# 作物栽培におけるカニ殻を混合した牛糞堆肥添加の影響

# 笹木 教隆・鈴木 康世

要 約 カニ殻を混合した牛糞堆肥(カニ殻堆肥)の効果的な利用を図るため、カニ殻堆肥の作物への影響を調査した。キュウリ苗にうどんこ病原菌を接種したところ、本葉 1 枚目はすべて発症し、2 枚目の段階でカニ殻堆肥 0.2%区は他の区に比べ発症面積が少なかった(P<0.05)。コマツナ、ホウレンソウ栽培試験では、カニ殻堆肥区の直根の太さは他の試験区に比べ太く(P<0.05)、葉重も他の試験区に比べ  $1.5\sim12$  倍重い。二十日ダイコンにおいても他の試験区に比べ根重が  $1.7\sim3$  倍、根径が太く、根長が長い(P<0.05)。二十日ダイコンによる根長測定試験においてカニ殻堆肥より分離した細菌群を添加したところ、無添加区に比べ 4 ml 区の主根が長く(P<0.05)、抽出菌の添加効果がみられた。

キーワード:カニ殻堆肥、うどんこ病、根長測定試験

#### 諸 言

福井県では越前ガニの残渣であるカニ殻が冬季間大量に排出されることから、有効活用方策が求められており、「ふくいの農業・農村計画」で堆肥などの活用によりエコ農業を推進し、化学肥料・農薬を削減する技術開発が期待されている。

カニ殻の作物栽培ほ場への添加による効果については、植物のうどんこ病(瀧川ら,1999)、萎黄病(駒田ら,1965) 萎ちょう病の抑制(平野,1988) や作物の生長促進効果(大西,2008)等が報告されている。一方で、千布ら(千布ら,2002)はダイズの生育に明瞭な影響を及ぼさなかったと報告している。

また、カニ殻の利用についてはカニの中身を食べた後の残渣を利用することから、残渣を乾燥、粉砕する必要があり、かなりの労力が必要となっている。

南部ら(南部ら,2012)は、カニ殻を牛糞と 混合することにより堆肥内のカニ殻が消失し、 堆肥の熟度も高まることを報告しているものの、 カニ殻堆肥の施用効果については明らかにされ ていない。 そこで、本研究ではカニ殻堆肥の施用効果に ついて検討を行った。

#### 材料および方法

#### 試験 1

きゅうりのうどんこ病抵抗性が、カニ殻堆肥 により誘導される効果を調査した。

- (1)キュウリを試験培土に播種し、発芽後本葉 1 枚時に他で栽培されているキュウリで発症したうどんこ病の葉を用い、病原菌を接種しうどんこ病の発病検定を行なった。カニ殻堆肥については、牛糞、モミガラ、カニ殻を7:2:1で混合し、定期的な切り返し(1回/2w)を行った後カニ殻がほとんど消失し、コンポテスター(富士平工業東京)により完熟(古谷ら、2003、2004)した堆肥を用いた。カニ殻堆肥および牛糞堆肥の成分については、N-P-K:0.54%-0.43%-0.32%、1.27%-1.02%-1.23%であった。
- (2) 試験培土および試験区 育苗培土(育苗培土;タキイ,京都)に、カニ殻堆肥を0、0.2、2.0、20%添加(0%、0.2%、2.0%、20%区)、キチン0.1%、キトサン0.1%添加(キチン0.1%、キトサン0.1%区)の計6区で実施した。各試

験区は、1/5000a ワグネルポット (藤原製作所, 東京) 4個に試験培土10/個を入れ3粒づつ播 種した。

(3) 調査項目 各々のキュウリ苗における本 葉のうどんこ病に感染した葉の面積(%) 試験2

試験培土へのカニ殻堆肥混合による作物への 影響を調査した。

(1)供試作物は、コマツナ(楽天;タキイ種苗,京都)、ホウレンソウ(アクテイブ;タキイ種苗,京都)、二十日ダイコン(フレンチ・ブレックファスト;タキイ種苗,京都)を用いた。

試験栽培した土壌成分については、化成肥料 (低度化成8号;ライフコトブキ,大阪)、カニ 殻堆肥、牛糞堆肥(発酵牛ふん 自然応用科学 愛 知)、0.1%キチン(和光純薬, 東京)、0.1%キト サン (東京化成工業, 東京)、尿素 (尿素一号; コメリ, 新潟)、過リン酸石灰(過燐酸石灰一号; コメリ, 新潟) および硫酸カリ (硫酸加里一号; コメリ, 新潟)をそれぞれ基土(試験場土:赤 玉土:バーミュキライトを 1:1:1 で混合) に混 合し、各試験区5個の1/5000a ワグネルポット に1L/個づつ入れ供試作物を播種後、発育状況 を調査した。試験作物別の添加成分は、コマツ ナ (N-P-K: 0.3%-0.6%-0.4%)、ホウレンソウ (0.2-0.36-0.24)、二十日ダイコン (0.2-0.36-0.24) とし、カニ殻堆肥(水分63%)、 牛糞堆肥(水分 40%) は 40~60g/ℓ混合した。 発芽した供試作物は約2週間後間引きを行い、 各ポット2本/個とした。試験期間は、コマツナ は H25 年 6/5~7/2、ホウレンソウは 6/4~7/8、 二十日ダイコンは 6/10~7/5 であった。

- (2) 試験区 化成肥料区、カニ殻堆肥区、牛 糞堆肥区、キチン 0.1%区、キトサン 0.1%区
- (3)調査項目 葉身長、葉柄長、葉数、葉重量、SPAD値、根長、根重を調査し、葉重量、根重については総重量を測定した。SPAD値については、葉緑素計(SPAD-502;コニカミノルタセンシング、東京)を用い収穫時に測定し、根長、根重については収穫後付着した土壌を洗

い流し測定し、根長は主根の長さとした。 試験3

カニ殻堆肥抽出液より分離した細菌群(放線菌、糸状菌含む)を添加し主根の伸長への影響 を調査した。

(1) 基準液の作成 カニ殻堆肥 40g を滅菌蒸留水 300ml と混合、静置後、上澄み液 0.1ml/枚をペプトン酵母エキス培地(復元培養基 80「ダイゴ」;和光純薬,大阪)に塗布し、30℃インキュベーター(NIB-10 IWAKI,東京)で 48時間培養後、培地上の細菌群をエーゼで掻き集め、50ml 滅菌蒸留水と混合し、基準液(菌総数: 2.2×10<sup>8</sup>個/ml)とした。

### (2) 基準液の総菌数測定

希釈平板法(日本土壌微生物学会,2013)に 準じて行った。基準液1 ml を滅菌蒸留水で10 倍希釈し、この希釈液1 ml を再度10 倍希釈する操作を計10 回繰り返した。各々の希釈液 0.1 ml をペプトン酵母エキス培地(地頭所, 2006)3 枚づつに滴下し、コンラージ棒で全体 に均一に広げた後、30℃インキュベーターで24 ~48 時間培養し、成長した培地3枚のコロニー 数の平均値より算出した。

- (3) 根長測定試験 池田と小山の報告(池田と小山, 2007) に準じて行った。基準液 0、2、3、4 ml を滅菌蒸留水 50ml と混合した液から20ml/枚をシードパック (FHK, 東京) に各々分注した後、20℃前後で保温、14 日後に主根の長さを測定した。シードパックには二十日ダイコンの種子 14 粒/枚を置き試験を行った。
- (4) 試験区: 0 ml(総菌数: 0 個/20ml)区、 1 ml( $4.3 \times 10^8$  個/20ml)区、 2 ml( $8.7 \times 10^8$  個/20ml)区、 3 ml( $1.3 \times 10^9$  個/20ml)区、 4 ml( $1.7 \times 10^9$  個/20ml)区
- (5) 測定項目: 試験開始後 14 日目に伸長した主根の長さ。主根の測定はマップメーター(コンカーブ 10; 小泉測機製作所 新潟) で行なった。

#### 試験4

牛糞堆肥、カニ殼堆肥中の細菌叢の変化につ

いて調査を行い、電気泳動を行った泳動像の中で最も濃く表示されたバンドについて塩基配列を解析し、菌を推定した。

#### (1) カニ殻堆肥、牛糞堆肥の作成

堆肥中における菌叢の変化を調査するため、簡易にカニ殻堆肥、牛糞堆肥を作成し、サンプルを採材した。①カニ殻堆肥:牛糞 1600g、モミガラ 400g、生カニ殻 200g、②牛糞堆肥:牛糞 1600g、モミガラ 400g。①、②の試材を開放したビニール袋( $40cm \times 60cm$ )に入れ、1 回/w が撹拌し、袋内の温度が 25 で以上となるよう保温し堆肥化した。

### (2) 堆肥の採材および検査方法

検査は、開始時の牛糞堆肥、堆肥化終了時(60日目)のカニ殻堆肥、牛糞堆肥を採材し、約200gを保存袋(ラミジップ AL-13;アズワン,東京)に入れ、10℃以下の冷蔵保存状態で送付し、(株)テクノスルガ・ラボ(テクノスルガ・ラボ,静岡県)に分析を依頼した。菌叢の分析については DGGE(変性剤濃度勾配ゲル電気泳動)で検査を行い、得られた電気泳動像から1バンドを目視で選定し、塩基配列解析を行なった後帰属分類群を推定した。

統計処理は、一元配置の分散分析を実施後 Turky-Kramerh 法の多重分析を実施した。

#### 結 果

試験1 キュウリ苗にうどんこ病原菌を接種したところ、各区とも本葉1枚目はすべて発症し、2枚目の段階においてカニ殻堆肥 0.2%区は

# 表1 キュウリ苗におけるうどんこ病の発症状況

培土への添加量(%)	カニ	殼堆肥	キチン	キトサン	
	0	0.2	2	20	0.1%

発症率(%)\* 14.5 5.3<sup>a</sup> 14.1 20.5<sup>b</sup> 21.3<sup>b</sup> 5.7<sup>a</sup>

# \*:本葉2枚目における発症率(%)

a.b: (P<0.05)

5.3%で、20%区、キチン 0.1%区に比べ発症面

積が少ない (P<0.05)。これに対しカニ殻堆肥 2%、20%区の発症率は14.1%、20.5%で発病 面積が多い傾向にあった (表1)。

試験 2 コマツナの栽培試験では、葉数や SPAD 値において差はみられなかったものの、カニ殻堆肥区の乾燥葉重量は他の試験区に比べ  $1.5\sim1.7$  倍と重く、カニ殻堆肥区の直根の太さは 6.9mm で、化学肥料区 4.2mm、キチン 0.1% 区 4.4mm、キトサン 0.1% 区 4.3mm に比べ太かった (P<0.05) (表 2、図 1)。

表2 コマツナの生育調査成績

試験区	葉身長さ葉柄長さ		葉数	葉乾燥	SPAD	直根太さ	根乾燥
	(cm)	(cm)	(枚)	重量(g)	値	(mm)	重量(g)
化成 肥 料区	10.9	8.0	6.3	1.4	43.9	4.2 <sup>b</sup>	0.13
カニ穀堆肥区	10.9	8.3	7.6	2.2	43.0	6.9ª	0.42
牛 糞 堆 肥区	9.3	6.1	8.9	1.3	34.4	5.1 <sup>b</sup>	0.25
キチン0.1%区	11.0	8.0	6.2	1.4	44.8	4.4 <sup>b</sup>	0.14
キトサン0.1%区	10.4	8.5	5.4	1.3	44.2	4.3 <sup>b</sup>	0.12

a,b: 異符号間で有意差あり(P<0.05)

表3 ホウレンソウの生育調査成績

試験区	葉身長さ (cm)	葉柄長さ (cm)	葉数 (枚)	葉乾燥 重量(g)	SPAD 値	直根太さ (mm)	根乾燥 重量(g)
化成 肥 料区	4.1	3.8	7.33	0.18	40.0	1.44 <sup>b</sup>	0.02
力二殼堆肥区	11.1	10.1	16.11	1.50	38.2	3.80ª	0.10
牛 糞 堆 肥区	9.5	6.7	13.20	0.97	33.0	3.10 <sup>b</sup>	0.10
キチン0.1%区	3.7	3.2	6.40	0.12	41.2	$0.97^{b}$	0.01
<b>計サン0.1%区</b>	5.1	4.6	8.00	0.17	37.9	1.36 <sup>b</sup>	0.02

a,b: 異符号間で有意差あり (P<0.05)

表4 二十日ダイコンの生育調査成績

試験区	草丈 (cm)	葉数 (枚)	葉乾燥 重量(g)	SPAD 値	根径 (mm)	根長 (cm)	根重 (g)
化成 肥 料区	20.2	4.9	0.63	29.5	14.3	6.9ª	5.05
力二殼堆肥区	19.8	5.2	0.72	27.6	16.6 <sup>ab</sup>	8.8 <sup>b</sup>	11.52
牛 糞 堆 肥区	15.8	4.4	0.43	26.5	15.9 <sup>b</sup>	6.4°	6.83
キチン0.1%区	18.9	4.8	0.58	31.4	11.8°	6.1°	3.86
キトサン0.1%区	18.2	4.7	0.55	29.4	11.7°	6.5°	4.67

a,b,c :異符号間で有意差あり(P<0.05)



ほうれんそうの葉部





ほうれんそうの根部



二十日ダイコンの根部

図1 試験作物の生育状況

ホウレンソウの栽培試験では、葉数および SPAD 値において差はみられなかったものの、カニ殻堆肥区の乾燥葉重量は牛糞堆肥区に比べ 1.5 倍、化成肥料区、キチン 0.1%区、0.1%キトサン区に比べ8~12 倍と重く、直根の太さは他の試験区に比べ太かった (P<0.05) (表3、図1)。

二十日ダイコンの栽培試験では葉数、葉重量や SPAD で差はみられないものの、カニ殻堆肥区 の根重は他の試験区に比べ  $1.7\sim3$ 倍と重く、根径は 16.6mm で、キチン 0.1%区の 11.8mm、11.7mm に比べ太く、根長 についても 8.8mm と他の試験区に比べ長かった (P<0.05) (表4、図1)。

#### 試験3

カニ殻堆肥抽出菌による添加菌量別根長測定 試験において、0 ml、1 ml、2 ml、3 ml、4 ml 区の主根の長さは、85.3cm、98.0cm、84.0cm、84.0cm、84.0cm、84.0cm、84.0cm、84.0cm

# 表5 カニ殻堆肥抽出菌の添加量別根長測定試験成績

添加菌量(cc)\* 0 1 2 3 4

主根長(mm) 118.2<sup>b</sup> 128.6 139.5 136.5 150.5<sup>a</sup>

# \*: 混合液(50ml)に添加した菌量(2.2×10<sup>8</sup>個/ml) a,b:(P<0.05)

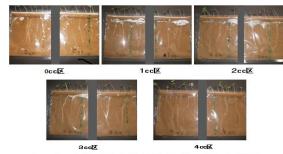


図2 カニ殼堆肥抽出細菌の添加量別根長測定試験成績

87.4cm、85.0cm で、4 ml 区は0 ml 区に比べ主 根が長かった (P<0.05) (表5、図2)。

# 試験4

カニ殻堆肥と牛糞堆肥の堆肥化する過程における堆肥内の菌叢の変化について DGGE を用いて堆肥中に含まれる微生物群集を解析したところ、カニ殻堆肥と牛糞堆肥では、菌叢に違いが

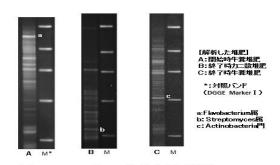


図3 PCR-DGGE法により解析した電気泳動像

見られた (図3)。また、各々の電気泳動像中の 1 バンドについて DNA を抽出し、これを鋳型として PCR 増幅した産物を用いて再度 DGGE を行い菌を推定したところ、カニ殻堆肥: Streptomyces 属、牛糞堆肥: Actinobacteria 門であった。

# 考 察

今回試験を行なったうどんこ病抵抗性の誘導効果については、カニ殻堆肥 0.2%添加やキトサン 0.1%添加により発病が抑制され、20%添加やキチン 0.1%添加で抑制効果はみられなかった。瀧川ら(瀧川ら,1999)はキチン分解性細菌の噴霧による抑制効果を確認しており、キチン・キトサンが分解していると推察されるカニ殻堆肥の添加においても同様の効果が認められた。

うどんこ病の発生については、肥料過多により土壌中の窒素濃度が高くなると罹患率が高まる(秩父農林振興センター普及部 2007)ことから、カニ殻堆肥 20%添加になると土壌中の窒素濃度が約 25%高くなり、罹患率が高まったのではないかと推察される。

キトサン 0.1%区ではうどんこ病の抑制効果がみられたものの、キチン 0.1%添加区では罹患率が高くなっている。これらの結果については、試験1は約1ヶ月以内の試験期間と短く、キチン土壌中の微生物等によりキチン鎖に含まれているキトサンが分解により切り離される前に終了し、キトサンの成分が増加せず、キトサ

ンの発病抑制効果が発現しなかったのではない かと思われる。

コマツナ、ホウレンソウ、二十日ダイコンの 栽培試験におけるカニ殻堆肥添加の影響につい ては、カニ殻堆肥区は他の区に比べ生長作用が 認められた。特に根部については根幅、根長と もに良好な発育を示し、キトサン粉末による種 子被覆(福井ら,1989)、キトサンの土壌混和処 理(鄭ら, 2005)、キトサン含有溶液の散布(大 西ら、2008)と同様な結果が得られたものの、 キチン 0.1%区、キトサン 0.1%では効果がみら れなかった。キチン・キトサンの添加効果につ いては、キトサンの窒素成分含有の効果(Ohta et.al, 2000)、植物細胞を活性化させタンパク質 の生合成を高める(平野、1988)、キチナーゼ活 性の誘導(福井ら、1989)等が報告されている もののキチン・キトサンの添加効果はみられず、 効果を期待するにはキチン・キトサンに効果を 発現させるような何らかの処理が必要と思われ

これに対し、カニ殻堆肥についてはカニ殻がほとんど消失しており、カニ殻の主成分となっているキチン・キトサンは分解している可能性が高く、発病抑制や成長促進効果がみられたことから、作物への影響についてキチン・キトサンが分解した次の段階での効果について検討を行った。

試験3ではカニ殻堆肥抽出液より分離した細菌群を根長測定試験で用いた注入液に添加すると主根が長くなっており、抽出菌が何らかの影響を与えている可能性が高い。また、試験5ではカニ殻堆肥と牛糞堆肥では菌叢に違いが見られ、菌の推定を行ったところカニ殻堆肥: Streptomyces 属、牛糞堆肥: Actinobacteria 門であった。

カニ殻を堆肥に混合しカニ殻が分解、消失した堆肥中にはキチン・キトサンを分解する菌が存在すると推定され、キチン分解菌については、大多数が Streptomyces 属放線菌であることから、カニ殻堆肥の Streptomyces 属放線菌はキ

チン分解菌の可能性が高く、キチナーゼ遺伝子を有している(宮下,2007)可能性も高い。このため、カニ殻堆肥より抽出した菌はキチナーゼ活性を誘導させる可能性が高く、細胞の生理活性を高め生長を促進させ(千布ら,2000)ることから、カニ殻堆肥から抽出菌群の添加菌量が多いほど根長が長くなったものと思われる。

また、カニ殻の利用による植物の成長促進効果については、キチンオリゴ糖およびキトサンオリゴ糖による植物ホルモン様作用の報告(滝口ら、2002)もあり、カニ殻堆肥の効果については未だ不明な点も多い。

以上の結果から、カニ殻堆肥は作物栽培を行う際に土壌へ混合すると有効であることが明らかになった。しかし、カニ殻がキチンキトサンのモノマーであるアセチルグルコサミンやグルコサミンは分解されるとアンモニア態窒素になり作物の生育を抑制する(大西 2008)ことから、カニ殻堆肥を投与する際の施用量については注意が必要と思われる。

カニ殻堆肥の特徴としては、通常土壌に混合されている乾燥カニ殻に比べ効果が早く発現する傾向にあり、カニ殻の作物への早い効果を期待する場合には有効と思われる.

#### 参考文献

福井春雄・藤原 公・村岡高志・次田隆志. 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. 日本作物 学会四国支部紀事 (26):1-8. 1989.

古谷 修・古川智子・伊藤 稔. 堆肥化過程における堆肥品温と堆肥腐熟度判定のための酸素消費量との関係. 日本土壌肥料学雑誌,74巻:645-648,2003.

古谷 修・古川智子・山本朱美・小堤恭平・伊藤 稔. 酸素消費量測定による家畜ふん堆肥初期発 酵の評価. 日本土壌肥料学雑誌,75 巻, 471-474.2004.

平野茂博. 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. 日本農芸化学会誌, 62(8):1238-1240. 1988.
- 池田加江・小山 太. 家畜ふん堆肥の腐熟度判 定における根長測定試験法と発芽インデッ クス法の精度比較. 福岡県農業総合試験場 研究報. 26:75-78. 2007.
- 駒田 旦・竹内昭士郎・井上義孝. ダイコン萎 黄病の生態学的研究. 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, 病害作物に関 する研究: 41-48. 1965.
- 南部奈津紀・笹木教隆. カニ殻添加による牛糞の堆肥化への影響とカニ殻形状の変化. 福井県畜産試験場研究報告, 25:37-41. 2012.
- 日本土壤微生物学会. 土壤微生物実験法 第 3 版. 61-63. 養賢堂. 東京. 2013.
- 大西政夫. 育苗時におけるキトサン含有溶液の 施用が水稲苗の生育に及ぼす影響. 日作紀 (Jpn. J. Crop Sci.), 77(3):259-265. 2008.
- Ohta, K., H. Atarashi, Y. Shimatani, S. Matsumono, T. Asao and T. Hosoki. Effect of Chitosan With or without nitrogen treatment on seeding growth in Eustoma grandiflorum (REF.) cv. Shinn. 'Kairyou Wakamura-

- saki'. J. Jpn. Hort. Sci, 69:63-65. 2000.
- 瀧川義浩・豊田秀吉・松田克礼・大内成志. キ チンよびキトサン分解性細菌を利用したバ ラうどんこ病菌の生物防除. Bull Iust. Compr. Agr. Sci. Kinki Univ, 7:81-89. 1999.
- 滝口泰之・坂本幸也・山口達明. キチンオリゴ 糖およびキトサンオリゴ糖の植物成長促進 効果. キチン・キトサン研究, 8(1):21-24. 2002.
- 千布寛子・柴山秀次郎・光富 勝・有馬 進. キトサン処理が数種作物の生育とキナーゼ活性に及ぼす影響. 海と大地, 1227-35. 2000.
- 鄭 紹輝・南条浩二・有馬 進. キトサンの土 壌混和処理が根粒着生及び非着生系統ダイ ズの生育収量に及ぼす影響. Coastal Bioenvironment, Vol 5:15-20. 2005.
- 秩父農林振興センター普及部. 小鹿野町農産物 栽培マニュアル. 9. 小鹿野町. 埼玉県. 2007.
- 地頭所真美子・溝添暁子・里岡嘉宏・中田一則. 生分解性資材投入における土壌微生物への 影響評価. 宮崎県工業技術センター・宮崎 県食品開発センター研究報告, 51:9-12. 2006.

# Effect of the added the cattle feces compost for addition of carb shells in soils on the crops cultivations

Kiyotaka SASAKI, Yasuyo SUZUKI Fukuil Preceftural Livestock Experiment Station

#### Abstract

The aim of this study was to examine the effect of the added the cattle feces compost for addition of crab shells (the crab shells compost) in the soils on the crops cultivations for the effective use of it. The first mature leaf of the cucumber on the seedling of all groups were all occurred for the powdery mildew and in second mature leaf the incidence of the 0.2% crab shells compost group was lower than that of the other groups. The diameter of roots in the crab shells compost group were thicker than these of the other groups (P<0.05) and the weight of leaves were 12 times from 1.5 of that on the cultivation of Komatuna and spinach. At Japanese radish the length of roots in the crab shells compost group were longer than these of the other groups (P<0.05) and the weight of were 3 times from 1.7 of that. In the root length measurement method on Japanese radish, the length of roots on the 4 ml group of extracted bacteria group from the crab shells compost was longer than that of 0 ml group(non extracted bacteria) (P<0.05).

Key word: crab shells compost, the powdery mildew, measurement method