

うどん粉病の防除薬及び防除方法

広島大学大学院統合生命科学研究科
生命環境総合科学プログラム
特任教授 佐久川 弘

2019年9月19日(木)



広島大学

従来技術の問題点

- うどん粉病は、カビ菌により引き起こされ、ほとんどの植物に発生する可能性があり、予防と対策が必要である。
- しかし、従来の化学農薬(殺菌剤)は農作物の病原菌への防除には有効であるが、環境中での残留性、生態系影響、農薬耐性等が懸念される。

本技術の特徴・期待される成果

- ・ 本技術では、新規農薬としてOHラジカル(OH)、一重項酸素($^1\text{O}_2$)、スーパーオキシド(O_2^-)などの活性酸素の強力な酸化力を利用した殺菌剤の開発を目指す。
- ・ 過酸化水素水に鉄を添加した光フェントン試薬は、数ppmの低濃度でも太陽光のもとでOHを持続的に生成する能力があり、有害有機物の排水処理等に近年用いられている。
- ・ $^1\text{O}_2$ はローズベンガルなどの色素から、 O_2^- はカテキンなどから光化学的に容易に発生させることが可能である。
- ・ これらの活性酸素は病原菌防除に大きな効果が期待される。さらに化学農薬に比べ安全性が高く、また太陽光や微生物により容易に分解されるので環境中での残留性が低いことが期待される。

フェントン反応および光フェントン反応

フェントン反応

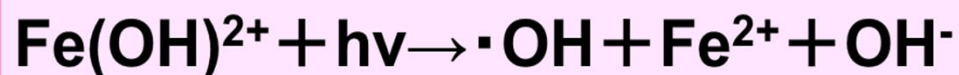


OHの酸化還元電位 2.85V

水中での濃度 $10^{-16} \sim 10^{-18}$ M

水中での寿命 μ 秒(百万分の1秒)

光フェントン反応



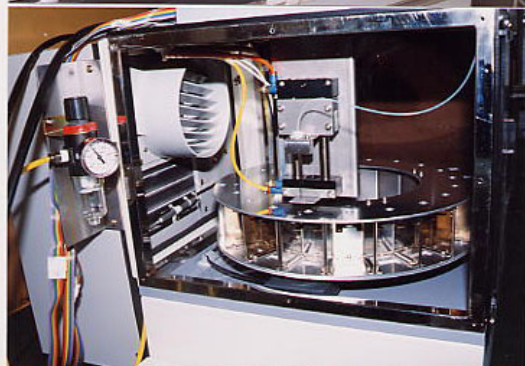
フェントン反応および光フェントン反応によるOH発生速度 ($\text{H}_2\text{O}_2 = 0.05\%$ Fe = 50mg/l pH = 2.8、擬似太陽光照射)

試薬	OHラジカル発生速度 $\mu\text{M min}^{-1}$
$\text{Fe}^{3+}/\text{UV-VIS}/\text{H}_2\text{O}_2$	371 ± 3.21
$\text{Fe}^{3+}/\text{UV-VIS}$	43 ± 3.30
$\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-VIS}$	12 ± 0.23
$\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$ (dark)	1.20 ± 0.02
Fe^{3+} (dark)	ND
H_2O_2 (dark)	0.003 ± 0.0003

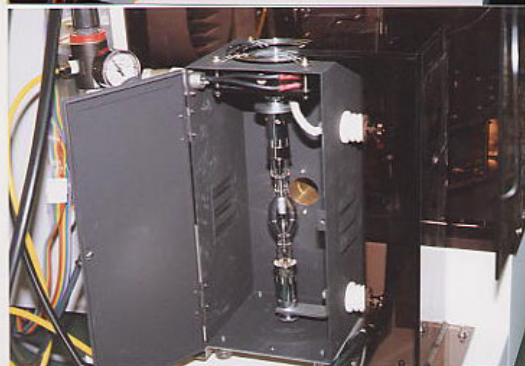
光化学的に発生するOHラジカルの測定方法



装置の概観



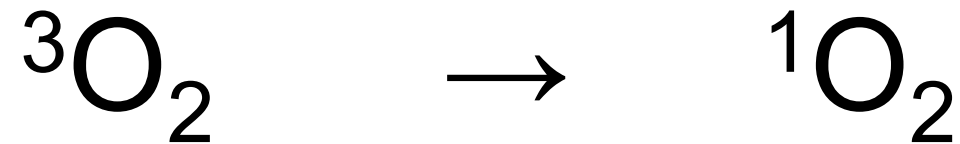
化学反応発生部
のターンテーブル



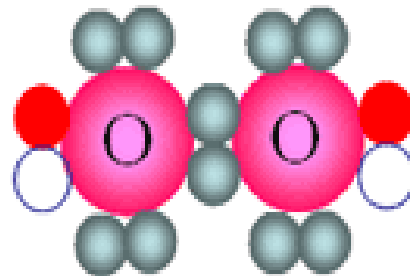
太陽光照射部
の光源ランプ

OHラジカル自動測定装置(特許, 3521202)

一重項酸素とは

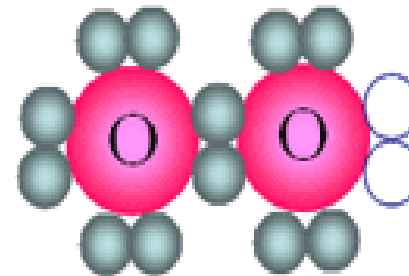


酸素分子 = 三重項酸素

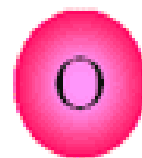


安定した形で存在する通常の酸素。
活性酸素ではない。

一重項酸素



三重項酸素の電子が一方に偏った状態。
電子がない(電子軌道が空)部分は、電子を
強く求めるため、強力な酸化力を発揮する。



酸素原子核



電子

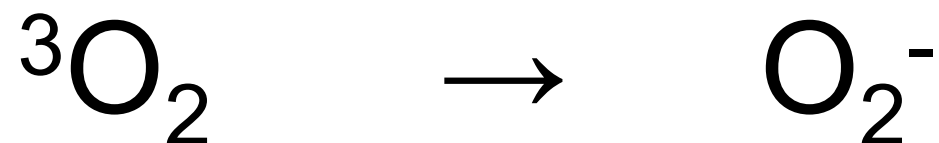


不対電子

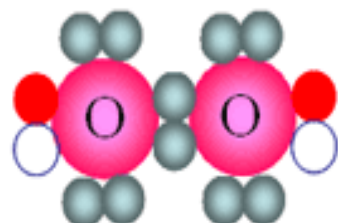


空の軌道

スーパーオキシドとは

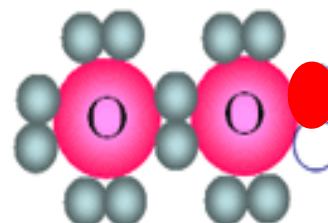


酸素分子 = 三重項酸素



安定した形で存在する通常の酸素。
活性酸素ではない。

スーパーオキシド



不対電子

三重項酸素の電子が一方に偏った状態。
電子がない(電子軌道が空)部分は、電子を
強く求めるため、強力な酸化力を発揮する。



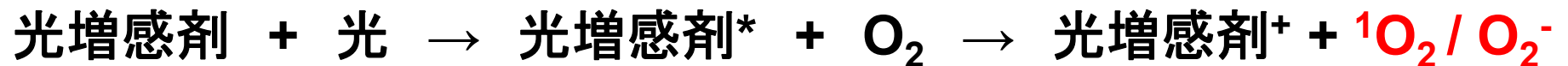
酸素原子核

● 電子

● 不対電子

○ 空の軌道

一重項酸素／スーパーオキシド発生方法



${}^1\text{O}_2$ 光増感剤: ローズベンガル(色素)など

O_2^- 光増感剤: カテキン(ポリフェノール)など

光増感剤樹脂(フィルター)に可視光を照射し、樹脂(フィルター)表面で光化学的に一重項酸素およびスーパーオキシドを発生させる

OHラジカルの場合は、OHのみならず光フェントン試薬(過酸化水素+鉄)も植物表面に付着するのに対し、この方式は発生した一重項酸素およびスーパーオキシドのみを植物に暴露可能である

一重項酸素／スーパーオキシド光化学的発生量

・一重項酸素の光化学的発生量

ローズベンガル塗布フィルター1cm²当たり1.44X10⁻¹⁰moles s⁻¹ (酸素気流下)
(光照射条件：LED光(532nm)の光量子束密度は約2400 μmoles s⁻¹ m⁻²)

・スーパーオキシドの光化学的発生量

カテキン塗布フィルター1cm²当たり1.13X10⁻¹³moles s⁻¹ (酸素気流下)
(光照射条件：LED光(490nm)の光量子束密度は約2500 μmoles s⁻¹ m⁻²)

光フェントン試薬からのOHラジカル発生量と、同程度の一重項酸素およびスーパーオキシドを発生させることが可能

光化学的に発生する 一重項酸素／スーパーオキシドの測定方法

- **リアルタイム測定**
樹脂(フィルター)表面から光化学的に発生する一重項酸素およびスーパーオキシドを吸光光度法により連続的に測定する方法
- **バッチ式測定**
樹脂(フィルター)表面から光化学的に発生する一重項酸素およびスーパーオキシドを一定時間ごとに捕集しHPLCにより測定する方法

うどん粉病への光フェントン試薬の適用実験



- イチゴおよびキュウリうどんこ病を対象に自然太陽光下での光フェントン試薬の処理条件、防除効果、効率的施用法等を検討し、作用機作の解明及び安全性や環境残留性を検討することで、農薬としての実用化の可能性を探る。

イチゴうどんこ病への光フェントン反応の適用

- 試薬① OH生成速度: $0.13\mu\text{M}/\text{min}$
過酸化水素 $100\mu\text{M}$, シュウ酸 $5\mu\text{M}$, 鉄(Ⅲ) $1\mu\text{M}$
- 試薬② OH生成速度: $0.19\mu\text{M}/\text{min}$
過酸化水素 $200\mu\text{M}$, シュウ酸 $5\mu\text{M}$, 鉄(Ⅲ) $1\mu\text{M}$
- 試薬③ OH生成速度: $0.28\mu\text{M}/\text{min}$
過酸化水素 $400\mu\text{M}$, シュウ酸 $5\mu\text{M}$, 鉄(Ⅲ) $1\mu\text{M}$

(試薬はpH5擬似露水中に溶解)

光フェントン反応によるイチゴうどんこ病の予防効果

	噴霧実験 I	噴霧実験 II
	発病度 ^{a)}	発病度
試薬①	13.9±6.3 ^{c)} ab ^{b)}	7.8±3.1 ab
試薬②	6.1±2.3 b	5.6±2.2 b
対照区	26.1±4.8 a	14.4±1.8 a

a) 発病程度 0: 発病なし, 1: 病斑面積が 5%以下, 2: 6%～25%,
3: 26～50%, 4: 51%以上.

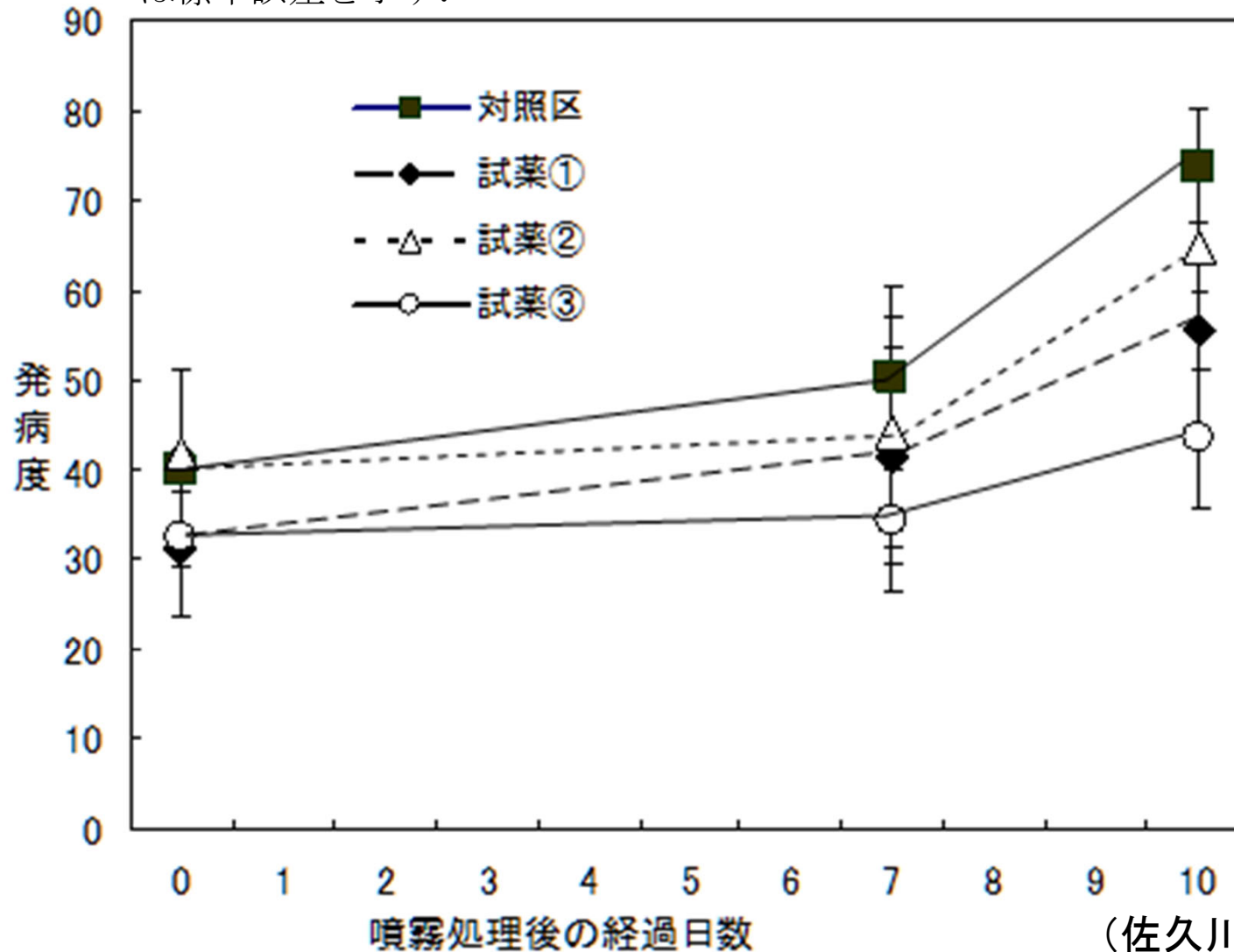
$$\text{発病度} = \Sigma (\text{発病程度} \times \text{葉数}) \times 100 / (4 \times \text{調査葉数})$$

b) 異なる英小文字間において, 有意差あり. ($p < 0.05$, LSD 分析)

c) 表中の数値は(平均値±標準誤差)を示す. (佐久川、2008)

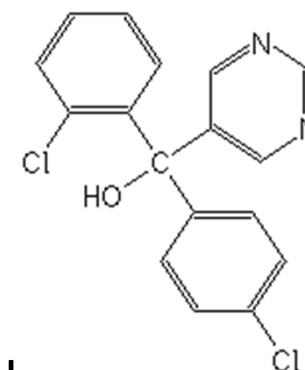
光フェントン試薬によるイチゴうどんこ発病治癒・抑制効果

発病程度 0：発病なし, 1：発病面積が5%以下, 2：6%～25%, 3：26～50%
4：51%以上. 発病度 $= \Sigma (\text{発病程度} \times \text{葉数}) \times 100 / (4 \times \text{調査葉数})$ エラー
バーは標準誤差を示す.



キュウリうどんこ病への光フェントン反応の適用

- 通常型光フェントン試薬(**MIX1**):
過酸化水素 50mM、硫酸第1鉄 0.7mM
pH=2.5(硫酸酸性)
- 通常型光フェントン試薬(**MIX2**):
過酸化水素 50mM、塩化第2鉄 0.7mM
pH=2.5(硫酸酸性)
- シュウ酸鉄錯体型フェントン試薬(**MIX3**):
過酸化水素 50mM、塩化第2鉄 0.7mM
シュウ酸ナトリウム 3mM pH=4.0(硫酸酸性)
- **Control**: 対照溶液(MilliQ水)
- 化学農薬(殺菌剤): **Fenarimol**
 α -(2-chlorophenyl)- α -(4-chlorophenyl)-5-pyrimidinemethanol



光フェントン反応によるOH発生速度および発生量

光フェント ン試薬	OH初期生成速度 (0-5min.) ($\mu\text{M}/\text{min}$)		OH生成量 (0-30分間) (mM)	
MIX1	256		20.5	
MIX2	213		16.7	
MIX3	912		33.6	

Photo Fenton's reagents were irradiated by solar simulator

The generation rate of OH radical was normalized to spring solar noon conditions at 34°N



Control



MIX 1

MIX 2



MIX 3



キュウリへの光フェントン試薬による薬害の有無 (噴霧後1ヶ月後の様子)

キュウリうどんこ病の予防効果(試薬噴霧20日後)

MIX1



MIX2



MIX3

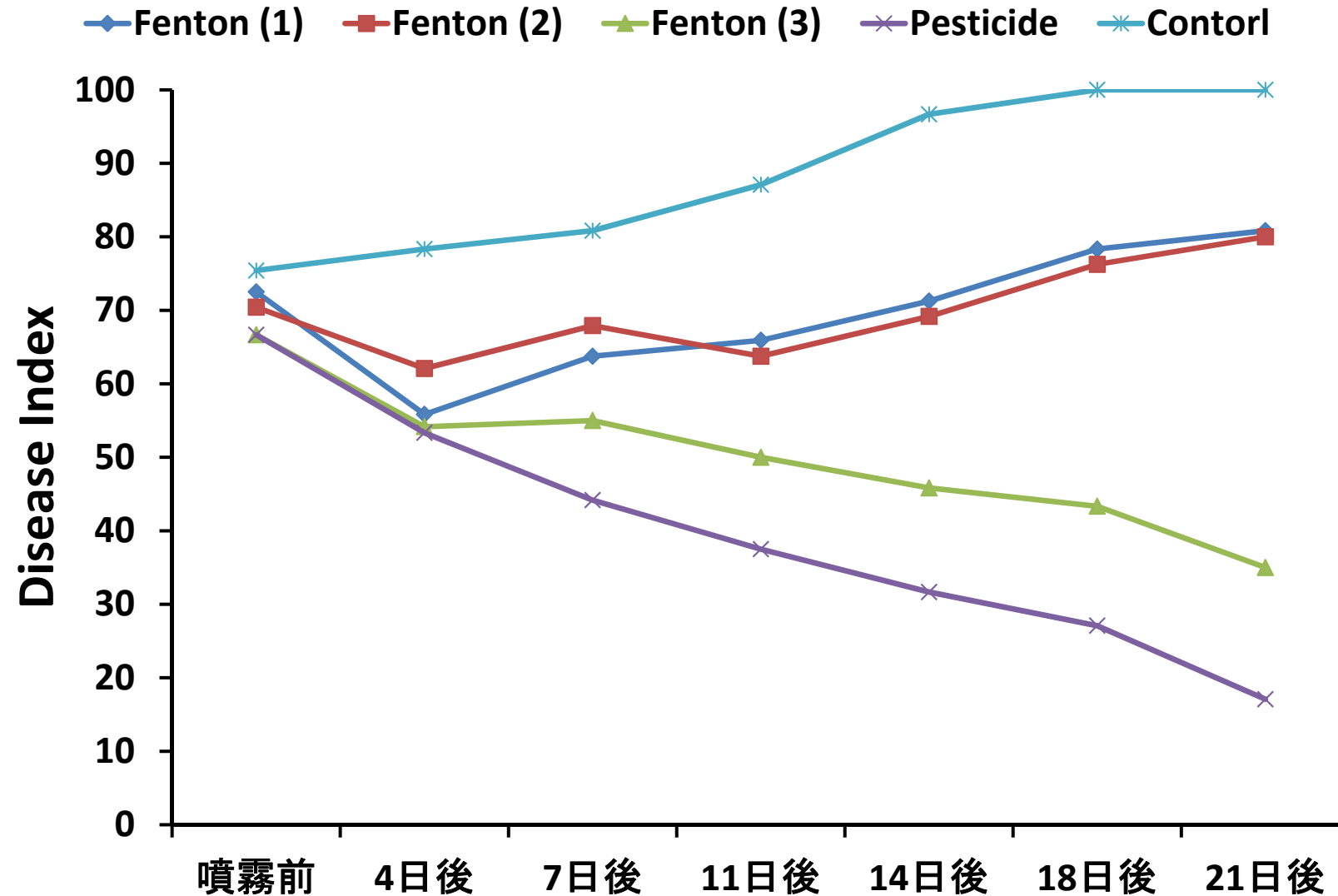


菌移植の1日前に試薬を噴霧

Fenarimol



光フェントン試薬噴霧による キュウリうどん粉病の治癒・抑制効果



コントロール



化学農薬



キュウリへの21日
間暴露後の様子

フェントン試薬 MIX2



フェントン試薬 MIX3

フェントン試薬 MIX1

治癒・抑制効果
の検証実験



うどん粉病防除実験の結論

イチゴおよびキュウリうどんこ病への光フェントン試薬の殺菌剤としての有効性に関して研究を行った。

その結果、シュウ酸鉄錯体を用いた試薬(光フェントン試薬MIX3)は薬害がほとんど確認されず、うどんこ病の予防および治癒・抑制効果も高かった。

したがって、本研究で開発した光フェントン試薬は、うどんこ病の殺菌剤として有望であり、その実用化が可能である。

性能比較

活性酸素／検討項目	OHラジカル	一重項酸素	スーパーオキシド
有機物に対する酸化能力	◎	◎	○
殺菌力	◎	◎	○
植物への安全性	△ (過酸化水素＋鉄)	○	◎
人間への安全性	△ (過酸化水素＋鉄)	○	◎
環境負荷	○	◎	◎
経済性	◎(太陽光、LED光)	◎(太陽光、LED光)	◎(太陽光、LED光)

新技術の特徴・期待される用途

- ローズベンガルやカテキンなどの試薬は安価、安全であり、分解処理が容易である。光フェントン試薬は一定濃度以下であれば安全である
 - イチゴやキュウリうどん粉病などの植物病害防除
- 光フェントン試薬などへの光照射により発生する活性酸素を用い、空気中の悪臭物質の分解やウイルスなどの殺菌が可能である
 - 無臭化や滅菌などの空気清浄化技術への応用
- 微量のスーパーオキシドは生体のSOD活性を高めることが知られているので、医療分野への応用が期待できる
 - スーパーオキシドを付加した酸素ガス吸入装置の開発など

企業への期待

- 農薬の研究開発の技術を持つ、企業との共同研究を希望。
- $^1\text{O}_2$ 、 O_2^- によるうどん粉病防除技術については試験段階であり、企業との共同研究により実用化が達成可能。
- また、空気清浄化技術を開発中の企業、農業や医療分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

研究成果発表

- 光フェントン反応で生成するOHラジカルによるイチゴうどんこ病の防除効果 (2008), 佐久川容子, 日本植物病理学会報, 74, 100-113
- Protective and curative effects of foliar-spray Fenton solutions against cucumber (*Cucumis sativus*, L.) powdery mildew. Sakugawa, H., Hasan, N., Oguntimehin, I., Belal, E., J. Environ. Sci. Health, Part A, 47, 1909–1918 (2012)
- 広島大学博士論文 Sundry Michael 生物圏科学研究科 2018年9月
- 広島大学博士論文 Adesina Adeniyi 生物圏科学研究科 2018年9月
- 特許3521202, 「ヒドロキシラジカル自動計測装置」佐久川弘, 福馬勝洋, 吉川恵, 山本正敏
- 特許5963143, 「うどんこ病の防除薬及び防除方法」, 佐久川弘, ナヒドハッサン

謝辞

広島県立総合技術研究所農業技術センターの香口哲行氏、清水佐知子氏、佐久川容子氏にはうどんこ病への光フェントン試薬の適用に関して共同研究を行い、その成果の一部を本研究で用いたので感謝します。

お問い合わせ先

広島大学 産学・地域連携センター

産官学連携コーディネーター 柳 和裕

TEL 082-424-4306

FAX 082-424-6189

e-mail : yanagi@hiroshima-u.ac.jp