

大西 - 育苗時におけるキトサン含有溶液の施用が水稻苗の生育に及ぼす影響

育苗時におけるキトサン含有溶液の施用が水稻苗の生育に及ぼす影響

大西政夫

島根大学生物資源科学部

年 月 日受理・連絡責任者：大西政夫 〒690-1102 島根県松江市上本庄町 2059

本庄総合農場 TEL 0852-34-0311 FAX 0852-34-1823 ohnishi@life.shimane-u.ac.jp

要旨：水稻の育苗時にキトサン含有溶液を施用した場合の窒素成分以外の生育促進効果があるかどうかを調査した。キトサン含有溶液施用区は、キトサン溶液を吸水させて催芽処理した種子浸漬区、発芽後にキトサン溶液を2回散布した散布区、育苗全期間にわたりキトサン溶液に浸漬した苗浸漬区を設けた。各キトサン含有施用区とも、対照区より苗の生育がわずかに促進される傾向を示したものの、有意差はあまり認められなかった。しかし、全ての施用区をこみにして、キトサン含有溶液の施用の有無のみでその効果をみると、キトサン含有溶液の施用により、葉齢ならびに葉身、葉鞘+稈および全植物体の3つの乾物重、そして葉身および全植物体の2つの窒素含有量の計6つの苗形質が優位に大きくなった。

これらの形質においても、キトサン含有溶液の施用により促進効果が認められない事例もあったものの、生育期間の平均気温が上昇するとともに促進効果が大きくなり、20~22 以上では促進効果が認められない事例数が減少する傾向が明らかになった。以上より、今回用いたキトサン含有溶液を水稻育苗時に施用すると、苗の生育を僅かに促進する効果が期待でき、特に生育期間の平均気温が20~22 以上では、促進効果を示す場合が多いと考えられる。

キーワード：乾物重、キトサン、水稻、生育、窒素含有量、苗

Effects of Application of Chitosan solutions on Growth of Rice Seedlings: Masao OHNISHI(Fac.of Life and Environmental Science,Shimane Univ.,Matsue 690-1102,Japan)

Abstract: The effects of application of chitosan solutions on growth of rice seedling were investigated.Chitosan solutions were applied to seed by solution absorption at pre-germination treatment,solution spray or continuousaddition of flooded water.Rice seedlings were grown under submerged condition in the temperature gradient chamber.Although each chitosan treatment slightly promoted seedling growth,significant difference by paired.It was seldom found.

However,when all application treatment were tested together,the significant differences were found statistically in leaf number,dry weight and the amount of nitrogen absorption. The promotion effect of chitosan increased with higher mean temperature during seedling growth period. These results indicated that chitosan application slightly promoted the growth of rice seedlings,especially more than 20-22 of mean air temperature during seedling growth period.

Key words: Chitosan, Dry weight, Growth, Nitrogen, Rice, Seedling

キトサンやキチンの土壌混和、その溶液の直接散布、あるいは溶液中への種子浸漬により、作物の生育促進を図る研究が数多く行われている。なかでも、10000~24000粒 $\text{mL}^{-1}$ の種子の極めて小さく、播種6~13週後の1苗当たりの全乾物重が4mg~3mgと播種後の生育が遅い花卉類(トレニア、エキザカム、ペコニア、グロキシニア、ミムラス、カルセオラリア、カンパニュウラおよびトルコギキョウ)では、キトサンを1%混和した土壌へ播種した場合、播種6~13週後の全乾物重は、キトサンに含まれる窒素重と同量の窒素肥料を施用した区(対照区)の2.1倍~29.3倍に増大したこと、およびその苗をキトサン無施用の土壌に定植した場合の一番花開花日は、トレニア、エキザカム、ペコニア、グロキシニア、ロベニア、ミムラスおよびトルコギキョウの7種で、2日~40日早くなることが報告されている(Ohta et. Al., 1999, 2000, 2001, 2004a, 2004b)

一方、圃場作物であるイネやダイズでは、上記の9種の花卉類と比較すると種子が大きく、種子中の養分が多いため、播種後の生育は極めて速く、播種8週後の1苗当たりの地上部乾物重は、水ストレスと夜間の低温にさらされるオーストラリアの乾田直播条件下のイネでも約600mg(大西 1995)、水ストレスを受けやすい砂丘畑のダイズでも約25g(中野ら 2005)に達する。このように生育の速い稲においても、無窒素もしくは低窒素肥料条件下でキトサンやキチンを土壌に施用すると、無施用区より草丈、葉齢、分けつ数、SPAD値(葉色)およびキチナーゼ活性(千布ら 2002a、2002b)が有意に増加したことおよび乾物重と収量(山本ら 1998)が化成肥料区と同程度となったことが報告されている。同様に、ダイズでもキトサンやキチンを土壌に施用すると生育後期の根粒菌形成、窒素固定能、乾物重、窒素吸収量および収量(Ali et. Al. 1997)やキチナーゼ活性(千布ら 2002b)が有意に増加したことが報告されている。しかし、これらの促進効果は最大でも無窒素区の1.5倍程度であり、また、必ずしも一定した促進効果を得られていない。

さらに、土壌中の窒素量が少ないほど、キトサンやキチン中の窒素成分による窒素肥料効果の影響が大きい可能性が指摘されている（千布ら、200a）。

これらのことより、貯蔵養分が多く生育速度が速い、すなわち種子や植物体が大きい作物のほうは小さい作物より、キトサンやキチン中の窒素成分以外の効果、すなわち、キトサンやキチンの施用による植物病原菌の生育阻害等による土壌微生物相の変化（孫工・野村 1998）やエリシター効果（渋谷ら 1996、鈴木・進士 1998）といわれる病原体の細胞壁を加水分解する生体防御酵素のキチナーゼ（古賀 1995）活性の向上による根（Ohta et. Al.,2001）や細胞の活性化、等の効果が極めて小さいと考えられる。

このように、生育速度の速いイネやダイズのような作物におけるキトサンやキチン施用による窒素成分以外の生育促進効果の有無を確認するとともに、その効果の大きさを定量化するためには、花卉類等の園芸作物で既に効果が確認されているキトサン含有資材を少量施用して、生育量自体の小さな生育初期に繰り返して試験を行い、試験回数を増加させて統計処理による検定精度をあげる必要があると考えられる。

そこで、本研究では、花卉類等の園芸作物で既に効果が確認されている市販品のキトサン含有溶液を水稻育苗時に施用した場合の初期成育に及ぼす影響を6年間にわたり調査し、キトサン含有溶液の施用による窒素成分以外の生育促進効果の有無とその効果の大きさを明らかにしようとした。

## 材料及び方法

2002年～2007年の各年3月から7月にかけて、島根大学生物資源科学部附属生物資源研究センター本庄総合農場において計5作期を設けて、水稻の育苗試験を行った。

水温20度で4～5日吸水させる催芽処理を行った水稻品種コシヒカリの種子を供試し、

2002 年は育苗箱 1 箱当たり乾粕 130g もしくは 50g、2003 年～2007 年は、育苗箱にペーパーポット( 水稲用 R-7、日本甜菜糖株式会社製、18 列×38 列の計 684 ペーパーポット、1.5cm 角×深さ 3cm ) を装着し、1 ポット 1 粒で播種した。育苗用培土は、全年次とも、水稲育苗培土( 商品名グリーンソイル中間地用および覆土用、出雲グリーンエポック株式会社製、育苗箱 1 箱当たり土壌 4kg、N0.9g、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>1.1g、K<sub>2</sub>O1.0g ) を用いた。

キトサン含有溶液としては、2002 年～2005 年にはキトサン含有率 10% の A 溶液( 商品名バイオキトサン G-1、株式会社モア・フレッシュ製、窒素含有率 1.7g L<sup>-1</sup>、第 1 表脚注参照 ) を、2005 年～2007 年にはキトサン含有率 5% の B 溶液( 商品名 北海グリーン、椿原商店製、窒素含有率 0.4768%、第 1 表脚注参照 ) をそれぞれ用いた。また、2004 年にはキチン・キトサン粉末( 混合比 10 : 1、商品名バイオキトサン、株式会社モア・フレッシュ製 ) を用いた土壌混和処理も行った。

キトサン含有溶液の使用量が少なく、窒素成分以外の生育促進効果の有無を検証する施用区として、以下の 4 試験区を設けた。第 1 に、700 倍希釈したキトサン溶液で催芽処理を行った種子浸漬区、第 2 に 700 倍希釈したキトサン溶液 320ml 箱<sup>-1</sup> を出芽 0～2 日後および 7～9 日後の 2 回、ジョウロで与えた散水区、第 3 に出芽直後から育苗箱を 4000 倍希釈したキトサン溶液に浸漬した苗浸漬 4000 倍区、および第 4 に、出芽直後から育苗箱を 2000 倍希釈したキトサン溶液に浸漬した苗浸漬 2000 倍区である。そして、キトサン資材の使用量が多く、その窒素成分を含めた生育促進効果の有無を検証する施用区としての土壌重量の 0.11% のキチン・キトサン粉末( 混合比 10 : 1 ) を育苗培土に混和した土壌混和区を設けた。これらの種子浸漬区、散水区、苗浸漬 4000 倍区、苗浸漬 2000 倍区および土壌混和区の 1 箱あたりのキトサン資材の使用量は、それぞれ 0.05ml、0.9ml、1.2～2.5ml、2.5～5ml および 4.4g であった。また、キトサン資材無使用の対照区を設けた。上記の試験区はいずれも、播種後 32 の育苗器内で出芽させた後、育苗箱を温度傾斜型温室( TGC )( Horie et

al.,1995)の外気入口から0m付近(外気温区)あるいは入口から12.5m付近(高温区)に搬入して、温度処理を行い、調査時まで生育させた。搬入した育苗箱は、幅60cm、長さ80cm、深さ6cmのバット内に入れ、その水深を3~5cmに保った。これらの作期、温度処理およびキトサン施用方法を組み合わせた64施用区とその対照区の27区の計91区で実験を行った。(第1表)なお、散水処理は、育苗箱をバットの外に出してからジョウロで与え、散水後、再び育苗箱をバット内に入れた。

調査は、2002年は葉齢がおよそ4.0に達したときに、直径6.5cmのコアで1箱当たり3ヵ所打ち抜いて、その全固体の草丈、葉齢、分けつ数を測定した。そして、葉身、葉鞘+稈および根の器官別に分けて、採取した箇所ごとに通風乾燥室内で80℃で7日間以上乾燥後、乾物重を測定した。2003年~2007年は、葉齢がおよそ5.0に達したときに、1箱当たり2列×10列の計20個体を3ヵ所でとり、2002年と同様の方法で調査を行った。1処理区1~3枚の育苗箱を用いた。

個体別乾物重を測定後、処理区別にコーヒーマルで粉碎し、チャック付きのビニール袋に入れて、窒素分析を行うまで保管した。窒素は、ミクロケルダール法により測定した。

統計処理は、対照区とそのキトサン施用区という対応のある場合の平均値間の差の検定を行った。(鐵健司 1986)

なお、今回、温度処理に用いたTGCは、本庄総合農場に設置した全長17.5m、幅4.8m、その内部に1.8m×15m、深さ1.0mの模擬水田とその水田の横に2.8mの通路を有するもので、温度制御は温度センサーにより、TGCの奥に設置した排気ファンの回転速度を制御することで行っている。本試験はバットをこの通路に置いてその中に育苗箱を入れて行った。

## 結果

対照区と各キトサン施用区における各苗形質の平均値と対応のある場合の平均値間の差の

検定結果を第 2 表に示す。キトサンの施用方法別にみると、有意差が認められた苗形質は、窒素成分以外の生育促進効果の有無を検証する区である B 液の散水区の葉齢、A 液の苗浸漬 2000 倍区の葉身窒素含有および全植物体窒素含有の窒素含有量の 3 つの苗形質、そしてキトサン資材中の窒素成分による生育促進効果を含む土壌混和区である 5 つの苗形質（葉身乾物重、葉鞘 + 稈窒素含有率ならびに葉身、葉鞘 + 稈および全植物体のそれぞれの窒素含有量）のみであった。しかし、施用方法に関わらず、ほとんど全ての苗形質において、キトサン施用区の方が対照区より大きくなる傾向が認められた。その生育促進率である対照区を 100 としたときの相対値はキトサン資材の使用量の多い土壌混和区では、最大 121、キトサン含有溶液の使用量の少ない土壌混和区以外の施用区では最大 112 であった。

次に、キトサン含有溶液の種類とその含有率や施用方法の違いを込みとして、今回用いたキトサン含有溶液の施用による窒素成分以外の生育促進効果の有無を調べるため、土壌混和区を除く全てのキトサン含有溶液施用区と対照区との間で有意差検定を行った。その結果、葉齢ならびに葉身、葉鞘 + 稈および全植物体の 3 つの乾物重そして葉身および全植物体の 2 つの窒素含有量の計 6 つの苗形質において、キトサン含有溶液施用区の方が有意に高いことが認められ、対照区を 100 としたときの相対値は最大で 106 であった。また、有意差が認められなかった残りの 8 つの苗形質（草丈、分けつ数、根乾物重、葉身、葉鞘 + 稈および根の 3 つの窒素含有率そして葉鞘 + 稈および根の 2 つの窒素含有量）も、キトサン施用区の方が対照区よりも大きくなる傾向を示した。

土壌混和区を除く少量のキトサン含有溶液を施用した区について、対照区を 100 としたときの各苗形質と育苗期間中の平均気温との間の単回帰係数、回帰定数および相関係数を第 3 表に示す。草丈と 3 つの窒素含有率（葉身、葉鞘 + 稈および根）を除く 10 の苗形質で、その相関係数は 0.265 ~ 0.549 と小さいものの、有意な正の相関関係が認められ、生育期間の平均気温が上昇するとともに促進効果が大きくなった。有意な相関が認められなかった草丈

と3つの窒素含有率では、回帰係数が負もしくは0となった。キトサン含有溶液施用区の方が対照区より有意に高いことが認められた6つの苗形質について、生育期間の平均気温との関係をみると、その相対値が100以下を示す事例があるものの、20~22 以上ではその事例数が減少した(第1図)。

## 考察

水稻の育苗時にキトサン資材を施用した場合、その施用方法にかかわらず、各苗形質の平均値は対照区よりも大きくなる傾向を示したものの、サンプル数14以下では、有意差はほとんど認められなかった。しかし、キチンとキトサン粉末を用いた土壌混和区を除く全てのキトサン含有溶液施用区(サンプル数54)で、キトサン含有溶液の施用による窒素成分以外の生育促進効果の有無をみると、測定した全14の苗形質のうち葉齢ならびに葉身、葉鞘+稈、全植物体の3つの乾物重、葉身および全植物体の2つの窒素含有量の計6つの苗形質で有意差が認められ、その促進効果は、対照区を100とした場合の相対値で最大で106であった。すなわち、今回用いた2種類のキトサン含有溶液はそのキトサン含有率や他の溶液成分は異なるものの、これらを何らかの方法で水稻苗に少量施用すると、その生育をわずかに促進する効果があるといえる。

Ohta et. Al (2000) は、キトサンには約8.7%の窒素が含まれており、その窒素肥料効果がキトサンの生育促進効果につながる可能性を指摘している。本実験の場合、1箱当たりのキトサン施用の最大使用量は土壌混和区のキトサン・キチン粉末4.4g、次いでキトサン含有率5%のB溶液を使用した苗浸漬2000倍区の約5mlであった。本研究で用いたキトサン・キチン粉末の窒素含有率は測定していないもののキトサン中の窒素含有率8.7%を用いて試算すると土壌混和区で約0.38g(キトサン・キチン粉末4.4g×窒素含有率8.7%)となり、



苗浸漬 2000 倍区で最大約 0.0239g ( B 溶液使用量 5ml × 窒素含有率 0.4768% ) となる。この窒素量は育苗培土 4kg 中に含まれる窒素 0.9g の 2.7% 未満であり、また、育苗箱に充填する育苗培土量に換算すると約 106g ( 土壌 4kg × 0.0239g ÷ 0.9g ) という土壌充填時に生じる実験誤差程度の量であることより、キトサンの窒素肥料効果は無視できるほど小さいと考えられる。また、キトサンを種子に吸水させただけの種子浸漬区でも、有意差は認められなかったものの水稻生育を促進する効果があった。

このことより、土壌混和区を除く全キトサン含有溶液施用区において認められた促進効果は、キトサン含有溶液中に含まれる窒素成分以外の促進効果であり、その促進効果は対照区を 100 とした場合の相対値で最大で 106 であるといえるであろう。

それに対して、土壌混和区ではキトサン資材中に含まれる窒素が、育苗培土中に含まれる窒素 0.9g の約 42% と多いことより、5 つの苗形質 ( 葉身乾物重、葉鞘 + 桿窒素含有率、葉身、葉鞘 + 桿および全植物体のそれぞれの窒素含有量 ) で対照区を 100 とした場合の相対値で最大 121 という有意な促進効果が認められた。これは窒素成分の効果を含めたキトサン施用効果であると考えられる。

水稻に比べ極めて種子が小さく ( 10000 ~ 24000 粒 mL<sup>-1</sup> )、種子の養分量が極めて少ない花卉類 ( Ohta et. Al.2004b ) では、全乾物重 ( 対照区 2 ~ 28mg ) が 2.1 ~ 29.3 倍 ( Ohta et. Al.,1999,2001,2004b に ) に増大し、水稻より種子は小さいものの、花卉類よりは種子の大きなハツカダイコンでは、葉乾物重 ( 対照区約 27mg ) が約 1.4 ~ 2.1 倍に増大したという報告もある ( 千布ら 1999 )。そして、イネでは、キトサン土壌混和施用により、草丈、分げつ数および葉齢、SPAD 値が有意に増加するものの、無窒素区や低窒素区 ( 対照区 ) との絶対値の差は小さいという報告がある ( 千布ら 2002a )。これらのことと本研究の結果より、種子の養分に依存した従属生長量が小さいほど、キトサンの施用による生長促進量が相対的に大きくなり、水稻のように従属生長量が大きいものは、キトサンの生長促進効果は、測定点

数が少ない場合には有意差として現れないほど小さいものになると考えられる。

少量のキトサン含有溶液施用による生長促進効果は、草丈と窒素含有率を除く 10 の苗形質で、育苗期間中の生育温度が上昇するにつれて、有意に大きくなった。そして、少量のキトサン含有溶液施用区の方が対照区より有意に大きくなった 6 つの苗形質では、生育期間の平均気温 20 ~ 22 以上では、対照区を 100 としたときの相対値が 100 以下となる事例数が減少した（第 2 図）。これらの結果は、キトサン含有溶液による生育促進効果は、気温が高いほうが発現しやすいことを示唆している。また、鉢植えの果樹（ムラサキクダモノトケイソウ）に、窒素施用量を対照区の 3 倍量とともにキトサンを施用した方が、対照区と同量の窒素とともに施用するより促進効果が顕著に発現したという報告（宇都宮ら 1998）があるのを考え合わせると、生育を促進する条件の方が、キトサンの施用効果が発現しやすいと推察される。窒素含有率と平均気温との間に有意ではないものの負の相関があったのは、温度上昇に伴う促進効果の向上割合が、乾物重より窒素吸収量の方が小さいため生じた窒素濃度の希釈効果であると考えられる。

以上のことより、今回用いたキトサン含有溶液を水稻育苗時に施用した場合、キトサンによる土壌微生物相の変化（孫工・野村 1988）やエリシター効果（渋谷ら 1996、鈴木・進士 1998）のような窒素肥料効果以外の効果により、対照区を 100 とした場合の相対値で 106 以下と小さいものの有意な生育促進が期待でき、特に育苗期間の気温が 20 ~ 22 以上でこの生育促進効果が発現しやすいと考えられる。

本研究は、水稻に対するキトサン含有溶液の施用による窒素成分以外の生育促進効果の有無とその効果の大きさを明らかにすることを目的としたため、育苗終了時で調査を終了した。そのため育苗時のキトサン含有溶液の施用が移植後の生育や終了に及ぼす影響の解明は今後の課題である。しかし、寒冷地のように移植後の初期成育が停滞しやすい地域では、育苗時のキトサン施用により苗の生育を促進することで、収量の向上や安定化に貢献できる可能性

があると推察される。

## 謝辞

本研究の一部は、株式会社モア・フレッシュおよび椿原商店の研究助成金で実施した。また、株式会社モア・フレッシュよりキトサン溶液およびキチン・キトサン粉末の提供を、椿原商店よりキトサン溶液の提供をいただいた。ここに、厚く謝辞を表します。

## 引用文献

Ali, M., T.Horiuchi and S.Miyagawa 1997.Nodulation,nitrogen fixation and growth of soybean plant (Glycine max. Merr.)in soil supplemented with or chitosan.Jpn.J.Crop Sci.66:100-107.

千布寛子・芝山秀次郎・有馬進 1999. キトサン粉末の土壌混和がハツカダイコンの成長に及ぼす影響. 日作紀 68 : 199-205

千布寛子・芝山秀次郎・光富勝・有馬進 2002a . 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 . 日作紀 71 : 206-211

千布寛子・芝山秀次郎・光富勝・有馬進 2002b . 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

Horie,T.H.Nakagawa,J.Nakano,K.Hamotani,and H. Y. Kim 1995. Temperature gradient chamber for research on global environmental change ? A system designed for rice in Kyoto,Japan. Plant cell Environ.,18:1064-1069.

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 .

中野尚夫・泉拓史・大西政夫 2005 . 砂丘畑栽培ダイズに対する灌水の効果 . 日作紀 74 :

404-409 .

大西政夫 1995 . 第 13 章 海外の試作状況 第 2 節 オーストラリア . 日本作物学会北陸支部・北陸育種談話会編 . コシヒカリ . 農文協、東京、612-616 .

Ohta,K.,A.Taniguchi,K Konishi and T.Hosoki.1999.Chitosan treatment affects plant growth and flower quality in *Eustoma grandiflorum* HortSci.34:233-234.

Ohta,K.,H. Atarashi,Y. Shimatani,S.Matsumono,T. Asao and T.Hosoki.2000.Effect of Chitosan with or without nitrogen treatment on seedling growth in *Eustoma grandiflorum* (REF.)cv.Shinn.'Kairyuu Wakamurasaki. J.Jpn.Hort.Sci.69:63-65.

Ohta,K.,T. Asao and T. Hosoki.2001. Effect of Chitosan treatment on seedling growth,chitinase activity and flower quality in *Eustoma grandiflorum* (REF.)Shinn.

'Kairyuu Wakamurasaki'. J. Horticultural Sci and Biotechnology 76:612-614.

Ohta, K., M. Suzuki, S. Matsumono, and T. Hosoki. 2004a. Effect of nitrogenous organic compounds on growth and flowering in *Eustoma grandiflorum* (REF.)Shinn.HortSci.39:1438-1440.

Ohta, K., S. Morishita, K. Suda, N.Kobayashi and T. Hosoki. 2004b. Effect of Chitosan soil Mixture treatment in the seedling stage on the growth and flowering of several ornamental plants J.Jpn.Soc.Hort.Sci.73:66-68.

渋谷直人・伊藤ユキ・賀来華江 1996 . イネのキチン系エリシター受容体 . 植物の化学調整 31 : 125-133 .

孫工弥寿雄・野村良邦 1998 . 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 .

鈴木馨・進士英明 1998 . エリシターとエチレンによるキチナーゼ遺伝子発現制御 . 植物の化学調整 33 : 44-54 .

宇都宮直樹・木内宏彰・松井美德・竹林晃男 1998．キトサンオリゴ糖を主成分とする土壌改良材と窒素施用がムラサキクダモノトケイソウの開花および果実生長に及ぼす影響．園芸雑 67：567-571．

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および収量に及ぼす影響．日作紀 67：452-456．

鐵健司 1986．第1章 3.3 平均値に関する検定と推定．応用統計ハンドブック編集委員会編 1986．応用統計ハンドブック．養賢堂．東京．47-59．