

数種キトサンによるトルコギキョウの成長促進ならびに
キトサンが土壤微生物に及ぼす影響

安達 瞳, 三上雄也, スリブッタ アカデット, 細木高志, 巢山弘介, 太田勝巳*

Growth promotion by some chitosans and effects of chitosan on the soil microorganism
in *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.

Hitomi Adachi, Yuya Mikami, Sributta Akkadet, Takashi Hosoki, Kosuke Suyama and Katsumi Ohta*

Abstract In this study, we practiced plant growth experiment by some chitosans soil mixture treatment in order to examine growth promotion difference in *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. by using some chitosans ; Koyo chitosan FM-80, FH-80 and FL-80. We recognized that FM-80 and FL-80 chitosan for plant growth showed good effects, compared to SIGMA chitosan. In soil microorganisms, the number of actinomyces increased in chitosan treatment, while the number of *Fusarium* spp. and filamentous fungus decreased.

Key words: *Eustoma*, chitosan, microorganism, plant growth

はじめに

トルコギキョウは近年、急速に生産・消費が伸び、品種改良や作型の開発も進み、花卉市場における主要切り花として位置付けられてきている。そして従来の高冷地を中心とした夏の花から西南暖地での栽培が増え、出荷期間も拡大され、周年栽培が確立されている。しかし、トルコギキョウは種子が微細なうえ、初期生育が緩慢で栽培期間が長く、育苗期間の温度、土壤水分、日照、日長などの環境条件が苗に影響するため育苗が難しい作目のひとつである。

キチンの脱アセチル化によって得られるキトサンは、真菌類の細胞壁を構成する天然高分子である。高等生物はその構成成分としてキチン・キトサンを含まないが、それらの分解酵素であるキチナーゼなどを有する。これらの酵素の植物における機能は植物の自己防御機能の発現に関与し、また、植物細胞を活性化させることで植物の生育を促進すると推測されている(平野, 1988)。

これまでに Ohta ら (1999) は、キトサン土壤混和を行うことにより、トルコギキョウの生育が促進されることを見出した。また、Ohta ら (2000) は、キトサン土壤混和処理以外に無菌播種においても同様な結果を報告して

いる。その後、Ohta ら (2004) によって数種微細種子花卉を供試して検討した結果、多くの花卉で育苗時のキトサン土壤混和による生長促進効果があると認められた。

本実験では、トルコギキョウの育苗期において、国産(安価、試葉の約 1/10 の価格)でやや成分が異なる数種キトサンを供試して土壤混和处理の生長促進効果について調査し、さらにそのメカニズムについて土壤微生物学的視点から検討を加えた。

材料および方法

トルコギキョウ (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) ‘ピーターブルーライン 2’ を供試し、播種日は 10 月 10 日であった。

播種床には 9×15 穴のプラグトレイを半裁し、63 穴としたものを、1 処理区当たり 2 トレイ準備し、用土はプラグポット専用育苗用土(笠原工業製、葉茎菜培土)を用いた。

実験 1 成分が異なる数種キトサン土壤混和处理が育苗期のトルコギキョウの生育に及ぼす影響

キトサン土壤混和处理ではキトサン (SIGMA 製) を電動ミルで約 20 分間粉碎し、1.0% 濃度 (w/w) で用土に混和した(以下、キトサン区とする)。また、国産キトサンとして甲陽ケミカル(株)製のコーヨーキトサン FM-80、同 FH-80 および同 FL-80 (第 1 表) 土壤混和区を設

* Corresponding Author

表1 コーヨーキトサン FM-80, FH-80 および FL-80 の成分表

種類	外観	粒度	水分	灰分	粘度	脱アセチル化率
			(%)	(%)	(mPa·s)	(%)
FM-80	白色粉末	180 μ m パス 95% 以上	4.9	0.33	22	87.7
FH-80	淡黄白色粉末	80 μ m パス 95% 以上	5.3	0.25	560	87.2
FL-80	淡黄色粉末	80 μ m パス 95% 以上	5.1	0.73	15	87.9

け, 1.0% 濃度 (w/w) で用土に混和した (以下, それぞれ FM, FH および FL 区とする). また, N 追肥処理は播種 3 週間後以降週に 2 度, 1 プラグトレイ当たり大塚ポット肥料 (N15%) 500 倍液 300ml をジョウロで散布することにより行った. 対照区として用土に何も混和しない処理区を設けた.

播種後は, 自然日長下のガラス室で育苗した. 播種から定植までの間に, 最終的にプラグトレイ 1 穴当たり 2 株となるように適宜間引いた. 灌水は播種後および出芽後しばらくの間はミスト下に置いた. また, 全処理区に対して生育に必要な追肥として, 播種 4 週間後以降週に 1 度, 1 プラグトレイ当たり大塚ポット肥料 (N15%) 500 倍液 300ml をジョウロによって施用した.

育苗期における生育調査は, 播種後 9 週目 (キトサン区において本葉 3 対展開時) と, 播種後 13 週目 (対照区において本葉 3 対展開時) に, 各処理区当たり 10 個体ずつ無作為に抜き取り, 生育調査を行った. 調査項目は, 葉長, 葉幅, 最長根長, 地上部・地下部の新鮮重 (FW) および乾物重 (DW: 80°C \pm 5°C, 48 時間乾燥) とした.

実験 2 キトサン土壌混和処理区における土壌中の土壌含水率, 放線菌数, 糸状菌数, フザリウム属菌数および細菌数に及ぼす影響

土壌微生物相の調査は, 播種後 9 週目における 1% キトサン土壌混和区, 窒素追肥区および対照区の 1 プラグトレイ当たり無作為に 3 セルずつ土壌を採取し行った. また, 土壌は採取後直ちに実験に供試した.

調査は, 土壌中の土壌含水率, 放線菌数, 糸状菌数, フザリウム属菌数 (以下, フザリウム) および細菌数とした.

調査方法は, 土壌含水率は 105°C \pm 5°C で, 24 時間乾燥し, 含水率を測定した. 各菌数では希釈平板法 (新土壌微生物実験法, 1992) にしたがって行った.

培地および培養条件においては, 放線菌ではアルブミン寒天培地 (新土壌微生物実験法, 1992) とキトサン寒天培地 (新土壌微生物実験法, 1992) を用意し, 培養温度 25°C で 11 日培養とした. 糸状菌ではローズベンガル寒天培地 (新土壌微生物実験法, 1992) を用意し, 25°C で 5 日培養とした. フザリウムでは, 駒田培地 (新土壌微生物実験法, 1992) を用意し, 25°C で 11 日培養とした. 細菌では, アルブミン寒天培地とキトサン寒天培地を用意し, 25°C で 11 日培養とした. 培養後のペトリ皿 (直径 9 cm, 深さ 2 cm) 中のコロニー数 (CFU (Colony Forming Unit=コロニー形成単位)) を測定した. 同時に, 菌数を顕微鏡下で測定した.

結 果

実験 1 成分が異なる数種キトサン土壌混和処理が育苗期のトルコギキョウの生育に及ぼす影響

9 週目における葉長および葉幅においては, 本葉 1 対目および 2 対目においてキトサン区, 窒素追肥区, 対照区の順で大きい値を示し有意な差が認められた (第 2 表).

表2 トルコギキョウにおける数種キトサン土壌混和処理が葉長, 葉幅および最長根長に及ぼす影響 (播種後 9 週目)

処理区	1 対目		2 対目		3 対目		最長根長 (cm)
	葉長 (cm)	葉幅 (cm)	葉長 (cm)	葉幅 (cm)	葉長 (cm)	葉幅 (cm)	
対照	1.14 c ^z	0.57 b	0.58 d	0.28 b			5.4 ab
N 追肥	1.44 b	0.63 b	0.88 c	0.38 b			5.4 ab
キトサン土壌混和	1.67 a	0.89 a	1.47 ab	0.72 a	0.38 \pm 0.04 ^y	0.19 \pm 0.02	5.6 a
FM 土壌混和	1.64 a	0.88 a	1.64 a	0.75 a	0.56 \pm 0.03	0.24 \pm 0.03	5.3 ab
FH 土壌混和	1.52 ab	0.84 a	1.32 b	0.63 a			5.3 ab
FL 土壌混和	1.54 ab	0.82 a	1.33 b	0.70 a			5.1 ab

^z: 異なる文字間には 5% 水準で有意差あり (Tukey's test)

^y: 平均値 \pm SE

表3 トルコギキョウにおける数種キトサン土壌混和処理が地上部・地下部の新鮮重および乾物重に及ぼす影響 (播種後9週目)

対照区	新鮮重 (mg)		乾物重 (mg)	
	地上部	地下部	地上部	地下部
対照	29.5 c ^a	18.1 b	2.4 c	1.0 b
N 追肥	42.3 c	21.5 b	2.4 c	1.0 b
キトサン土壌混和	95.4 ab	36.0 a	7.8 ab	2.0 ab
FM 土壌混和	97.5 a	31.4 ab	9.5 a	2.1 a
FH 土壌混和	79.0 b	35.8 a	7.1 b	2.7 a
FL 土壌混和	80.9 ab	36.2 a	7.1 b	2.0 ab

^a:異なる文字間には5%水準で有意差あり (Tukey's test)

キトサン区およびFM区では本葉3対目まで展開した。また、キトサン区、FM区、FH区およびFL区間では有意な差は認められなかったが、キトサン区とFM区で若干大きい値を示した。

最長根長においては、処理区間では有意な差は認められなかった。

新鮮重においては、地上部はキトサン区で95.4mg、窒素追肥区で42.3mg、対照区で29.5mgの順で大きい値を示し、窒素追肥区および対照区に対してキトサン区で有意に大きくなった(第3表)。なお、窒素追肥区と対照区との間に有意差はなかった。数種キトサン区間では、FM区、キトサン区、FL区、FH区の順で大きい値を示した。地下部はキトサン区で36.0mg、窒素追肥区で21.5mg、対照区で18.1mgとなり、キトサン区で有意に大きくなった。窒素追肥区と対照区との間に有意差はみられなかった。数種キトサン区では、FL区、キトサン区、FH区、FM区の順で大きい値を示したが、有意な差は認められなかった。また、乾物重においても同様の結果が得られた。

対照区の本葉3対目展開時における各処理区の葉長および葉幅については、1対目および3対目において、キトサン区、窒素追肥区、対照区の順で大きい値を示した(第

表5 トルコギキョウにおける数種キトサン土壌混和処理が地上部・地下部の新鮮重および乾物重に及ぼす影響 (播種後12週目)

対照区	新鮮重 (mg)		乾物重 (mg)	
	地上部	地下部	地上部	地下部
対照	97.6 d ^a	89.9 b	10.3 d	3.2 c
N 追肥	204.7 c	83.1 b	20.8 c	5.3 bc
キトサン土壌混和	292.1 b	87.9 b	31.0 b	7.2 ab
FM 土壌混和	391.7 a	135.1 a	40.8 a	9.4 a
FH 土壌混和	179.1 c	76.9 b	20.3 c	6.8 b
FL 土壌混和	285.5 b	101.6 ab	31.1 b	7.4 ab

^a:異なる文字間には5%水準で有意差あり (Tukey's test)

4表)。本葉2対目の葉長について、窒素追肥区がキトサン区に対して若干大きい値を示した。数種キトサン土壌混和区間では、本葉1対目においてキトサン区、FL区、FM区、FH区の順に大きい値を示した。本葉2対目、3対目および4対目においては、FM区、FL区、キトサン区、FH区の順に大きい値を示した。キトサン区、FL区、FM区では本葉4対目まで展開したのに対して、対照区、窒素追肥区、FH区では3対目までしか展開しなかった。

最長根長においては、窒素追肥区、対照区、キトサン区の順で大きい値を示したが、有意な差は認められなかった。数種キトサン土壌混和区間においては、FM区、FL区、FH区、キトサン区の順で大きい値を示し、有意な差が認められた。

新鮮重においては、地上部はキトサン区で292.1mg、窒素追肥区で204.7mg、対照区で97.6mgの順で大きい値を示し有意な差が認められた(第5表)。数種キトサン土壌混和区間においては、FM区でキトサン区より大きい値を示し有意な差が認められた。キトサン区およびFL区においてFH区より大きい値を示した。地下部は対照区で89.9mg、キトサン区で87.9mg、窒素追肥区で83.1mgの順で大きい値であったが、処理区間で有意差は認めら

表4 トルコギキョウにおける数種キトサン土壌混和処理が葉長、葉幅および最長根長に及ぼす影響 (播種後12週目)

	1対目		2対目		3対目		4対目		最長根長 (cm)
	葉長(cm)	葉幅(cm)	葉長(cm)	葉幅(cm)	葉長(cm)	葉幅(cm)	葉長(cm)	葉幅(cm)	
対照	1.21 b ^a	0.60 b	1.84 b	0.84 c	0.75 c	0.31 c			6.3 b
N 追肥	1.52 a	0.76 a	2.63 a	1.11 b	1.71 b	0.67 b			6.4 b
キトサン土壌混和	1.63 a	0.85 a	2.58 a	1.18 ab	2.38 a	0.99 a	0.75±0.10 ^a	0.32±0.03	5.8 b
FM 土壌混和	1.55 ab	0.86 a	2.80 a	1.28 ab	2.60 a	1.04 a	0.81±0.11	0.39±0.05	8.0 a
FH 土壌混和	1.35 b	0.77 a	1.41 c	1.01 b	1.72 b	0.74 b			6.6 ab
FL 土壌混和	1.58 ab	0.84 a	2.82 a	1.29 a	2.32 a	0.88 ab	0.55±0.07	0.29±0.08	7.1 ab

^a:異なる文字間には5%水準で有意差あり (Tukey's test)

^b:平均値±SE

れなかった。数種キトサン土壌混和区間においては、FL区およびFM区においてキトサン区に対して大きい値を示した。また、乾物重においても同様の結果が得られた。

実験2 キトサン土壌混和処理における土壌中の土壌含水率、放線菌数、糸状菌数、フザリウム属菌数および細菌数に及ぼす影響

土壌含水率については、キトサン区、窒素追肥区および対照区では50%程度で差はみられなかった。

放線菌数においては、キトサン区において窒素追肥区

および対照区に比べて多く、特にキトサン寒天培地で増殖する放線菌数が多い値を示した(第1図)。

糸状菌数においては、キトサン区において窒素追肥区および対照区に比べて少なかった(第2図)。

フザリウムにおいては、キトサン区および窒素追肥区において対照区に比べて著しく少なかった(第3図)。また、対照区の2つのセルにおいては乾土1gあたり 10^5 レベル、1つのセルにおいて 10^3 レベルであったが、キトサン区および窒素追肥区においては3つのセル全てで 10^3 レ

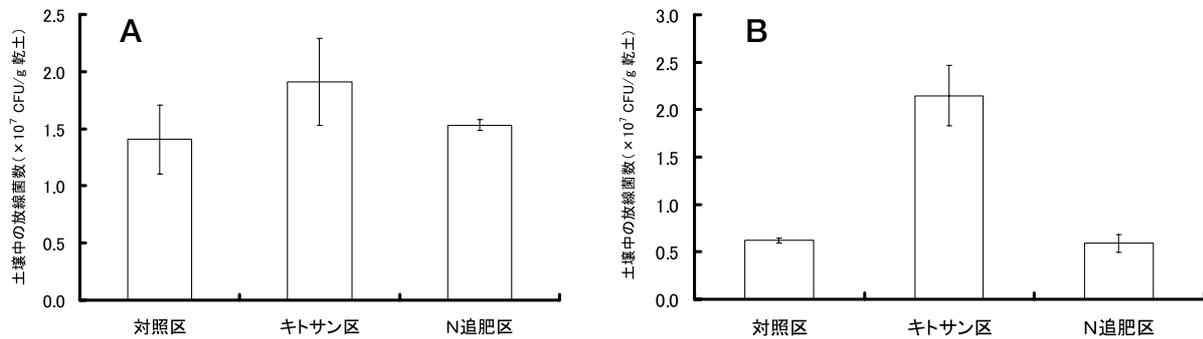


図1 各処理における土壌中の放線菌数 (A: アルブミン培地, B: キトサン培地) エラーバーは標準誤差を示す

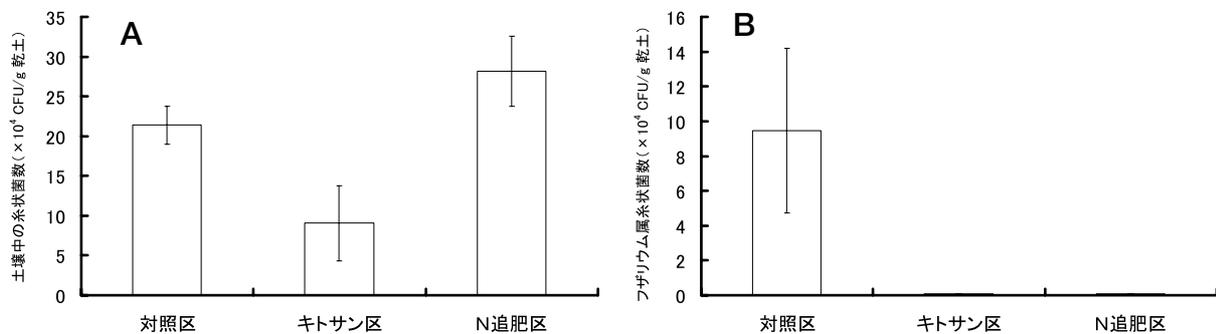


図2 各処理における土壌中の糸状菌数 (A) およびフザリウム属糸状菌数 (B) エラーバーは標準誤差を示す

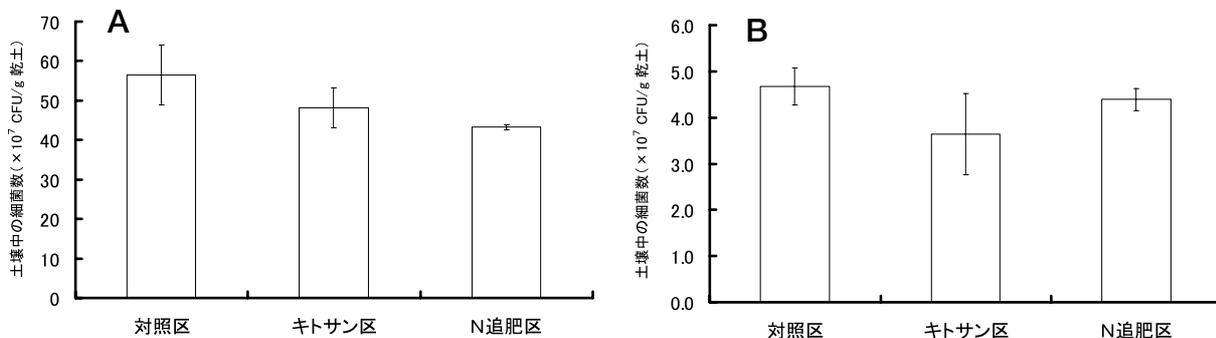


図3 各処理における土壌中の細菌数 (A: アルブミン培地, B: キトサン培地) エラーバーは標準誤差を示す

ベルであった。

細菌数においては、アルブミン寒天培地では窒素追肥区、キトサン区、対照区の順に小さくなる傾向を示した。キトサン寒天培地ではキトサン区、窒素追肥区、対照区の順に小さい値を示した。しかし、アルブミン寒天培地およびキトサン寒天培地における各区間に明瞭な差異は認められなかった。

考 察

実験1ではトルコギキョウ‘ピーターブルーライン2’において、キトサン土壌混和処理による育苗期の成長促進効果が認められた。

また、成分がやや異なる国産の数種キトサン土壌混和処理を行い、特に各キトサンの粒度、粘度および脱アセチル化率の違いがトルコギキョウの成長促進効果に及ぼす影響について比較試験を行った。その結果、育苗期の葉長、葉幅、最長根長および地上部・地下部の新鮮重および乾物重においては、FM区においてキトサン区に比べてやや大きい値を示した。FL区においては、最長根長および地下部で新鮮重および乾物重においてキトサン区に比べて大きい値を示したが、著しい差はみられなかった。FH区においては、葉長、葉幅、地上部の新鮮重および乾物重、地下部の新鮮重において小さい値を示した。粒度および粘度の小さいFL区においては、植物細胞の特異部位を認識して植物細胞のDNAを活性化し、より自己活性化機能を高めると推測したが、今回の実験においては顕著な差はみられなかった。試薬として販売されているSIGMA社のキトサン(500gで約57,000円)をこれまでの実験では使用していたが、実際の生産現場においては、国産の安価なキトサンを使用しても遜色のない結果が得られた。生産者にとっては、生産コストを削減する意味からも国産のキトサンの利用を促進していくことを考慮すべきであろうと思われる。

実験2では、放線菌において、アルブミン寒天培地に比べキトサン寒天培地で多い傾向が認められたが、あくまでも「キトサンを含む寒天培地上で増殖した菌数」であり、全てが「キトサン分解菌」とはいえない。なぜなら、土壌中には蒸留水中の不純物、寒天中の不純物および寒天の加水分解物を利用して増殖可能な微生物が存在する上、キトサン分解菌によって生じた低分子化合物を利用して増殖した菌も含まれ得るからである。キトサン区において、糸状菌およびフザリウムの減少の要因としては、キチナーゼを有する土壤微生物、特に放線菌が増

殖し、キチナーゼを活発に分泌することにより、キチンを細胞壁の主成分とする糸状菌およびフザリウムが死滅することが明らかにされている(小川 圭, 1988)。この様に、キトサン区では土壌中の放線菌、特にキトサン寒天培地で増殖するものが多かった一方、糸状菌が少なく、またフザリウムのレベルが低かった。これらの結果は、先に述べた仮説を支持するが、フザリウムは窒素追肥区においても減少しており、更なる検討が必要であると思われる。

摘 要

今回の実験では、これまでのキトサン土壌混和処理による生長促進効果の要因を迫るために、異なる成分の数種キトサン土壌混和処理においてトルコギキョウの育苗期に生長促進効果がみられるかどうかを試みた。同時に、土壤微生物相の調査を行い、そのメカニズムについて土壤微生物学的視点から検討を加えた。供試した数種キトサンのうちFM区およびFL区においては、キトサン区と同等、あるいはそれ以上の生長促進効果が認められた。土壤微生物相においては、キトサン区において窒素追肥区および対照区に比べて放線菌数、特にキトサン寒天培地で増殖する放線菌数が多く、糸状菌が少ない傾向が認められた。フザリウムでは、対照区に比べてキトサン区および窒素追肥区で少なくなった。細菌数においては、各区間に著しい有意差は認められなかった。しかし、トルコギキョウ土壌混和処理によるトルコギキョウの生長促進効果については本実験データだけでは十分に言及できなく、今後さらに検討する必要があると考えられる。

引用文献

- 土壤微生物研究会編, 新編土壤微生物実験法. (1992) 養賢堂. 15-16, 55-81, 379-397.
- 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関する自己防衛機能. 日本農芸化学会誌. 62: 293-295.
- 小川 圭. 土壤病害をどう防ぐか. (1988) 農山漁村文化協会. P147-152.
- Ohta, K., A., Taniguchi, N. Konishi and T. Hosoki. (1999) Effects of chitosan treatment on plant growth and flower quality of *Eustoma grandiflorum*. HortScience, 34: 233-234.

Ohta, K., H. Atarashi, Y. Shimatani, S. Matsumoto, T. Asao and T. Hosoki. (2000) Effects of chitosan with or without nitrogen treatments on seedling growth in *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. 'Kairyō Wakamurasaki'. J. Japan. Soc. Hort. Sci., 69: 63-65.

Ohta, K., S. Morisita, K. Suda, N. Kobayashi and T. Hosoki. (2004) Effects of chitosan soil mixture treatment in seedling stage on the growth and flowering of several ornamental plants. J. Japan. Soc. Hortic. Sci., 73: 66-68.