

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

千布寛子*・芝山秀次郎・光富勝・有馬進

(佐賀大学)

要旨: イネ及びダイズを供試し、土壌混和によるキトサン処理を行った後、茎葉部のキチナーゼ活性の調査を行った。イネでは、無施肥条件で栽培すると苗移植後2週目の個体からキトサン処理によるキチナーゼ活性値の増加が見られ、移植後60, 90及び120日目の調査でも増加傾向が認められたが、施肥条件では影響は明瞭でなかった。ダイズでは、キトサン処理によるキチナーゼ活性値への影響は無施肥条件で見られる場合もあったが、明瞭でない場合もあり、作物によってキトサン処理の影響は異なった。

キーワード: イネ, キチナーゼ活性, キトサン, ダイズ, 土壌混和処理。

キチンやキトサンを農業分野に利用する研究は、すでにいくつか行われている。イネ、ダイズやダイコン等の作物では、キチン質の粉末を土壌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などの処理をすることにより、葉面積や乾物重等の地上部生育への促進効果 (Ali ら 1997, Chibu ら 1998, Chibu and Shibayama 2001, 福井ら 1989, 原田ら 1995, 次田 1995, 山本ら 1998), 植物体内キチナーゼや活性物質 (ファイトアレキシン) の増加作用 (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) などが報告されている。一方著者らは、キトサン粉末を土壌混和処理したハツカダイコンを用いて観察を行った結果、処理区では葉面積及び葉の乾物重など茎葉部及び根部の生育が促進されることを明らかにした (千布ら 1999)。

高等植物は構成成分にキチン質は含まないが、それを加水分解する酵素 (キチナーゼ) は存在している (古賀 1995)。この酵素の植物における機能は未だ充分には明らかにされていないが、病害虫に対する植物の自己防衛機能を高めているとされ、また植物種子をキトサン被覆することにより、種子発芽過程においてキチナーゼ活性が誘導されることや、キトサンが植物カルス形成を促進するとともにキチナーゼ活性を誘導すること、さらに、ダイコンの種子をキトサン被覆することにより収量が高まったことなどが報告されている (平野 1988)。そこでこのように、キトサン処理によりキチナーゼ活性が高まり、外敵に対する植物の自己防衛機能が作用し、細胞の生理活性を高めて生長が促進されるというメカニズムが、若干の研究者により推測されている (平野 1988, 次田 1995)。

一方植物は、病原菌の感染あるいは接触によりキチナーゼが誘導されるが、この酵素は病原菌の細胞壁のキチンを加水分解する溶菌酵素、すなわち生体防御酵素であることが解明されている (古賀 1995)。植物ではメロンの苗、トマトの葉及び根、エンドウのさや、オオムギの葉及び培養細胞、ブドウの果実、ニンジン培養細胞において、ウイルスや病原菌の感染あるいは種々の化学物質の処理下でキ

チナーゼが誘導されることが報告されており (古賀 1995, Kragh ら 1990, 1991, Uchida ら 2000), またジャガイモの塊茎やオオムギ、ハツカダイコン、ワサビなどの種子中にキチナーゼが存在することも報告されている (平野 1988, Kondo ら 1997, Yamamoto ら 1995)。しかし健全に生育中の植物体の場合、ダイズの葉 (Boller ら 1983) やキャベツの葉 (Chang ら 1992) などでキチナーゼ活性の測定が行われ、存在するという結果は得られているが、栽培条件や環境要因との関係は明らかになっていない。

そこで本研究では、イネ及びダイズを供試し、土壌混和によるキトサン処理をして生育をみるとともに (千布ら 2002), それらの茎葉部のキチナーゼ活性の測定を行い、生育時期によるキチナーゼ活性の変動、あるいは両作物におけるキチナーゼ活性への影響の差異等について調査した。

材料と方法

1. キトサン処理がイネ茎葉部のキチナーゼ活性に及ぼす影響

実験材料は前報 (千布ら 2002) と同一のものであり、バット (46×31×13 cm) あるいは 1/5000 a ワグネルポット内に畑土を充填して、キトサンを土壌新鮮重当たり 0.1 %あるいは 0.5 %の割合で混和処理した後、イネ (*Oryza sativa* L.) (品種: コシヒカリ) を移植し、生育させたものを使用した。実験は、1999年6月から2001年8月にかけて繰り返し行い、1999年の実験は無施肥区のみ、2000年の実験は無施肥区その他、イネ移植前にN成分量で3 g/m²の元肥 (N:P₂O₅:K₂O=14:16:14 %化成) (苗移植前日に土壌混和施用) 及び生育期間中 (移植後30日目) に追肥 (元肥の半量を表面施用) を行った区の2区、2001年は無施肥区とN成分量で6 g/m²の元肥 (同上化成) (苗移植前日に土壌混和施用) を行った区の2区を、それぞれ設けた。これらの実験区は、1999年は2反復、2000及び2001年は5反復として、移植後のイネは屋外あるいは無加温のガラス温室内で栽培し、生育期間中は適宜灌水して

湛水状態を維持した。

キチナーゼ活性の測定は、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年は苗移植後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。作物試料から粗酵素を抽出する際は、1999、2000年は個体が小さいために3～4個体ずつを合わせ、枯死葉を除く伸長～展開葉の葉身及び葉鞘すべて（茎及び穂は除く）供試し、植物体新鮮重100g当たりの酵素量を求めた。また2001年の調査では、不完全葉を第1葉として測定時期毎に無施肥、無処理区の個体を基準において展開している葉位の中で最も活動的とみられた採取葉を選び、それぞれ第5葉（苗移植後25日目、8.2葉期：無施肥、無処理区の場合、以下同様）、7葉（35日目、10.0葉期）及び8葉（45日目、11.1葉期）の葉身のみを測定に用いた。2001年の場合、キトサン処理区では無処理区に比べて個体の生育が進み、供試した個体の葉齢に1～2葉の違いがあり、分けつが成長していたが、採取葉の葉位はすべての区ともに同一とした。さらに葉位別のキチナーゼ活性を測定する際は、無施肥、無処理区の個体を用いて、苗移植後50日目に第8葉～11葉までの葉身のみを同時に採取した。

2. キトサン処理がダイズ茎葉部のキチナーゼ活性に及ぼす影響

実験材料は前報（千布ら 2002）と同一のものであり、ダイズ（*Glycine max* L. Merr.）（品種：フクユタカ）は、1999年～2001年に畑土壌をプランター（12×24×11 cm）あるいは1/5000 aワグネルポットに充填し、キトサンを土壌混和処理して6粒/プランター（208粒/m²）、あるいは4粒/ポット（200粒/m²）ずつ播種した。1999年及び2000年の実験では無施肥区のみ、2001年は無施肥区その他、N成分量で2 g/m²の元肥（同上化成）を行った区の2区を設けた。これらの実験区は1999、2000及び2001年共に4反復として、播種後のダイズは、屋外、自然光型グロースキャビネット（25℃一定、24時間明条件、夜間は蛍光照明）内あるいは無加温のガラス温室内で栽培し、生育期間中は土壌が乾燥しないように適宜灌水を行った。

キチナーゼ活性の測定は、1999年の調査では播種後30日目（第1本葉）、2000年は播種後30（第1本葉）、40（第3本葉）、50日目（第5本葉）及び60日目（第7本葉）、2001年は播種後30（第1本葉）、40（第3本葉）及び50日目（第5本葉）に行った。測定方法はイネの場合とおおよそ同様であるが、2枚の初生葉の次に出る葉を第1本葉とし、測定時期毎に最も活動的とみられた葉位を選び、それぞれ第1本葉（第5本葉出葉～第4本葉展開期：4.2葉期：無施肥、無処理区の場合、以下同様）、第3本葉（第7本葉出葉～第8本葉展開期：6.2葉期）、第5本葉（第10本葉出葉～第9本葉展開期：9.7葉期）及び第7

本葉（第12本葉出葉～第11本葉展開期：11.5葉期）を採取して調査に用いた。さらに葉位別のキチナーゼ活性を測定する際は、無施肥、無処理区の個体を用いて、播種後60日目に第5本葉～11本葉までを同時に採取した。

3. キチナーゼ活性の測定法

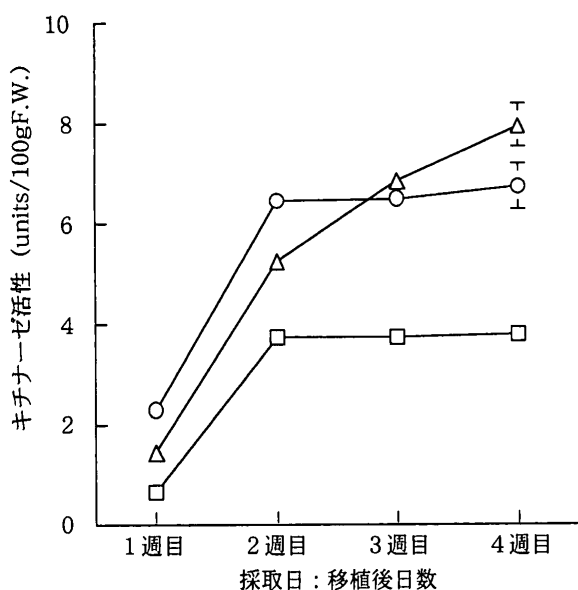
キチナーゼ活性の測定は大宝ら（1991）の方法に従い、各実験区毎にいくつか個体を混ぜ、それについて3回の測定を行った。粗酵素溶液の調製は4℃で行った。イネについては茎葉部を採取して精秤した後、新鮮試料を細かく切断し、4℃に冷却した0.05 M リン酸緩衝液（pH 6.8）を加えて（試料1gに対し緩衝液10 mL）ホモジナイズ（ポリトロン、Kinematica社製）した後、2重にしたガーゼで搾り抽出液を得た。抽出液は12000 rpm、30分間の遠心分離を行い、得られた上澄み液を20～80 %飽和濃度硫酸で塩析し、遠心分離で沈殿物を集めた。この沈殿物を少量の緩衝液（上記と同一）に溶解した後、透析チューブに入れて同緩衝液中で1晩透析した。透析後、不溶物を12000 rpm、20分間の遠心分離で除き、得られた上澄み液を粗酵素溶液とした。抽出液は、活性測定に使用するまで4℃で保存した。グライコールキチンを0.1 M Na₂HPO₄ - 0.05 M クエン酸緩衝液（pH 3.0）に0.05 %となるように溶解して基質に用いた。基質溶液1.4 mLに抽出した粗酵素溶液0.1 mLを加えて37℃で60分間反応させた後、Schales 試薬（0.05 %フェリシアン化カリウムを含む0.5 M炭酸ナトリウム溶液）2.0 mLを加えて反応を停止させ、15分間煮沸した。冷却後は420 nmにおける吸光度の減少を測定（Spectro photometer, 日立製 U-1500型レシオビーム分光光度計）した。上記の条件下で1分間に1 μmolのN-アセチル-D-グルコサミンに相当する還元糖を生成させる酵素量を1 unitと定義した。吸光度から算出したキチナーゼ活性値は、各作物茎葉部の植物重（F.W.）100 g当たりのunit値として算出し、キトサン処理による影響を比較した。

ダイズについてもイネの場合とほぼ同様であるが、粗酵素溶液の調製には0.1 M クエン酸ナトリウム緩衝液（pH 5.0）を使用し（試料1gに対し5～10 mL添加）、基質緩衝液は0.1 M Na₂HPO₄ - 0.05 M クエン酸緩衝液（pH 5.0）を使用した。

結 果

1. キトサン処理がイネ茎葉部のキチナーゼ活性に及ぼす影響

2000年5月に屋外、無施肥条件下で実験したイネについてみると、無処理区の個体においても、茎葉部のキチナーゼ活性は1週目から測定され、2週目には増加した。一方キトサン土壌混和処理区の個体では、キチナーゼ活性値は移植後1週目から無処理区より若干高く、2週目には大きく増加し、3週目以降は0.5 %処理区で増加が見られた

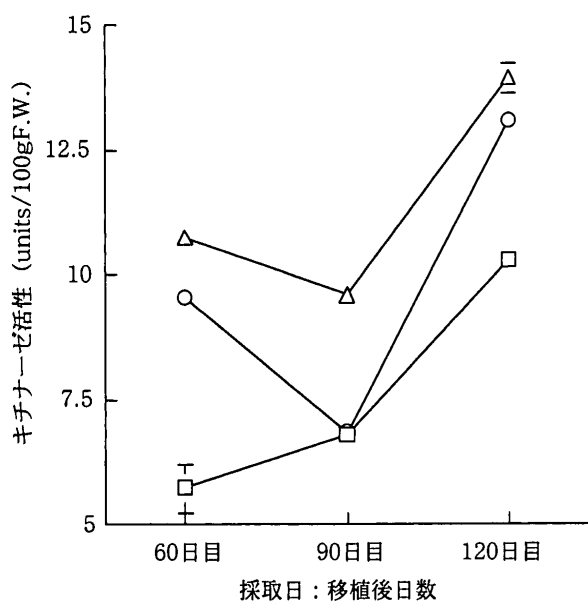


□: 無処理区, ○: 土壌混和 0.1% 区, △: 土壌混和 0.5% 区

第1図 無施肥区のイネの生育初期(葉身+葉鞘)におけるキチナーゼ活性の推移 (2000年5月23日移植, 屋外, 1/5000a ポット栽培)。

(F.W.: 植物体新鮮重, 以下同様)。

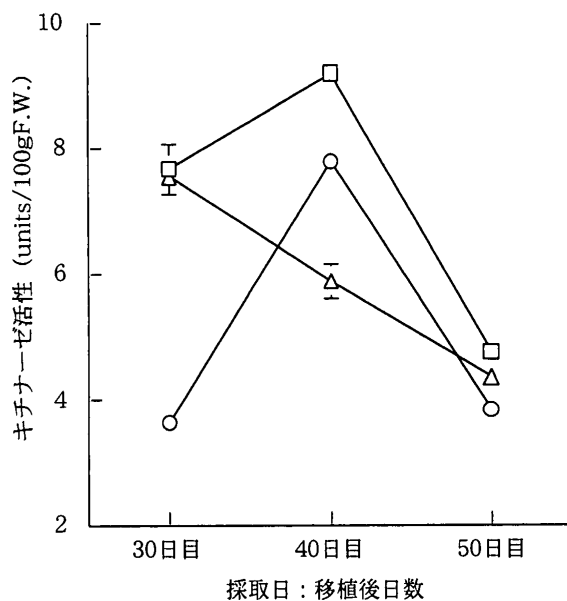
図中の縦棒は3回測定標準偏差を示し, ない場合も僅かであったためにグラフ作成上, 記載されなかったものである (以下同様)。



□: 無処理区, ○: 土壌混和 0.1% 区, △: 土壌混和 0.5% 区

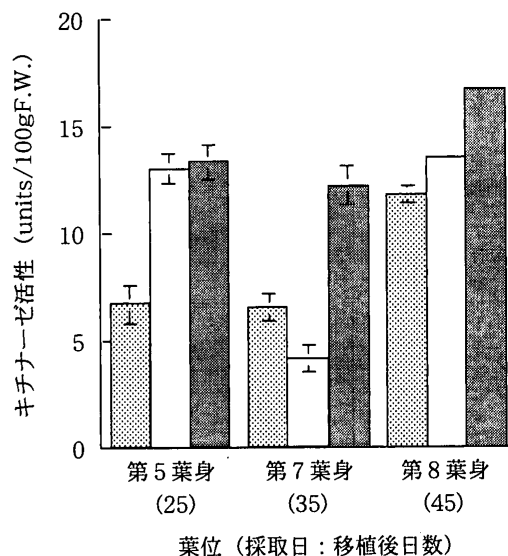
第2図 無施肥区のイネ(葉身+葉鞘)におけるキチナーゼ活性の推移 (1999年6月1日移植, ガラス温室内, プランター栽培)。

(第1図)。つぎに1999年6月にバットを用いて無施肥条件でガラス温室内で行った実験では, 移植後60日目でもキトサン0.1%及び0.5%処理区は無処理区よりキチナーゼ活性値が高く, その傾向は90及び120日目の調査でも認められた(第2図)。一方2000年6月に屋外栽培で元肥及び追肥を行ったイネについての実験結果をみると, キト



□: 無処理区, ○: 土壌混和 0.1% 区, △: 土壌混和 0.5% 区

第3図 施肥区のイネ(葉身+葉鞘)におけるキチナーゼ活性の推移 (2000年6月8日移植, 屋外, 1/5000a ポット栽培)。

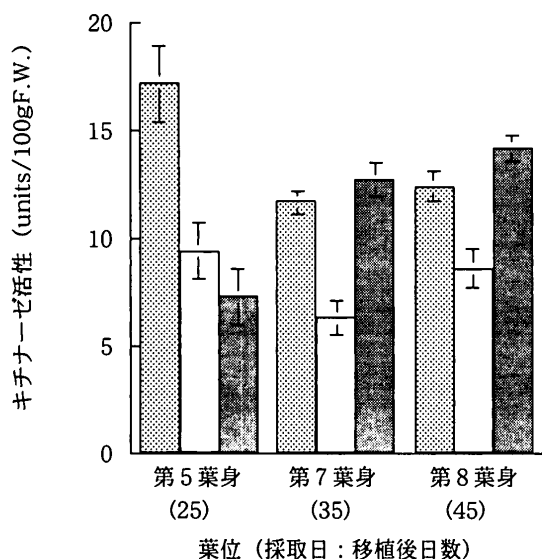


□: 無処理区, ○: 土壌混和 0.1% 区, △: 土壌混和 0.5% 区

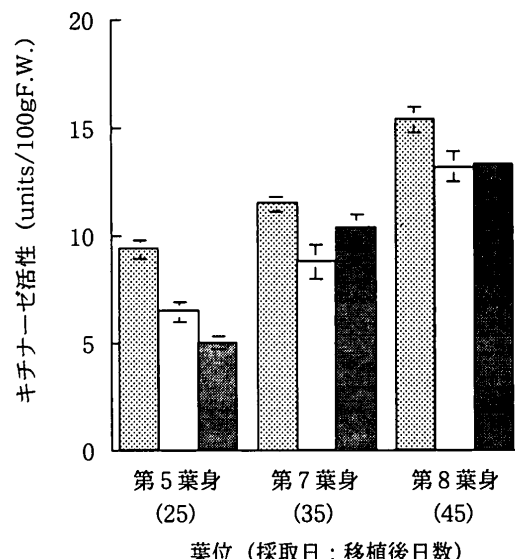
第4図 無施肥区のイネにおけるキチナーゼ活性の推移 (2001年6月25日移植, 屋外, 1/5000a ポット栽培)。

サン処理による増加傾向は認められなかった(第3図)。

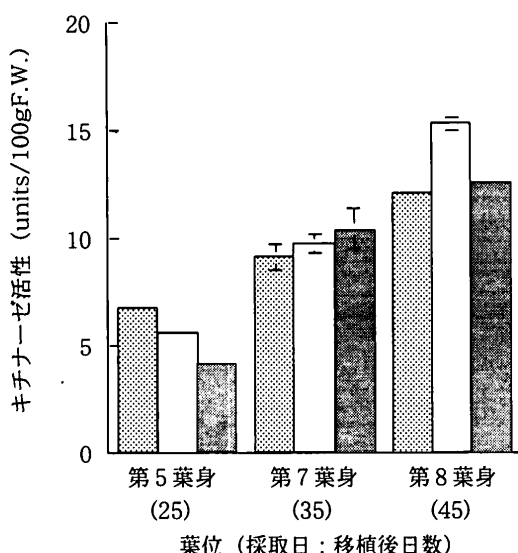
さらに, これらの結果を再確認するために, 屋外とガラス温室内あるいは施肥の有無によるキトサン処理の影響をみた(2001年5, 6月移植)。1999~2000年の実験では生育中の個体の葉身及び葉鞘全体(枯死葉は除く)を採取し測定に用いたが, この実験では各測定時期に無処理区で展開している葉位を基準として, それぞれ特定の葉身のみを採取して測定を行った。その結果, まず屋外栽培の無施肥条件では, 0.5%キトサン処理区のカチナーゼ活性は無処理区より高くなった(第4図)が, 施肥条件下では増加は



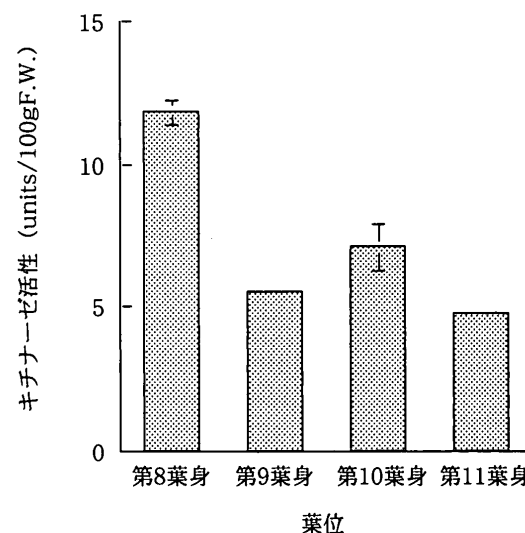
第5図 施肥区のイネにおけるキチナーゼ活性の推移 (2001年6月27日移植, 屋外, 1/5000a ポット栽培)。



第7図 施肥区のイネにおけるキチナーゼ活性の推移 (2001年5月24日移植, 温室内, 1/5000a ポット栽培)。



第6図 無施肥区のイネにおけるキチナーゼ活性の推移 (2001年5月22日移植, 温室内, 1/5000a ポット栽培)。



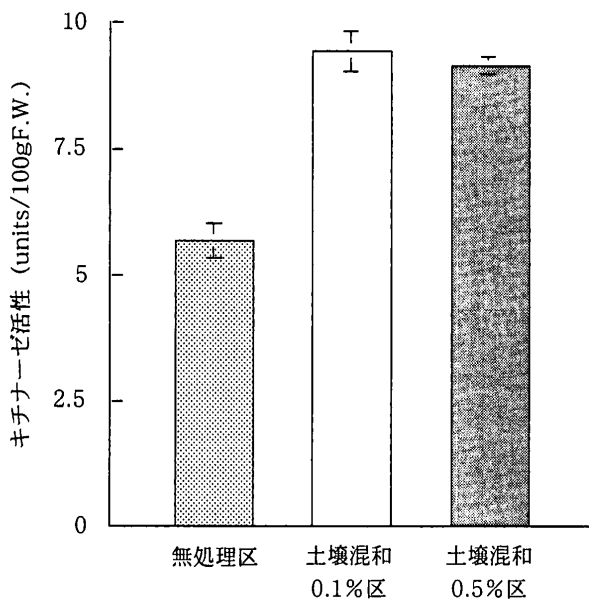
第8図 第12葉抽出～第11葉展開期 (11.6葉期) に採取した無処理区のイネ葉身における葉位別のキチナーゼ活性 (2001年6月25日移植, 屋外, 1/5000a ポット栽培) (移植後50日目)。

見られなかった (第5図)。次にガラス温室栽培の無施肥条件ではキトサン処理の影響はほとんど見られず (第6図), 施肥条件下では処理区は無処理区よりキチナーゼ活性が若干低い傾向が見られた (第7図)。無処理区については屋外と温室間で施肥の有無に関わらず, 活性値に大きな差異は認められなかった (第4～7図)。また, 葉位間でキチナーゼ活性値に違いがあるのではないかと考えたため, 屋外で無施肥で栽培した無処理区の個体について移植後50日目の第12葉抽出～第11葉展開期 (11.6葉期) に各葉を同時に採取して測定を行ったところ (第8図), 測定した葉位の範囲内では新しい葉ほど活性値は低いうで, 同一個体でも葉位 (あるいは葉の新古) によってキチナーゼ活性には差異があることが認められた。このように

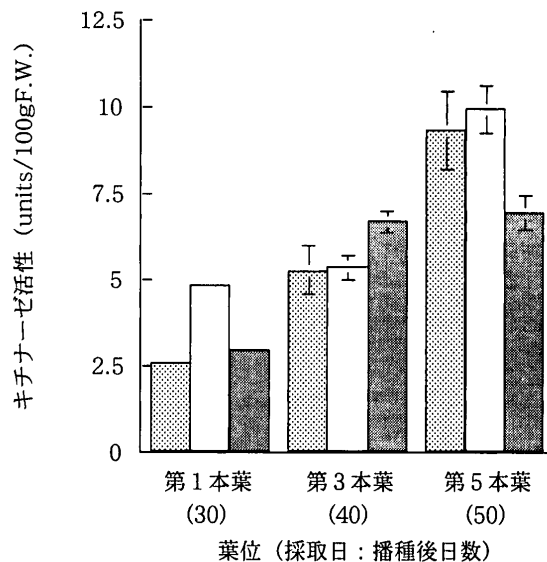
イネ茎葉部のキチナーゼ活性は, 無施肥, すなわち養分欠乏下ではキトサン処理によって高まる傾向があり, 本実験の範囲内では, 施肥条件下においては明瞭でなかった。

2. キトサン処理がダイズ茎葉部のキチナーゼ活性に及ぼす影響

ダイズについては, 1999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30日目の個体の茎葉部のキチナーゼ活性値は, 無処理区でも若干認められ, 土壌混和0.1%及び0.5%区ともにキトサン処理によって活性値が無処理区の約1.3倍になった (データ省略)。同様の条件下で2000年1月に行った実験では, 播種後30日目の個体の茎葉部のキチナーゼ活性を見ると,

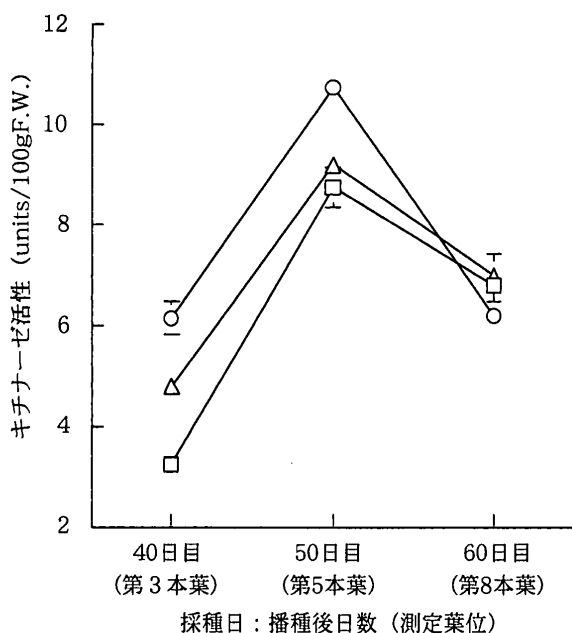


第9図 無施肥区のダイズにおけるキチナーゼ活性 (2000年1月26日播種, 自然光型グロースキャビネット内, 1/5000a ポット栽培) (播種後約30日目, 第2本葉の測定値).



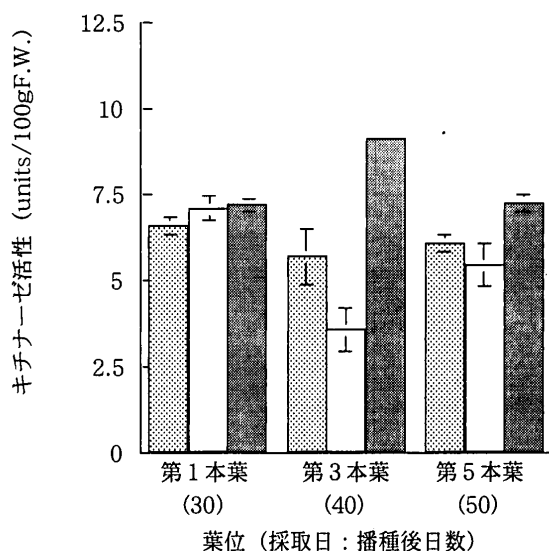
■: 無処理区, □: 土壌混和 0.1% 区, ■: 土壌混和 0.5% 区

第11図 無施肥区のダイズにおけるキチナーゼ活性の推移 (2001年6月13日播種, 屋外, 1/5000a ポット栽培).



□: 無処理区, ○: 土壌混和 0.1% 区, △: 土壌混和 0.5% 区

第10図 無施肥区のダイズにおけるキチナーゼ活性の推移 (2000年5月23日播種, 屋外, 1/5000a ポット栽培).



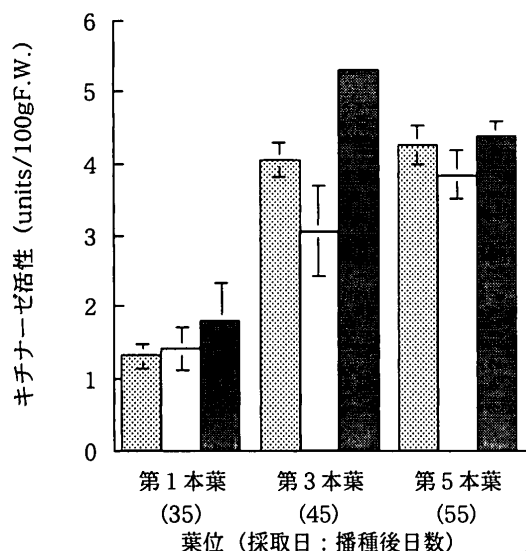
■: 無処理区, □: 土壌混和 0.1% 区, ■: 土壌混和 0.5% 区

第12図 施肥区のダイズにおけるキチナーゼ活性の推移 (2001年6月15日播種, 屋外, 1/5000a ポット栽培).

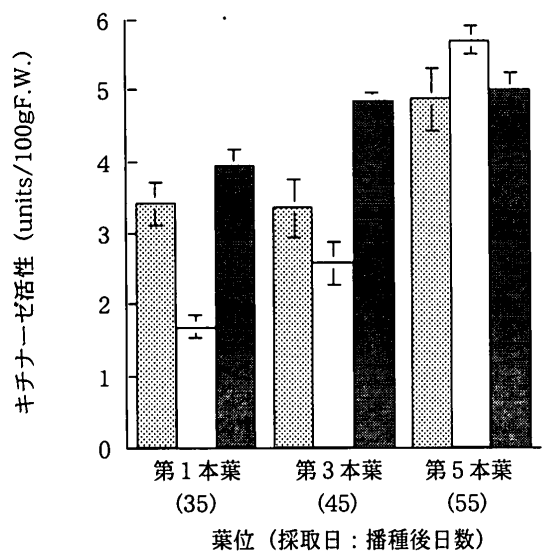
キトサン土壌混和 0.1% 及び 0.5% 処理区ともに活性値が無処理区の約 1.5 倍になった (第9図). つぎに 2000 年 5 月に屋外, 無施肥で行った実験において, 播種後 40, 50 及び 60 日目と生育経過を追って調査すると, キトサンの土壌混和区では, 40 及び 50 日目は無処理区より高い活性値であったが, その後は無処理区と差異はなくなった (第10図).

これらの結果の確認及びイネにおける活性値との比較のために, 屋外とガラス温室内あるいは施肥の有無下で栽培実験を行い, キトサン処理の影響をみると (2001 年 4, 6

月播種), 測定時期毎にダイズ体内のキチナーゼ活性値は変動しており, キトサン処理の影響は明確でなく, また一定した傾向は認められず, 施肥の有無, 屋外と温室等, 栽培条件の違いによる影響は認められなかった (第11~14図). しかし特に 0.5% キトサン処理区について見ると, 屋外栽培で無施肥の場合 (第11図) を除いて無処理区よりキチナーゼ活性が若干高まる場合もあり, キトサン処理濃度による影響の違いも見られた (第12~14図). つぎにダイズ本葉の葉位によりキチナーゼ活性に違いがあるのではないかと考えられたため, 屋外, 無施肥で栽培した無処理区の個体について, 播種後 60 日目の第12本葉出葉~第11本葉展開期 (11.5 葉期) に各葉を同時に採取して葉位別の測定を行ったところ, 調査した葉位の範囲内では活性



第13図 無施肥区のダイズにおけるキチナーゼ活性の推移 (2001年4月10日播種, 温室内, 1/5000a ポット栽培).

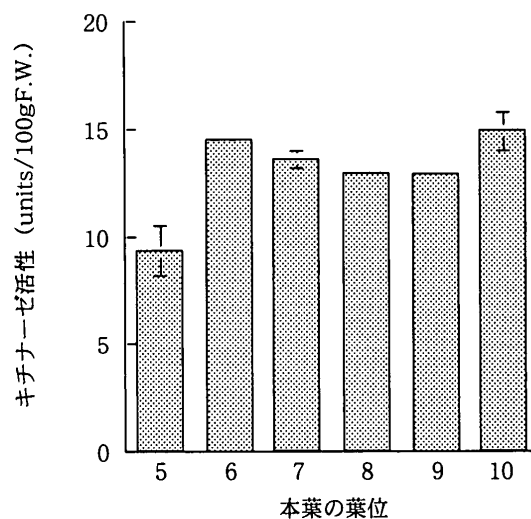


第14図 施肥区のダイズにおけるキチナーゼ活性の推移 (2001年4月12日播種, 温室内, 1/5000a ポット栽培).

値は新しい葉で高く, 第5葉は低かった (第15図). このようにダイズの茎葉部のキチナーゼ活性は, イネの場合と同じく無施肥条件下ではキトサン処理により活性が高まる場合もあったが, 施肥区でも同様の測定例があり, 共に変動は大きく明確な傾向は認められなかった.

考 察

一般に生育中の植物体のキチナーゼ活性の測定はあまり行われていないが, メロンの苗, トマトの葉及び根, エンドウのさや等でキチナーゼが誘導されることが報告されており (古賀 1995), キャベツやダイコンについても 0.1~2.0 units/100 g F.W. のキチナーゼ活性値が報告されている (平野 1988). 本研究では, イネとダイズにつ



第15図 第12本葉出葉~第11本葉展開期 (11.5葉期) に採取した無処理区のダイズにおける葉位別のキチナーゼ活性 (2001年6月13日播種, 屋外, 1/5000a ポット栽培) (移植後60日目).

いてキチナーゼ活性を測定した結果, キトサン無処理区でも 0.5~9.0 units/100 g F.W. (新鮮重) 程度の活性値が得られ, これらの作物の正常な生育条件下で体内のキチナーゼ活性が高まっていることが示唆された.

またキトサン処理によるイネ茎葉部のキチナーゼ活性への影響をみると, キトサン0.1%及び0.5%土壌混和处理をして無施肥でイネを生育させた場合, 処理によりイネのキチナーゼ活性値は高くなり (第1図), その傾向は移植後60日目, 90日目及び120日目の調査でも認められた (第2図). 一方施肥区のイネでは, 50日目にはキチナーゼ活性値も低下しており (第3図), 施肥条件ではキトサン処理が生育に及ぼす影響は明瞭でない (千布ら 2002) ことと一致している. 本研究では, キトサン処理の効果を確認するために水田で普通に栽培するイネと比較して無施肥あるいは少肥による養分欠乏状態で生育させており, 今後はさらに十分な栄養条件下で生育する個体についても, 体内キチナーゼ活性への影響等を調べる必要がある. またイネ苗移植後4週目程度の個体ではキトサン処理により草丈及び葉齢にそれほど大きな差異は見られないが, 移植後60日目以上の個体では草丈, 葉齢及びSPAD値に大きな差異があった (千布ら 2002) ことを考慮すると, それがキチナーゼ活性にも影響を与えたことが考えられる.

つぎにイネの生育段階の他に, 個々の葉とキチナーゼ活性との関係も検討する必要があると思われるため, 2001年は材料の採取方法を改めて葉位別に葉身のみを採取し, キチナーゼ活性を測定した. そして同一個体でも成長段階の異なる葉位間で活性値に差異が見られ, 新しい葉位の方が活性値は低かった (第8図) ことから, 伸長期の葉よりも展開期の葉の方がキチナーゼ活性は高くなっているのではないかと考えられた. しかし本実験の範囲内では, 各生育段階にどの葉位の葉で高い活性が現れるのか, 同一葉で

も成長に従って活性が変化していくのか、あるいはキトサン処理によるキチナーゼ活性への影響はこれらのどのような段階に現れるのか等の点は未調査であり、今後明らかにしていきたい。さらにイネについては、各葉鞘、茎、分けつあるいは根部についても影響を調査してみたいと考えている。

ダイズについては、2000年に行った無施肥条件の実験ではキトサン処理により播種後30日目のキチナーゼ活性は高まった(第9図)が、播種後60日目の調査では無処理区の活性値とほとんど差異はなかった(第10図)。2001年の結果では、施肥の有無に関わらず屋外栽培の方がガラス温室の場合よりも活性値が高かったが、環境として温室の方が若干高温で土壌が乾きやすかった等の栽培環境の違いが影響を与えたのではないかとと思われる。また同一個体から同時に採取した葉について葉位別のキチナーゼ活性を測定したところ(第15図)、上述のイネの場合とは異なり新しい葉の方がキチナーゼ活性は高いという結果であったが、本実験の範囲内ではダイズの生育段階や葉の採取時期と活性値との関係は明らかでなく、キトサン処理の影響がどの生育段階のどの葉位に現れやすいか、さらに調査を行いたい。

前報では、キトサン処理によるダイズの生育への影響は小さいことを報告している(千布ら 2002)が、キチン及びキトサンの土壌混和処理あるいは葉面散布処理は、ダイズの根粒形成を促進すること(Aliら 1997)や茎葉部の生育や子実収量を促進すること(原田ら 1995)が報告されている。ダイズ茎葉部の他に根部についてもキトサン処理によるキチナーゼ活性への影響を調査し、上記の点についても今後確認していく必要がある。

以上のごとく本研究では、施肥の有無及び屋外あるいは温室栽培という異なる環境下でイネ及びダイズを生育させ、キトサン処理によるキチナーゼ活性値への影響を調査したが、特にダイズについてはキトサン処理による影響は明確ではなかった。今後は他の作物についても、キトサン処理による生育経過とキチナーゼ活性への影響について調査を行いたい。最後に、キトサン処理のイネやダイズの生育への影響については、キトサン分子のアミノ基からのN成分放出によると思われる施肥効果等を推測している(千布ら 2002)が、それ以外の生育向上への効果等については、種々な生育条件下におけるキチナーゼ活性を調査し、さらに検討を行う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.
- Boller, T., A. Gehri, F. Mauch and U. Vogeli 1983. Chitinase in bean leaves: Introduction by ethylene, purification, properties and possible function. *Planta* 157: 22—31.
- 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.
- Chang, C.T., H.F. Lo, C.J. Wu and H.Y. Sung 1992. Purification and properties of chitinase from cabbage. *Biochem. Intern.* 28: 707—715.
- 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. 3rd Asian Crop Sci. Conf.) 215—226.
- 千布寛子・芝山秀次郎・有馬進 1999. キトサンの土壌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・有馬進 2002. キトサン処理がイネ及びダイズの茎葉部生育に及ぼす影響 71: 206—211.
- 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・椛島利恵 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. 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.
- 古賀大三 1995. 基礎編 第1章 キチン, キトサンの生物学. 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. 15—30.
- 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. 土壌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.
- Kondo, K., M. Matsumoto, R. Maeda and S. Kato 1997. Purification and characteristics of chitinase from Japanese radish seeds. *J. Chem. Eng. Jpn.* 30: 1140—1143.
- Kragh, K.M., S. Jacobsen and J.D. Mikkelsen 1990. Induction, purification and characterization of barley leaf chitinase. *Plant Sci.* 71: 55—68.
- Kragh, K.M., S. Jacobsen, J.D. Mikkelsen and K.A. Nielsen 1991. Purification and characterization of three chitinases and one glucanase accumulating in the medium of cell suspension cultures of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Sci.* 76: 65—77.
- Mitchell, R. and M. Alexander 1961. Chitin and the biological control of *Fusarium* diseases. *Plant Disease Rept.* 45: 487—490.
- 大宝明・古賀大三・平野茂博 1991. 第8章 キチナーゼ活性の測定法. キチン, キトサン研究会編, キチン, キトサン実験マニュアル. 技報堂出版, 東京. 105—129.
- 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.
 Uchida, T., K. Yokotsuka and T. Takayanagi 2000. Purification and characterization of elicitor-induced chitinase from grape berries. *J. Appl. Glycosci.* 47: 163—168.
 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.

キチンの土壌施用がイネの生育及び収量に及ぼす影響. 日作紀 67: 452—456.
 Yamamoto, Y., Y. Fukunaga, H. Aoyagi and H. Tanaka 1995. Purification and characteristics of chitinase secreted by cultured *Wasabia japonica* cells. *J. Ferment. Bioeng.* 80: 148—152.

Effects of Chitosan Application on Chitinase Activity in Shoots of Rice and Soybean: Hiroko CHIBU*, Hidejiro SHIBAYAMA, Masaru MITSUTOMI and Susumu ARIMA (*Marine and Highland Biosci. Cent., Saga Univ., Karatsu 847-0021, Japan*)

Abstract: The effects of chitosan application on chitinase activity of rice and soybeans were investigated after incorporating it into soil before transplanting or seeding. In non-fertilized soil, the chitinase activity of rice increased from a chitosan application 2 weeks after transplanting, and it was continuously higher than control on 60, 90 and 120 days after the application. In fertilized soil, however, its effect was not clear. The effects of chitosan application on the chitinase activity of soybean were occasionally observed only in non-fertilized soil, and these effects of chitosan were found being different by crop.

Key words: Chitinase activity, Chitosan, Rice, Soil incorporation, Soybean.

書 評

「日本帰化植物写真図鑑 —Plant invader 600 種—」清水矩宏・森田弘彦・廣田伸七 編・著. 全国農村教育協会, 東京. 2001 年, 554 頁, 4300 円.

「待てど暮らせど来ぬ人を宵待草のやるせなさ」と歌った竹久夢路や「富士には月見草がよく似合う」と書いた太宰治は戦前のことだが, 戦後の帰化植物と言えは一時花粉症の原因として話題になったブタクサやセイタカアワダチソウをまず思い浮かべるのではないのでしょうか. 最近全国で今までに見たことのない帰化植物が増えている. 筆者が住む東広島市の黒瀬川河川敷にもツルを長く伸ばしたアレチウリが見渡す限りおおいづくす一角がある. また, つくばに行くたびに気になるのが, 農林研究団地内の植え込みのサツキから顔を出しているワルナスビだ. 葉や茎にはバラのようなトゲがあり, 注意しながら抜いてみると長い根茎が延々と続いている.

これら新しい侵略者 Plant invader については, 数年前 NHK クローズアップ現代でも取り上げられ, 現・農業技術研究機構・畜産草地研究所の清水矩宏氏が説明されていた. 氏によると, 世界の農産物市場の急速な自由化に伴って, 飼料用の輸入穀類に混入した雑草種子から畜産農家の飼料畑を中心に新しい雑草が侵入し深刻な被害を与えている. 旺盛な繁殖力でトウモロコシなどの生育を抑えるだけでなく, ワルナスビやハリビユの鋭いトゲ, チョウセンアサガオ類やアメリカイヌホオズキの有毒成分, カラクサナズナやイチビの匂い成分は乳牛の採食障害や異臭乳の原因となり, 緊急に対策を練っているとのことであった.

一方, 帰化植物にはしぶとい嫌われものばかりでなく美しいものもある. 私にとって最も印象の強いものはヤナギハナガサ (別名プエノスアイレスパーベナ) である. 島根県の廃寺跡に列条に植えられ, すくとした緑の茎の頂に紫の集合花がついた姿は暑い夏に清涼感を与えていた. 水田や道路の法面には, シバザクラやオオキンケイギクなどいわゆるカバープランツやワイルドフラワーが景観作物としてよく植えられる. オオケタデやイモカタバミをプランターに植えて花を楽しむ人も多い. 野菜や果物に匂がなくなり, 都会人が春夏秋冬の季節感を感じるのは道路わきのマツヨイグサ, アカツメクサやカモガヤ (オーチャードグラス) などの開花かもしれない.

この本には 630 種のカラー写真が, 在来種との識別ポイントなどの解説, 各生育時期や種子の写真とともに載っている. また, 東京都木場公園にはボランティアによって維持されている入場無料の帰化植物見本園があるとのこと (廣田). 学会のついでに訪れてみたい. 全農教からはこの本以外にも「校庭の雑草」(岩瀬徹ら著, 1905 円), 「校庭の作物」(板木利隆ら著, 1905 円) など野外観察や学校教育のための好著が多く出版されている. 年 30 種のペースで新しい帰化植物が増え続けているという (森田). まず身近な植物の名前を知ることから環境教育を始めませんか.

(広島県立大学 猪谷富雄)