

二国間交流事業 共同研究報告書

令和5年4月8日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]
大阪大学・大学院工学研究科
[職・氏名]
准教授・北野勝久
[課題番号]
JPJSBP 120215002

1. 事業名 相手国: スロベニア (振興会対応機関: MESS) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) プラズマから生成される化学種を用いた種子に付着した病原菌のエコ殺菌

(英文) Promising eco-sterilization of pathogenic fungi on seeds using reactive species in gaseous plasma

3. 共同研究実施期間 令和3年4月1日 ～ 令和5年3月31日 (2年0ヶ月)【延長前】 年 月 日 ～ 年 月 日 (年 ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

Jozef Stefan Institute, Professor, Mozetic Miran

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		3,800,000 円
内訳	1年度目執行経費	1,900,000 円
	2年度目執行経費	1,900,000 円
	3年度目執行経費	- 円

6. 共同研究実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	9 名
相手国側参加者等	6 名

* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1年度目	0	0	0(0)
2年度目	2	0	3(0)
3年度目			()

* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣:委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。
受入:相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流の概要・成果等

(1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

過硝酸による殺菌は日本側のグループが世界で初めて開発した技術であり、殺菌力が非常に高いにもかかわらず、安全性に優れている特性を有しており、原理実証は出来つつあるものの、様々なターゲットに対する応用研究を進めていく必要がある。本研究では種子に付着した病原性の微生物(細菌ならび真菌)の殺菌を行うことを目的としており、低圧プラズマ処理を得意とするスロベニアと、大気圧プラズマならび過硝酸による殺菌を得意とする日本との共同研究による問題解決を進めるものである。

市場に流通する農作物用種子は、次亜塩素酸等の殺菌剤を用いて処理が行われており、細菌感染していないことを確認後に出荷されている。一般的に、殺菌力を高めるために殺菌剤の濃度を上げすぎると、種子の発芽率が低下するという問題があるため、殺菌効果は限定的にせざるを得ない。過硝酸を用いることで、種子にダメージを与えることなく種子殺菌が可能であることが期待できるために、適切な処理条件を探索する必要がある。スロベニアでは種子の低圧プラズマ処理を行っており、種子表面の濡れ性が向上し、水分の取り込みが改善され、種子の発芽が促進される。様々なプロセスを段階的に科学的な検証を進める必要があり、日本とスロベニアで研究成果の情報交換を行い、相互理解を深めつつ、かつ実際に共同実験を試行するのが目的である。

本研究はプラズマ応用、化学、生物学等の様々な分野に関する知見が必要な研究であり、日本とスロベニアの若手研究者がこのような学際的領域的な国際共同研究に関わることで得られる経験は、直接関わっている分野の分野以外へも適用できる普遍的な価値があり、研究者としてのキャリア形成に重要であると考えらる。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

種子殺菌において、殺菌力と為害性の比が非常に重要であり、種子にダメージを与えずにどこまで高いレベルの殺菌力を実証できるかがキーポイントとなる。高い殺菌力が得られる条件は、種子へのダメージも大きくなる。一般的な種子殺菌剤は、濃度と処理時間がパラメーターとなっており、為害性が出るパラメーター境界条件の見極めは容易であり、その範囲内で最も高い殺菌力が得られる条件を探索すれば良い。チックワトソンの法則に示されるように、濃度と処理時間の積により酸化ストレス量が決定されるために、境界条件の探索はさほど難しく無い。一方で、日本側のグループが開発した過硝酸溶液による殺菌は世界で初めての技術であるが、一般的な殺菌剤と比べて自己分解により失活して殺菌効果が無くなるという点で異なる。この自己分解反応が種子内部へ浸透する時間スケールよりも短ければ、細菌感染の主たる部位である種子表面のみで殺菌力を発揮し、発芽に影響がある種子内部では酸化ストレスを与えないということが期待される。このように、不安定な化学種による殺菌は、空間的に限定した殺菌効果をもたらすことが本質的に可能であるという特徴を有している。

過硝酸の自己分解は、温度ならび pH に依存することが日本側のグループにより明らかになっており、さらにそれらのパラメーターは化学反応速度にも影響を与えるために殺菌力にも影響を与える。さらに種子内部への浸透時間と過硝酸の半減時間の時間スケールも殺菌力と為害性の比に関与する。このように、一般的な殺菌剤と比べて多くのパラメーターを有するために、至適殺菌条件の探索は困難である。

指摘殺菌条件は対象となる種子によっても異なるが、スロベニア側の協力を得て、自然状態で細菌感染した種子を入手して実験を進めた。細菌感染した種子の輸入は禁止されているが、農林水産大臣の許可制度(農林水産省指令 元神植第 414 号、4 神植第 729 号)を利用することで輸入を行ったアオカビ、ケカビ、フザリウムに感染したトウモロコシ種子を対象に殺菌実験を進めた。殺菌剤としての過硝酸溶液の pH、温度、濃度、処理時間等をパラメーターとして殺菌実験ならび種子発芽率の評価を進めたところ、細菌感染の汚染度によって多少は異なるものの、種子の発芽率に影響を与えずに、ほぼ無菌化できる条件を見つけることができた。殺菌処

理後の種子を、無菌の液体培地に投入して1週間後に濁るかどうかで無菌化の評価を行った。一般的にはこのような評価は1つの細菌でも生き残っていればネガティブな結果が出るために、検出限界が非常に低くなるが、このような条件でも無菌化が達成できたのは当該分野において非常に価値が高い。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

過硝酸溶液による殺菌技術は、日本側のグループが開発した技術である。過硝酸の合成そのものは古くから文献に記載はあるものの、殺菌に利用したのが世界で初めてとなる。取り扱いには多くのノウハウを必要としており、国内外の別グループが再現実験に苦労しているという話も聞いている。日本側のグループは、開発したというもあり、多くのノウハウを有しており、共同研究を行っている研究室ならび企業に対して技術供与を行っているが、本申請で初めて海外のグループへ技術供与を行うこととなった。

プラズマ応用の分野では、種子にプラズマを照射するなどしたプラズマ農業に関する研究が盛んになっているが、基本的にラボスケールでの実験に留まっている。一方で、スロベニア側のグループは数トン単位の大規模なプラズマ種子殺菌処理装置の開発を行っており、自然で汚染された種子に対する処理を進めており、より現実に即した環境での実験を行っており、共同研究を行うことにより、その研究開発過程で得られた多くの知見を日本側が得られた。

プラズマ処理した種子は表面親水性が低下して、殺菌薬液との親和性が増す。その状態における過硝酸溶液の適用可能性に関して、マイクロレベル接触角測定装置を用いるなどして、多くの検討を進めることが出来た。それぞれの専門性を活かして、反応素過程の原理に基づく研究を進める事が出来たのは、両グループにとって大きな無形の財産であり、今後も引き続き継続して共同研究を進める予定である。

また、日本側のグループで開発している未発表の殺菌技術が、本研究の今後の推進にとって好適であると考えたために、情報提供を行って、今後の共同研究で活用する計画を立てた。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

地球温暖化対策として、化石燃料に代わるエネルギー源の一つとしてバイオエタノールが期待されている。バイオエタノールは主にトウモロコシを原料として生成されるが、エネルギー源として安定して生産するためには、いくつかの課題があるが、その一つに細菌感染を防ぐというものがある。細菌感染した種子は、播種した農場全体に汚染が広がり、発芽率の低下のみならず、収穫量の低下などの問題を引き起こす。そのために種子殺菌は必要不可欠な技術であるのだが、現在の殺菌手法では種子にダメージを与えることなく完全に殺滅することは困難であり、種子に一定以上の感染がみられた場合は種子をロットごと破棄することが行われている。それにも係わらず農場の汚染を完全に抑えることができておらず、生産性の低下の理由の一つとなっている。本研究では、高度に汚染した種子を用いて殺菌実験を進めたが、過硝酸溶液を特定の条件で用いることで従来の殺菌技術に比べて高い殺菌力が得られることがわかった。本手法は、従来技術より確実な種子殺菌技術となることが期待できる。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

日本側、スロベニア側の若手研究者が、国際的な共同研究に参画できたのは、将来の研究者としてキャリア形成としては非常に価値があった。学術的な交流のみならず、実験環境が全く異なる状況を把握して、数多く生じた問題点を相互に議論しながら解決する過程を経験できたのは、相互に取って貴重な機会であった。

(6)将来発展可能性(本事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

本成果はトウモロコシ種子のみならず、他の種子に対しても汎用に使える技術であるため、種苗会社も本技術に着目している。すでに国内大手の種苗会社と共同研究を行うことが決まっており、本申請の成果を利用して、対象となる種子の適用範囲を拡大した研究へ展開する予定である。日本発の本技術は、国内外で特許も取得しており、実用化された暁には国際社会への高い貢献が期待出来る。

(7)その他(上記(2)～(6)以外に得られた成果があれば記載してください)

例:大学間協定の締結、他事業への展開、受賞など

該当無し。