

論文

マイクロバブルがホウレンソウの発芽および生育に与える影響

南川久人*, 藤原海**, 栗本遼***,

安田孝宏***, 原田英美子****, 畑直樹****

Effects of Microbubbles on Germination and Growth of Spinach

Hisato MINAGAWA, Kai FUJIWARA, Ryo KURIMOTO,

Takahiro YASUDA, Emiko HARADA, Naoki HATA

Effects of microbubbles on germination and growth in deep flow technique of spinach (*Spinacia oleracea*) were investigated. In the germination experiment, four experiment plots; (1) underwater germination with microbubble water plot (MB plot), (2) underwater germination with aerated water plot (Aeration plot), (3) underwater germination with water plot (Water plot), (4) germination on wet cotton plot (Control plot), were used. Two hundred individuals were germinated for each plot. Germination rate of MB plot after 7 days was about twice as high as that of Aeration plot and Control plot. In the growth experiment, three experiment plots; (1) tenth solution concentration water with microbubble plot (MB plot), (2) tenth solution concentration water plot (Aeration plot), (3) full solution concentration water plot (Control plot), were used. Twelve individuals were grown for each plot. Leaves weight of MB plot was as much as that of Control plot. In contrast, plant physiological disorders appeared in all plants of Aeration plot. Multi-element determination revealed that K concentration of Aeration plot was lower than that of the others plots. These results indicate that microbubbles contribute to the plants absorbing the nutrient from roots.

Key words: Microbubble, Spinach, Germination, Deep flow technique, Multi-element determination, Mineral deficiency

1. 緒論

マイクロバブルやナノバブルはセンチバブル, ミリバブルと呼ばれる通常の気泡とは異なり優れた物理的, 化学的性質をもち, 農業を含めた幅広い分野で利用されている¹⁾。近年, 世界の人口増加に伴い農作物生産の効率化が求められている。一方で, 農薬や肥料による環境汚染や人体, 生態系への影響が問題になっている。解決策のひとつとして, マイクロバブルの農業利用が期待されており, マイクロバブルと植物に関するさまざまな研究が行われている。

Liuら²⁾は, オオムギの種子をナノバブル水に浸種することで, 同じ溶存酸素量の蒸留水に浸種したものより発芽率が15-25%増加すると報告している。発芽率の増加はナノバブルによる生理活性効果の影響であると考察している。中尾ら³⁾は, ブラックマッペの種子をマイクロバブル水に浸種することで, 72時間後の根の長さが対照区の約2倍になると報告している。原因としてマイクロバブルにより水中の溶存酸素量が増加したためであると考察している。

森ら⁴⁾は, サンチュの室内水耕栽培にマイクロバブルを

利用することで, 発芽3日後の根の長さが対照区の約3倍になると報告している。また, マイクロバブルによる培養液の水質浄化効果も確認している。氷室⁵⁾は, イチゴ, ナス, トマト, ナシの土壤栽培にマイクロバブルを利用することで, 収穫量が増加すると報告している。さらに, マイクロバブルを灌水することで, ナシの焼け梨防止にも効果があるとしている。中林ら⁶⁾は, メロンの水耕栽培にマイクロバブルを利用することで, 対照区に比べ果実の重量, 直径が増加すると報告している。原因としてマイクロバブルにより養分吸収速度が増加したためであると考察している。Parkら⁷⁾は, リーフレタスの水耕栽培にマイクロバブルを利用することで, 通常気泡を使用したものより重量が1.7-2.1倍になると報告している。成長促進要因は調査中であるが, マイクロバブルの負の電荷が関係していると推測している。

栄養価が高く, 栽培に関してさまざまな研究が行われている緑葉野菜として, ホウレンソウが挙げられる⁸⁾。ホウレンソウの種子は硬い果皮に覆われているため, 吸水や膨潤の阻害によって発芽が困難とされている。解決策として二つの方法が考案されている。一つ目は果皮を取り除くことで発芽を促進させる方法である。果皮除去を施した種子をネーキッド種子と呼ぶが, 果皮を取り除くために特殊な加工が必要となってくる。二つ目は種子を浸種処理する方法である。しかし, 浸種水中の酸素濃度が低下すると, 発芽不良となってしまう。木矢ら¹⁰⁾は, 高溶存酸素水に浸種することで発芽率が増加すると報告している。

原稿受付 2015年12月1日

* 正会員 滋賀県立大学工学部 (〒522-8533 滋賀県彦根市八坂町 2500)

** 滋賀県立大学大学院工学研究科 (〒522-8533 滋賀県彦根市八坂町 2500)

*** 滋賀県立大学工学部 (〒522-8533 滋賀県彦根市八坂町 2500)

**** 滋賀県立大学環境科学部 (〒522-8533 滋賀県彦根市八坂町 2500)

ホウレンソウは高温に弱く、日本での夏季栽培は困難とさせている。そこで、栽培環境を制御できる養液栽培が注目されている。榊田ら¹¹⁾は、培養液濃度を高くすることで、生育が促進されると報告している。原因として高濃度培養液により浸透圧が増加したためであると考察している。三村ら¹²⁾は、培養液に塩化ナトリウムを添加することで、生育が促進すると報告している。成長促進要因は調査中とあるが、浸透圧が関係していると推測している。渡邊ら¹³⁾は、ポリエチレングリコースを用いて水ストレスを与えることで、糖やビタミンCの含有量が増加すると報告している。しかし、不適切な水ストレスを与えると、生長が抑制されるとしている。後藤ら¹⁴⁾は、酸素ガスを用いて溶存酸素量を増加させることで、単位地下部重量あたりの地上部重量が増加すると報告している。しかし、要因は解明されていない。

このように、ホウレンソウの発芽および生育に関して、さまざまな手段が考案されている。しかし、環境負荷やコストなどを考慮すると、有効な手段とは言い難い。そこで本研究では、空気から生成でき生成機構も単純なマイクロバブルにより、低環境負荷、低コストのホウレンソウ栽培を検討した。まず、ホウレンソウ種子をマイクロバブル水に浸種した際の、発芽への影響を調査した。また、ホウレンソウの湛液型水耕栽培において、培養液中にマイクロバブルを発生させ、生育への影響を調査した。本研究ではマイクロバブルの利用による環境負荷低減を目的としているため、肥料の使用を制限して栽培した。さらに、生育への影響を考察するため、植物体の定量元素分析を行った。

2. 実験方法および装置

2.1 発芽実験

ホウレンソウ‘おかめ’ (タキイ種苗) の浸種発芽実験を行った。水切りネットに種子を入れ、水道水に浸種した。ホウレンソウ種子は嫌光性種子であるため、光を遮断した。幼根の発生が確認されたら発芽とし、発芽した種子は水切りネットから除去した。実験期間はタキイ種苗が公表している‘おかめ’の発芽日数(5~8日)を参考に7日間とした。各試験区とも水道水の水質を維持するため、3日に一度交換した。1試験区200個体とし、以下の4試験区を用いた。

・Micro bubble (MB) 試験区 (Micro bubble)

MB試験区として気相に空気、液相に水道水を用いて生成したマイクロバブル水に浸種した。マイクロバブル発生装置として、容易に溶存酸素量を増加できる加圧溶解方式のものを使用した。マイクロバブル発生装置の概略図をFig.1に示す。加圧溶解方式とは圧力を上げ、気体を十分に液体に溶解させ、その後圧力を下げることで溶解しきれなくなった気体をマイクロバブルとして発生させる方法である。マイクロバブルの平均気泡径は41.7 μm であった。マイクロバブル発生装置は24時間常時運転させた。恒温装置を用いてマイクロバブル発生装置の発熱による水温上昇を

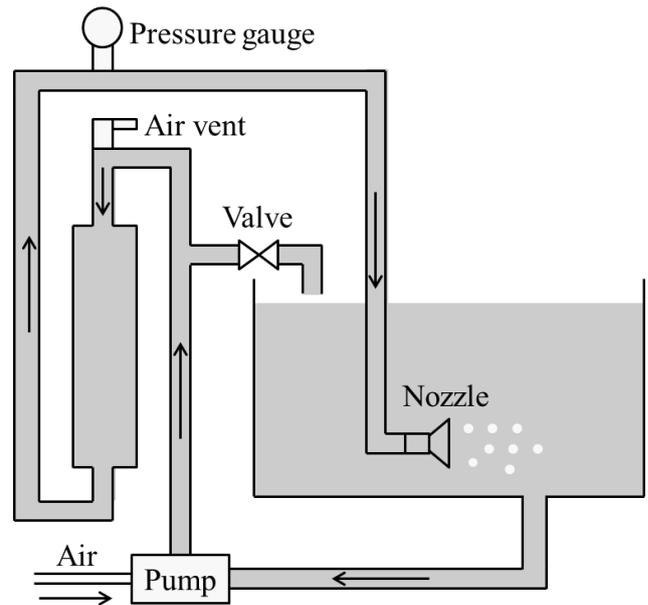


Fig. 1 Micro bubble generator used in germination experiment

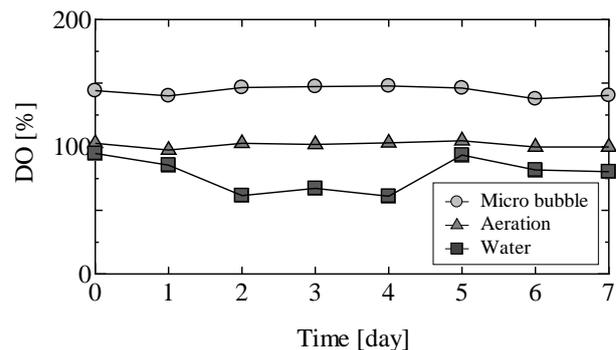


Fig. 2 DO in germination experiment

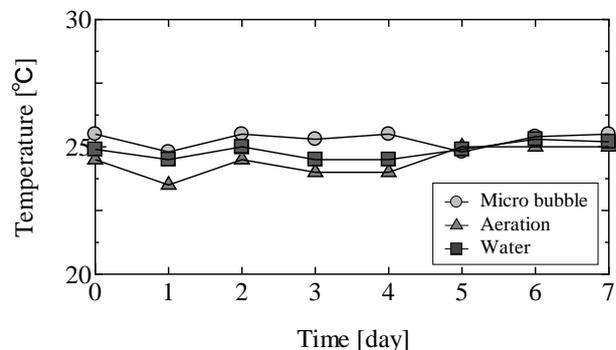


Fig. 3 Temperature in germination experiment

防止した。実験時使用水量は約80Lとした。

・エア試験区 (Aeration)

エア試験区としてエアポンプを用いて通常気泡により常時エアレーションした水に浸種した。通常気泡は空気、液

相は水道水を使用した。容量 20L のポリバケツを用いて実験を行った。

・水試験区 (Water)

水試験区として水道水に浸種した。容量 20L のポリバケツを用いて実験を行った。

・対照区 (Control)

対照区として一般的な発芽方法である、水道水で湿らせた脱脂綿上で発芽させた。種子の乾燥を防ぐため、適宜脱脂綿を湿らせた。

実験期間における各試験区の培養液の溶存酸素飽和度 DO, 水温を Fig.2, Fig.3 に示す。DO は溶存酸素量測定計 (US-12, セントラル科学), 水温は赤液棒状温度計を用いて測定した。DO に関しては, 水試験区, エア試験区, MB 試験区の順に高くなった。また, 水試験区の DO を除き, 各試験区における DO および温度に大きな変化は見られなかった。

2. 2 栽培実験

発芽実験に用いたものと同じハウレンソウの湛液型水耕栽培を, 滋賀県立大学圃場実験施設のガラスハウスで行った。空調設備を用いて室温を約 15°C に調節した。水耕栽培用ウレタンに播種し, 一週間発芽させた。発芽した苗を水耕栽培用ウレタンごと穴の開いた発泡スチロールに固定し, 培養液に浮かべることで定植とした。発泡スチロールの厚さは 3cm で, 穴の間隔は 11cm x 7cm とした。栽培用水槽は長辺 65cm x 短辺 45cm x 高さ 25cm であり, 培養液を底

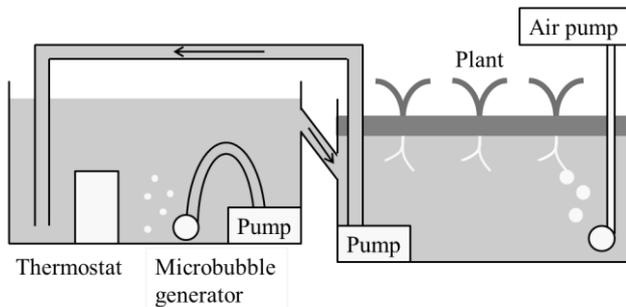


Fig. 4 Growth experiment apparatus (Micro bubble)

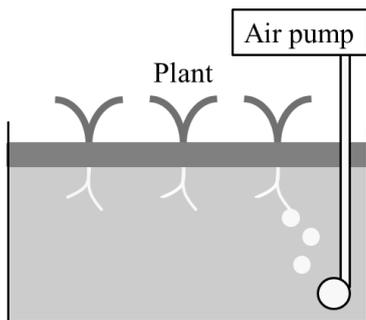


Fig. 5 Growth experiment apparatus (Aeration, Control)

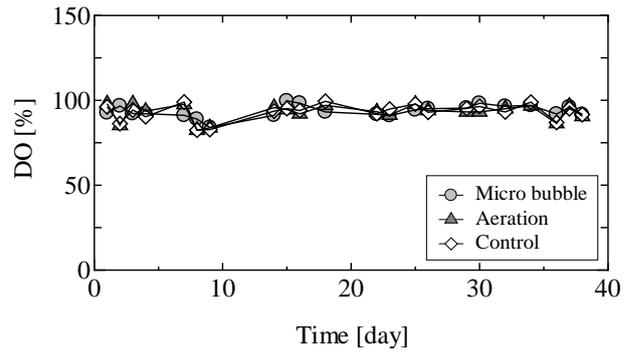


Fig. 6 DO in growth experiment

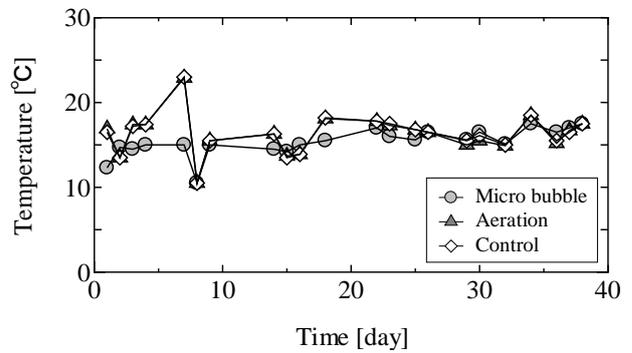


Fig. 7 Temperature in growth experiment

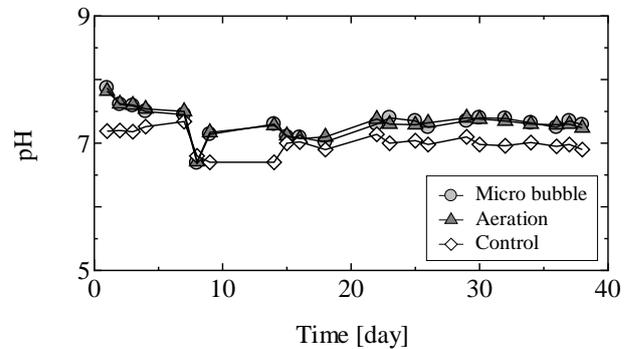


Fig. 8 pH in growth experiment

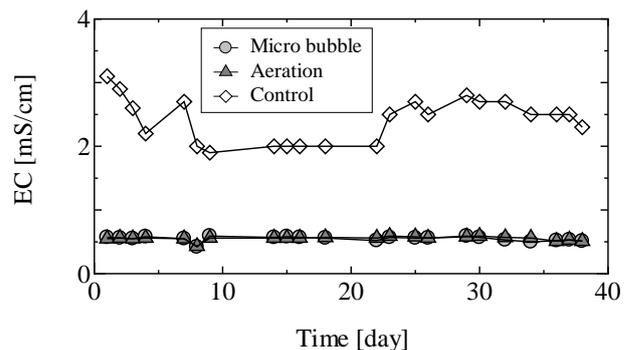


Fig. 9 EC in growth experiment

面から 20cm の位置まで満たした。培養液は 1 週間ごとに全量を交換し、pH, EC の調節は行わなかった。定植後 38 日後に収穫した。収穫後、植物体を地上部と地下部に分割し、新鮮重と乾物重を測定した。本研究では植物体を室温 70°C の乾燥機で 4 日間乾燥させたものを乾物重とした。1 試験区 12 個体とし、以下の 3 試験区を用いた。

・ Micro bubble (MB) 試験区 (Micro bubble)

MB 試験区として培養液中に空気より生成したマイクロバブルを発生させた。培養液には大塚ハウス A 処方¹⁾を濃度 10% で使用した。本実験では培養液濃度を 10% とすることで、電気伝導度 EC を植物の生長限界付近である約 0.5mS/cm としている。マイクロバブル発生装置として、巡回方式 (BT-50, バブルタンク社) のものを使用した。巡回方式とは気液二相流体を高速巡回させることにより、装置内で液体と気体の遠心分離作用を利用し、マイクロバブルを発生させる方法である。発芽実験で使用した加圧溶解方式のマイクロバブル発生装置では装置内部に残留した培養液の交換が困難である。そのため、本実験では構造が単純な巡回方式のものを使用し、培養液の濃度を正確に管理した。マイクロバブル発生装置は全行程 15m の水中ポンプ (SM-625H, 工進) を用いて稼働させた。マイクロバブルの平均気泡径は 38.0 μ m, 空気流量は 0.075L/min であった。MB 試験区の栽培装置の概略図を Fig.4 に示す。マイクロバブル発生時の水流の影響を無くすため、マイクロバブル発生用水槽と栽培用水槽にわけ、培養液を循環させた。培養液の循環にはバスポンプ (KP-103JH, 工進) を使用した。恒温装置を使用し、マイクロバブル発生装置およびバスポンプを、15 分運転 45 分停止の 24 時間運転にすることで、水中ポンプの発熱による水温上昇を防止した。他試験区と同条件にするため、エアポンプを用いてエアレーションを 24 時間行った。

・ エア試験区 (Aeration)

エア試験区としてエアポンプを用いてエアレーションを 24 時間行った。培養液には大塚ハウス A 処方を濃度 10% で使用した。エア試験区の栽培装置の概略図を Fig.5 に示す。

・ 対照区 (Control)

対照区としてエアポンプを用いてエアレーションを 24 時間行った。培養液には大塚ハウス A 処方を一般的に使用されている濃度 100% で使用した。対照区の栽培装置の概略図はエア試験区と同じである。

実験期間における各試験区の培養液の DO, 水温, pH, EC を Fig.6-Fig.9 に示す。DO, 水温は発芽実験で使用した測定装置を用いて測定した。pH は pH 測定計 (PH-6011A, カスタム), EC は電気伝導度測定計 (EC Testr11, アズワン) を用いて測定した。DO および水温に関しては、各試験区に大きな差は見られなかった。MB 試験区とエア試験区の培養液濃度を 10% としたことで、pH と EC の値が対照区より低くなっていることがわかる。

2. 3 定量元素分析

栽培実験で収穫した植物体地上部の定量元素分析を行った。定量分析する元素は植物必須元素のうち、多量必須元素である N, P, K, Ca, Mg, とした。各試験区から 4 個体抜き出し定量元素分析した。N は炭素・窒素自動分析装置 (MACRO CORDER JM1000CN, ジェイ・サイエンス・ラボ) を用いて測定した。1 個体あたり約 50mg の乾燥試料を粉砕し、試験試料とした。標準試料には和光特級馬尿酸 (和光純薬工業) を使用した。P, K, Ca, Mg は誘導結合プラズマ発光分光分析装置 (ICP-AES) (SPS3100 Plasma Spectrometer, エスアイアイナテクノロジー) を用いて測定した。1 個体あたり約 100mg の乾燥試料を試験試料とした。試料の前処理として有害金属測定用硝酸 (ナカライテック), 精密分析用過酸化水素水 (和光純薬工業) を用いて湿式酸分解し、試験溶液とした。まず、試験試料をガラスビーカー (100mL) に入れ硝酸 8mL を添加し、約 1 時間 30 分ホットプレート上で加熱分解した。その後、さらに過酸化水素水 2mL を添加し、約 30 分加熱分解した。残留物が無くなったことを確認し、試験溶液を冷却後、5C 濾紙 (アドバンテック) と孔径 0.45 μ m の Millex-HA ディスクフィルター (Merck Millipore) を用いて濾過した。1N 硝酸を用いて試験溶液を 50mL に定容した。測定には試験溶液及び試験溶液 10 倍希釈液を使用した。標準試料には ICP マルチエレメントスタンダード IV とリン ICP 標準溶液 (Merck Millipore) を使用した。標準試料は 1N 硝酸を用いて 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50ppm に調整し、検量線を作成した。

3. 実験結果および考察

3. 1 発芽実験

各試験区の実験期間中の発芽率を Fig.10 に示す。7 日目の発芽率は MB 試験区が 77.5% で最も高く、エア試験区と対照区はともに約 44%, 水試験区は 1.5% となっている。各試験区の発芽所要日数を Table 1 に示す。発芽所要日数とは発芽日の期待値を表している。発芽率が 1.5% である水試験区の発芽所要日数は有意なものでないと考えられるため除く。MB 試験区の発芽所要日数が他試験区より約 0.4 日早まっている。

種子の発芽には水中の溶存酸素量が大きく影響を与えるとされている¹⁰⁾。マイクロバブルを水中に発生させることにより、水中の溶存酸素量が過飽和域に増加し、発芽率が増加したものと考えられる。また、マイクロバブルを用いることで発芽するまでの日数を短縮できる。

3. 2 栽培実験

MB 試験区, エア試験区, 対照区の栽培終了時の画像を Fig.11-Fig.13 に示す。培養液濃度 10% の MB 試験区と培養液濃度 10% のエア試験区を比較すると、エア試験区では養分吸収不良と思われる生理障害が発生しているが、MB 試験区では問題なく成長している。また、MB 試験区は培養液濃度 100% の対照区と同程度成長している。よって、培

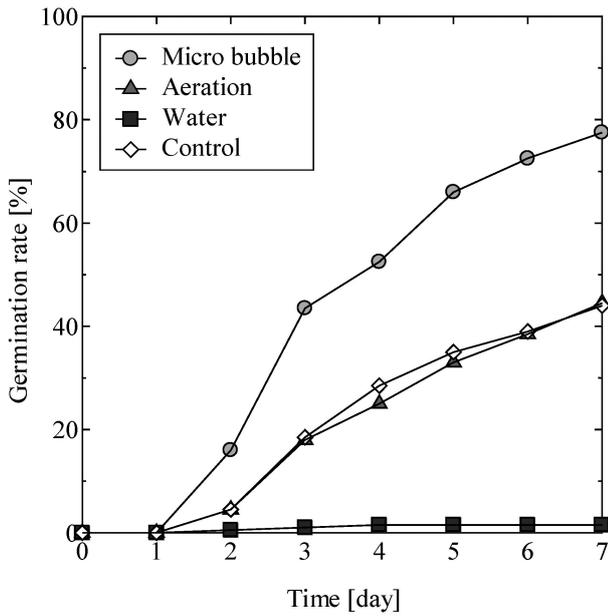


Fig. 10 Germination rate

Table 1 Expected day of germination

	Expected day of germination [day]
Micro bubble	3.77
Aeration	4.33
Control	4.15

養液中にマイクロバブルを発生させることで、培養液の養分濃度を低くしても栽培が可能であると考えられる。

本研究室で撮影したマイクロバブル水中でのホウレンソウの根の様子を Fig.14 に示す。マイクロスコープ(VH-Z20, KEYENCE) を用い、光量が十分とれる透明な容器内で撮影した。栽培中の植物体の根を移動させると、生育に影響がある可能性があるため、本実験で栽培したホウレンソウの根は観察できていない。しかし、本実験で栽培したホウレンソウの根も同じ状況にあると考えられる。マイクロバブル水中にある根にはマイクロバブルが付着していることがわかる。マイクロバブルは一般的に負の電荷をもつことが知られている¹⁾。また、土壌粒子も負の電荷をもち、無機養分の吸収に影響を与えるとされている¹⁶⁾。無機養分は正または負の電荷を帯びたイオンとして根から吸収される。このとき、土壌粒子は負の電荷により、イオンの貯蔵庫としての役割を果たしている。このような役割をマイクロバブルが根に付着することで代替している可能性がある。

栽培終了後の植物体の地上部、地下部それぞれの新鮮重、乾物重を Table 2 に示す。表中の a, b は Tukey 法による有意水準 5%での検定結果を表し、異なる文字間では有意差有り、同じ文字間では有意差なしである。重量からも MB 試験区は対照区と同程度成長していることがわかる。



Fig. 11 Micro bubble plot grown for 38 days



Fig. 12 Aeration plot grown for 38 days



Fig. 13 Control plot grown for 38 days

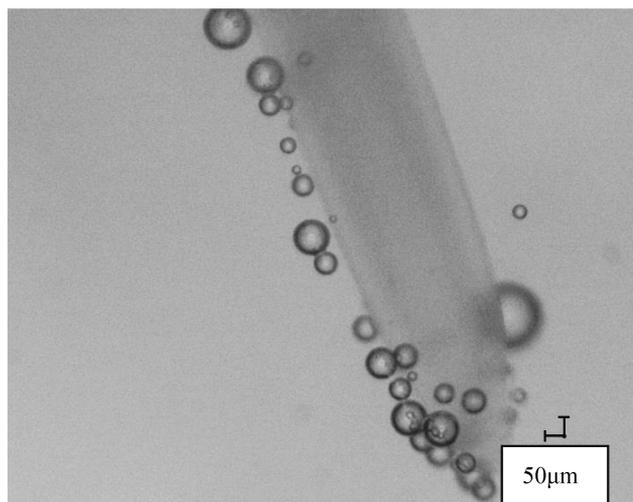


Fig. 14 Root in microbubble water

Table 2 Fresh and dry weights of plants

	Weight[g]			
	Leaves		Roots	
	Fresh	Dry	Fresh	Dry
Micro bubble	10.3a	6.88a	1.17a	0.358a
Aeration	3.32b	2.95b	0.488b	0.149b
Control	12.4a	5.62a	1.26a	0.379a

3. 3 定量元素分析

各試験区の元素濃度を Fig.15 に示す. 図中のエラーバーは標準偏差を表す. また, 図中の a, b は Tukey 法による有意水準 5%での検定結果を表し, 異なる文字間では有意差有り, 同じ文字間では有意差なしである. MB 試験区, エア試験区, 対照区における N 濃度の平均値は, それぞれ 4.58, 4.52, 5.48%, P は 0.36, 0.96, 0.88%, K は 5.71, 4.49, 6.50%, Ca は 3.28, 2.74, 1.16%, Mg は 1.38, 1.46, 0.81% である.

エア試験区と他試験区の各元素濃度を比較すると, K 濃度が低いことがわかる. よって, エア試験区で生理障害が発生した原因は K 欠乏であると考えられる¹⁷⁾. K は K イオンの形で根から吸収される. K イオンは正の電荷をもち, 負の電荷をもつマイクロバブルに引き付けられることで, 効率よく吸収できたと考えられる. よって, MB 試験区では K 欠乏が発生しなかったと考えられる. また, MB 試験区の Ca 濃度は対照区の約 3 倍高くなっている. しかし, MB 試験区と対照区において新鮮重と乾物重の有意差がないことから, この Ca 濃度の差は生育に対して大きな影響を及ぼさないと考えられる. 今後, K 以外の元素についても植物体への影響などを検討していく必要がある.

4. 結論

本研究はホウレンソウの浸種発芽と湛液型水耕栽培にマイクロバブルを適用し, 発芽と生育への影響を調査した.

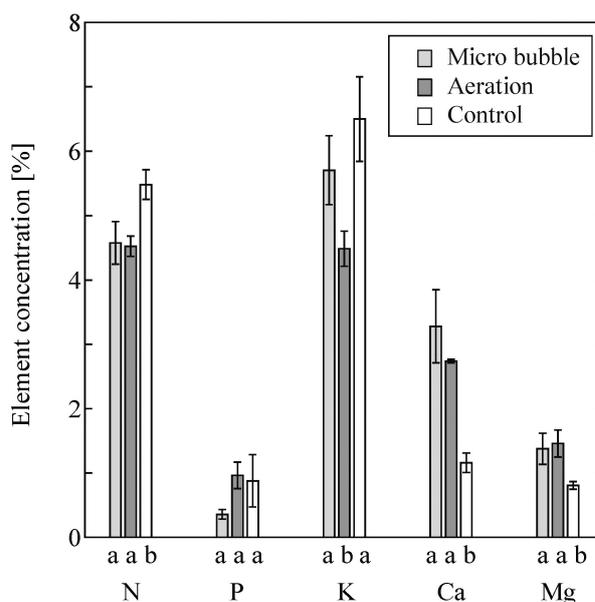


Fig. 15 Element concentration of leaves

また, 栽培後の植物体地上部の定量元素分析を行った. 以下に本研究で得られた知見を示す.

- (1) ホウレンソウ種子をマイクロバブル水に浸種することで, 浸種開始後 7 日目での発芽率が通常気泡によりエアレーションした水に比べ, 約 2 倍の 77.5%になる. また, 発芽所要日数に関しては, 約 0.4 日早まり, 3.77 日になる.
- (2) 濃度 10%でマイクロバブルを含む培養液で栽培したホウレンソウは, 生理障害が抑制され, 濃度 100%の培養液で栽培したものと同程度成長する.
- (3) 定量元素分析の結果, 濃度 10%の培養液で栽培すると発生した生理障害は K 欠乏が原因であると考えられる. このことから, マイクロバブルを培養液中に発生させることで, K が効率よく吸収されたと考えられる.

謝辞

本研究に対し, 貴重なご助言をいただいた滋賀県立大学環境科学部 須戸幹教授, 上町達也准教授に感謝する. 定量元素分析において N の測定をしていただいた滋賀県農業技術振興センター 猪田有美氏に感謝する. また, 本研究における実験に協力いただいた滋賀県立大学学生 杉本健太氏, 松村怜氏に感謝する.

参考文献

- 1) Takahashi, M. et al.: *Bisaikihou no Saishingizyutsu* (in Japanese), NTS, (2006).
- 2) Takahashi, M. et al.: *Bisaikihou no Saishingizyutsu Vol. 2* (in Japanese), NTS, (2014).
- 3) Liu, S., Kawagoe, Y., Makino, Y. and Oshita, S.: Effects of nanobubbles on the physicochemical properties of water: The basis for peculiar properties of water containing nanobubbles, *Chemical Engineering Science*, **93** (2013), 250-256.
- 4) Nakao, S. and Minakuchi, Y.: Effects of Micro Bubble Water on Seed Germination, *Yamanashi district conference* (2008), 255-256.
- 5) Mori, K., Hirabayashi, D. and Okada, T.: Effect of Bubbling Jet on Growth of Roots Vegetables in Indoor Hydroponics, *Journal of*

- JSEM*, **13-4** (2013), 366-371.
- 6) Himuro, S.: Practice of Regional Regeneration for Arao City, *Journal of JACT*, **14-3** (2009), 107-112.
 - 7) Nakabayashi, K., Fuse, Y., Nishiyama, T. and Hirasawa, K.: Growth of Melon Plants by Foam Cultivation, Bubbling Water Cultivation, Coral Sand Cultivation, and Conventional Hydroponics Systems, *Journal OF SHITA*, **11-1** (1999), 32-37.
 - 8) Park, J. and Kurata, K.: Application of Microbubbles to Hydroponics Solution Promotes Lettuce Growth, *HortTechnology*, **19-1** (2009), 212-215.
 - 9) Nobunkyo ed.: *Yasai Engei Daihyakka 15 Horenso Syungiku Seruri* (in Japanese), Nobunkyo (2004), 11-228.
 - 10) Kiya, H., Nakano, T. and Arai, S.: Early Germination of Spinach Seeds by Soaking in Water with High Dissolved-Oxygen concentration, *Bull. Nara Agr. Exp. Sta.*, **38** (2007), 37-40.
 - 11) Masuda, M. and Nomura, M.: Enhancement of Spinach Growth as Affected by the Addition of Sodium Chloride to the Nutrient Solution under Artificial Light Condition, *Journal OF SHITA*, **9-1** (1997), 29-35.
 - 12) Mimura, S., Hoshi, T. and Takatsuji, M.: Growth Promotion of Spinach in Nutriculture by Addition of Sodium Chloride to Nutrient Solution, *Journal OF SHITA*, **7-3** (1995), 151-155.
 - 13) Watanabe, Y., Yoneyama, M. and Shimada, N.: Effects of Water Stress Treatment on Sugars, Vitamin C and Oxalate Contents of Spinach, *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, **58-4** (1987), 427-432.
 - 14) Goto, E., Sugawara, D., Lee, Y. and Takakura, T.: Control of Dissolved Oxygen Concentration in Deep Hydroponic Culture of Spinach Using Pressurized Oxygen Gas, *Journal OF SHITA*, **15-1** (2003), 27-32.
 - 15) Nakabayashi, K. and Asai, T.: Effects of Supplementary Stroboscope and UV Lighting and Addition of Coral Sand to Nutrient Solution on Lettuce Yield and Quality, *Journal OF SHITA*, **13-3** (2001), 183-191.
 - 16) Taiz, L. and Zeiger, E.: *Plant Physiology Third Edition*, Baifukan (2004), 75-76.
 - 17) Takahashi, E., Maejima, K. and Okazaki, M.: Beneficial Effects of Sodium on the Growth of Soil-cultured Leafy Vegetables under Different Supply Levels of Potassium, *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, **68-4** (1997), 363-368.