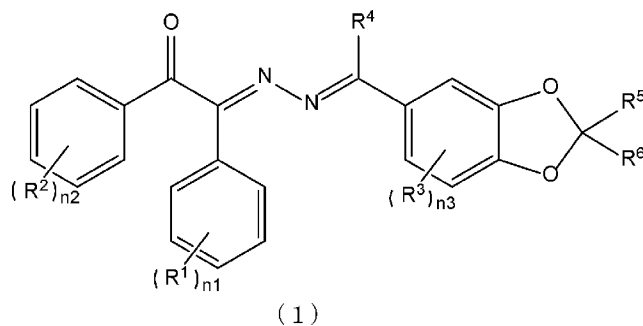
[3] 活物寄生菌及び死物寄生菌の両方に対する植物抵抗性を誘導する、前記 [1] 又は [2] に記載の方法。

[4] 活物寄生菌及び死物寄生菌に対する抗菌活性を有さない、前記 [1] ～ [3] のいずれか一つに記載の方法。

[5] 前記施用が、前記植物抵抗性誘導剤の有効量を植物の根に接触させることを含む、前記 [1] ～ [4] のいずれか一つに記載の方法。

[6] 下記一般式 (1) で表される化合物又はその塩を有効成分として含有する、植物抵抗性誘導剤。

[化2]



[式 (1) 中、

R¹、R²及びR³は、それぞれ独立して、炭素数 1～4 の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、水酸基、ハロゲン原子、又は炭素数 2～4 の直鎖状若

しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

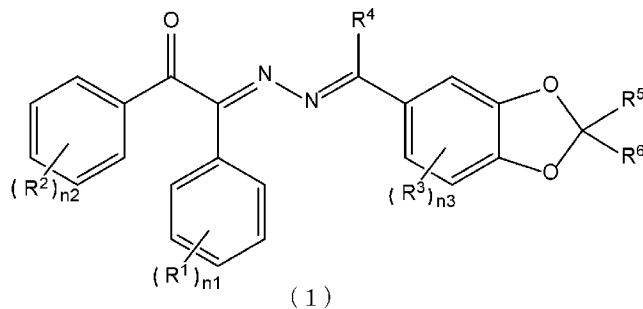
R^4 は、水素原子、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基又は炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

R^5 及び R^6 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基、又はハロゲン原子を表す。

n_1 は R^1 の数を表し、0～5のいずれかの整数であり、 n_1 が2以上のとき、 R^1 同士は互いに同一でも異なってもよい。 n_2 は R^2 の数を表し、0～5のいずれかの整数であり、 n_2 が2以上のとき、 R^2 同士は互いに同一でも異なってもよい。 n_3 は R^3 の数を表し、0～3のいずれかの整数であり、 n_3 が2以上のとき、 R^3 同士は互いに同一でも異なってもよい。

[7] 下記一般式(1)で表される化合物又はその塩を有効成分として含有する、バイオスティミュラント。

[化3]



[式(1)中、

R^1 、 R^2 及び R^3 は、それぞれ独立して、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、水酸基、ハロゲン原子、又は炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

R^4 は、水素原子、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基又は炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

R^5 及び R^6 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアル

ケニル基、又はハロゲン原子を表す。

n_1 は R^1 の数を表し、0～5のいずれかの整数であり、 n_1 が2以上のとき、 R^1 同士は互いに同一でも異なってもよい。 n_2 は R^2 の数を表し、0～5のいずれかの整数であり、 n_2 が2以上のとき、 R^2 同士は互いに同一でも異なってもよい。 n_3 は R^3 の数を表し、0～3のいずれかの整数であり、 n_3 が2以上のとき、 R^3 同士は互いに同一でも異なってもよい。

]

発明の効果

[0017] 本発明によれば、植物抵抗性誘導活性に優れる植物抵抗性の誘導方法、及び植物抵抗性誘導剤を提供できる。

また、本発明によれば、バイオスティミュラントを提供できる。

図面の簡単な説明

[0018] [図1]植物の抵抗性誘導に関わるシグナル伝達経路を説明する図である。

[図2]VSP1::Flucを有するシロイヌナズナ幼苗に対する化合物X処理による、JA応答性遺伝子発現の測定結果である。

[図3]VSP1::Flucを有するシロイヌナズナ成熟個体に対する化合物X処理による、JA応答性遺伝子発現の測定結果である。

[図4A]PR-1a::Flucを有するシロイヌナズナ幼苗に対する化合物X処理による、SA応答性遺伝子発現の測定結果である。

[図4B]PDF1.2::Flucを有するシロイヌナズナ幼苗に対する化合物X処理による、ET応答性遺伝子発現の測定結果である。

[図5]灰色かび病菌に対する化合物Xの防除効果を評価した結果である。

[図6]炭疽病菌に対する化合物Xの防除効果を評価した結果である。

[図7A]シロイヌナズナ幼苗における、化合物X処理による、JA応答性遺伝子の発現の経時変化を測定した結果である。

[図7B]シロイヌナズナ幼苗における、化合物X処理による、SA応答性遺伝子の発現の経時変化を測定した結果である。

[図8A]シロイヌナズナ成熟個体における、化合物X処理による、JA応答性遺伝

子の発現の経時変化を測定した結果である。

[図8B]シロイヌナズナ成熟個体における、化合物X処理による、SA応答性遺伝子の発現の経時変化を測定した結果である。

[図9A]シロイヌナズナ幼苗における、化合物X処理による、ET応答性遺伝子の発現の経時変化を測定した結果である。

[図9B]シロイヌナズナ成熟個体における、化合物X処理による、ET応答性遺伝子の発現の経時変化を測定した結果である。

[図10A]灰色かび病菌に対する化合物Xの抗菌活性の評価結果である。

[図10B]炭疽病菌に対する化合物Xの抗菌活性の評価結果である。

発明を実施するための形態

[0019] 以下、本発明の植物抵抗性の誘導方法、植物抵抗性誘導剤及びバイオスティミュラントの実施形態を説明する。

[0020] 《植物抵抗性の誘導方法》

実施形態の植物抵抗性の誘導方法は、植物の抵抗性を誘導する方法であって、

植物に、植物抵抗性誘導剤を施用し、サリチル酸シグナル伝達系、並びにジャスモン酸及び／又はエチレンシグナル伝達系を活性化させることを含み、

前記植物抵抗性誘導剤の有効成分が、低分子化合物であり、1種の前記有効成分により、前記サリチル酸シグナル伝達系、並びに前記ジャスモン酸及び／又は前記エチレンシグナル伝達系を活性化するものである。

[0021] 植物抵抗性誘導剤は、FRAC: Fungicide Resistance Action Committeeの薬剤の作用機構分類によれば、「P 宿主植物の抵抗性誘導」に分類される。

これは、病原菌側の生合成経路に作用する一般的な殺菌剤（殺バクテリア剤を含む）とは、明確に区別される。抵抗性誘導剤は、それ自体には殺菌活性が無い。そのため、薬剤耐性菌が出現し難いという利点がある。なお、上記の抵抗性誘導剤の分類として提示されているものは、サリチル酸シグナル伝達のみである。

以下、植物抵抗性誘導剤を単に「抵抗性誘導剤」ということがある。

[0022] 図1は、植物の抵抗性誘導に関わるシグナル伝達経路を説明する図である。図1に示すように、前記サリチル酸シグナル伝達系（「SA系」ともいう。）としては、SAから、NPR1遺伝子発現、PR1遺伝子発現と続くシグナル伝達経路が挙げられる。SA系は、活物寄生菌に対する抵抗性を誘導可能である。

[0023] 前記ジャスモン酸シグナル伝達系（「JA系」ともいう。）としては、JAから、JAR1遺伝子発現、VSP1遺伝子発現と続くシグナル伝達経路が挙げられる。JA系は、死物寄生菌に対する抵抗性、及び／又は障害応答を誘導可能である。障害応答としては、害虫抵抗性、乾燥耐性等が挙げられる。

[0024] 前記エチレンシグナル伝達系（「ET系」ともいう。）としては、ETから、EIN2遺伝子発現、PDF1, 2遺伝子発現と続くシグナル伝達経路が挙げられる。ET系は、死物寄生菌に対する抵抗性を誘導可能である。

JAR1からのシグナルは、PDF1, 2遺伝子発現も誘導するため、ジャスモン酸は、JA系及び／又はET系を活性化させることができる。

[0025] 一方、従来、JA系とSA系は拮抗関係にあることが広く知られており、抵抗性誘導剤により、これら両方を活性化して抵抗性を誘導可能であることは知られていなかった。

[0026] しかし、実施形態の方法によれば、1種の有効成分の施用により、SA系、並びにJA系及び／又はET系を活性化させることができ、この知見は従来の抵抗性誘導の概念を覆すものである。

[0027] 実施形態の方法によれば、SA系のみを活性化させる、代表的な抵抗性誘導剤であるASM及びPBZと比べて、同等又はそれ以上の抵抗性誘導活性を発揮できる。この優れた効果は、SA系、並びにJA系及び／又はET系を活性化させる新規の作用機作により達成されるものと推察される。そして、実施形態の方法によれば、少なくとも1種の有効成分により、SA系並びにJA系及び／又はET系を活性化できる。

[0028] SA系、並びにJA系及び／又はET系を活性化させることが可能であることについて、その理由は必ずしも明らかではない。ただし、後述の実施例では、初期にJA系が活性化され、後期にSA系が活性化されることから、拮抗関係にある抵抗性誘導の経路であっても、時間差で活性化させることが可能であると推察される。

[0029] 植物における抵抗性のうち、病害抵抗性の発現は、例えば、以下の「1」～「2」のいずれか一つ以上の指標により判断できる。

「1」SA系、JA系又はET系で発現誘導される遺伝子の発現を指標とし、抵抗性誘導剤が処理された植物と、処理されていない植物（コントロール植物）とを比較して、抵抗性誘導剤が処理された植物において、該遺伝子の発現が有意に向上していた場合に、病害抵抗性の発現を判断できる。

活物寄生菌に対する抵抗性の発現は、SA系で発現誘導される遺伝子の発現を指標とすることができる。

死物寄生菌に対する抵抗性の発現は、JA系及び／又はET系で発現誘導される遺伝子の発現を指標とすることができる。

「2」植物病の状態の程度を指標とし、抵抗性誘導剤が処理された植物と、処理されていない植物（コントロール植物）とを比較して、抵抗性誘導剤が処理された植物において、植物病の病態が有意に改善していた場合に、病害抵抗性の発現を判断できる。

[0030] 植物における害虫抵抗性の発現は、例えば、以下の「3」～「5」のいずれか一つ以上の指標により判断できる。

「3」JA系で発現誘導される遺伝子の発現を指標とし、抵抗性誘導剤が処理された植物と、処理されていない植物（コントロール植物）とを比較して、抵抗性誘導剤が処理された植物において、該遺伝子の発現が有意に向上していた場合に、害虫抵抗性の発現を判断できる。

「4」植物体の摂食被害の状態の程度を指標とし、抵抗性誘導剤が処理された植物と、処理されていない植物（コントロール植物）とを比較して、抵抗性誘導剤が処理された植物において、植物体の摂食被害の状態が改善してい

た場合に、害虫抵抗性の発現を判断できる。

「5」抵抗性誘導剤の処理区における害虫等の生物の生息状態を指標とし、抵抗性誘導剤が処理された植物と、処理されていない植物（コントロール植物）とを比較して、抵抗性誘導剤が処理された植物において、抵抗性誘導剤の処理区における害虫等の生物の生息数が低い場合に、害虫抵抗性の発現を判断できる。

[0031] 実施形態の方法は、サリチル酸シグナル伝達系、並びにジャスモン酸及び／又はエチレンシグナル伝達系の活性化に優れ、植物に優れた抵抗性を発揮させる。コントロール植物と比較した前記S A系、並びに前記J A系及び／又は前記E T系を活性化させる程度を表す数値としては、好ましくは以下が挙げられる。

実施形態の方法は、コントロール植物と比較し、V S P 1 遺伝子の発現量を指標として、前記S A系を2倍以上活性化させることが好ましく、並びに、P R 1 遺伝子の発現量を指標として、前記J A系を2倍以上活性化させることが好ましく、及び／又は、P D F 1.2 遺伝子の発現量を指標として、前記E T系を2倍以上活性化させることが好ましい。

[0032] S A系の上記活性化は、2倍以上が好ましく、2～100倍がより好ましく、3～60倍がさらに好ましく、4～10倍が特に好ましい。

J A系の上記活性化は、2倍以上が好ましく、2～10倍がより好ましく、3～8倍がさらに好ましい。

E T系の上記活性化は、2倍以上が好ましく、2～150倍がより好ましく、3～60倍がさらに好ましく、4～50倍が特に好ましい。

[0033] 上記のV S P 1、P R 1、P D F 1.2 遺伝子としては、抵抗性誘導剤の使用対象となる植物の各遺伝子に対応する遺伝子（ホモログ）が該当する。

[0034] 前記V S P 1 遺伝子としては、以下の（a1）～（c1）からなる群から選ばれるタンパク質をコードする遺伝子が挙げられる。

（a1）配列番号1で表されるアミノ酸配列を有するタンパク質

（b1）配列番号1で表されるアミノ酸配列において、1～数個のアミノ酸

が置換、欠失、挿入、又は付加されたアミノ酸配列を有し、酸性ホスファターゼ活性を有するタンパク質

(c 1) 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列との配列同一性が 80% 以上であるアミノ酸配列を有し、酸性ホスファターゼ活性を有するタンパク質

[0035] 配列番号 1 で表されるアミノ酸配列は、シロイヌナズナの V S P 1 (A T 5 G 2 4 7 8 0 . 1) のアミノ酸配列である。

[0036] 前記 P R 1 遺伝子としては、以下の (a 2) ~ (c 2) からなる群から選ばれるタンパク質をコードする遺伝子が挙げられる。

(a 2) 配列番号 2 で表されるアミノ酸配列を有するタンパク質

(b 2) 配列番号 2 で表されるアミノ酸配列において、1~数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入、又は付加されたアミノ酸配列を有し、植物における抵抗性を誘導するタンパク質

(c 2) 配列番号 2 で表されるアミノ酸配列との配列同一性が 80% 以上であるアミノ酸配列を有し、植物における抵抗性を誘導するタンパク質

[0037] 配列番号 2 で表されるアミノ酸配列は、シロイヌナズナの P R 1 (A T 2 G 1 4 6 1 0 . 1) のアミノ酸配列である。

[0038] 前記 P D F 1 . 2 遺伝子としては、以下の (a 3) ~ (c 3) からなる群から選ばれるタンパク質をコードする遺伝子が挙げられる。

(a 3) 配列番号 3 で表されるアミノ酸配列を有するタンパク質

(b 3) 配列番号 3 で表されるアミノ酸配列において、1~数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入、又は付加されたアミノ酸配列を有し、植物における抵抗性を誘導するタンパク質

(c 3) 配列番号 3 で表されるアミノ酸配列との配列同一性が 80% 以上であるアミノ酸配列を有し、植物における抵抗性を誘導するタンパク質

[0039] 配列番号 3 で表されるアミノ酸配列は、シロイヌナズナの P D F 1 . 2 (A T 5 G 4 4 4 2 0 . 1) のアミノ酸配列である。

[0040] 前記「1~数個」の塩基とは、例えば、1~30個、1~20個、1~10個、1~5個、又は1~3個であってもよい。

前記配列同一性は、80%以上100%未満であり、例えば、85%以上、90%以上、95%以上、又は98%以上であってもよい。

アミノ酸配列同士の配列同一性は、公知のシーケンスアライメントのアルゴリズムであるBLAST (Basic Local Alignment Search Tool) やblastpを用いて算出可能である。

[0041] 実施形態の方法に使用される植物抵抗性誘導剤は、低分子化合物であり、好ましい植物抵抗性誘導剤については、下記に詳述する。なお、本明細書において「低分子化合物」とは、分子量1万以下の化合物とし、一例として分子量100~10000であってよく、130~1000であってよく、150~500であってよい。植物抵抗性誘導剤を施用する方法についても、下記の植物抵抗性誘導剤を植物に接触させる方法として例示する種々の方法が挙げられる。

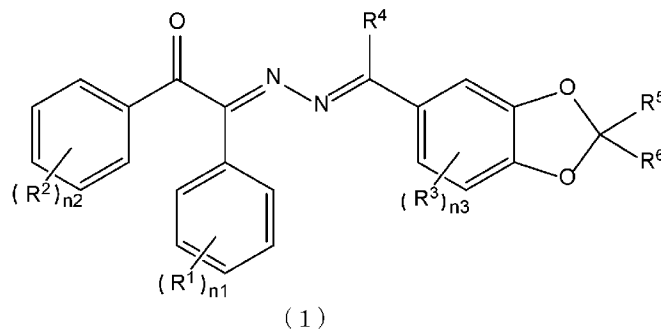
[0042] 実施形態の方法によれば、抵抗性誘導剤を使用してJA系及び／又はET系を活性化させ、活物寄生菌及び死物寄生菌への抵抗性を含む、広範囲の抵抗性を誘導できる。また、活物寄生菌及び死物寄生菌を含む菌への抗菌活性を有さず、環境微生物に対するダメージが低減された、環境負荷の少ない生産方式として実施することができる。

[0043] 実施形態の方法に使用される植物抵抗性誘導剤として、以下の植物抵抗性誘導剤を例示できる。

[0044] ≪植物抵抗性誘導剤≫

[0045] 実施形態の植物抵抗性誘導剤は、下記一般式(1)で表される化合物又はその塩を有効成分として含有する。

[0046] [化4]



[0047] [式(1)中、

R^1 、 R^2 及び R^3 は、それぞれ独立して、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、水酸基、ハロゲン原子、又は炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

R^4 は、水素原子、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基又は炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

R^5 及び R^6 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基、又はハロゲン原子を表す。

n_1 は R^1 の数を表し、0～5のいずれかの整数であり、 n_1 が2以上のとき、 R^1 同士は互いに同一でも異なってもよい。 n_2 は R^2 の数を表し、0～5のいずれかの整数であり、 n_2 が2以上のとき、 R^2 同士は互いに同一でも異なってもよい。 n_3 は R^3 の数を表し、0～3のいずれかの整数であり、 n_3 が2以上のとき、 R^3 同士は互いに同一でも異なってもよい。

]

[0048] R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 の炭素数1～4の直鎖状又は分岐鎖状の前記アルキル基としては、メチル基、エチル基、 n -プロピル基、イソプロピル基、 n -ブチル基、イソブチル基、*sec*-ブチル基、*tert*-ブチル基を例示できる。

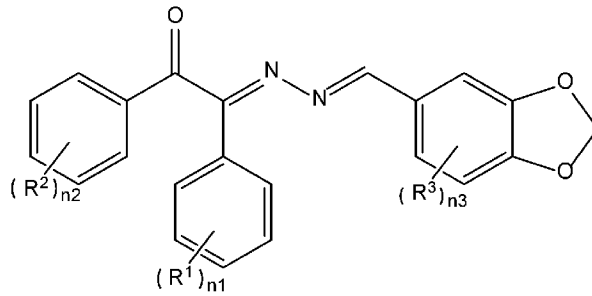
R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び R^6 の炭素数2～4の直鎖状又は分岐鎖状の前記アルケニル基は、炭素数2～3が好ましい。前記アルケニル基としては、エテニル基(ビニル基)、2-プロペニル基(アリル基)を例示できる。

[0049] R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 及び R^6 の前記ハロゲン原子は、F、Cl、Br、I等の周期表において第17族に属する元素である。

[0050] 一般式(1)で表される化合物において、 R^4 ～ R^6 が水素原子である場合、下記一般式(1-1)で表される化合物が挙げられる。

[0051]

[化5]



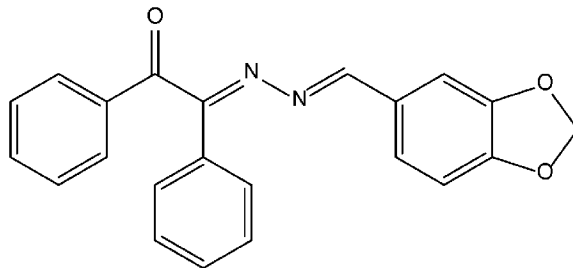
(1-1)

[0052] [式(1-1)中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 n_1 、 n_2 及び n_3 は、前記一般式(1)におけるものと同じである。]

[0053] 一般式(1-1)で表される化合物において、 R^1 、 R^2 及び R^3 は、それぞれ独立して、炭素数1~4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基を表すものであってよい。

[0054] 一般式(1-1)で表される化合物において、 n_1 ~ n_3 が0である場合、下記式(1-2)で表される化合物が挙げられる。

[0055] [化6]



(1-2)

[0056] 前記一般式(1)で表される化合物は塩であってもよく、その塩は農業上許容可能な塩であることが好ましく、置換基の種類によって、酸付加塩又は塩基との塩を形成する場合がある。具体的には、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸等の無機酸や、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、シユウ酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、乳酸、リンゴ酸、マンデル酸、酒石酸、ジベンゾイル酒石酸、ジトルオイル酒石酸、クエン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエン

スルホン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸等の有機酸との酸付加塩、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、アルミニウム等の無機塩基、メチルアミン、エチルアミン、エタノールアミン、リシン、オルニチン等の有機塩基との塩、アセチルロイシン等の各種アミノ酸及びアミノ酸誘導体の塩やアンモニウム塩等が挙げられ、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸等の無機酸や、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、シュウ酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、乳酸、リンゴ酸、マンデル酸、酒石酸、ジベンゾイル酒石酸、ジトルオイル酒石酸、クエン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸等の有機酸との酸付加塩が好ましい。

[0057] さらに前記有効成分は、前記一般式(1)の化合物及びその塩の各種の水和物や溶媒和物、及び結晶多形の物質も包含する。また、有効成分は、種々の放射性又は非放射性同位体でラベルされた化合物も包含する。

[0058] 前記一般式(1)の化合物及びその塩は、市販された化合物及びその塩を使用することができる。また、前記一般式(1)の化合物及びその塩は、その基本構造あるいは置換基の種類に基づく特徴を利用し、種々の公知の化合物に対し、公知の合成法を適用して製造することができる。その際、官能基の種類によっては、当該官能基を原料から中間体へ至る段階で、当業者によく知られた適切な保護基に置き換えておくことが製造技術上効果的な場合がある。

[0059] 本明細書における植物抵抗性誘導とは、植物の病害抵抗性又は害虫抵抗性を誘導する、強化する、促進する、および維持することを含む。

実施形態の植物抵抗性誘導剤は、病害抵抗性を誘導するので、植物病害防除剤としても提供可能である。

実施形態の植物抵抗性誘導剤は、害虫抵抗性を誘導するので、害虫防除剤としても提供可能である。

[0060] 植物の病害抵抗性若しくは害虫抵抗性を、誘導する、強化する、及び促進するとは、実施形態の抵抗性誘導剤が処理された植物と、処理されていない

植物とを比較して、実施形態の植物抵抗性誘導剤が処理された植物において、有意に植物抵抗性若しくは害虫抵抗性の発現を向上させることを意味する。

[0061] 植物の病害抵抗性又は害虫抵抗性を維持するとは、実施形態の植物抵抗性誘導剤が処理された植物と、処理されていない植物とを比較して、実施形態の植物抵抗性誘導剤が処理された植物において、有意に植物抵抗性若しくは害虫抵抗性の発現を長く持続させることを意味する。

[0062] 実施形態の抵抗性誘導剤によれば、植物の抵抗性誘導に関与するS A系、並びにJ A系及び／又はE T系を活性化させることができる。

実施形態の抵抗性誘導剤は、既存の抵抗性誘導剤ASM及びPBZと比べて同等又はそれ以上の抵抗性誘導活性を発揮することが、後述の実施例で実証されている。この優れた効果は、シグナル伝達に関わる新規の作用機作により達成されるものと推察される。そして、実施形態の抵抗性誘導剤によれば、1種の有効成分により、S A系並びにJ A系及び／又はE T系を活性化できる。

[0063] 抵抗性誘導剤の施用対象となる植物の種類は、前記SAR（即ちS A系）並びに前記ISR（即ちJ A系及び／又はE T系）が誘導されることにより抵抗性を獲得できる植物であれば特に制限されず、陸上植物であっても水生植物であってもよい。陸上植物としては、被子植物、又は裸子植物が好適であり、草本であっても木本であってもよい。被子植物としては、バラ科、ミカン科、ブドウ科、キク科、ラン科、ユリ科、マメ科、イネ科、アカネ科、トウダイグサ科、カヤツリグサ科、セリ科、シソ科、ウリ科、ナス科、及びアブラナ科がより好適であり、アブラナ科が更に好適である。

[0064] 前記ユリ科の植物としては、タマネギが例示できる。前記マメ科の植物としては、大豆が例示できる。前記セリ科の植物としては、ニンジンが例示できる。前記イネ科の植物としては、例えばイネ、トウモロコシ、ムギ、コムギ等が挙げられる。前記ウリ科の植物としては、例えばメロン、スイカ、冬瓜、キュウリ、カボチャなどが挙げられる。前記ナス科の植物としては、例

例えばタバコ、トマト、ジャガイモ、ナス、ピーマンなどが挙げられる。前記アブラナ科の植物としては、例えばナズナ、アブラナ、キャベツ、ケール、ハクサイ、カブ、ダイコン、ワサビ、カラシなどが挙げられる。

実施形態の抵抗性誘導剤の使用対象となる、好ましい植物として、トマト、タバコ、キュウリ、ナズナ、及びアブラナが挙げられる。

[0065] 実施形態の抵抗性誘導剤は、必要に応じ、農業上許容可能な担体、増量剤等と混合して、粉剤、錠剤、粒剤、微粒剤等の製剤形態で提供されてもよい。あるいは、農業上許容可能な溶媒、界面活性剤、乳化剤、分散剤等と混合して、乳剤、液剤、懸濁剤、水和剤、水溶剤、油剤等の剤型にすることもできる。

[0066] 抵抗性誘導剤を溶解させる溶媒は、抵抗性誘導剤や植物の種類に応じて適宜選択すればよいが、ジメチルスルホキシド（DMSO）等のスルホキシド化合物；N，N-ジメチルホルムアミド（DMF）、N，N-ジメチルアセトアミド（DMAc）、N-メチルピロリドン（NMP）等のアミド化合物等、親水性溶媒が好ましいものとして例示できる。

[0067] 実施形態の抵抗性誘導剤は、他の農園芸用剤と併用されるような剤型で提供されてもよい。

例えば、実施形態の抵抗性誘導剤と、ベスタチン、ヘキサ酸、アラキドン酸、N-アシルアミド等のその他のJA系抵抗性誘導剤との、合剤、組み合わせ製剤等の剤型で提供されてもよい。

また例えば、実施形態の抵抗性誘導剤と、プロベナゾール、アシベンゾラルSメチル等の、その他のSA系抵抗性誘導剤の、合剤、組み合わせ製剤等の剤型で提供されてもよい。

[0068] 実施形態の抵抗性誘導剤の使用による防御の対象となる病原体は、特に制限されないが、SAR又はISRの誘導を引き起こすか、SAR又はISRの誘導により防御され得る病原体であることが好ましい。又は、SAR又はISRの誘導を引き起こし、且つSAR又はISRの誘導により防御され得る病原体であることが好ましい。このような観点から、実施形態の抵抗性誘導剤によって防御対象とな

る病原体は、活物寄生性病原菌（単に「活物寄生菌」ともいう）、又は腐生性病原菌（「死物寄生菌」ともいう）であることがより好ましい。

[0069] 実施形態の抵抗性誘導剤によれば、活物寄生菌及び死物寄生菌の両方に対する植物抵抗性を誘導することができる。また、実施形態の抵抗性誘導剤は、活物寄生菌及び死物寄生菌に対する抗菌活性を有さないものであることが好ましい。

活物寄生菌としては、活物寄生性の各種植物病原糸状菌 [アブラナ科の炭疽病菌(*Colletotrichum higginsianum*)、コムギさび病菌 (*Puccinia graminis*)、コムギうどんこ病菌 (*Erysiphe graminis*)、トウモロコシ黒穂病菌 (*Ustilago maydis*)、イネいもち病菌 (*Magnaporthe grisea*) など]、活物寄生性の各種植物病原細菌、各種植物ウイルス等が挙げられる。

[0070] なかでも、実施形態の抵抗性誘導剤の使用による防御の対象となる病原体として、*Colletotrichum*属の菌を好適に例示できる。

[0071] 死物寄生菌としては、灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea*)、ジャガイモ炭そ病菌 (*Colletotrichum atramentarium*)、キュウリ炭そ病菌 (*Colletotrichum lagenarium*)、トマト疫病菌(*Phytophthora infestans*)、ムギ類立枯病菌 (*Gaeumannomyces graminis*)、軟腐病菌 (*Erwinia carotovora*)、黒点病菌 (*Diplocarpon rosae*)、腐らん病菌 (*Valsa ceratosperma*)、胴枯病菌 (*Cryphonectria parasitica*)、麦角病菌 (*Claviceps purpurea*)、ナシ黒斑病菌 (*Alternaria alternata*)、褐紋病菌 (*Mycosphaerella pinodes*)、イネごま葉枯病菌 (*Cochliobolus miyabeanus*)、斑点病菌 (*Stemphylium lycopersici*)、菌核病菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*)、モニリア病菌 (*Monilinia* sp.)、葉かび病菌 (*Passalora fulva*)、キュウリつる割病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*)、萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum*)、ブナ科樹木萎凋病菌 (*Raffaelea quercivora*)、緑かび病菌 (*Penicillium digitatum*)、青かび病菌 (*Penicillium italicum*)、カンキツかいよう病菌 (*Xanthomonas campestris* pv. *citri*)、青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum*) などの病原菌を例示することができる。なかでも、*Alternaria*属の*Altern*

aria alternata菌、Botrytis属のBotrytis cinerea菌を代表的な死物寄生菌として例示できる。

- [0072] なかでも、実施形態の抵抗性誘導剤の使用による防御の対象となる病原体として、死物寄生菌であるAlternaria属の菌、死物寄生菌であるBotrytis cinerea、Botrytis byssoidea、Botrytis squamosa、Botrytis allii等のBotrytis属の菌を好適に例示でき、Botrytis属の菌がより好適である。なかでも、Alternaria属のAlternaria alternata、Botrytis属のBotrytis cinerea菌を好適な使用対象として例示でき、トマト灰色かび病菌 (Botrytis cinerea) 又はキュウリ灰色かび病菌 (Botrytis cinerea) を特に好適な使用対象として例示できる。

死物寄生菌としては、周囲の環境により条件的に腐生性となる腐生性病原菌も包含する。

- [0073] 実施形態の抵抗性誘導剤の使用による防除の対象となる害虫等の生物は、特に制限されない。上述のように、ISR系は害虫による食害等の「傷害」に対する防御応答を誘導する。したがって、実施形態の抵抗性誘導剤は、防除剤として、植物を摂食する昆虫やダニ等の、広範囲の種類の害虫等の生物にも適用することができる。

- [0074] 実施形態の抵抗性誘導剤の使用による防除の対象となる害虫等の生物としては、アズキゾウムシ (Callosobruchus chinensis) 等の甲虫目害虫、コナガ (Plutella xylostella) 、モンシロチョウ (Pieris rapae) 等の鱗翅目害虫、イエバエ (Musca domestica) 、ウリミバエ (Dacus cucurbitae) 等の双翅目害虫、アオクサカメムシ (Nezara antennata) 半翅目害虫、ミカンキイロアザミウマ (Frankliniella occidentalis) 等のアザミウマ目害虫、トノサマバッタ (Locusta migratoria) 等の直翅目害虫、チャバネゴキブリ (Blattella germanica) 等のゴキブリ目害虫、コナヒョウヒダニ (Dermatophagoides farinae) 等のダニ目害虫、サツマイモネコブセンチュウ (Meloidogyne incognita) 等の線虫類などの各種農業害虫を含む。林木害虫としては、甲虫目害虫が挙げられ、カシノナガキクイムシ (Platypus quercivorus) 等の

ナガキクイムシ科害虫、マツノクイムシ (*Tomicus piniperda*) 等のクイムシ科害虫が挙げられ、その他、マツノマダラカミキリ (*Mochamus alternatus*) やカラフトヒゲナガカミキリ (*M. saltuarius*) 等が属するヒゲナガカミキリ属 (*Mochamus*) 害虫などを例示することができる。

[0075] 本発明は、一実施形態として、上記一般式 (1) で表される化合物又はその塩を適用対象の植物に接触させる、抵抗性誘導方法を提供する。

本発明は、一実施形態として、植物の抵抗性を誘導するための上記一般式 (1) で表される化合物又はその塩を提供する。

本発明は、一実施形態として、植物の抵抗性を誘導するための上記一般式 (1) で表される化合物又はその塩の使用を提供する。

本発明は、一実施形態として、抵抗性誘導剤を製造するための上記一般式 (1) で表される化合物又はその塩の使用を提供する。

[0076] 抵抗性誘導剤は、有効量を適用対象の植物に接触させることで、前記植物に抵抗性を誘導できる。

抵抗性誘導剤の施用方法として、有効量を植物に接触させる方法は、公知の誘導剤の場合と同様でよく、例えば、植物が生育している土壤に抵抗性誘導剤を散布する方法、土壤混和する方法、土壤灌注する方法、抵抗性誘導剤を溶解させた抵抗性誘導剤溶液を植物に塗布又は噴霧する方法、該抵抗性誘導剤溶液中で植物を生育させる方法、水耕液へ抵抗性誘導剤を混入する方法などが例示できる。なかでも抵抗性誘導剤の有効量を植物の根に接触させる方法が好ましく、植物を栽培する土壤、又は植物を栽培する水耕液に抵抗性誘導剤を施用する処理方法が挙げられ、灌注処理が好適である。

[0077] 実施形態の植物の抵抗性誘導方法において、抵抗性誘導剤を処理又は投与する植物体の部位は特に制限されない。例えば、植物体が有する全ての葉や茎、根の全体に噴霧してもよいし、一部の葉や一部の茎、一部の根だけに噴霧してもよい。植物体全体に噴霧しない場合にも、噴霧された部位において生産された二次代謝物が、植物体の必要な箇所へ行き渡って、噴霧されていない部位においても抵抗性が獲得されうる。また、土壤処理、浸漬処理、灌

注処理などにより根系から植物体へ浸透させることによっても抵抗性が獲得される。

[0078] 抵抗性誘導剤の使用量は、抵抗性誘導剤や植物の種類に応じて適宜調節できる。土壌に抵抗性誘導剤を散布、混和又は灌注する方法で処理する場合には、例えば、一回あたりの有効成分の使用量を $1\sim 20\text{ kg}/10\text{ a}$ 、 $1\sim 10\text{ kg}/10\text{ a}$ 、 $1\sim 1.3\text{ kg}/10\text{ a}$ とし、植物が発芽してから収穫されるまでの期間中、年に一回、又は必要に応じて複数回使用できる。複数回使用する場合は、年に2～6回、月に1～3回の頻度で使用するが好ましい。

[0079] また、前記抵抗性誘導剤の溶液を植物の茎葉に塗布又は噴霧する方法で処理する場合、抵抗性誘導剤の溶液に含まれる前記一般式(1)で表される化合物又はその塩の濃度は、 $0.1\sim 500\text{ }\mu\text{M}$ が好ましく、 $1\sim 500\text{ }\mu\text{M}$ が好ましく、 $1\sim 300\text{ }\mu\text{M}$ が好ましく、 $1\sim 100\text{ }\mu\text{M}$ がより好ましく、 $1\sim 10\text{ }\mu\text{M}$ がより好ましく、 $1\sim 5\text{ }\mu\text{M}$ がさらに好ましく、別の側面として $10\sim 50\text{ }\mu\text{M}$ が好ましい。例えば、濃度が $0.1\sim 500\text{ }\mu\text{M}$ 又は $1\sim 500\text{ }\mu\text{M}$ の抵抗性誘導剤の溶液の一回あたりの使用量を葉一枚あたり $1\sim 1000\text{ }\mu\text{L}$ とし、植物が発芽してから収穫されるまでの期間中、年に一回、又は必要に応じて複数回使用できる。複数回使用する場合は、年に2～6回、月に1～3回の頻度で使用するが好ましい。

[0080] 灌注処理や水耕栽培など、前記抵抗性誘導剤の溶液中で植物を生育させる方法で処理する場合の抵抗性誘導剤の溶液に含まれる前記一般式(1)で表される化合物又はその塩の濃度は、 $0.1\sim 500\text{ }\mu\text{M}$ が好ましく、 $1\sim 500\text{ }\mu\text{M}$ が好ましく、 $1\sim 300\text{ }\mu\text{M}$ がより好ましく、 $1\sim 100\text{ }\mu\text{M}$ がさらに好ましく、 $1\sim 10\text{ }\mu\text{M}$ がより好ましく、 $1\sim 5\text{ }\mu\text{M}$ がさらに好ましく、別の側面として $10\sim 50\text{ }\mu\text{M}$ が好ましい。例えば、濃度が $0.1\sim 500\text{ }\mu\text{M}$ 又は $1\sim 500\text{ }\mu\text{M}$ の抵抗性誘導剤の溶液の一回あたりの使用量を植物体1個体あたり $1\sim 1000\text{ }\mu\text{L}$ とし、植物が発芽してから収穫されるまでの期間中、年に一回、又は必要に応じて複数回使用できる。複数回使用す

る場合は、年に2～6回、月に1～3回の頻度で使用する事が好ましい。

[0081] 抵抗性誘導剤の使用のタイミングは、植物体の播種時、移植時又は定植時のいずれの時期でも使用可能である。また、種、芽生え、幼体、成熟個体のいずれの成長段階でも施用可能である。例えば、発芽後20日以降～収穫14日前までに1～3回施用されることが挙げられる。

[0082] 実施形態の抵抗性誘導剤は、他の農園芸用剤と組み合わせて用いられてもよい。抵抗性誘導剤および他の農園芸用剤を同時に使用されてもよいし、別々に使用されてもよい。

例えば、実施形態の抵抗性誘導剤と、ベスタチン、ヘキサノ酸、アラキドン酸、N-アシルアミド等の、その他のJA系抵抗性誘導剤とを併用して用いてもよい。

また例えば、実施形態の抵抗性誘導剤と、プロベナゾール、アシベンゾラルSメチル等の、その他のSAR系抵抗性誘導剤とを、併用して用いてもよい。

[0083] 本明細書において「併用」とは、同一の植物個体に複数種類の薬剤を施用することを意味する。

[0084] 抵抗性誘導剤は、害虫の発生又は植物病の発病後に、抵抗性誘導剤を植物体に接触させてもよい。また、抵抗性誘導剤は、予防的に用いられてもよく、害虫の発生又は植物病の発病前に、抵抗性誘導剤を植物体に接触させてもよい。

[0085] 実施形態の抵抗性誘導剤は、従来のJA系抵抗性誘導剤と比較して、低濃度での有効成分の処理で良好な抵抗性誘導が可能である。

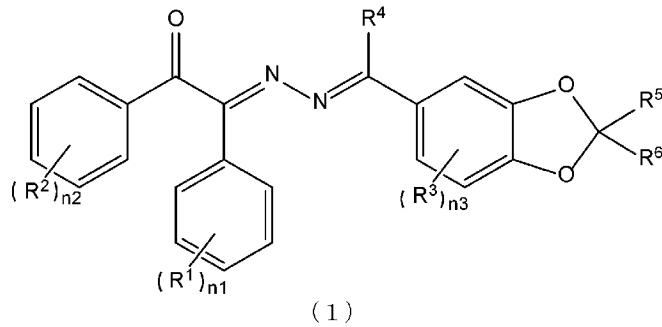
[0086] 実施形態の抵抗性誘導剤によれば、植物の抵抗性誘導に関与するSA系、並びにJA系及び／又はET系を活性化させることができる。実施形態の抵抗性誘導剤は、上記の実施形態で説明した植物抵抗性の誘導方法に好適に使用可能である。

[0087] 《バイオスティミュラント》

実施形態の植物抵抗性誘導剤は、バイオスティミュラントとしても利用可

能である。実施形態のバイオスティミュラントは、下記一般式（1）で表される化合物又はその塩を有効成分として含有する。

[0088] [化7]



[0089] [式（1）中、

R^1 、 R^2 及び R^3 は、それぞれ独立して、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、水酸基、ハロゲン原子、又は炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

R^4 は、水素原子、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基又は炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

R^5 及び R^6 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基、又はハロゲン原子を表す。

n_1 は R^1 の数を表し、0～5のいずれかの整数であり、 n_1 が2以上のとき、 R^1 同士は互いに同一でも異なってもよい。 n_2 は R^2 の数を表し、0～5のいずれかの整数であり、 n_2 が2以上のとき、 R^2 同士は互いに同一でも異なってもよい。 n_3 は R^3 の数を表し、0～3のいずれかの整数であり、 n_3 が2以上のとき、 R^3 同士は互いに同一でも異なってもよい。

]

[0090] 本明細書において、「バイオスティミュラント」とは、植物に施用することにより、植物の二次代謝物の生産量及び／又は蓄積量を向上させる働きを有するものである。

後述の実施例によれば、上記一般式（1）で表される化合物又はその塩が

、複数の植物ホルモン合成経路の活性化に寄与していることが示唆されている。すなわち、上記一般式（1）で表される化合物又はその塩によれば、生合成経路が広範囲にわたって活性化され、種々の二次代謝物の合成等を向上させることが可能である。

[0091] 二次代謝物としては、アルカロイドやテルペノイド等が挙げられ、これら二次代謝物は生薬製剤及び漢方製剤の有効成分として利用可能である。

[0092] 実施形態のバイオスティミュラントによれば、例えば、生薬製剤又は漢方製剤の原料植物に施用することで、目的の二次代謝物である有効成分の生産量及び／又は蓄積量を向上させることができる。

原料植物としては、特に制限されるものではないが、甘草、御種人蔘、生姜、桂皮などの植物が挙げられる。

[0093] バイオスティミュラントの使用方法や剤型等としては、上記の植物抵抗性誘導剤において説明したものと同様のものが例示できるため、詳細な説明を省略する。

[0094] 実施形態のバイオスティミュラントは、他の農園芸用剤と併用されるような剤型で提供されてもよい。

例えば、実施形態のバイオスティミュラントと、その他の公知のバイオスティミュラント効果を有する化合物との、合剤、組み合わせ製剤等の剤型で提供されてもよい。

[0095] 実施形態のバイオスティミュラントは、他の農園芸用剤と組み合わせて用いられてもよい。バイオスティミュラントおよび他の農園芸用剤を同時に使用されてもよいし、別々に使用されてもよい。

例えば、実施形態のバイオスティミュラントと、その他の公知のバイオスティミュラント効果を有する化合物とを併用して用いてもよい。

[0096] 実施形態のバイオスティミュラントは、二次代謝物の生産量及び／又は蓄積量を向上させる効果を有する。植物におけるバイオスティミュラント効果の発現は、例えば、以下の指標により判断できる。

植物体で生産される二次代謝物の量を指標とし、実施形態のバイオスティ

ミュラントが処理された植物と、処理されていない植物とを比較して、実施形態のバイオスティミュラントが処理された植物において、植物体生産される二次代謝物の量が有意に増加していた場合に、バイオスティミュラント効果の発現を判断できる。

[0097] 一実施形態において、本発明は、上記一般式（1）で表される化合物又はその塩を有効成分として含有するバイオスティミュラントを植物に接触させることを含む二次代謝物の生産促進方法を提供する。係る方法は、植物抵抗性誘導剤を植物に接触させる方法において説明したものと同様の方法が例示できるため、説明を省略する。

[0098] 本発明は、一実施形態として、上記一般式（1）で表される化合物又はその塩を適用対象の植物に接触させる、二次代謝物の製造方法を提供する。

本発明は、一実施形態として、上記一般式（1）で表される化合物又はその塩を適用対象の植物に接触させる、二次代謝物の生産量の向上方法を提供する。

実施例

[0099] 次に実施例を示して本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

[0100] <VSP1 遺伝子の発現を誘導する化合物の選抜>

まず、文献 (Utsugi et al. (1998) *Plant Mol Biol* 38:565-576; Guerin au et al. (2003) *J Exp Bot* 54:1153-1162) に示された結果に沿って、PCRにより、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia) のゲノムDNAから、Vegetative Storage Protein 1 (VSP1) 遺伝子のプロモーター配列を増幅した。レポーター遺伝子 (ホタルルシフェラーゼ遺伝子 (FLuc)) の遺伝子配列を有するプラスミド (pBI221-Fluc) のFlucの上流に、VSP1 遺伝子のプロモーター配列を連結し、pBI121-VSP1::Flucプラスミドを得た。該プラスミドをアグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens* LBA4404) を介してシロイヌナズナに導入し、VSP1::Flucを有する形質転換シロイヌナズナVSP1::Flucを得た。この形質転換シロイヌナズナの種子を

マルチウェルプレートに播種し、ルシフェリン水溶液中で発芽させた。

[0101] 一般に販売されている化合物ライブラリの各化合物のジメチルスルホキシド (DMSO) 溶液をそれぞれ調製し、化合物の濃度が $30 \mu\text{M}$ の濃度となるように、この溶液を各ウェルに加えて、形質転換シロイヌナズナの芽生えを処理した。生育は 22°C 、12時間暗期 / 12時間明期 ($70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{S}^{-1}$) の光周期条件下で行った。

[0102] フォトカウンティング装置 (ARGUSシステム、浜松ホトニクス社製) 及びソフトウェア (AQUACOSMOS、浜松ホトニクス社製) を使用して、各ウェル内の発光強度を測定してレポーターであるFlucの発現量を測定することで、各化合物のVSP1遺伝子発現誘導活性についてそれぞれ評価した。

[0103] その結果、前記式 (1-2) で表される化合物 (分子量 356.4) の処理により、上記形質転換シロイヌナズナVSP1::FlucにおいてFlucタンパク質が発現誘導されることが明らかとなった。前記式 (1-2) で表される化合物 2-{2-[(1,3-dioxaindan-5-yl)methylidene]hydrazin-1-ylidene}-1,2-diphenylethan-1-oneを、以下「化合物X」という。

以下、化合物XはEnamine社より市販されているものを用いた。

[0104] <シロイヌナズナ1週齢個体における化合物XのJA系への作用評価>

上記選抜実験と同様の実験をシロイヌナズナ1週齢個体 ($n = 24$) に対して行った。化合物XのDMSO溶液を調整し、化合物Xの濃度がそれぞれ、 $1 \mu\text{M}$ 、 $5 \mu\text{M}$ 、 $30 \mu\text{M}$ 、 $100 \mu\text{M}$ の濃度となるように各溶液を各ウェルに加えて、形質転換シロイヌナズナを処理した群 (化合物X群)、及び上記化合物XのDMSO溶液に代えてDMSOのみを処理した群 (DMSO群) に対する評価を行った。更に、化合物X群、DMSO群の他に、化合物XのDMSO溶液に代えて $10 \mu\text{M}$ MeJAのDMSO溶液を処理した群 (MeJA群) に対する評価も行った。

[0105] 結果を図2に示す。化合物X群の形質転換シロイヌナズナVSP1::Flucでは、処理72時間後までには、Flucタンパク質の発光強度の顕著な上昇が確認で

きた。一方DMSO群のシロイヌナズナVSP1::Flucでは、Flucタンパク質の発光は検出されなかった。このことから、化合物Xは、シロイヌナズナ1週齢個体においても、VSP1遺伝子の発現誘導活性を有することが示唆された。

また、化合物XとMeJAとを比較すると、化合物XのVSP1遺伝子発現活性の作用は、MeJA群にやや遅れて発揮されていた。しかし、化合物XのVSP1遺伝子発現活性の作用はMeJAの作用よりも長期間継続していた。さらに、化合物Xはどの濃度においても、高いVSP1遺伝子発現活性を誘導できており、非常に低い濃度であっても高い活性を示した。すなわち、化合物Xは、非常に優れた抵抗性誘導作用を有していることが判明した。

[0106] <シロイヌナズナ4週齢個体における化合物XのJA系への作用評価>

化合物Xを50 μ Mの濃度となるようMS培地に混合した固形培地、又は、化合物Xに代えてDMSOのみをMS培地に混合した固形培地を用意した。そこに、MS固形培地で育てたシロイヌナズナVSP1::Flucの4週齢個体(n = 24)を植え替え、化合物Xを根から吸収させた。植え替え直後を0時間とし、植え替え後24~168時間にかけて、上記と同様にVSP1活性の経時観察を行った。

[0107] 結果を図3に示す。化合物Xの施用によりFlucタンパク質の発光強度の顕著な上昇が確認でき、化合物Xは成熟個体においてもVSP1遺伝子の発現誘導活性を示すことが確認された。また化合物Xは、根から高効率に吸収されることが示唆され、施用方法として灌漑処理が好適であることが推察された。

[0108] <シロイヌナズナ4週齢個体における化合物XのSA系およびET系への作用評価>

文献(Ono S, Kusama M, Ogura R, Hiratsuka K (2011) Evaluation of the use of the tobacco PR-1a promoter to monitor defense gene expression by the luciferase bioluminescence reporter system, Biosci Biotechnol Biochem 75: 1796-1800)に示された内容に沿って、タバコ由来のPathogenesis-related gene 1a (PR-1a) 遺伝子プロモーターの下流に、ホタルルシフェ

ラーゼ遺伝子 (Firefly luciferase; F-luc) を連結させた融合遺伝子 (PR-1a::F-luc) を有するプラスミドを得た。該プラスミドをアグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens* LBA4404) を介してシロイヌナズナに導入し、PR-1a::F-lucを有する形質転換シロイヌナズナPR-1a::F-lucを得た。

[0109] また、文献 (Minami T, Tanaka T, Takasaki S, Kawamura K, Hiratsuka K, In vivo bioluminescence monitoring of defense gene expression in response to treatment with yeast cell wall extract, *Plant biotechnol.* 28, 481-484, 2011) に示された内容に沿って、シロイヌナズナ由来のPDF1.2遺伝子プロモーターの下流に、ホタルルシフェラーゼ遺伝子を連結させた融合遺伝子 (PDF1.2::F-luc) を有するプラスミドを得た。該プラスミドをアグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens* LBA4404) を介してシロイヌナズナに導入し、PDF1.2::F-lucを有する形質転換シロイヌナズナPDF1.2::F-lucを得た。

[0110] 化合物Xを50 μ Mの濃度となるようMS培地に混合した固形培地、又は、化合物Xに代えてDMSOのみをMS培地に混合した固形培地を用意した。そこに、MS固形培地で育てたシロイヌナズナPR-1a::F-luc又はPDF1.2::F-lucの4週齢個体 (n = 24) を植え替え、化合物Xを根から吸収させた。植え替え直後を0時間とし、植え替え後24~168時間にかけて、上記と同様にVSP1活性の経時観察を行った。

[0111] 結果を図4A~Bに示す。化合物Xの施用によりFlucタンパク質の発光強度の顕著な上昇が確認でき、化合物XはJA系に加え、SA系及びET系にも作用していることが示唆された。

[0112] <灰色かび病菌に対する発病抑制効果の検証>

抵抗性誘導としての有用性の検討として、シロイヌナズナの成熟個体における灰色かび病菌発病抑制効果の検証を行った。灰色かび病菌は、死物寄生菌である。

栽培土にて栽培した野生型のシロイヌナズナの4週齢個体 (n = 6) に対し、化合物X (50 μ M) のDMSO溶液、MeJA (50 μ M) のDMS

O溶液、DMSOの各液を、土壌表面に注ぐ灌注処理を施した。次いで、その120～144時間後にシロイヌナズナの葉に孢子懸濁液 (1×10^5 spores / mL) を滴下し、その72時間後に病斑の測定を行った。

[0113] 結果を図5に示す。グラフは接種72時間後の最大病斑直径を示している。化合物Xを灌注処理したときにのみ、灰色かび病菌への高い抑制効果が見られた。

[0114] <炭疽病菌に対する発病抑制効果の検証>

また、上記の灰色かび病菌に対する発病抑制効果の検証と同様の手法により、化合物Xを灌注処理した時の炭疽病菌の発病抑制効果の検証を行った。炭疽病菌は、活物寄生菌である。

栽培土にて栽培した野生型のシロイヌナズナの4週齢個体 ($n = 6$) に対し、化合物X ($50 \mu\text{M}$) のDMSO溶液、ASM ($50 \mu\text{M}$) のDMSO溶液、DMSOの各液を、土壌表面に注ぐ灌注処理を施した。次いで、その96～144時間後にシロイヌナズナの葉に孢子懸濁液 (1×10^5 spores / mL) を滴下し、その144時間後に病斑の測定を行った。

[0115] 結果を図6に示す。グラフは接種後144時間の最大病斑直径を示している。化合物Xは、代表的な抵抗性誘導剤であるASMと同様又はそれを越える抑制効果を示し、炭疽病菌の感染増殖抑制に優れた効果を発揮することが示された。

[0116] <JA系とSA系の誘導パターンの差異の検証>

これまで多くの論文より、JA系とSA系は互いに拮抗して働くことが報告されている。しかし、上記に示す本件実施例から、化合物Xは、JA系だけでなく、SA系にも作用していることが示唆された。

そこで、化合物Xによって、これら複数の経路がどういったパターンで誘導されているか確認を行った。野生型シロイヌナズナの幼苗及び成熟個体を用いて、リアルタイムPCRにより、JA系のVSP1遺伝子、及びSA系のPR1遺伝子の発現量 (mRNA量) を定量した。

[0117] 以下、特に指定のない場合の化合物Xの処理は、上記と同様に、MS培地

に化合物Xを混合した固形培地にシロイヌナズナを植え替えて行い、植え替え直後を処理0時間とした。また、その他の対照群（MeJA群及びDMSO群）の処理についても同様である。

[0118] シロイヌナズナのVSP1遺伝子の発現量の定量に用いた、リアルタイムPCRのプライマーセットの塩基配列は以下である。

F : 5' - TCGAAGTTGACGCAAGTGGT -3' (配列番号4)

R : 5' - GGGGACAATGCCATGAAGAT -3' (配列番号5)

[0119] シロイヌナズナのPR1遺伝子の発現量の定量に用いた、リアルタイムPCRのプライマーセットの塩基配列は以下である。

F : 5' - CTA ACTACA ACTACGCTGCGAAC -3' (配列番号6)

R : 5' - TTCATTAGTATGGCTTCTCGTTCA -3' (配列番号7)

[0120] 幼苗における結果を図7A～Bに示す。VSP1は化合物X処理48時間後から発現が上昇して96時間後にピークに達し、その後は活性が低下していく誘導パターンがみられた。一方、PR1は処理後144時間に高発現していた。

[0121] 成熟個体における結果を図8A～Bに示す。VSP1は処理48時間後に高発現していた。一方、PR1は処理後48時間から発現が上昇し、96時間後にピークに達していることが確認された。

これらの結果から、幼苗と成熟個体では発現のピークにタイムラグがあるものの、どちらの生育段階においても、化合物Xは初期にJA系を活性化させ、JA系の活性減少と同時に後期にSA系を活性化させていることが示唆された。

[0122] 化合物XはこのようなJA-SA誘導パターンを持つことから、灰色かび病菌と炭疽病菌どちらに対しても、優れた防除効果を発揮したと考えられる。

[0123] <ET系の誘導パターンの検証>

また、ET系のPDF1.2遺伝子についても同様に、リアルタイムPCRにより、発現定量を行なった。

[0124] シロイヌナズナのPDF1.2遺伝子の発現量の定量に用いた、リアルタイムPCRのプライマーセットの塩基配列は以下である。

F : 5' - TTTGCTGCTTTTCGACGCAC -3' (配列番号8)

R : 5´ - CGCAAACCCCTGACCATG -3´ (配列番号9)

[0125] 結果を図9A～Bに示す。図9Aのグラフは幼苗、図9Bのグラフは成熟個体における結果である。どちらの生育段階でも、PDF1、2は化合物X処理後144時間後に高発現していることが確認された。よって、化合物Xは後期にET系を活性化させていることが示唆された。

[0126] <化合物Xの抗菌活性の評価>

化合物X自体の抗菌活性を確認するため、阻止円法による評価を行った。ここでは灰色かび病菌と炭疽病菌に対する抗菌活性を調査した。灰色かび病菌は腐生性病原菌の代表であり、炭疽病菌は活物寄生性病原菌の代表である。

[0127] 灰色かび病菌 (*B. cinerea*) の孢子100 μ l (3.0×10^5 spores/ml)をPSA培地に塗布し、さらに化合物X液 10 μ l (100mM)を処理した。陽性対象にはハイグロマイシン10 μ l(100mM)、陰性対象にはDMSOを用いた。これを5日間24℃下で培養した。

[0128] 炭疽病菌 (*C. higginsianum*) の孢子100 μ l (1.0×10^5 spores/ml) をPDA培地に塗布し、さらに化合物X液 10 μ l (100mM)を処理した。陽性対照にはハイグロマイシン10 μ l (100mM)、陰性対照にはDMSOを用いた。これを10日間24℃下暗所にて培養した。

[0129] 結果を図10A～Bに示す。試験の結果、化合物Xは100mMという高濃度処理においても、灰色かび病菌及び炭疽病菌に対して抗菌活性を示さないことが明らかとなった。抗菌活性を持たない化合物は、薬剤耐性菌を生みにくい。したがって、実施形態の植物抵抗性誘導剤にかかる化合物Xは、薬剤耐性菌を生みにくく、長期間の利用が見込める点においても優れている。

[0130] 化合物Xは、既存の抵抗性誘導剤とは異なり、JA系だけでなくSA系及びET系をも活性化し、灰色かび病菌(死物寄生菌)及び炭疽病菌(活物寄生菌)の両方に対して明瞭な抵抗性を発揮した。このことから化合物Xは、広範囲の病原体に対する抵抗性を誘導可能であることが示された。

また、化合物Xは、低濃度の施用であっても、効果的に抵抗性を誘導可能

であった。

[0131] 化合物Xの効果は、代表的な抵抗性誘導剤であるASM及びPBZと比べて同等又はそれ以上であり、抵抗性誘導剤としての効果及び有用性が、非常に高いことが示された。

[0132] 各実施形態における各構成及びそれらの組み合わせ等は一例であり、本発明の趣旨を逸脱しない範囲で、構成の付加、省略、置換、およびその他の変更が可能である。また、本発明は各実施形態によって限定されることはなく、請求項（クレーム）の範囲によってのみ限定される。

請求の範囲

[請求項1]

植物の抵抗性を誘導する方法であって、

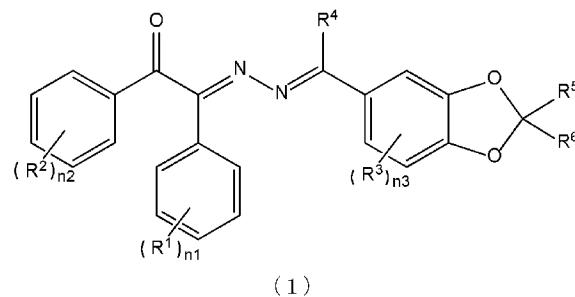
植物に、植物抵抗性誘導剤を施用し、サリチル酸シグナル伝達系、並びにジャスモン酸及び／又はエチレンシグナル伝達系を活性化させることを含み、

前記植物抵抗性誘導剤の有効成分が、低分子化合物であり、1種の前記有効成分により、前記サリチル酸シグナル伝達系、並びに前記ジャスモン酸及び／又は前記エチレンシグナル伝達系を活性化するものである、植物抵抗性の誘導方法。

[請求項2]

前記植物抵抗性誘導剤が、下記一般式(1)で表される化合物又はその塩を有効成分として含有する、請求項1に記載の方法。

[化1]



[式(1)中、

R^1 、 R^2 及び R^3 は、それぞれ独立して、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、水酸基、ハロゲン原子、又は炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

R^4 は、水素原子、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基又は炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

R^5 及び R^6 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基、又はハロゲン原子を表す。

n_1 は R^1 の数を表し、0～5のいずれかの整数であり、 n_1 が2

以上のとき、 R^1 同士は互いに同一でも異なってもよい。 n_2 は R^2 の数を表し、0～5のいずれかの整数であり、 n_2 が2以上のとき、 R^2 同士は互いに同一でも異なってもよい。 n_3 は R^3 の数を表し、0～3のいずれかの整数であり、 n_3 が2以上のとき、 R^3 同士は互いに同一でも異なってもよい。]

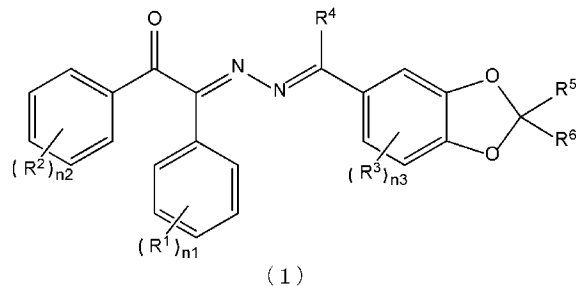
[請求項3] 活物寄生菌及び死物寄生菌の両方に対する植物抵抗性を誘導する、請求項1又は2に記載の方法。

[請求項4] 活物寄生菌及び死物寄生菌に対する抗菌活性を有さない、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

[請求項5] 前記施用が、前記植物抵抗性誘導剤の有効量を植物の根に接触させることを含む、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

[請求項6] 下記一般式(1)で表される化合物又はその塩を有効成分として含有する、植物抵抗性誘導剤。

[化2]



[式(1)中、

R^1 、 R^2 及び R^3 は、それぞれ独立して、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、水酸基、ハロゲン原子、又は炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

R^4 は、水素原子、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基又は炭素数2～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

R^5 及び R^6 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数1～4の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、炭素数2～4の直鎖状若しくは

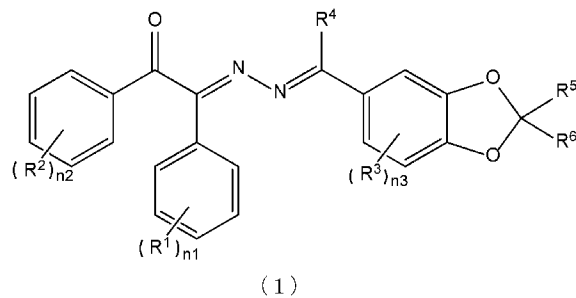
分岐鎖状のアルケニル基、又はハロゲン原子を表す。

n_1 は R^1 の数を表し、0～5 のいずれかの整数であり、 n_1 が 2 以上のとき、 R^1 同士は互いに同一でも異なってもよい。 n_2 は R^2 の数を表し、0～5 のいずれかの整数であり、 n_2 が 2 以上のとき、 R^2 同士は互いに同一でも異なってもよい。 n_3 は R^3 の数を表し、0～3 のいずれかの整数であり、 n_3 が 2 以上のとき、 R^3 同士は互いに同一でも異なってもよい。]

[請求項7]

下記一般式 (1) で表される化合物又はその塩を有効成分として含有する、バイオスティミュラント。

[化3]



[式 (1) 中、

R^1 、 R^2 及び R^3 は、それぞれ独立して、炭素数 1～4 の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、水酸基、ハロゲン原子、又は炭素数 2～4 の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

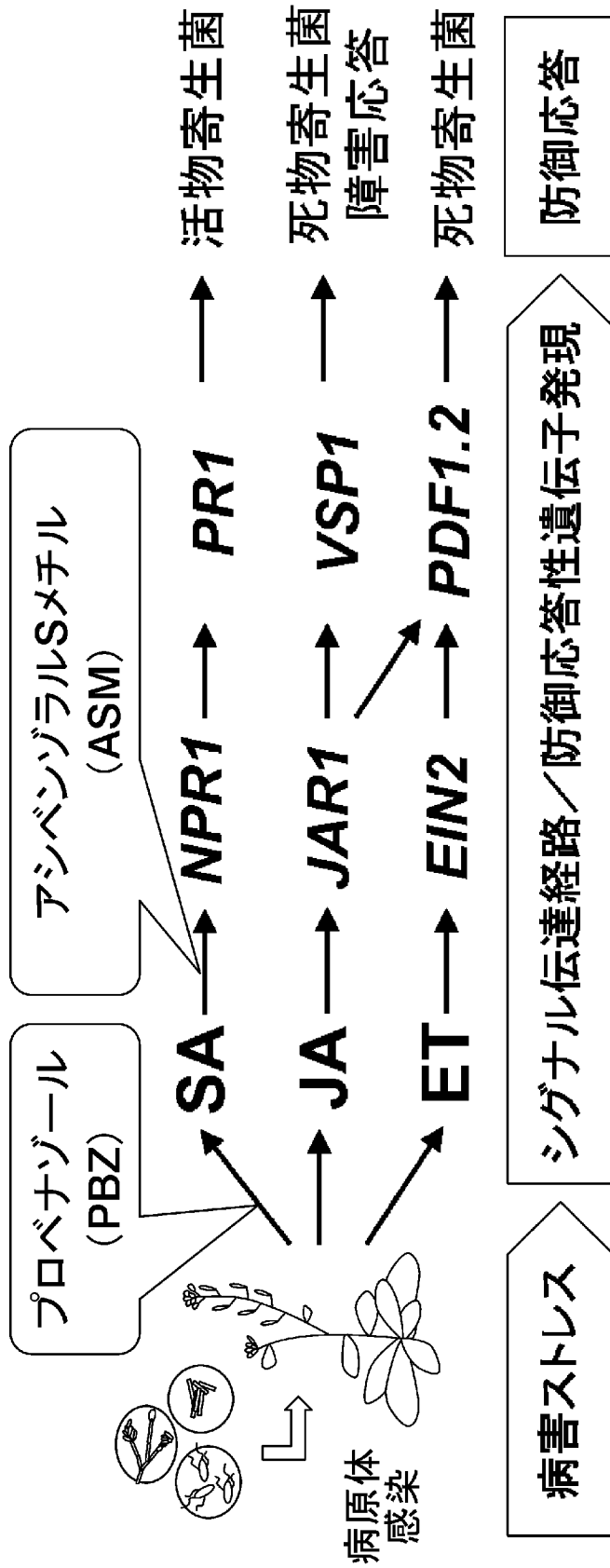
R^4 は、水素原子、炭素数 1～4 の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基又は炭素数 2～4 の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基を表し、

R^5 及び R^6 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数 1～4 の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、炭素数 2～4 の直鎖状若しくは分岐鎖状のアルケニル基、又はハロゲン原子を表す。

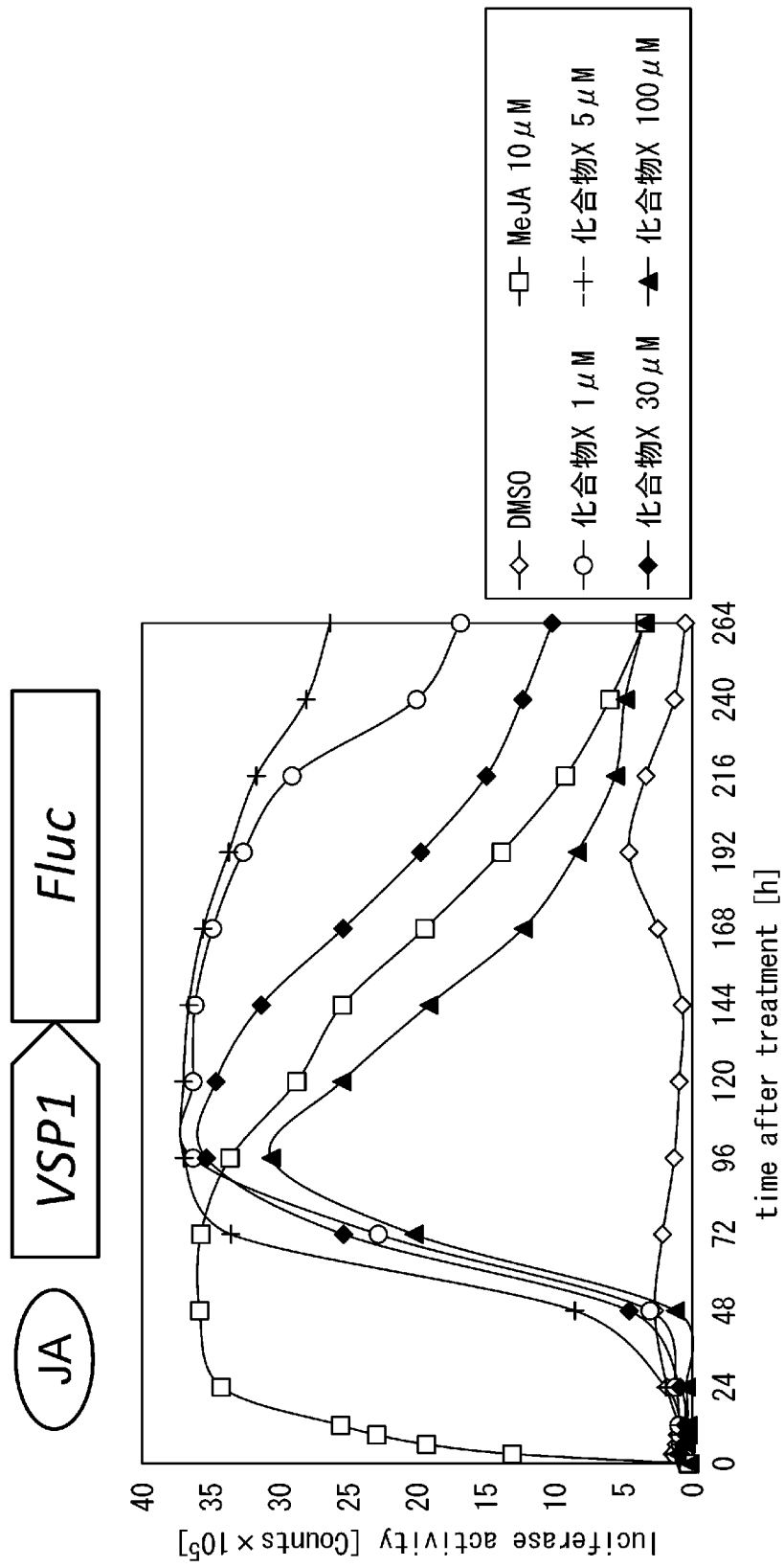
n_1 は R^1 の数を表し、0～5 のいずれかの整数であり、 n_1 が 2 以上のとき、 R^1 同士は互いに同一でも異なってもよい。 n_2 は R^2 の数を表し、0～5 のいずれかの整数であり、 n_2 が 2 以上のと

き、 R^2 同士は互いに同一でも異なってもよい。 n_3 は R^3 の数を表し、 $0 \sim 3$ のいずれかの整数であり、 n_3 が2以上のとき、 R^3 同士は互いに同一でも異なってもよい。]

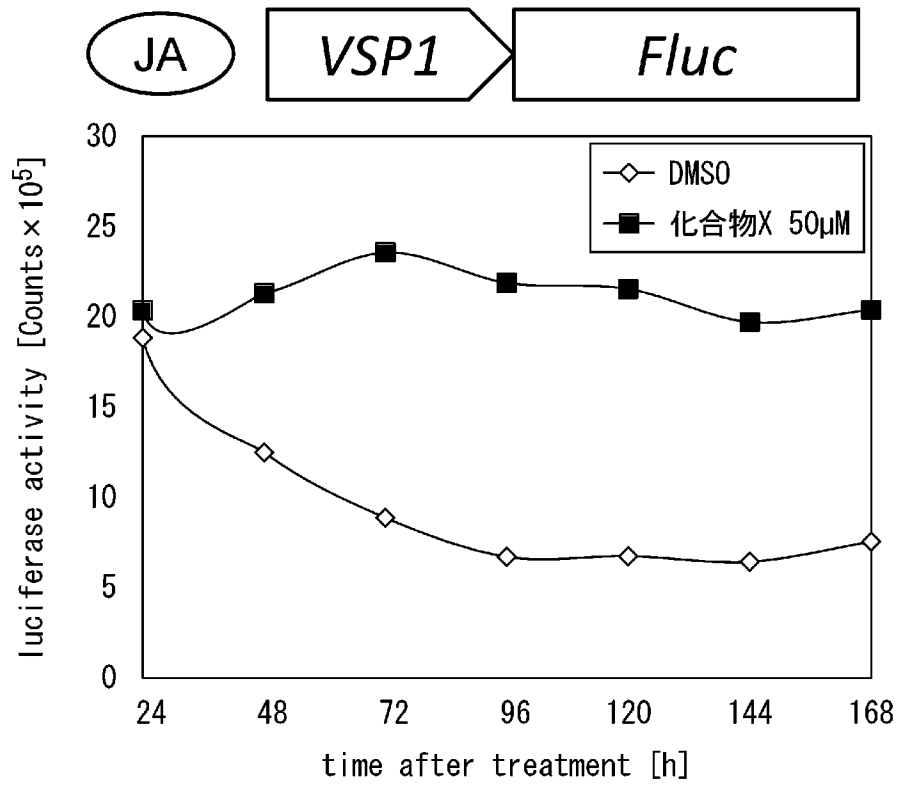
[図1]



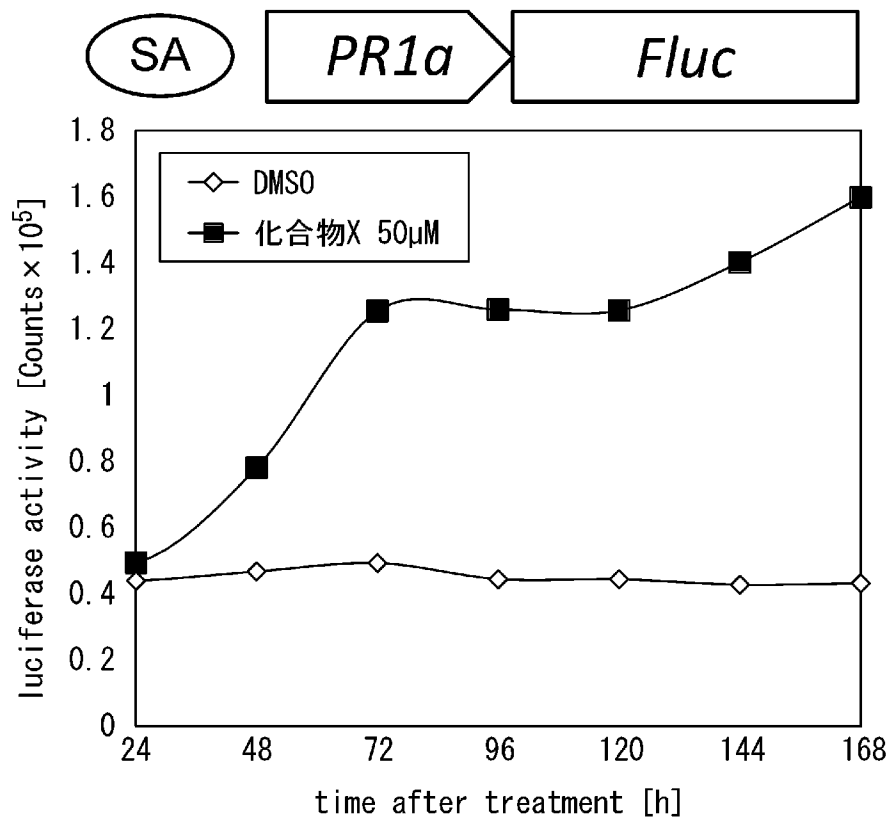
[図2]



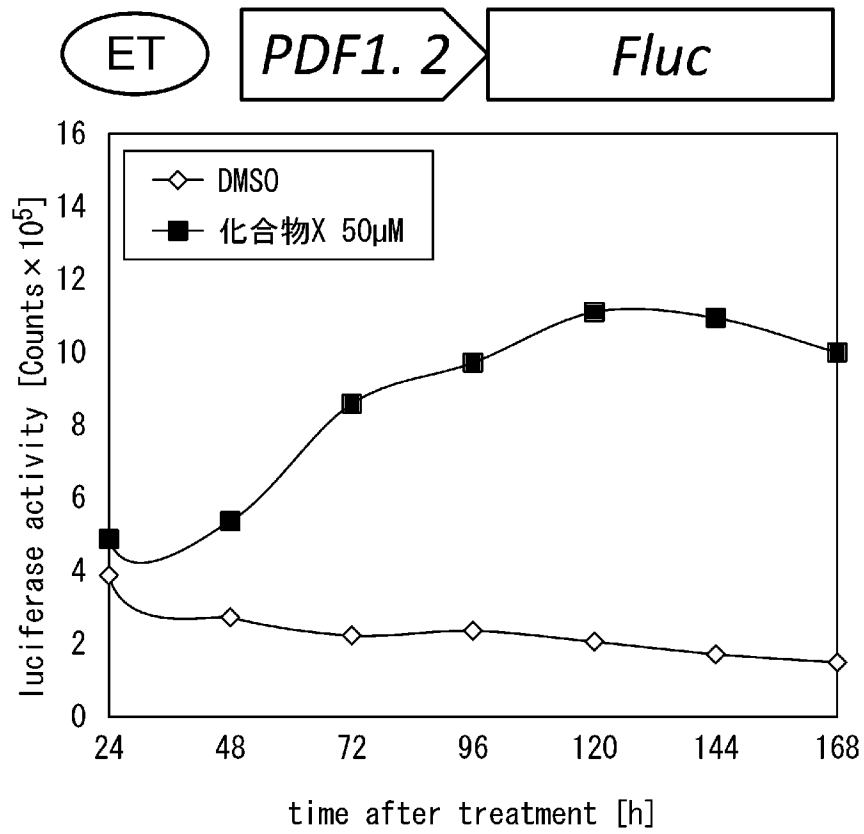
[図3]



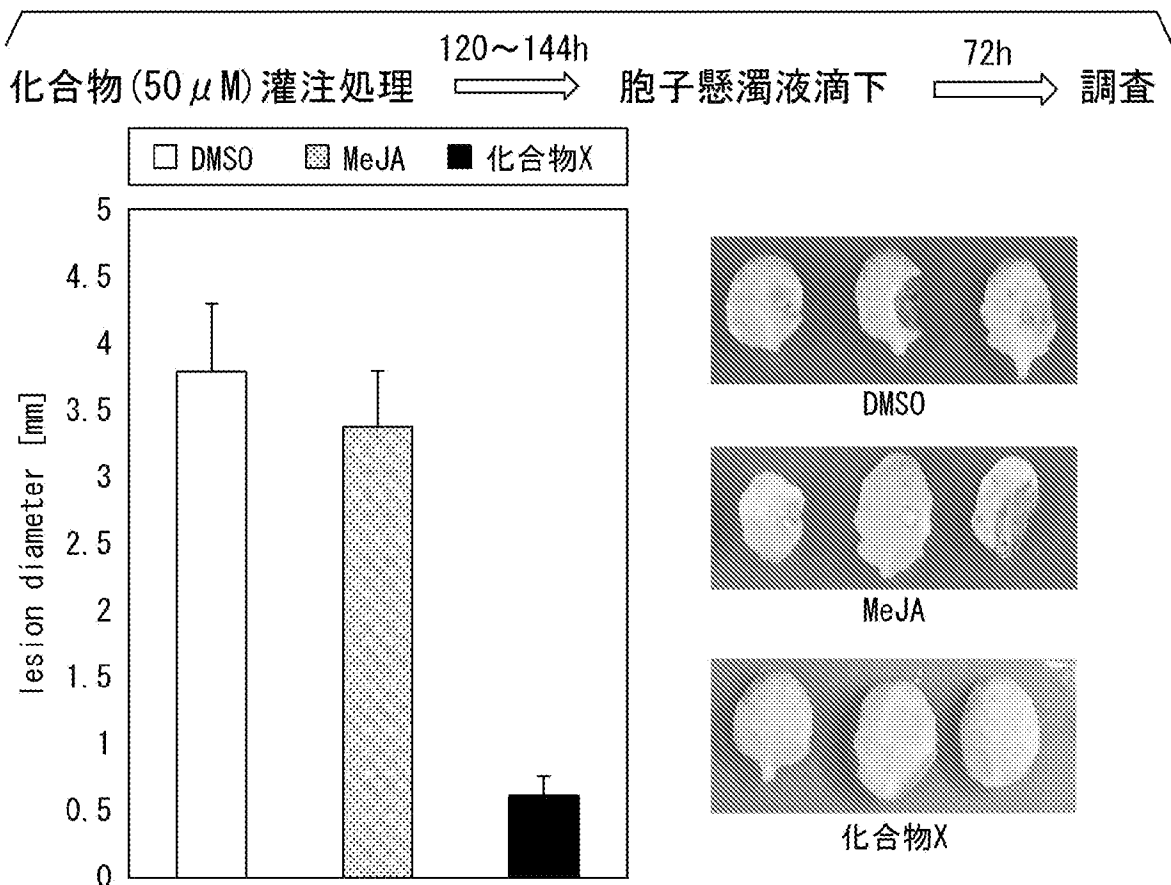
[図4A]



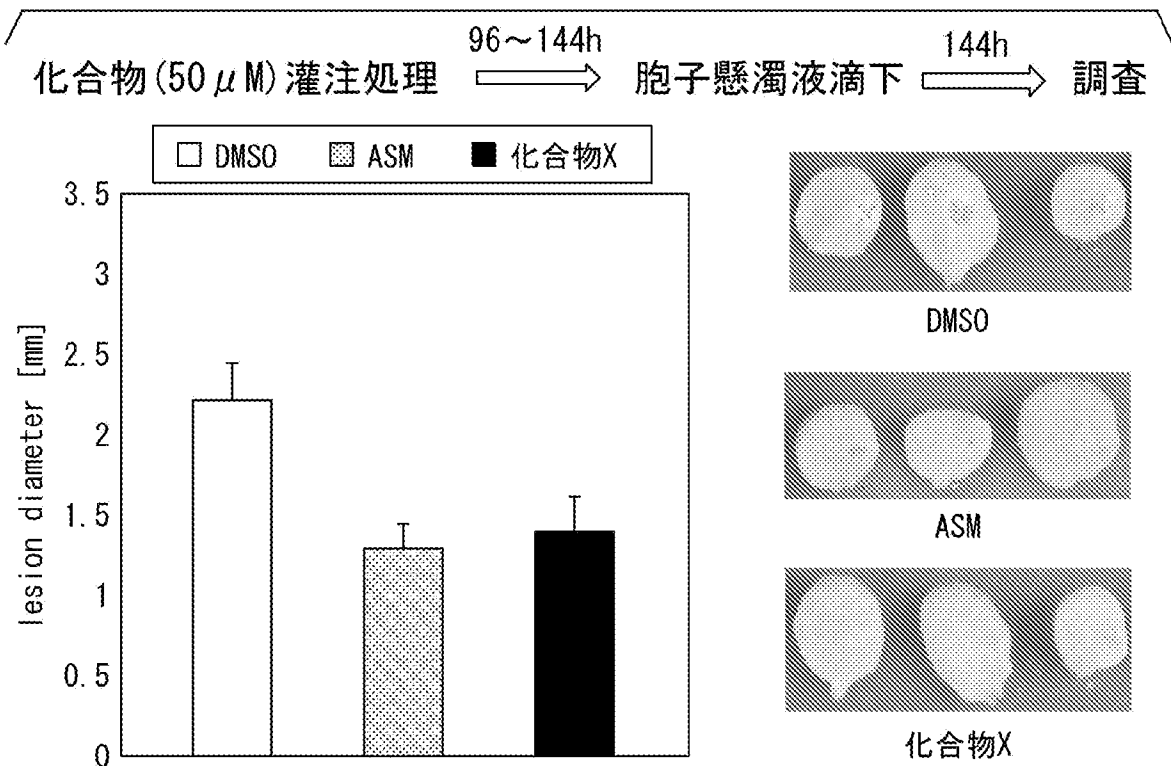
[図4B]



[図5]

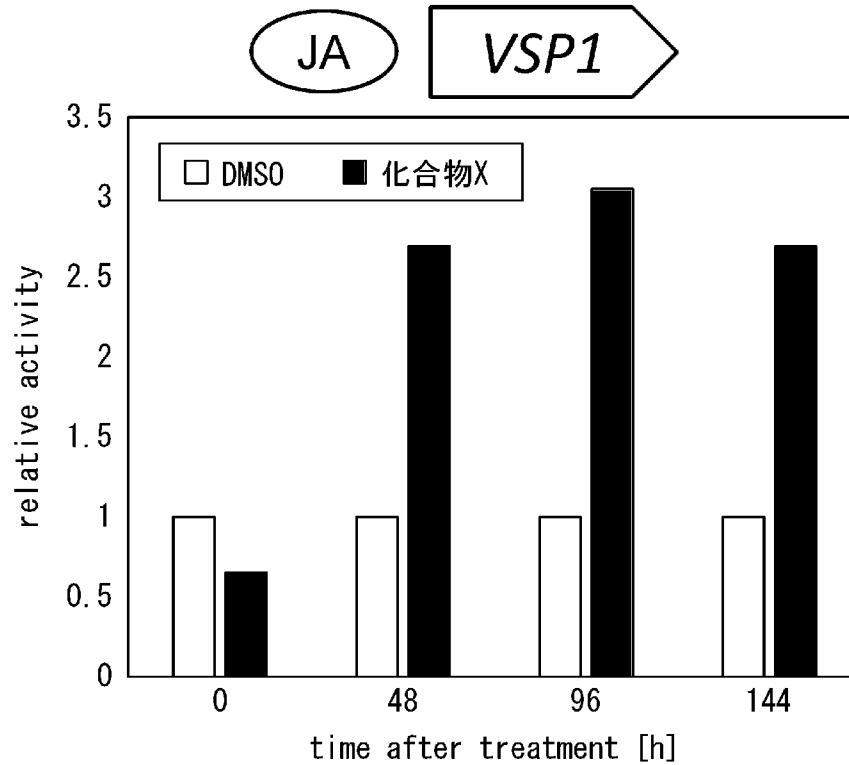


[図6]

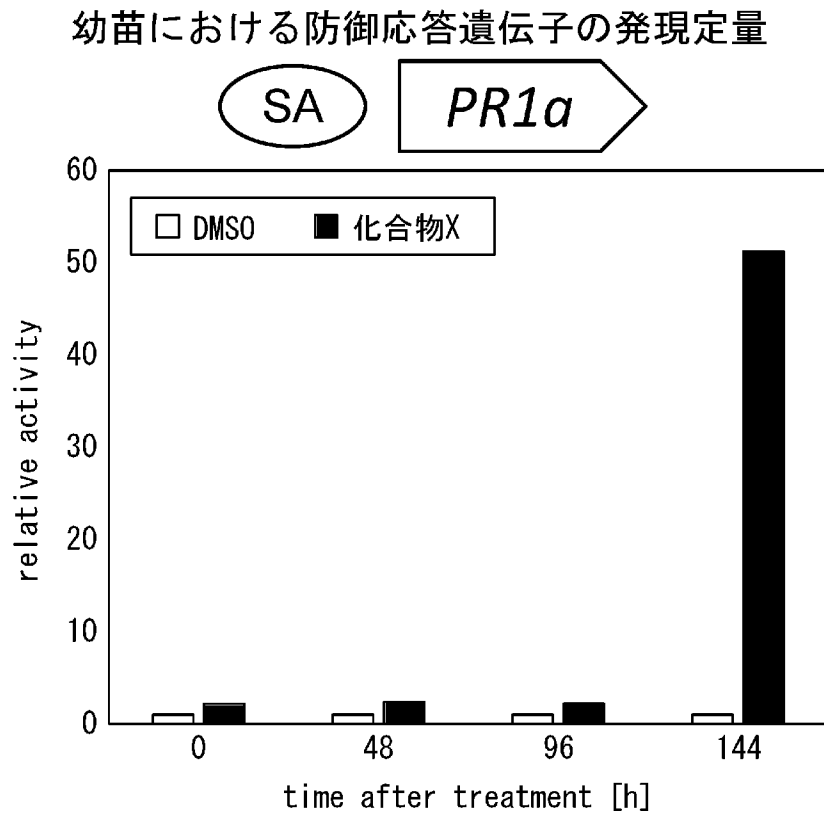


[図7A]

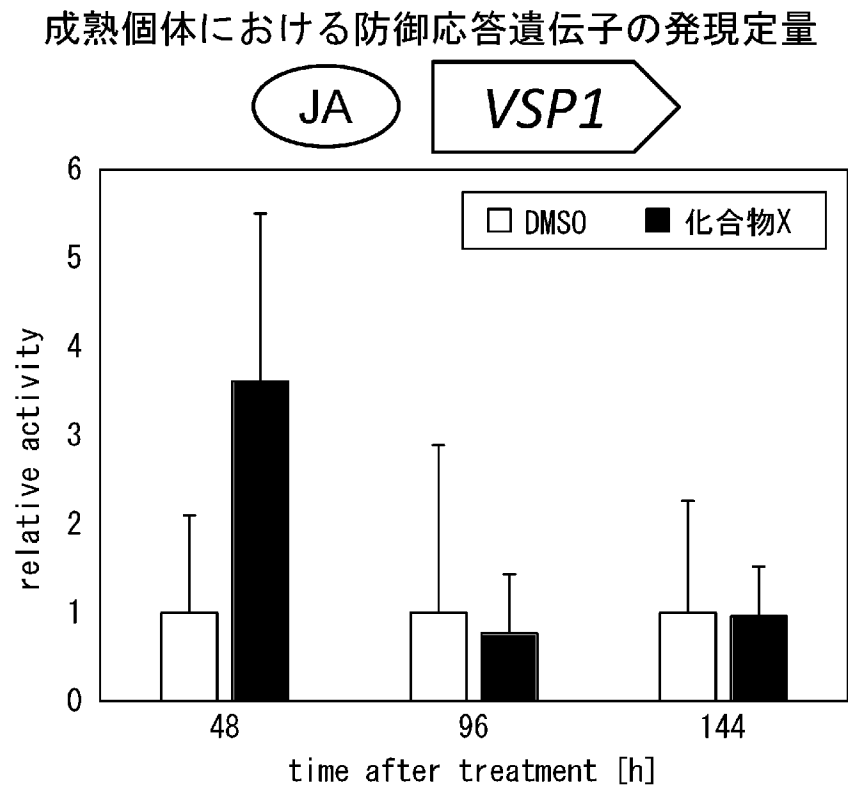
幼苗における防御応答遺伝子の発現定量



[図7B]

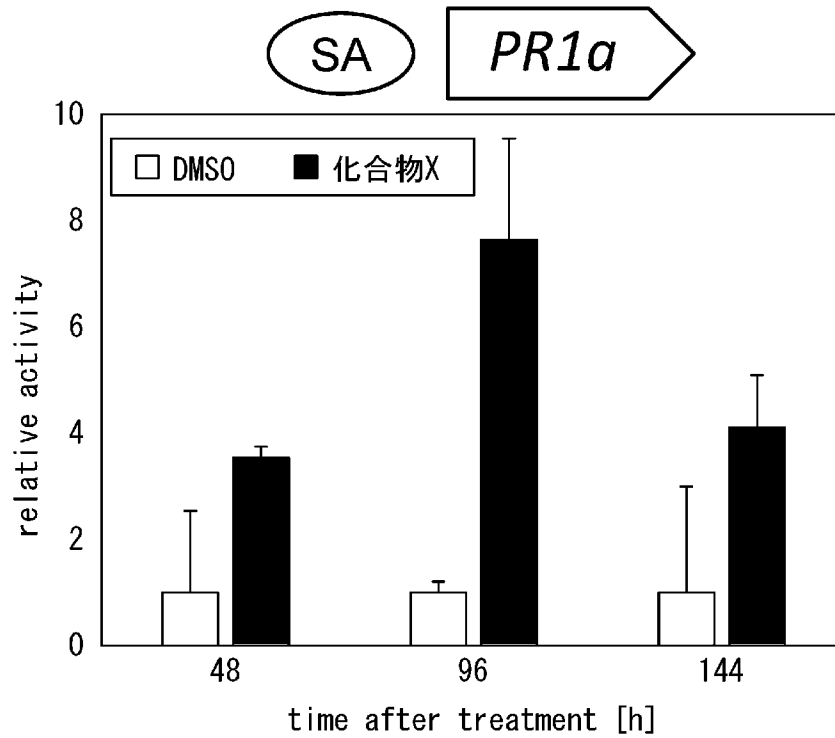


[図8A]



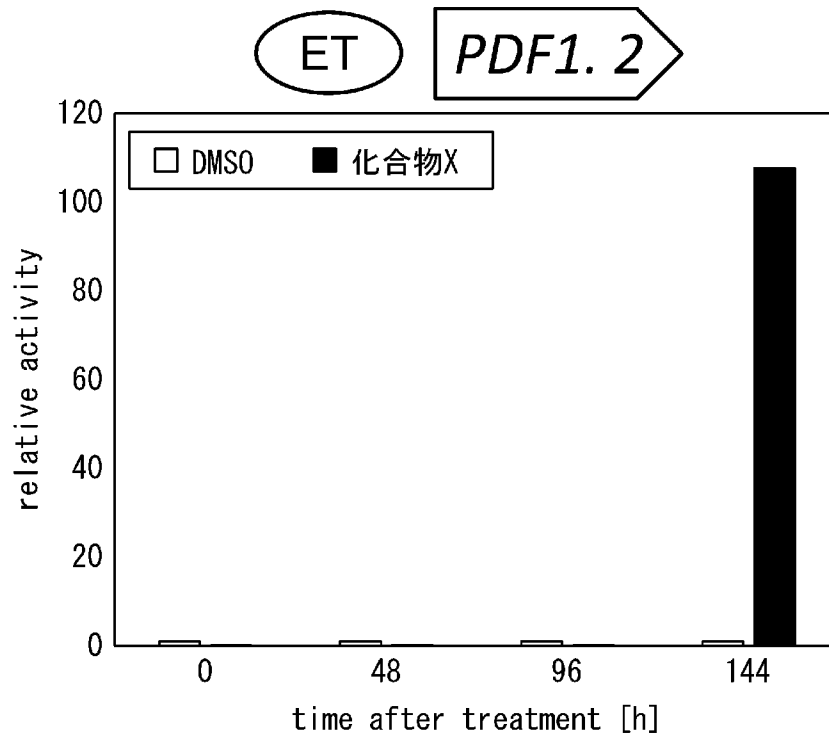
[図8B]

成熟個体における防御応答遺伝子の発現定量

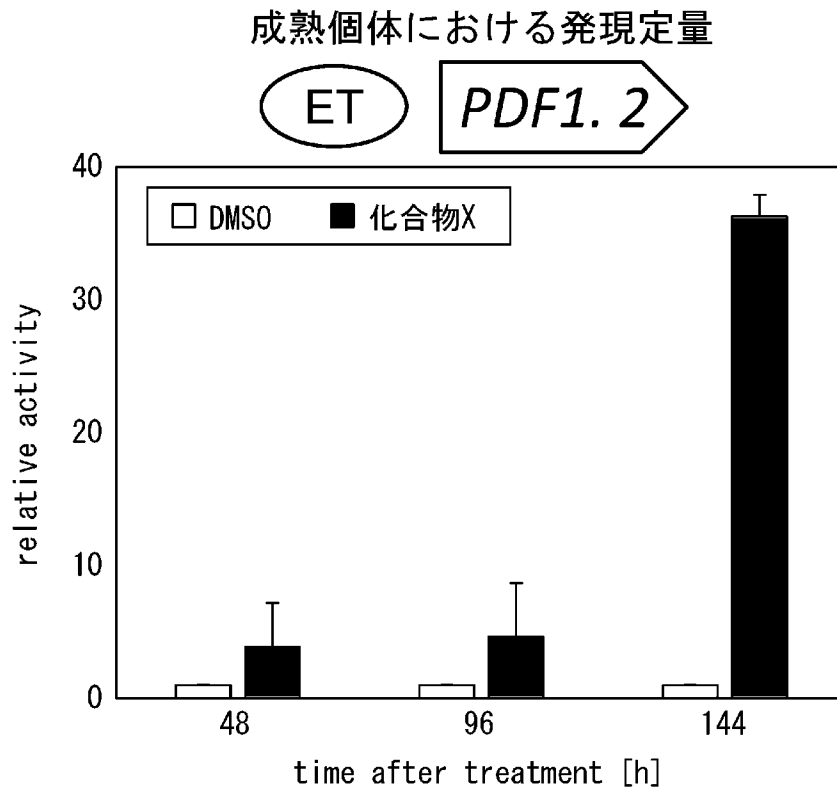


[図9A]

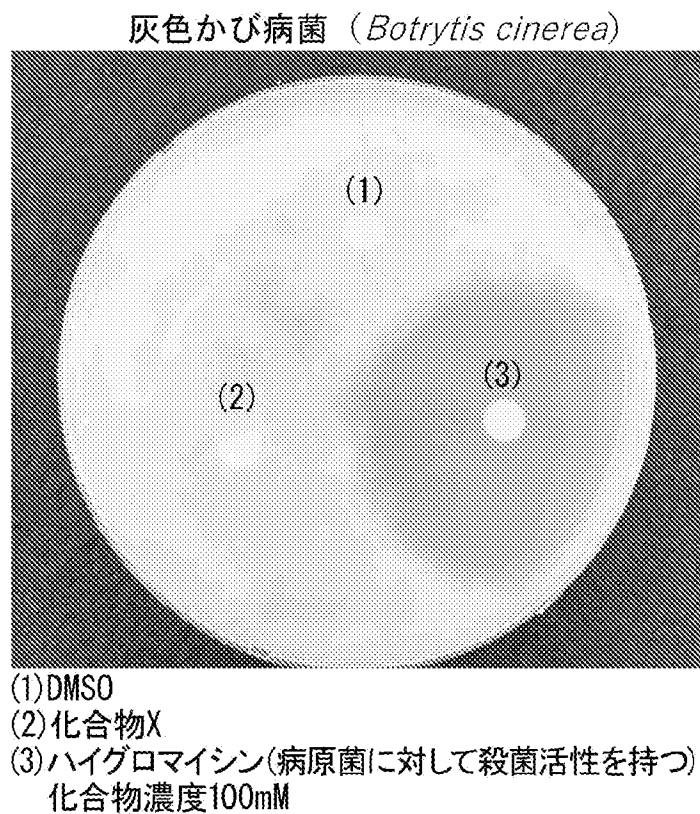
幼苗における発現定量



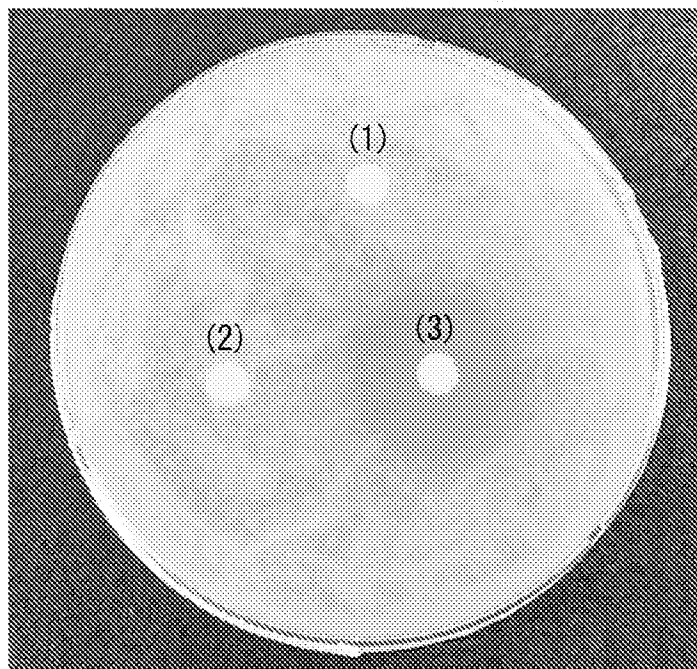
[図9B]



[図10A]



[図10B]

炭疽病菌 (*Colletotrichum higginsianum*)

- (1) DMSO
- (2) 化合物X
- (3) ハイグロマイシン(病原菌に対して殺菌活性を持つ)
化合物濃度100mM

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/011401

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<p>A01N 43/30(2006.01)i; A01H 3/04(2006.01)i; A01P 1/00(2006.01)i; A01P 3/00(2006.01)i; A01P 21/00(2006.01)i FI: A01N43/30; A01P3/00; A01H3/04; A01P1/00 ZNA; A01P21/00</p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A01N43/30; A01H3/04; A01P1/00; A01P3/00; A01P21/00		
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) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAlus/REGISTRY (STN); JSTChina (JDreamIII)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	富田未緒外 3 名. 新規な抵抗性誘導剤候補化合物の特徴づけ. 日本植物病理学会誌. 2019, vol. 85, no. 3, pp. 308, 309, (TOMITA, Mio et al. Characterization of a novel compound that enhance defense gene expression. Japanese Journal of Phytopathology.) (329)	1, 3-5
X	JP 2014-511385 A (CENTRO DE INGENIERIA GENETICA Y BIOTECNOLOGIA) 15 May 2014 (2014-05-15) claims, examples, tables 1-3, drawings, etc.	1, 3-5
X	木村有菜外 3 名. 発光レポーター遺伝子を導入したシロイヌナズナを用いた抵抗性誘導剤候補化合物探索に関する研究 (2). 日本植物病理学会誌. 2020, vol. 86, no. 1, p. 39, (KIMURA, Arina et al. Screening of candidate compounds for plant activators using Arabidopsis thaliana harboring the bioluminescence reporter gene (2). Japanese Journal of Phytopathology.) (16)	1, 3-5
A	WO 2016/006351 A1 (YOKOHAMA NATIONAL UNIVERSITY) 14 January 2016 (2016-01-14) claims, examples, etc.	1-7
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“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)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 21 April 2022		Date of mailing of the international search report 17 May 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

International application No.

PCT/JP2022/011401

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2017-197456 A (YOKOHAMA NATIONAL UNIVERSITY) 02 November 2017 (2017-11-02) claims, examples, etc.	1-7
A	REGISTRY (STN) [online], 15 October 2008 (retrieved on 21 April 2022), CAS registration number: 1061515-45-4, 14 March 2007 (retrieved on 21 April 2022), CAS registration number: 926405-97-2, 12 November 2002 (retrieved on 21 April 2022), CAS registration number: 473274-66-7, 04 January 2002 (retrieved on 21 April 2022), CAS registration number: 380479-33-4, 10 January 1999 (retrieved on 21 April 2022), CAS registration number: 216773-48-7 whole document	1-7
P, X	萩原寛之外4名. 新規殺菌剤トルプロカルブに関する研究(第16号)ーシロイヌナズナにおけるPDF1.2誘導活性ー. 日本植物病理学会大会プログラム・講演要旨予稿集. 10 March 2021, vol. 2021, p. 90, non-official translation (HAGIWARA, Hiroyuki et al. Study of Novel Fungicide Tolprocarb (No. 16): PDF-1.2-Inducing Activity in Arabidopsis. Program and Abstracts of the Phytopathological Society of Japan.) 185	1, 3-5

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
 - b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2022/011401

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP	2014-511385	A	15 May 2014	US 2014/0171326 A1 claims, examples, tables 1-3, fig. 1-7	
				WO 2012/116664 A1	
				EP 2681997 A1	
				CN 103476261 A	
				MX 2013009892 A	
				KR 10-2014-0044794 A	
				BR 112013021889 A	
<hr/>					
WO	2016/006351	A1	14 January 2016	(Family: none)	
<hr/>					
JP	2017-197456	A	02 November 2017	(Family: none)	
<hr/>					

<p>A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A01N 43/30(2006.01)i; A01H 3/04(2006.01)i; A01P 1/00(2006.01)i; A01P 3/00(2006.01)i; A01P 21/00(2006.01)i FI: A01N43/30; A01P3/00; A01H3/04; A01P1/00 ZNA; A01P21/00</p>										
<p>B. 調査を行った分野</p>										
<p>調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A01N43/30; A01H3/04; A01P1/00; A01P3/00; A01P21/00</p>										
<p>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</p> <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									
<p>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） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/REGISTRY (STN); JSTChina (JDreamIII)</p>										
<p>C. 関連すると認められる文献</p>										
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	富田未緒 外3名, 新規な抵抗性誘導剤候補化合物の特徴づけ, 日本植物病理学会報, 2019, 第85巻、第3号, p.308-309 (329)を参照	1,3-5								
X	JP 2014-511385 A (セントロ デ インジエニアラ ジエネテイカ イ バイオテクノロジヤ) 15.05.2014 (2014 - 05 - 15) 特許請求の範囲、実施例、表1~3、図面等	1,3-5								
X	木村有菜 外3名, 発光レポーター遺伝子を導入したシロイヌナズナを用いた抵抗性誘導剤候補化合物探索に関する研究(2), 日本植物病理学会報, 2020, 第86巻、第1号, p.39 (16)を参照	1,3-5								
A	WO 2016/006351 A1 (国立大学法人横浜国立大学) 14.01.2016 (2016 - 01 - 14) 請求の範囲、実施例等	1-7								
A	JP 2017-197456 A (国立大学法人横浜国立大学) 02.11.2017 (2017 - 11 - 02) 特許請求の範囲、実施例等	1-7								
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>										
* 引用文献のカテゴリー	<p>“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</p>									
“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	<p>“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</p>									
“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	<p>“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</p>									
“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）	<p>“&” 同一パテントファミリー文献</p>									
“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	国際調査報告の発送日									
21.04.2022	17.05.2022									
名称及びあて先	権限のある職員（特許庁審査官）									
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	高橋 直子 4H 4507									
	電話番号 03-3581-1101 内線 3443									

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	REGISTRY(STN)[online], 2008年10月15日(検索日:2022年4月21日)CAS登録番号:1061515-45-4、2007年3月14日(検索日:2022年4月21日)CAS登録番号:926405-97-2、2002年11月12日(検索日:2022年4月21日)CAS登録番号:473274-66-7、2002年1月4日(検索日:2022年4月21日)CAS登録番号:380479-33-4、1999年1月10日(検索日:2022年4月21日)CAS登録番号:216773-48-7 全体参照	1-7
P, X	萩原寛之 外4名, 新規殺菌剤トルプロカルブに関する研究(第16報)ーシロイヌナズナにおけるPDF1.2誘導活性ー, 日本植物病理学会大会プログラム・講演要旨予稿集, 10.03.2021, Vol.2021, Page.90 185を参照	1,3-5

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第 1 ページの 1. c の続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。
- a. 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
- 附属書C/ST.25テキストファイル形式
- 紙形式又はイメージファイル形式
- b. 国際出願とともに、PCT規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表
- c. 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
- 附属書C/ST.25テキストファイル形式(PCT規則13の3.1(a))
- 紙形式又はイメージファイル形式(PCT規則13の3.1(b)及びPCT実施細則第713号)
2. さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。
3. 補足意見:

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/JP2022/011401

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP	2014-511385	A	15.05.2014	US 2014/0171326 A1 Claims, Examples, TABLE 1-3, Figure 1-7	
				WO 2012/116664 A1	
				EP 2681997 A1	
				CN 103476261 A	
				MX 2013009892 A	
				KR 10-2014-0044794 A	
				BR 112013021889 A	
WO	2016/006351	A1	14.01.2016	(ファミリーなし)	
JP	2017-197456	A	02.11.2017	(ファミリーなし)	