

## 作物生理・細胞工学

### キトサン処理がイネ及びダイズ茎葉部の生育に及ぼす影響

千布寛子\*・芝山秀次郎・有馬進  
(佐賀大学)

**要旨:** キトサンを土壤中に0.1%あるいは0.5%混和処理した後にイネ及びダイズを植え付け、それらの茎葉部の生育経過を調査した。イネは、無施肥区ではキトサン処理により草丈や葉齢などの生育促進やSPAD値の上昇が見られたが、施肥区では生育に差異は見られなかった。ダイズは、キトサン処理により本葉の葉位などの初期生育は促進されたが、その後は差異が見られなくなった。またイネとは異なり、キトサン処理の影響は施肥により変化は見られず、作物によって処理による地上部生育への影響は異なると考えられた。

**キーワード:** イネ、キトサン、生育、ダイズ、土壤混和処理。

キチンやキトサンをイネやダイズ等の作物に利用する研究は、すでにいくつか行われており、キチン質の粉末を土壤中に混和処理したり、あるいはその溶液を植物体への直接散布や種子塗布などの処理を行うことにより、葉面積や乾物重等の地上部生育への促進効果 (Aliら 1997, Chibら 1998, 2001, 原田ら 1995, 道山 1993, 宮田 1999, Pivabutrら 2001, 山本ら 1998) が報告されている。そして作物の地下部の生育については、キチン質処理によりダイズで生育後期の根粒形成及び窒素固定能促進効果 (Aliら 1997) が明らかにされている。またキチンやキトサンは、土壤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)。さらに著者らは、キトサン粉末を土壤混和処理したハツカダイコンについて観察を行った結果、0.1%以上のキトサン混和処理で葉面積及び地上部乾物重への生育促進効果が見られ、0.5%及び1%処理ではそれらの成長量は無処理区の約2倍となることを認めている。また処理区では主根に生じる太い1次側根の本数が多く、それらに形成される2次側根数が著しく多くなることを明らかにした (千布ら 1999)。

しかしこれらの報告では、イネ、ダイズ等の主要作物へのキチンやキトサンの処理効果は、必ずしも一定した結果は得られておらず、効果の発現程度やその要因、特に施肥条件との関係等に関しては明確に解析されていない。そこで本研究では、イネ及びダイズを供試して土壤混和によるキトサン処理をした後に移植あるいは播種し、土壤への施肥の有無とそれら作物への生育促進効果との関係について茎葉部、根部、あるいはキチナーゼ活性値 (千布ら 2002) の面から調査した。ここではまず、イネ及びダイズ茎葉部の生育への影響について報告する。

#### 材料と方法

##### 1. キトサン処理がイネ茎葉部の生育に及ぼす影響

実験は、1999年6月から2001年8月にかけて数回反復

して行った。まず佐賀大学海浜台地生物生産研究センター神田圃場の畠土を採取し、バット (46×31×13 cm) 及び 1/5000 a ワグネルポット内にそれぞれ新鮮重で約 10 kg あるいは 4 kg ずつ充填した。キトサンは、分子量 10~15 万のキトサン粉末 (N 含量: 約 7.5%) (九州キトサン社製) を、土壤新鮮重当たり 0.1% あるいは 0.5% の割合で混和処理した。イネ (*Oryza sativa L.*) (品種: コシヒカリ) は、育苗箱に播種して 3~4 葉期に生育した苗を用いて、1999 年 6 月 1 日はバットに 1 株 2 本植えで 10 株/バット (140 本/m<sup>2</sup>)、2000 年 5 月 23 日及び 6 月 8 日、2001 年 5 月 22, 24 日及び 6 月 25, 27 日は 1/5000 a ワグネルポットの湛水土壤に 2 本植えで 4 株/pot 移植した。1999 年の実験は無施肥区のみで行ったが、2000 年の実験では無施肥区の他、N 成分量で 3 g/m<sup>2</sup> の元肥 (N : P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> : K<sub>2</sub>O = 14 : 16 : 14% 化成) (イネ苗移植前日に土壤混和施用) 及び生育期間中 (移植後 30 日目頃) に追肥 (元肥の半量を表面施用) を行った施肥区の 2 区、2001 年は無施肥区と N 成分量で 6 g/m<sup>2</sup> の元肥 (同上化成) を行った施肥区の 2 区をそれぞれ設けた。これらの実験は、1999 年は 2 反復、2000 及び 2001 年は 5 反復として、作物の栽培は屋外 (2000 及び 2001 年) あるいは無加温のガラス温室内 (1999 ~ 2001 年) で行い、栽培期間中は常に湛水状態を維持するために適宜灌水を行った。

生育調査は、草丈、茎数、葉齢 (不完全葉を第 1 葉とした) 及び 1999 年と 2000 年は最上位の完全展開葉、2001 年は伸長中の葉の 3 枚下の葉身の SPAD 値 (ミノルタ葉緑素計、SPAD-205) について、1999 年の調査では苗移植後 1~4 週間目まで毎週あるいは 60, 90 及び 120 日目、2000 年は移植後 1~4 週間目まで毎週あるいは 30, 40 及び 50 日目、2001 年は苗移植後 25~55 日の間に 10 日間隔で行った。

##### 2. キトサン処理がダイズ茎葉部の生育に及ぼす影響

ダイズ (*Glycine max L. Merr.*) (品種: フクユタカ)

の実験方法はイネの場合とほぼ同様であり、1999年～2001年に数回反復して行った。1999年7月21日播種の実験は、畑土壤を新鮮重で約2kgずつ充填したプランター(12×24×11cm)を用いて行い、同年12月10日、2000年1月26日、4月15日及び5月23日、2001年4月10、12日及び6月13、15日播種の実験は、すべて上記の畑土壤を新鮮重で約4kgずつ充填した1/5000aワグネルポットを用いて行った。播種量は、プランターの場合6粒/プランター(208粒/m<sup>2</sup>)、ポットの場合4粒/pot(200粒/m<sup>2</sup>)とした。1999年及び2000年の実験では無施肥区のみを設けたが、2001年は無施肥区の他、N成分量で2g/m<sup>2</sup>の元肥(N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O=14:16:14%化成)を施用した施肥区の2区を設けた。これらの実験は1999、2000及び2001年ともに4回反復して、1999年7月、2000年4、5月及び2001年6月播種の実験は屋外、1999年12月及び2000年1月播種の実験は自然光型グロースキャビネット(25°C一定、24時間明条件、夜間は蛍光照明)内、2001年4月播種の実験はガラス温室内(無加温)で生育させ、栽培期間中は土壤が乾燥しないように適宜灌水を行った。生育調査は、播種後30～60日の間に10日間隔で主茎長、本葉の葉位(子葉、初生葉の次に出る葉を第1本葉とした)及び1999年と2000年は最上位の完全展開葉、2001年は伸長中の本葉の3枚下の葉のSPAD値について行った。

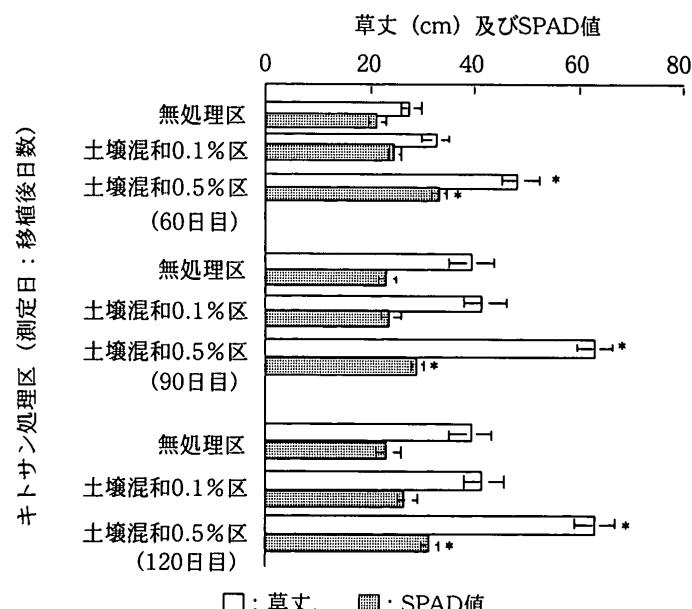
## 結 果

### 1. キトサン処理がイネ茎葉部の生育に及ぼす影響

無施肥で実験した場合(2000年5月移植)、キトサン処理のイネへの影響をみると、移植後2～3週目位までは生育促進効果は目立たなかったが、土壤中の養分がほとんど失われた時期の移植後60日目のイネ個体は、0.1%及び0.5%キトサン処理区(1999年6月移植)で無施肥区よりも草丈及び葉身のSPAD値が有意に高くなっている、その傾向は120日目の個体でも見られた(第1図)。

また元肥及び追肥を施用して屋外で栽培したイネ(2000年6月移植)についての実験結果をみると、草丈については無施肥の場合ほど大きな差異は認められなかつたが、0.5%キトサン処理区では茎数は有意に大きくなっていた(第2図)。

さらに、これらキトサンによる効果を確認するために、施肥の有無あるいは屋外とガラス温室内での栽培条件の違いによるキトサン処理の影響をみたが(2001年5、6月移植)、施肥の有無、屋外とガラス温室内という栽培条件に関わらず、キトサン処理によりイネの草丈、葉齢とともに有意に増加する傾向が認められた(第3～6図)。また処理区では、生育が促進されるとともに分けつの発生も多くなった(第2図)。測定した展開葉のSPAD値は、施肥及びキトサン処理の有無に関わらず、屋外栽培ではガラス温室内栽培と比較して低い傾向が見られた(第3～6図)。またガラス

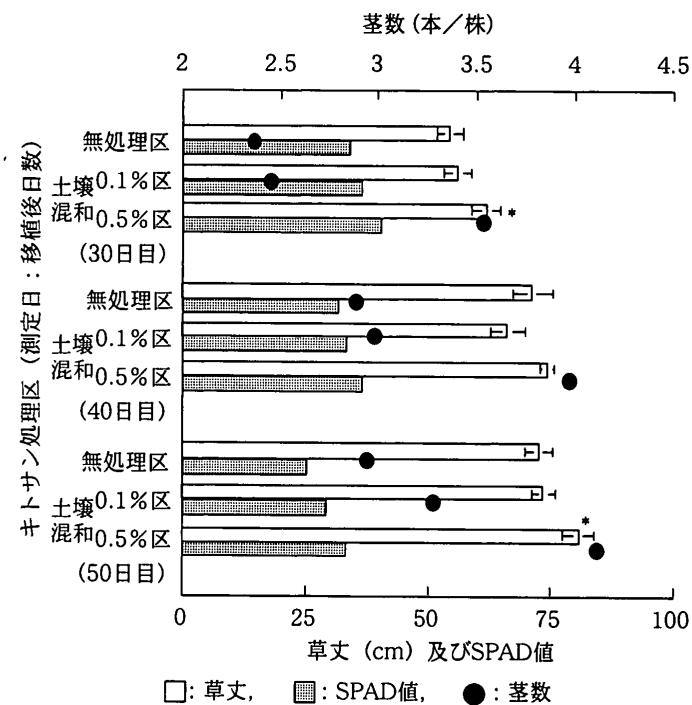


第1図 無施肥区のイネにおける生育への影響(1999年6月1日移植、ガラス温室内、バット栽培)。

図中の横棒は標準偏差を示す(以下の図も同様)。

\*: 無施肥区に対して5%水準で有意差あり(Fisher's PLSD testによる、以下の図も同様)。

キトサン処理のカッコ内は移植後の調査日(以下第6図まで同様)。



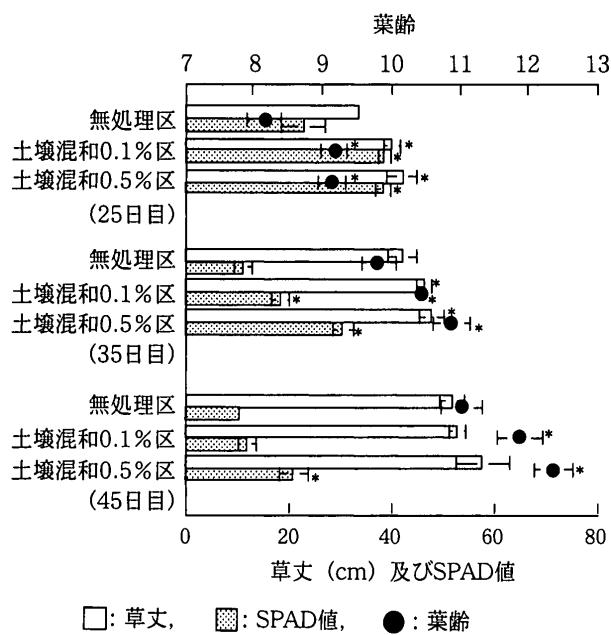
第2図 施肥区のイネにおける生育への影響(2000年6月8日移植、ガラス温室内、1/5000aポット栽培)。

温室栽培では、無施肥区の方がキトサン処理による草丈及び葉齢への生育促進効果が大きかった(第5及び6図)。

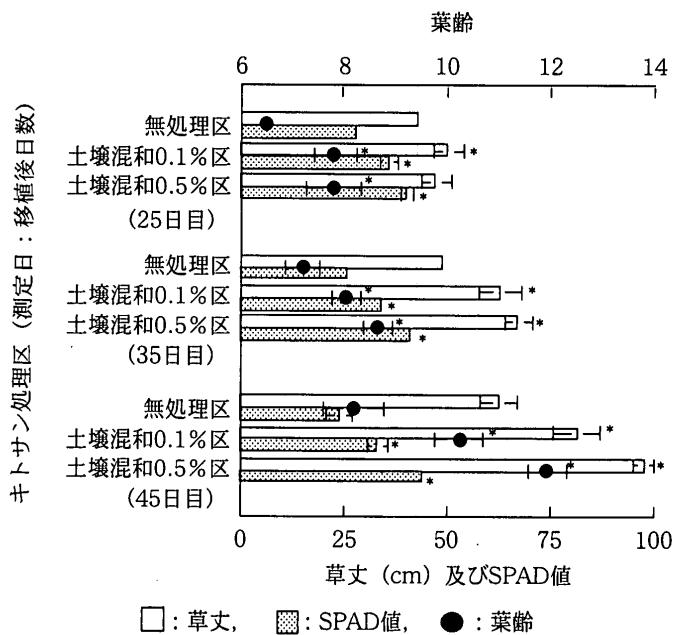
### 2. キトサン処理がダイズ茎葉部の生育に及ぼす影響

ダイズについては、1999年7月に屋外、無施肥で栽培した実験及び同年12月に自然光型グロースキャビネット内、無施肥で行った実験では、播種後40日の茎葉部調

キトサン処理区(測定日:移植後日数)

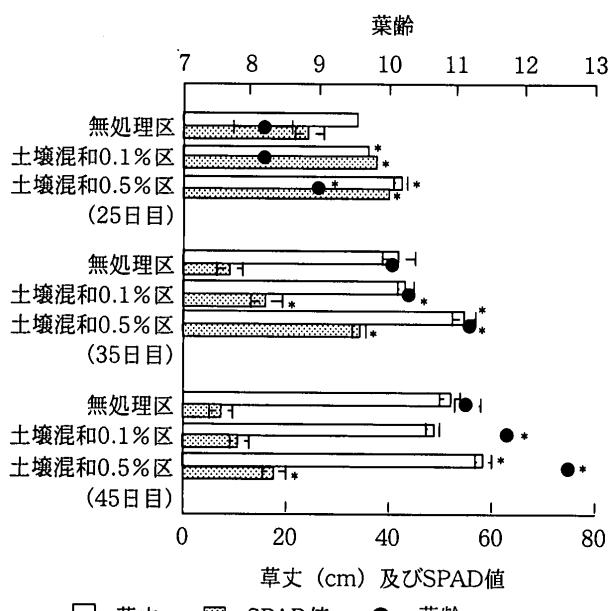


第3図 無施肥区のイネにおける生育への影響 (2001年6月25日移植, 屋外, 1/5000a ポット栽培)。



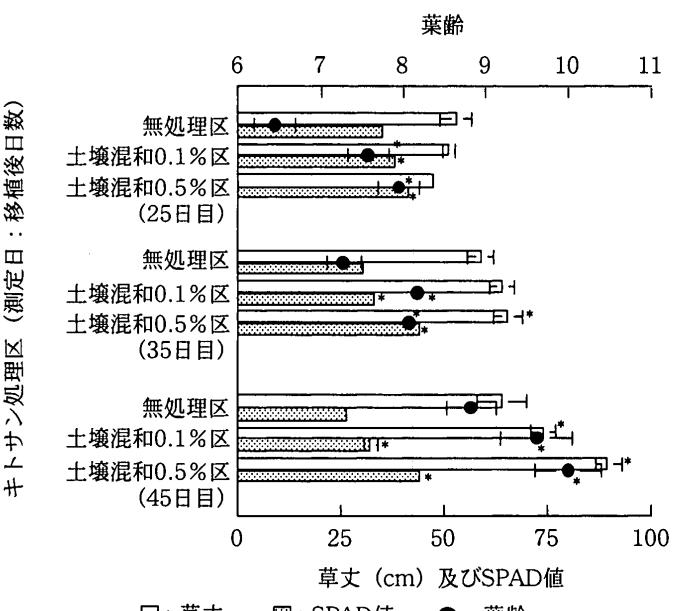
第5図 無施肥区のイネにおける生育への影響 (2001年5月22日移植, ガラス温室内, 1/5000a ポット栽培)。

キトサン処理区(測定日:移植後日数)



第4図 施肥区のイネにおける生育への影響 (2001年6月27日移植, 屋外, 1/5000a ポット栽培)。

査において、キトサン処理による主茎長及び本葉の葉位における差異は見られなかった(データ省略)。同様に2000年1月に自然光型グロースキャビネット内、無施肥で行った実験でも、播種後30日目の調査において、キトサン処理による主茎長及び本葉の葉位における差異は見られなかった(第7図)が、キトサン0.5%土壌混和処理区でSPAD値の有意な増加が認められた。同年4月にポット、屋外、無施肥で栽培した実験では、播種後30日目の調査において茎葉部への促進効果は見られず(データ省略)、さらに同年5月にポット、屋外、無施肥で栽培した実験においても、播種後40、50及び60日目と生育経過を追って調査したが、同様にキトサン処理によるダイズの茎葉部生



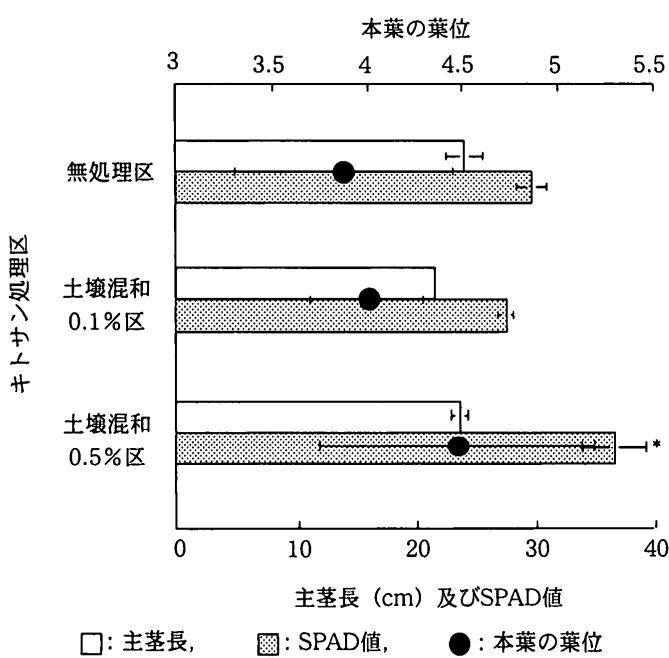
第6図 施肥区のイネにおける生育への影響 (2001年5月24日移植, ガラス温室内, 1/5000a ポット栽培)。

育量への影響は認められなかった(第8図)。

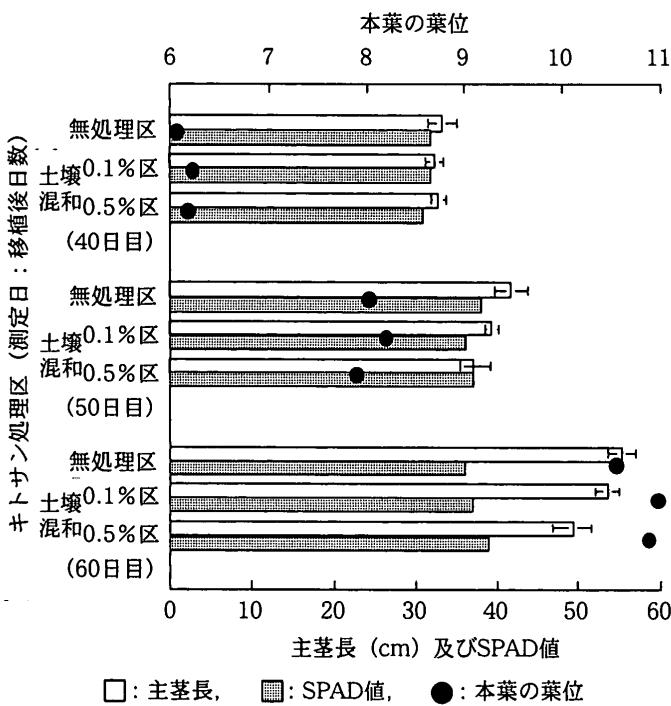
また施肥の有無あるいは屋外とガラス温室内という栽培条件の違いによるキトサン処理の影響については、2001年4及び6月にポットを用いて行った実験結果をみると、SPAD値は施肥の有無に関わらず処理による影響はほとんど見られなかった(第9~12図)。しかし葉位については、屋外で施肥を行った実験において、キトサン処理により播種後40及び50日に若干の有意な増加が見られた(第10図)。

## 考 察

本研究では、まずキトサンの土壌混和処理後に移植した

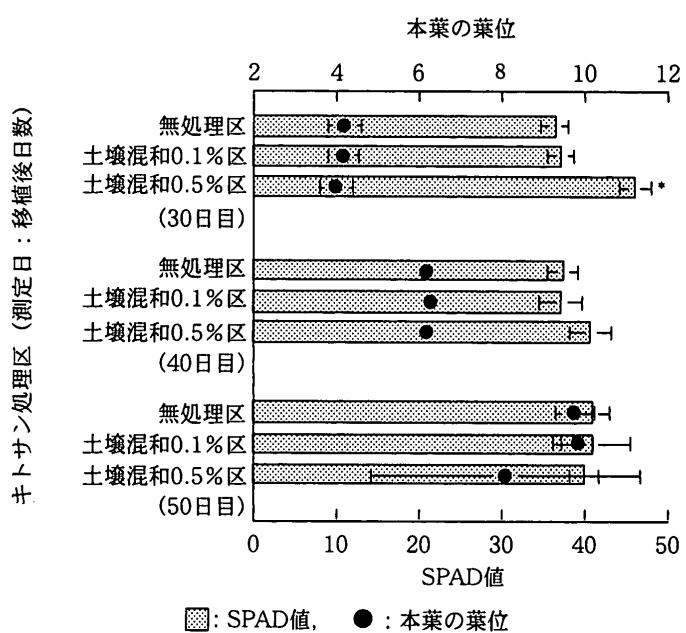


第7図 無施肥区のダイズにおける生育への影響 (調査日:播種後約30日目).  
(2000年1月26日播種, 自然光型グロースキャビネット内, 1/5000a ポット栽培).

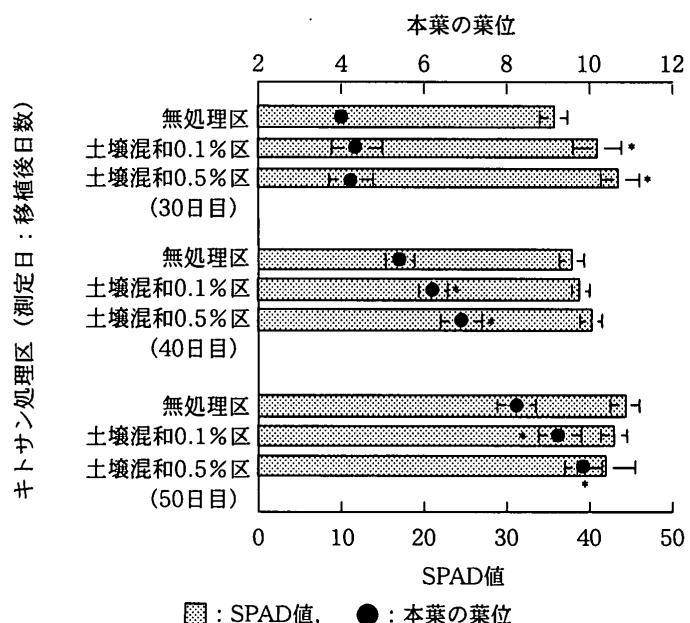


第8図 無施肥区のダイズにおける生育への影響 (2000年5月23日播種, 屋外, 1/5000a ポット栽培).  
キトサン処理のカッコ内は播種後の調査日 (以下第12図まで同様).

イネについて、茎葉部生育への影響をみたが、無施肥条件でキトサンを処理した場合、0.1%及び0.5%キトサン処理により、イネの生育が促進されて草丈は高くなり、葉身のSPAD値も高くなった (第1図). 一方施肥栽培したイネでは、キトサン0.5%処理区は他区に比べると葉身のSPAD値が高く、草丈は若干促進され (第2図), ガラス



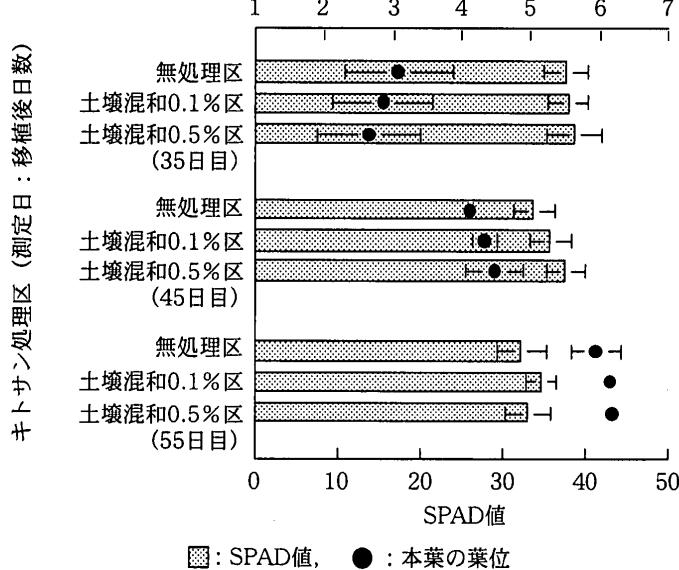
第9図 無施肥区のダイズにおける生育への影響 (2001年6月13日播種, 屋外, 1/5000a ポット栽培).



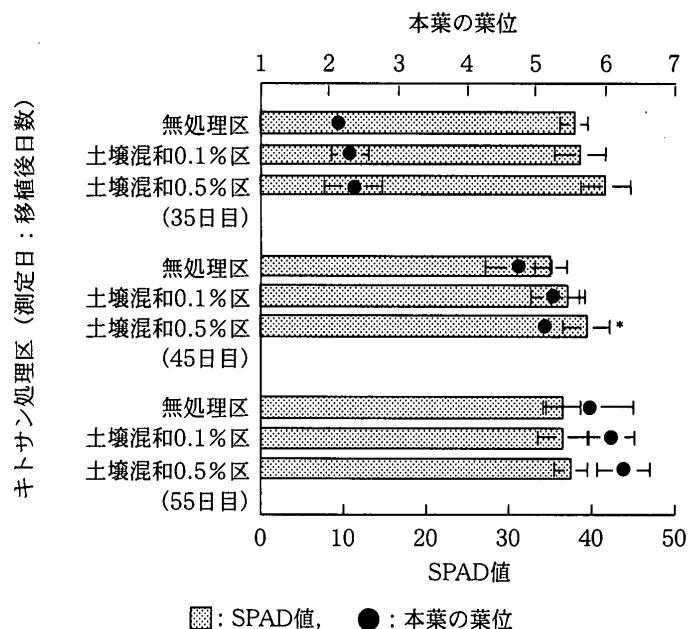
第10図 施肥区のダイズにおける生育への影響 (2001年6月15日播種, 屋外, 1/5000a ポット栽培).

温室と屋外でも生育後期のSPAD値に差異はあったが、全体的にはおおよそ同様の傾向がみられた (第3~6図).

これらの結果は、すでに報告したごとく、キトサン土壌混和処理の1つの効果として、キトサン分子のアミノ基が土壤微生物による分解過程で切れ、窒素成分が放出されることによる施肥効果ではないかと思われた (千布ら 1999). しかし一方では、キトサンによる生育促進効果の要因として、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ならず、植物細胞が活性化されてタンパク質の合成能を高め、植物生産の向上に寄与する等とされ (平野 1988), 著者らもハツカダイコンにおいて、キトサン施用により、単なる窒素放出効果以外の良好な生育促進



第11図 無施肥区のダイズにおける生育への影響 (2001年4月10日播種, ガラス温室内, 1/5000a ポット栽培)。



第12図 施肥区のダイズにおける生育への影響 (2001年4月12日播種, ガラス温室内, 1/5000a ポット栽培)。

効果を観察している(千布ら 1999)。この点については、さらに確認実験を行い、解析を進めていきたい。また本実験では、キトサンの効果を明確に観察することを狙い、バットあるいは1/5000aポットを使用して、すべて無施肥あるいは少肥条件でイネを生育させているが、水田で普通に成長するイネと比較して栄養不足で生育不十分であったため、今後は十分な栄養条件で生育する個体を用いた実験も行う必要があると考えている。

また山本ら(1998)は、50~500g/m<sup>2</sup>のキチンを水田圃場に施用してイネの成長や収量への影響を調査し、500g/m<sup>2</sup>施用により葉面積指数が過繁茂に陥ることなく適当に維持され、化学肥料区の玄米重に匹敵する収量が得られたと報告している。本実験は、バットや1/5000aポットを用いてイネやダイズの成長への影響を観察したものであるが、1m<sup>2</sup>当たりに換算するとキトサン粉末200gあるいは1000gを土壌混和処理することにより、生育促進やSPAD値の高まりを認め、一方では化学肥料を施用した場合にはキトサンの処理効果は小さいことを見出している。山本ら(1998)の研究では、供試キチン(N含量2.08%)からのN成分放出効果の可能性について言及していないが、著者らはそうしたN成分の効果とそれ以外の効果の可能性について、両面から検討する必要があると考えている。

つぎにダイズについては、2001年の実験では、施肥の有無だけでなく屋外とガラス温室内という栽培環境の違いを含めてキトサン処理の影響を比較したが、主茎長、本葉の葉齢及びSPAD値等の生育量には大きな差異は見られず、2000年の結果(第7及び8図)とおおよそ同様な傾向であった(第9~12図)。イネとは異なって、ダイズの場合、キトサン処理によるN放出の効果は小さいものと思

われたが、土壌中の窒素量との関係も検討する必要がある。

一方キチンまたはキトサンの土壌混和処理により生育初期にはダイズの根粒形成と窒素固定能は抑制されるが、後期には増加すること(Aliら 1997)、あるいはキトサンの葉面散布処理によりダイズ茎葉部の生育や子実収量が促進されること(原田ら 1995)が報告されている。ダイズは、共生する根粒菌が土壌中で窒素固定を行っており、土壌が肥沃過ぎると地上部は葉面積などが増加し、過繁茂の生育になるが、登熟期の結実は低下し、地下部の根系に形成される根粒の数は少なくなる(星川 1996)ことから、キトサンの土壌混和処理によって土壌中のN成分が増加しても、根粒菌との関係からダイズには直接的な影響は現れ難いのではないかと考えられた。そして、少なくとも本実験の栽培条件の範囲内では、キトサン処理によるダイズ茎葉部への生育促進は顕著でなく、逆にN放出によると思われる施肥効果も明瞭でないという結果であった。ダイズ根系の生育については現在も調査中であるが、さらに体内のキチナーゼ活性値についても調査しており(千布ら 2002)併せてキトサン処理の影響を明らかにしていきたい。

以上のごとく、本研究では、キトサンを土壌混和処理してイネやダイズを植え付けた場合、両作物では影響に差異が見られた。しかし実験条件、特に実験を行った時期や栽培法の他、気象条件や土壌条件等の生育環境の違いが影響を与えたことも考えられるため、さらに確認を行ってみたい。またイネは、施肥を行ってキトサンを土壌混和処理して生育させた場合、無施肥条件のイネと比べると、本実験の範囲内では処理により草丈の増加程度は小さかった(第2図)。そこで土壌中の窒素成分が少ないほど、キトサン分子から放出されたN成分が効果的にイネに吸収され、

キトサン処理の影響が顕著に現れたと考えている。また無施肥の場合、屋外よりガラス温室栽培の方が処理による影響が大きく見られたことについては、気温計測は行わなかったが日照による若干の温度差が関係しているのではないかと思われる。さらに著者らがハツカダイコンで観察したN放出効果以外の良好な生育促進効果(千布ら 1999)については、今後イネ及びダイズについても確認を進める予定である。また本研究では、イネ及びダイズについての調査のみを行っているが、作物の種類によってキトサン処理による生育への影響は異なると思われるため、この点についてもさらに研究を進めていきたい。

最後に、本報告ではイネ及びダイズについて、キトサン処理後の茎葉部生育の推移の調査結果を報告したが、別報に述べるごとく、それら茎葉部のキチナーゼ活性値の測定を行った結果、イネについては無施肥条件下でキトサン処理を行うことにより活性値が高まるという結果を得ている(千布ら 2002)。今後は、キトサン処理による作物の生育量及びキチナーゼ活性への影響とそれらの関連性について、調査する必要があると考えている。

**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いた。ここに記して感謝の意を表する。

### 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.
- Chibu, H., H. Shibayama, J. Harada and S. Arima 1998. Effects of chitosan application on growth and weed tolerance of several upland crops. *Asian Crop Science* 1998 (Proc. 3<sup>rd</sup> Asian Crop Sci. Conf.) 215—226.
- 千布寛子・芝山秀次郎・有馬進 1999. キトサンの土壤混和処理がハツカダイコンの成長に及ぼす影響. 日作紀 68:199—205.
- Chibu, H. and H. Shibayama 2001. Effects of chitosan application on the growth of several crops. *CHITIN AND CHITOSAN—Chitin and Chitosan in Life Science—*. Kodansha Scientific LTD., Tokyo. 235—237.
- 千布寛子・芝山秀次郎・光富勝・有馬進 2002. キトサン処理がイネ及びダイズ茎葉部のキチナーゼ活性に及ぼす影響. 日作紀 71:212—219.
- 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—. 海と台地 2:15—19.
- 平野茂博 1988. 第6章 植物キチナーゼと病虫害に対する植物自己防護機能. キチン・キトサン研究会編, 最後のバイオマス—キチン, キトサン. 技報堂出版, 東京. 169—188.
- 星川清親 1996. 第19章 ダイズ. 新編食用作物. 齋賀堂, 東京. 441—443.
- 道山弘康 1993. キチン, キチンカルシウムおよびキトサンがイネの幼植物の生長に及ぼす影響. キチンおよびその関連物質の総合的利用に関する研究, (株)坂角総本舗受託研究報告書 2—17.
- 宮田善雄 1999. キトサン・モンモリロナイト混合剤による健康カイワレ育成法. キチン・キトサン研究 5:156—157.
- Pivabutr W., K. Suriyachan and S. Chandrkrachang 2001. Effects of chitosan on the growth of gerbera flower plant (*Gerbera Jamesonii*). *CHITIN AND CHITOSAN—Chitin and Chitosan in Life Science—*. Kodansha Scientific LTD., Tokyo. 198—201.
- 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.
- 山本晴彦・古賀大三・早川誠而・大方保祐・倉崎友和・遠山宏一 1998. キチンの土壤施用がイネの生育及び収量に及ぼす影響. 日作紀 67:452—456.

**Effects of Chitosan Application on the Shoot Growth of Rice and Soybean :** Hiroko CHIBU\*, Hidejiro SHIBAYAMA and Susumu ARIMA (*Marine and Highland Biosci. Cent., Saga Univ., Karatsu 847-0021, Japan*)

**Abstract :** The effects of 0.1% and 0.5% chitosan application on the shoot growth of rice and soybeans were investigated after incorporating it into soil before planting. In non-fertilized soil, plant heights, leaf numbers and SPAD values of rice increased, but in fertilized soil they did not increase by chitosan application. At an early stage, the growth of soybean was improved by the application, but later it became almost similar in applied and control plants. Differing from rice, the growth of soybean did not vary by chitosan application under fertilization. The effects of chitosan application on shoot growth improvement were considered to be different by crop.

**Key words :** Chitosan, Growth, Rice, Soil incorporation, Soybean.