

キトサン粉末の土壌混和处理がハツカダイコンの成長に及ぼす影響

千布寛子*・芝山秀次郎・有馬進

(佐賀大学)

要旨: 畑土壌にキトサン粉末を混和处理し、ハツカダイコンを供試作物として、その地上部及び地下部の生育への影響を調査した。ハツカダイコン1個体当たりの葉面積及び地上部乾物重は、0.1%以上のキトサン混和处理区で生育促進効果が見られ、0.5及び1%処理区では成長量は無処理区の約2倍となったが、処理効果は子葉より本葉で大きかった。地下部では、主根の長さや1次側根数はキトサン処理区と無処理区で大差はなかったが、キトサン処理区では太い1次側根数が多く、また1次側根の単位長当たり2次側根数が無処理区より著しく多かった。根毛については、キトサン処理区は無処理区に比べ、特に各側根に発生する根毛が長く、発生密度も高い傾向が見られた。

キーワード: キトサン, 成長, 土壌混和处理, ハツカダイコン.

キチンやキトサンは、自然界に広く存在する天然の多糖類(矢吹 1992)であり、特に海産物から得られたキチン質を農業分野に利用する研究はいくつか行われている。マメ類やダイコン類などの作物を用いて、キチン質の粉末を土壌中に混和处理したり、あるいは溶液を直接植物体や種子に処理することにより、葉面積や乾物重等の地上部生育への促進効果(Aliら 1997, 福井ら 1989, 原田ら 1995, 1996, 次田 1995)、植物体内キチナーゼ等の活性物質増加作用(福井ら 1989, 次田 1995)、フザリウム等の植物病原菌の生育阻害効果(Buxtonら 1965, 駒田ら 1965, Mitchell and Alexander 1961, 孫工・野村 1988)などが報告されている。一方、地下部については、ダイズでは生育後期の根粒菌形成促進効果(Aliら 1997)も明らかにされている。しかし、キチンやキトサンの作物への施用効果は必ずしも一定しておらず、効果発現要因に関しても明確には解析されていない。また、キチンやキトサンは、塩基性の性質を有し酸性土壌を中和する効果や土壌粒子を団粒化して圃場の通気性や保水性を改善し、作物の毛細根の発達を促進することも報告されている(福井ら 1989, 次田 1995)。そこで本研究では、キトサン粉末を土壌混和处理した場合、ハツカダイコンの生育に対する影響について、特に地下部の生育を中心に詳細な観察を行った。

材料と方法

実験は、1997年7月から11月にかけて数回の反復実験を行った。佐賀大学海浜台地生物生産研究センター神田圃場(唐津市)の畑土壌(土性:まき土)約2kg(±100g)をプランター(12×24×10cm)内に充填し、窒素(N)、燐酸(P₂O₅)、カリ(K₂O)成分量が14, 16, 14%である化成肥料を窒素成分で1.5g/m²ずつ施用した。キトサン処理区は、分子量10~15万のキトサン粉末(九州キトサン社製)を、土壌重量当たり0.01, 0.05, 0.1, 0.5及び1%の割合でプランター内の土壌中に混和处理した。処理区及び無処理区ともに、それぞれ2反復とした。供試作物は、赤丸ハツカダイコン(*Raphanus sativus* L., *radicula*

group)(品種:チェリーメイト)で、プランター内に播種した後、屋外で2~4週間生育させた。プランター当たりの植物体個数が14となるよう適度に間隔をとって2~3粒ずつ播種し、子葉2枚が展開した時期に間引きした。栽培期間中は、プランター内の土壌が乾燥しないように毎朝灌水した。またキトサン処理の対照実験として、土壌に0.5%混和处理したキトサンに含まれる窒素成分量(5g/m²)と同量、あるいは2分の1量の窒素成分量となるように尿素施肥区を設け、同様の実験を行った。

成長したハツカダイコン個体は、プランターから無作為に土壌より採取後、地上部は葉数及び各葉の面積を測定した後、80°Cで3日間乾燥し乾物重を秤量した。一方、地下部は3%ホルマリン溶液中で固定、保存した後に主根と側根に分け、分枝根や根毛を含めて形態の様相を調査した。ハツカダイコンは模式図(第1図)に示すように、肥大根下部の細く成長した直根を主根とし、それから1次側根が最初に発生している部位をその基部とした。また主根から発生する1次側根は、太く2次側根がある1次側根をL型、細いが2次側根があるものをS-a型、及び細く2次側根がないものをS-b型と3グループに分類(第2図)して、調査を行った。さらに根毛については、各区5個体ずつの主根及び側根について部位(主根:基部から1~3cm, 側根:全体的)を定めて形成本数等の調査を行った。

実験結果

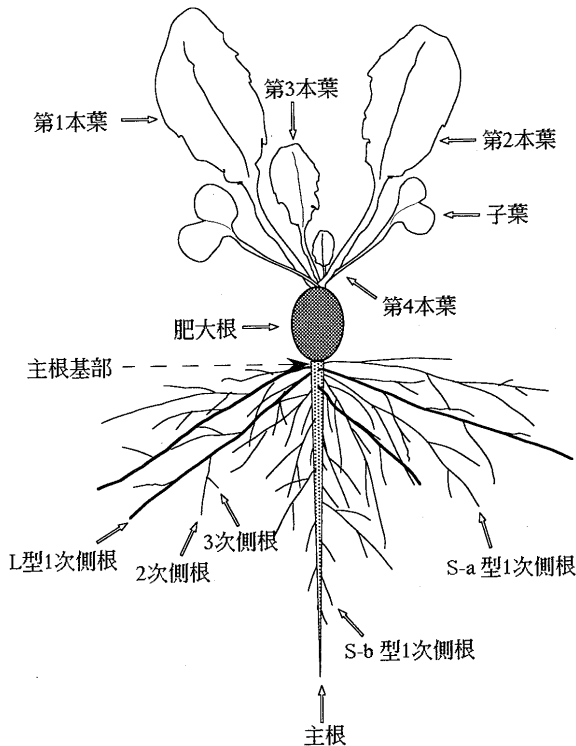
1. キトサン処理がハツカダイコンの地上部の成長に及ぼす影響

個体当たりの葉面積は第3図で示した通り、0.05%混和处理区ではキトサン処理の影響がほとんど見られなかったが、キトサンを0.1%以上混和处理した区では生育促進効果が見られ、さらに0.5及び1%混和处理区では本葉の葉面積が無処理区の約2倍に増加しており、無処理区及び0.05%混和处理区に対して1%水準で有意であった。また葉の乾物重(第3図)についても、葉面積の場合とほとんど同様であり、キ

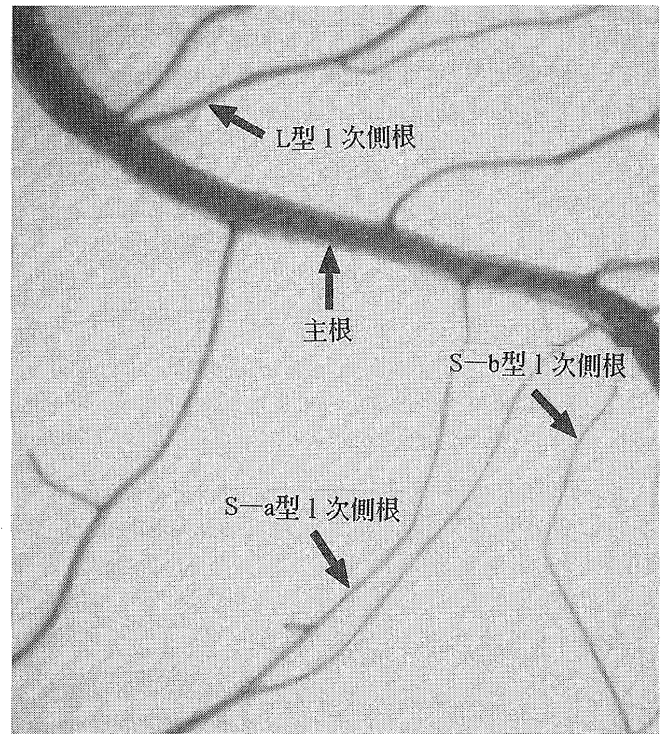
トサン処理によって増大する効果が得られた。一方、個々の葉についてみると、子葉は葉面積及び乾物重ともにキトサン処理区と無処理区がほぼ同程度の生育量であったのに対して、本葉はキトサン処理区で著しく生育量が大となっていた。

つぎにキトサン処理との対照実験として、混和処理したキトサンに含有される窒素成分量と同一窒素成分量の尿素を施肥した区では、窒素過剰のためにハツカダイコンの生

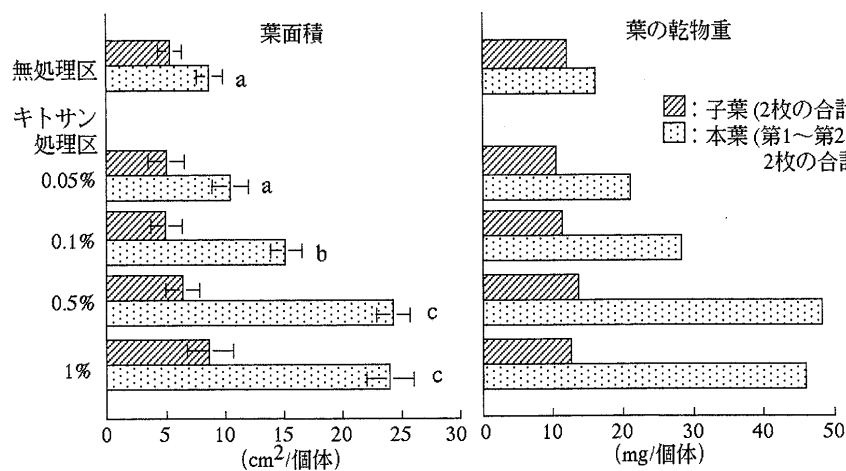
育は不良で、個体当たりの葉面積及び乾物重が無処理区の半分程度になり、一方キトサン含有量の2分の1の窒素成分量の尿素を施肥した区では、地上部の生育量はキトサン処理区と同程度となった（データ省略）。しかしこれらの尿素施用区では、葉色が無処理区やキトサン処理区と比べて濃い緑色を呈しており、SPAD 値でみた葉緑素含量は著しく高い値を示した。



第1図 ハツカダイコン地上部及び地下部の模式図。



第2図 ハツカダイコンの主根から発生するL型1次側根、S-a型1次側根及びS-b型1次側根（写真）。



第3図 キトサン処理量がハツカダイコンの葉の生育に及ぼす影響。

(播種後14日目調査。以下の図も同様)。処理区は、キトサン粉末を土壌混和した。0.01%処理区は、生育不良のため結果から除外した。横線は、標準偏差を示し、同一区内の10標本での値から計算した。子葉と本葉の合計値で検定を行い、同一文字の付いた値間には1%水準で有意差がないことを示す (Fisher's PLSD による)。

2. キトサン処理がハツカダイコンの地下部の成長に及ぼす影響

キトサンの0.5%土壌混和処理区ではハツカダイコンの地上部の生育が著しく促進されたため、それらの根系について形態的調査を行った。

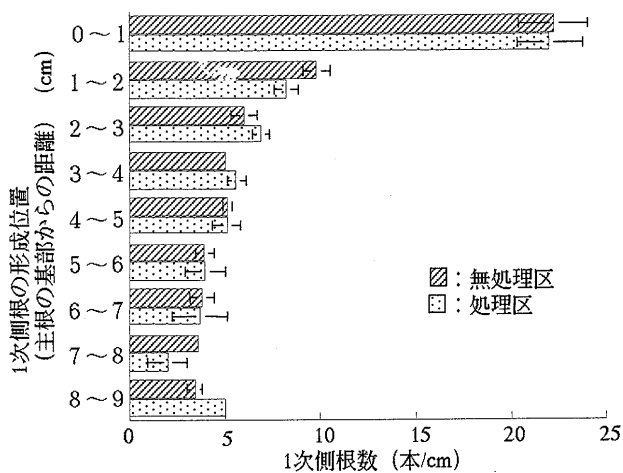
まず播種後14日目に採取した個体について主根の長さをみると、無処理区は15個体の平均値で10.7 cm、一方、キトサン処理区は同様の平均値で9.6 cmであり、両者には大差は見られず、また主根における全1次側根（L型及びS型を含む）の形成本数についても、発生位置に関わらず両区にほとんど差異は見られなかった（第4図）。しかし発生するすべての1次側根（L型及びS型を含む）の長さをみると、主根基部から4 cmの部位までは無処理区及

びキトサン処理区ともに長い側根の発生が見られ、無処理区では4 cm以降の部位においても長い側根が発生していたが、キトサン処理区の主根の4 cm以降の部位は5 cm未満の短い側根のみであった（第5図）。

そこで、主根基部から1~2 cm及び2~3 cmの部位に形成される1次側根について、L型（太く、2次側根を発生）、S-a型（細いが、2次側根を発生）及びS-b型（細く、2次側根の発生なし）の3グループ別の形成本数を調査した（第2図参照）。その場合、これら各1次側根の直径は、L型は0.24~0.28 mm、S-a型及びS-b型は0.16~0.24 mm程度であったが、S-a型及びS-b型への分類は2次側根形成の有無により分別した。調査結果を第6図に示したが、キトサン処理区では、無処理区と比べてこれらの部位でL型1次側根の発生が多くなっていた。さらにキトサン処理区では、主根のすべての部位に形成されるL型及びS-a型1次側根において、2次側根の形成本数が無処理区と比較して著しく多く、1%水準で有意であった（第7図）。また特に、主根基部から1~2 cmの部位に形成される1次側根を詳細に見ると、それから発生する2次側根はキトサン処理区ではL型及びS-a型2次側根ともに無処理区と比較して約1.8倍と多いことが観察された（第8図）。

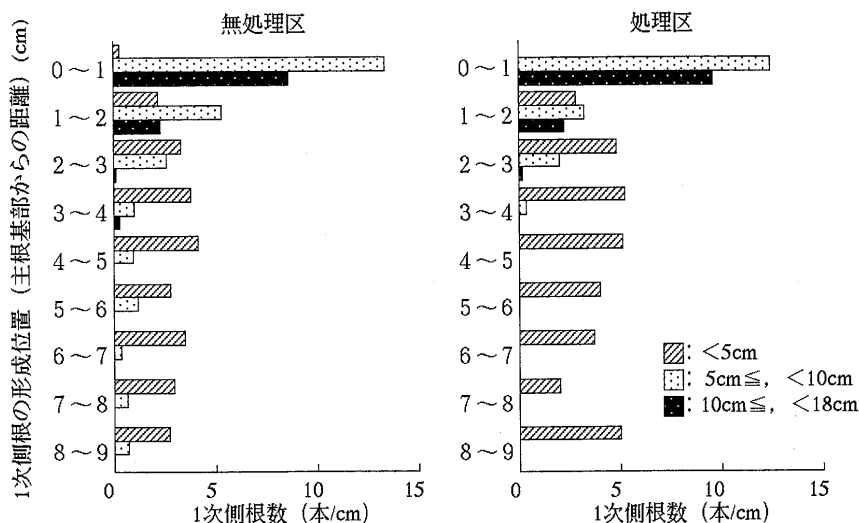
さらに各区5個体ずつについて、主根の基部から1~3 cmの部位を1 cm長毎に切断し、それぞれ主根の基部方向から2 mm長ずつについて表皮に発生する根毛を観察したところ、位置により根毛長には多少のばらつきがあったが、2 mm長の範囲内で測定した3カ所の位置の根毛（それぞれ約100本ずつ）とともに、キトサン処理によって根毛の形成本数や長さに大差は見られなかった。また主根基部から1~1.2 cmの部位については、根毛の本数や長さにはばらつきが大きかったため、結果から除外した。

つぎに主根基部から1 cmの部位に発生する1次側根に



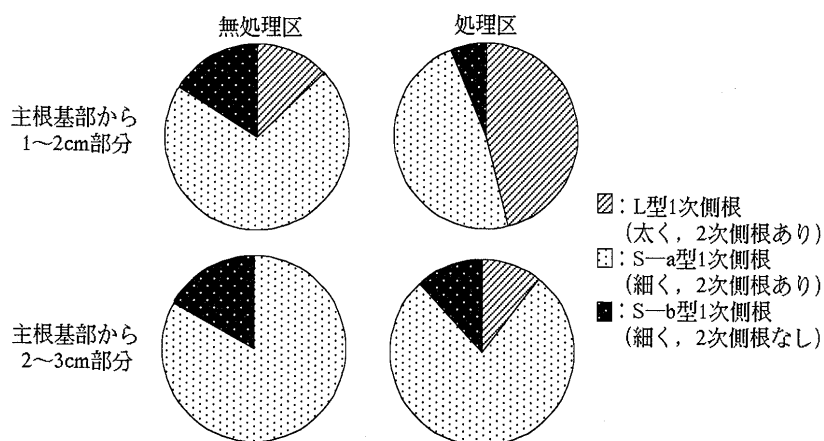
第4図 キトサン処理がハツカダイコンの主根における全1次側根の形成本数に及ぼす影響。

処理区は、キトサン粉末を0.5%土壌混和した。全1次側根数は、L型及びS型を含む（以下の図も同様）。横線は、標準偏差を示し、同一区内の10標本での値から計算した。

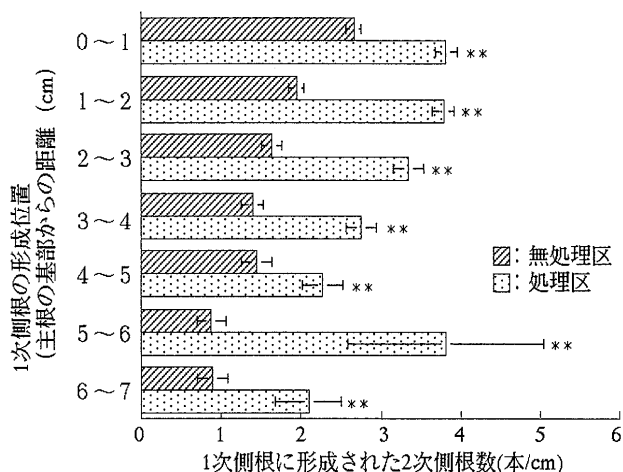


第5図 キトサン処理がハツカダイコンの主根に形成される全1次側根の長さに及ぼす影響。

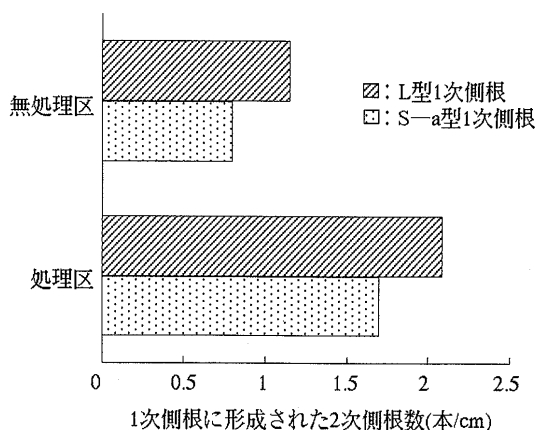
処理区は、キトサン粉末を0.5%土壌混和した。



第6図 キトサン処理がハツカダイコンの主根に形成される1次側根の形態に及ぼす影響
(各1次側根数/全1次側根数の割合)。処理区は、キトサン粉末を0.5%土壌混和した。



第7図 キトサン処理がハツカダイコンのL型及びS-a型1次側根における2次側根の形成本数に及ぼす影響。
処理区は、キトサン粉末を0.5%土壌混和した。横線は、標準偏差を示し、同一区内の10標本での値から計算した。
**は、無処理区と処理区の間1%水準(t検定)で有意差があることを示す。



第8図 キトサン処理がハツカダイコンの全1次側根におけるL型及びS-a型2次側根の形成本数に及ぼす影響。
処理区は、キトサン粉末を0.5%土壌混和した。主根基部から1~2cmの部位に発生する1次側根について調査した。

考 察

について、L型については1~4次側根別に、S-a型については1~3次側根別に根毛の発生様相を比較した(第1表)。これらの側根における根毛の長さや発生密度は、概括的な観察によってそれぞれ3段階(A, B, Cあるいはa, b, c)の指数で表したが、L型1次側根については、部位により根毛の長さや発生密度にばらつきが見られたが、全体的にキトサン処理区は無処理区と比較して1~3次側根に長い根毛が多く、その発生密度も高い傾向が見られた。一方S-a型1次側根の根毛については、L型の場合と同様に根毛の発生する部位によりばらつきが見られたが、キトサン処理区と無処理区とで大きな差異は見られず、3次側根からの根毛発生はほとんど見られなかった。

キチンやキトサンを土壌に施用すると、作物の成長促進に有効な場合があることがすでに数種の作物について報告されている(Aliら1997, 福井ら1989, 原田ら1995, 1996, 次田1995)。本研究では、ハツカダイコンを供試作物として、地上部への効果とともに地下部における根系形態へのキトサン処理の影響の解明を試みた。

畑土壌にキトサン粉末を混和処理してハツカダイコンを生育させ、その影響を観察した結果は、土壌中にキトサンを0.1%混和処理することにより、ハツカダイコンの生長促進効果が認められたという報告(福井ら1989, 次田1995)と一致していたが、0.5及び1%混和処理区では、地上部は無処理区の約2倍の生育量となり、特に子葉より本葉の生育にキトサン処理の影響が強く現れることを見い

第1表 キトサン処理がL型1次側根及びその2～3次側根の根毛形成に及ぼす影響。

L型1次側根の 基部からの距離		1次側根		2次側根		3次側根	
		根毛長	発生密度	根毛長	発生密度	根毛長	発生密度
無処理区	0-1 cm	B	b	C	b	A~B	a
	1-2 cm	A~B	b	B~C	b	—	—
	2-3 cm	A~B	a	B~C	b	—	—
	3-4 cm	B~C	a	A~B	a	B~C	b
	4-5 cm	B~C	b	B~C	b	—	—
	5-6 cm	B~C	b	B~C	b	—	—
	6-7 cm	B	a	B	a	—	—
	7-8 cm	C	b	B	b	—	—
	8-9 cm	B~C	b	A~B	a	—	—
	9-10 cm	B~C	a	A~B	a	—	—
	10-11 cm	B~C	b	—	—	—	—
	11 cm-	B	a	—	—	—	—
処理区	0-1 cm	A	b	C	c	B	c
	1-2 cm	C	c	C	c	C	c
	2-3 cm	B	b	B~C	c	C	c
	3-4 cm	B~C	b	B~C	c	C	c
	4-5 cm	B~C	b	C	b	C	c
	5-6 cm	B~C	c	B~C	c	B~C	c
	6-7 cm	B~C	b	C	c	C	c
	7-8 cm	C	b	C	c	A~B	b
	8-9 cm	C	c	B~C	c	—	—
	9-10 cm	B	a	B~C	c	—	—
	10-11 cm	A	a	B~C	c	—	—
	11 cm-	—	—	A	b	—	—

根毛長 A：短い（約 0-0.3 cm），B：中間（約 0.3-0.7 cm），C：長い（約 0.7 cm 以上）。
発生密度（各側根 1 cm 当たりの根毛発生数）a：少ない（約 0-30 本/cm），b：中間（約 30-60 本/cm），c：多い（約 60 本/cm 以上）。

測定した 1 次側根は主根基部 1~2 cm に形成された L 型 1 次側根，2 次及び 3 次側根はその 1 次側根から発生した側根である。

根毛の測定は，光学顕微鏡下において 5 個体の L 型 1 次側根について行った。

出した。また根系については，キトサン処理区は無処理区と比較して主根の長さには大きな差異は認められなかったが，主根基部に発生する L 型 1 次側根の本数が多く，さらにそれらの L 型側根の根毛は比較的長く，発生密度も高い傾向が見られた。

以上の通り，本研究では，キトサン粉末 0.1% 以上の土壌混和処理によってハツカダイコンの地上部に明らかな生育促進が見られたが，このような各葉の生育促進の様相や地下部における側根及び根毛形成の様相を見ると，ハツカダイコンが発芽して子葉を展開し主根を伸長させた後にキトサン処理による生育促進効果が大きく現れ，本葉の成長や L 型 1 次側根の形成に影響を生じたものと推察された。一方近縁種のダイコンでは，最も大きな収量増大要因は窒素施肥である（伊沢・安達 1956）とされており，またキトサンの分子構造はセルロースと類似しているが水酸基の代わりにアミノ基をもつ（矢吹 1992）ため，土壌に混和処理したキトサンが分解して窒素成分が放出され，ハツカダ

イコンへの影響が生じたのではないかと考えられた。この点については，一般に土壌中の窒素が過剰になると植物体の葉色が濃く，過繁茂になり，組織も軟弱になる（熊沢 1974）が，尿素施肥の結果を見ると同じ様相を呈しており，過剰の窒素施肥による生育への悪影響が生じていたと思われる。しかしキトサン区では，窒素施肥区と異なり，キトサン自身の分解により徐々に若干の窒素成分が放出されたことは十分に推察されたが，一方ハツカダイコンの生育状況を見ると，尿素施肥区とは異なって極めて健全な葉色を示し，SPAD 値も正常であり，単なる窒素放出効果以外のキトサン施用効果により，良好な生育が得られたように判断された。こうした生育促進の要因として，例えばキチン質処理は植物における単なる酵素の活性化のみではなく，植物細胞が活性化されてタンパク質の生合成能を高め，植物生産の向上に寄与する（平野 1988）ことも考えられる。本研究結果についても，土壌へのキトサン混和処理が地下部の根の生育を促進し，その結果，地上部の健全

な生育が促進されたものと推測したが、さらに要因解析を進めて行くべき課題である。

つぎに一般に単子葉植物では、1次根から発生する側根には2種類のものがあり、長く、太く、さらに高次の側根を分枝するものをL型側根、一方、短く、細く、それ以上は側根を分枝しないものをS型側根とする分類が行われ、双子葉植物でも単子葉植物と同様に側根を分類し得るとされている(川田・芝山 1965, 河野ら 1972)。またハツカダイコンと同じ主根型根系を形成するダイズについては、異なる土壤水分条件において変化する形質として、長く太いL型1次側根の本数及び長さ、側根の根径があると報告されている(Konoら 1987)。そこで本研究では、特に地下部の生育について詳細な観察を行い、これらの研究と同様の分類方法を用いて、1次側根をL型、S-a型及びS-b型の3グループに分類して調査を行った。その結果、キトサン粉末の土壤混和处理区では長く太いL型1次側根の本数が増加していることを見出した。根の生育については、窒素レベルが高くなると細胞分裂や伸長が抑制されるが、適度な窒素施用では分枝根の生育が良好になり(田中 1974)、また、このようなL型側根の形成本数は、土壤水分が少ない乾燥条件の場合に増加する(Konoら 1987)と報告されている。本研究におけるキトサン処理の効果はどのような機作によりL型側根が増加したかについては、今後さらに検討を行っていきたい。

根系を構成する個々の根の役割については、養水分の吸収機能は側根が担っており(Dionisioら 1997)、そのなかでもS型側根は主として水分吸収機能を持ち、L型側根は養水分吸収機能に加え、そこからさらに高次側根を分枝し、土壤空間にそれらを配置する役割がある(山内 1997)。一方、主軸根は吸収合成された物質の通導機能をもつとされている。本実験の結果では、キトサン処理区は無処理区に比べてL型1次側根の形成本数が多くなっており、これによりキトサン区では主根全体における2次側根の発生本数が約2倍と著しく増加し、植物体の生育に必要な養水分の吸収機能を高めていると思われた。

ハツカダイコン根系における根毛形成については、主根及びL型とS-a型1次側根について若干の観察を行った。その場合測定部位は、主根の基部から1~3 cmの範囲及びその部位に形成されている側根に限定したが、これは、基部から3 cm以降の部位では、キトサン混和处理区の1次側根長は大部分が5 cm未満であったため、側根における根毛形成数が少なく、比較するには不適と判断されたためである。

水稻の冠根及び分枝根における根毛形成については、施用する窒素質肥料の量が多いほど、根毛形成密度が高くなり、また根毛長も長くなることが報告されている(川田・鄭 1976)。ハツカダイコンでは、とくにL型1次側根に発生する根毛は、キトサン処理区では無処理区に比べて、長く、発生密度も高くなる傾向が見られ、キトサンの分解

により放出された若干の窒素成分が水稻の場合と同様に根毛形成に影響したのではないかと考えられた。また主根やS-a型側根では根毛形成に差異が見られなかったが、これは、本実験が2週間程度の生育期間で行われたためなのか、今後さらに検討する必要がある。

最後に、本研究ではキトサン粉末の土壤混和处理を行ったが、一般に市販されているキトサン製剤は溶液散布されており、含有するキトサンの処理量は本実験の場合と比べるとかなり少量である。そこで実用的な観点から、今後は、キトサン粉末の土壤混和处理と溶液製剤の散布処理の影響の関係について比較実験を行う必要があると思われる。

謝辞: 本研究を進めるにあたり、九州キトサン有限会社(長崎県佐世保市)からキトサン粉末の提供をいただきました。深く感謝いたします。

引用文献

- Ali, M., T. Horiuchi and S. Miyagawa 1997. Nodulation, nitrogen fixation and growth of soybean plants (*Glycine max.* Merr.) in soil supplemented with chitin or chitosan. *Jpn. J. Crop Sci.* 66: 100-107.
- Buxton, E.W., O. Khalifa and V. Ward 1965. Effect of soil amendment with chitin on pea wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. pisi. *Ann. Appl. Biol.* 55: 83-88.
- Dionisio, M.B.・平田敦子・山内章 1997. 根系を構成する根の間の機能の役割分担. 根研究会・ファイトク研究会合同研究集会講演要旨 42-43.
- 福井春雄・藤原公・村岡高志・次田隆志 1989. キチン・キトサンによる作物の生長促進効果 第1報 生長促進とその作用性. *日作四国支紀* 26: 1-8.
- 原田二郎・有馬進・芝山秀次郎・梶島利恵 1995. キトサンの植物生長促進効果に関する研究. キトサンの施用がダイズの生育及び子実収量に及ぼす影響一. *海と台地* 2: 15-19.
- 原田二郎・芝山秀次郎・木口純子・千布寛子・有馬進 1996. キトサンの施用が数種畑作物の生育と雑草耐性に及ぼす影響に関する観察. *海と台地* 3: 27-32.
- 平野茂博 1988. キトサンの関与する植物の細胞活性化および病原菌に対する自己防護機能. *日農化会誌* 62: 1238-1240.
- 伊沢恒郎・安達忠良 1956. 根菜類の窒素代謝に関する研究(第1報) 大根の生育と窒素の吸収並びに分布について. *兵農大研報* 2(2): 77-80.
- 川田信一郎・芝山秀次郎 1965. 水稻冠根における分枝根始原体の形成、とくにその形態的様相について. *日作紀* 33: 423-431.
- 川田信一郎・鄭元一 1976. 水稻の分枝根における根毛形成について. *日作紀* 45: 436-442.
- 駒田旦・竹内昭士郎・井上義孝 1965. ダイコン萎黄病の生態学的研究 1. 土壤中における病原菌と他の微生物との関係、およびキチン添加による生物的防除. 東近農試病研, 昭和39年度農試研究中間報告・夏作病害に関する研究: 41-48.
- 河野恭広・井桁正宏・山田記正 1972. 水稻種子根における側根群の発育生理学的研究. *日作紀* 41: 192-204.
- Kono, Y., K. Tomida, J. Tatsumi, T. Nonoyama, A. Yamauchi

- and J. Kitano 1987. Effects of soil moisture conditions on the development of root systems of soybean plants (*Glycine max.* Merr.). Jpn. J. Crop Sci. 56: 597—607.
- 熊沢喜久雄 1974. 植物栄養学大要. 養賢堂, 東京. 140—141.
- Mitchell, R. and M. Alexander 1961. Chitin and the biological control of Fusarium diseases. Plant Disease Rept. 45: 487—490.
- 孫工弥寿雄・野村良邦 1988. キチン質有機物の土壌施用によるキャベツ萎黄病の防除効果と拮抗微生物による効果発現機構. 農及園 63: 867—872.
- 田中典幸 1974. 作物の根に関する研究. 日作紀 43: 291—316.
- 次田隆志 1995. 応用編・第15章・農業資材. キチン・キトサン研究会編キチン・キトサンハンドブック. 技報堂出版, 東京. 439—458.
- 矢吹稔 1992. キチン, キトサンのはなし. 技報堂出版, 東京. 1—139.
- 山内章 1997. 水ストレスに対する植物根系の発育形態的反応. 日作紀 66(別2): 361—366.

Effects of Chitosan Application on the Growth of Radish Seedlings: Hiroko CHIBU*, Hidejiro SHIBAYAMA and Susumu ARIMA (*Marine and Highland Bioscience Cent., Saga Univ., Karatsu 847-0021, Japan*)

Abstract: The effects of chitosan application to soil before planting, on the growth of the tops and roots of the seedlings of radish, *Raphanus sativus* L., radicula group, were investigated. Leaf area and top dry weight of the crop were increased by application of 0.1% chitosan, and were twice as much as those in the untreated-control by application of 0.5% or 1%. Chitosan application promoted the growth of foliage leaves more than that of cotyledons. The length of tap roots and the number of first order lateral roots were not affected, but the numbers of first order thick lateral roots and second order lateral roots which branched from the first order ones were increased markedly by chitosan application. The length and density of root hairs were variable, and those of lateral roots were increased by chitosan application.

Key words: Chitosan, Growth, Radish, Soil incorporation.