

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6301703号  
(P6301703)

(45) 発行日 平成30年3月28日 (2018. 3. 28)

(24) 登録日 平成30年3月9日 (2018. 3. 9)

(51) Int. Cl.	F 1	
AO 1 G 31/00 (2018. 01)	AO 1 G 31/00	6 0 1 A
AO 1 G 22/00 (2018. 01)	AO 1 G 1/00	3 0 1 Z
AO 1 G 7/00 (2006. 01)	AO 1 G 7/00	6 0 5 Z
C 1 2 N 1/20 (2006. 01)	C 1 2 N 1/20	E
C 1 2 N 1/00 (2006. 01)	C 1 2 N 1/20	A
請求項の数 6 (全 8 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2014-68128 (P2014-68128)	(73) 特許権者	507152970 公益財団法人東洋食品研究所 兵庫県川西市南花屋敷4丁目23番2号
(22) 出願日	平成26年3月28日 (2014. 3. 28)	(74) 代理人	110001818 特許業務法人R&C
(65) 公開番号	特開2015-188374 (P2015-188374A)	(72) 発明者	青木 俊介 兵庫県川西市南花屋敷4丁目23番2号 公益財団法人東洋食品研究所内
(43) 公開日	平成27年11月2日 (2015. 11. 2)	(72) 発明者	遠田 昌人 兵庫県川西市南花屋敷4丁目23番2号 公益財団法人東洋食品研究所内
審査請求日	平成28年11月8日 (2016. 11. 8)	審査官	坂田 誠
微生物の受託番号	NITE P-01825		
微生物の受託番号	NITE P-01826		
微生物の受託番号	NITE P-01823		
微生物の受託番号	NITE P-01824		
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 養液栽培方法および養液栽培に使用する菌株

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

野菜を生長促進するパチルス・アミロリケファシエンス、パントエア・アグロメランスおよびシュードモナス・フルオレセンスの少なくとも何れかを培養液に添加して前記野菜を栽培する養液栽培方法であって、

前記パチルス・アミロリケファシエンスが、受託番号NITE P-01825およびNITE P-01826の何れかで示される菌株であり、前記パントエア・アグロメランスが、受託番号NITE P-01823で示される菌株であり、前記シュードモナス・フルオレセンスが、受託番号NITE P-01824で示される菌株である養液栽培方法。

【請求項 2】

前記野菜は葉菜類である請求項 1 に記載の養液栽培方法。

【請求項 3】

前記葉菜類は、ミツバ、レタス類の群から選択されるものである請求項 2 に記載の養液栽培方法。

【請求項 4】

野菜の養液栽培において、生長促進のために使用する受託番号NITE P-01825およびNITE P-01826の何れかで示される菌株であるパチルス・アミロリケファシエンス。

【請求項 5】

野菜の養液栽培において、生長促進のために使用する受託番号N I T E P - 0 1 8 2 3で示される菌株であるパントエア・アグロメランス。

【請求項6】

野菜の養液栽培において、生長促進のために使用する受託番号N I T E P - 0 1 8 2 4で示される菌株であるシュードモナス・フルオレセンス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、野菜の養液栽培に関する。

【背景技術】

【0002】

土壌を利用した作物の土壌栽培では、土中の腐植により発生し共存する多種多様な土中微生物や細菌が存在し、これら微生物や細菌が作物の生育上不可欠な環境を巧みに調節することを利用している。

しかし、土中微生物や細菌の中には、作物の病気を誘因するものも含まれるため、これらの対策が必要となる。さらに土壌栽培では、特定の種類の作物を連作することで引き起こされる連作障害の問題を考慮する必要がある。

【0003】

一方、土壌を利用した作物の土壌栽培に対して、土壌を使用しない無土壌栽培である養液栽培（水耕栽培）が行われている。養液栽培は、周年生産が可能、土壌に起因する栽培不適地での生産が可能、連作障害の回避ができる、などの利点を持っている。一方、養液栽培は土壌が持っている緩衝力を持ち合わせていないことから、病原菌に対する抗菌作用が働かないため、農薬および肥料の種類や使用量が増大する傾向があった。

【0004】

例えば特許文献1には、特定の根圏微生物を使用してトマトの養液栽培を行うことが記載してある。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】特開平6 - 3 1 1 8 2 6号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

土壌の持っている緩衝力を持ち合わせていない養液栽培では、農薬や肥料のバランス崩れや病原菌に対する危険が伴うため、短いスパンで一作が完了する野菜の栽培が行われることが望ましい。

【0007】

従って、本発明の目的は、特定の野菜において、生長を促進することができる養液栽培方法、および、養液栽培に使用する菌株を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、特定の野菜の養液栽培方法を鋭意検討した結果、パチルス・アミロリケファシエンス、パントエア・アグロメランスおよびシュードモナス・フルオレセンスを養液栽培の培養液に添加することで、生長を促進させることができることを見出した。

【0009】

即ち、上記目的を達成するため、以下の[1]～[6]に示す発明を提供する。

[1] 野菜を生長促進するパチルス・アミロリケファシエンス、パントエア・アグロメランスおよびシュードモナス・フルオレセンスの少なくとも何れかを培養液に添加して前記野菜を栽培する養液栽培方法であって、前記パチルス・アミロリケファシエンスが、受託番号N I T E P - 0 1 8 2 5およびN I T E P - 0 1 8 2 6の何れかで示される菌株

10

20

30

40

50

であり、前記パントエア・アグロメランスが、受託番号N I T E P - 0 1 8 2 3で示される菌株であり、前記シュードモナス・フルオレセンスが、受託番号N I T E P - 0 1 8 2 4で示される菌株である養液栽培方法。

[ 2 ] 前記野菜は葉菜類である [ 1 ] に記載の養液栽培方法。

[ 3 ] 前記葉菜類は、ミツバ、レタス類の群から選択されるものである [ 2 ] に記載の養液栽培方法。

[ 4 ] 野菜の養液栽培において、生長促進のために使用する受託番号N I T E P - 0 1 8 2 5およびN I T E P - 0 1 8 2 6の何れかで示される菌株であるバチルス・アミロリケファシエンス。

[ 5 ] 野菜の養液栽培において、生長促進のために使用する受託番号N I T E P - 0 1 8 2 3で示される菌株であるパントエア・アグロメランス。 10

[ 6 ] 野菜の養液栽培において、生長促進のために使用する受託番号N I T E P - 0 1 8 2 4で示される菌株であるシュードモナス・フルオレセンス。

#### 【 0 0 1 0 】

植物が生育する土壌環境である根圏に生息する根圏細菌中に、植物生育促進根圏細菌 ( P G P R ) として植物に対して生育促進効果を持つ細菌の存在が認知されてきた。本発明では、養液栽培において、P G P R であるバチルス・アミロリケファシエンス ( 受託番号N I T E P - 0 1 8 2 5およびN I T E P - 0 1 8 2 6の何れかで示される菌株 ) 、パントエア・アグロメランス ( 受託番号N I T E P - 0 1 8 2 3で示される菌株 ) およびシュードモナス・フルオレセンス ( 受託番号N I T E P - 0 1 8 2 4で示される菌株 ) の少なくとも何れかを培養液に添加する。このような培養液を、野菜、特に葉菜類の養液栽培に使用することで、生長を促進することができる。当該葉菜類としては、例えばミツバ、レタス類等を使用するのがよい。後述する実施例では、これら葉菜類の生長が促進 ( 地上部新鮮重の増大 ) されたことが確認できた。 20

#### 【 0 0 1 1 】

従って、本発明では、野菜の養液栽培において、培養液に特定の微生物を導入することにより、簡便な手法で生長促進効果を得ることができる。

#### 【 発明を実施するための形態 】

#### 【 0 0 1 2 】

以下、本発明の実施形態を図面に基づいて説明する。 30

本発明では、野菜の養液栽培において、P G P R であるバチルス・アミロリケファシエンス、パントエア・アグロメランスおよびシュードモナス・フルオレセンスの少なくとも何れかを培養液に添加する。

#### 【 0 0 1 3 】

( 養液栽培 )

養液栽培は、植物の生長に必要な養水分を液肥として与える栽培方法であり、所望の規模を有する栽培槽内に液肥を含んだ培養液を供給し、植物体の一部を当該培養液に浸漬した状態で栽培する。当該栽培槽は、通常、温湿度や照明の制御を各別に行える閉鎖された空間内に設置され、栽培槽に供給された培養液を循環させながら植物 ( 野菜 ) の栽培を行うが、このような態様に限定されるものではない。 40

#### 【 0 0 1 4 】

養液栽培の態様は特に限定されるものではなく、水耕、噴霧耕、固形培地耕などの方式を適用することができる。

水耕方式は循環式湛液水耕方式、非循環式湛液水耕方式、通気式湛液水耕方式、液面上下式湛液水耕方式、毛管式水耕方式やN F T ( Nutrient Film Technique : 薄膜水耕法 ) 方式などを適用するとよい。

噴霧耕方式は噴霧水耕方式などを適用するとよい。

固形培地耕方式は無機培地耕方式と有機培地耕方式などを適用するとよい。無機培地耕方式における培地として、れき、砂、もみがらくん炭、パーミキュライト、パーライト、ロックウールなどが用いられる。有機培地耕方式における培地として、樹皮、ヤシガラ、 50

ピートモス、おがくず、もみがらなどの天然有機物や、ポリウレタン、ポリフェノール、ピニロンなどの有機合成物が用いられる。特に培養液の保持性向上と気相率向上の観点からロックウールを用いる無機培地耕方式を行うのが好ましい。

【0015】

養液栽培に使用する培養液は特に限定されるものではなく、栽培する植物が必要とする養分（必須元素）を吸収に適した態様および濃度で水に溶かしたものであればよい。当該養分は、通常、イオンの状態で存在し、多量要素および微量要素がある。

【0016】

多量要素としては、窒素（N：硝酸態（ $\text{NO}_3\text{-N}$ ）とアンモニア態（ $\text{NH}_4\text{-N}$ ）があり養液栽培では硝酸態を主たる窒素源とする）、リン（P：リン酸態（ $\text{PO}_4\text{-P}$ ））、カリウム（K）、カルシウム（Ca）、マグネシウム（Mg）、硫黄（S：硫酸態（ $\text{SO}_4\text{-S}$ ））などがある。

10

【0017】

微量要素としては、鉄（Fe）、マンガン（Mn）、ホウ素（B）、銅（Cu）、亜鉛（Zn）、モリブデン（Mo）、ケイ素（Si）、塩素（Cl）、アルミニウム（Al）、ナトリウム（Na）、ニッケル（Ni）などがある。

【0018】

このような養分を適当な濃度、pH、EC（電気伝導度）に調製して培養液として供する。養液栽培では、培養液のこれらの要因をコントロールする培養液管理が重要となる。さらに、養液栽培では、気温、湿度、光条件などの環境要因をコントロールする環境制御も重要なものとなる。

20

【0019】

上述した要因の条件は、栽培する野菜の種類に応じて適宜設定すればよい。例えばpHは5.0～7.0、ECは0.5～5.0 mS/cm（25℃）、気温は10～30℃、湿度は50～70%、光条件は公知の人工光源を8～12時間程度照射させるように制御すればよいが、これらの範囲に限定されるものではない。

【0020】

（根圏細菌）

根圏とは植物の根から影響を受ける領域のことであり、根圏細菌は植物が生育する土壌環境である根圏に生息する細菌のことである。本発明では、根圏細菌として、植物生育促進根圏細菌（PGPR）として植物に対して生育促進効果を持つ細菌であり、バチルス属細菌のバチルス・アミロリケファシエンス（*Bacillus amyloliquefaciens*）、パントエア属細菌のパントエア・アグロメランス（*Pantoea agglomerans*）、および、シュードモナス属細菌のシュードモナス・フルオレセンス（*Pseudomonas fluorescens*）を使用することができる。

30

【0021】

バチルス・アミロリケファシエンスは、植物病害の病原体に対する拮抗微生物として知られており、土壌試料中によく見られる好気性細菌である。バチルス・アミロリケファシエンスは、例えば受託番号NITE P-01825で示される菌株（#111）、NITE P-01826で示される菌株（#167）を使用することができる。

40

【0022】

バチルス属細菌以外の細菌では、小麦に常在する共生細菌であるパントエア・アグロメランスや、バチルス・アミロリケファシエンスと同様に植物病害の病原体に対する拮抗微生物として知られており、土壌試料中によく見られる好気性細菌のシュードモナス・フルオレセンスを使用することができる。パントエア・アグロメランスは、例えば受託番号NITE P-01823で示される菌株（#74）、シュードモナス・フルオレセンスは、例えば受託番号NITE P-01824で示される菌株（#78）を使用することができる。本発明では、これら細菌を単独で用いてもよいし、混合して用いてもよい。

上述した受託番号が付された菌株は、何れも独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）特許微生物寄託センター（NPMD）に2014年3月12日に寄託されている。

50

また、本発明においては、上述した菌株の変異株又は派生株であってもよく、このような菌株を養液栽培に使用することで後述する作用を有する限り使用することができる。

【0023】

上述した菌株の培養には、T S B (Trypticase Soy Broth、BBL社製)やT S A (Trypticase Soy Agar、BBL社製)などの培地を使用することができるが、これらに限定されるものではない。また、培養後の菌体の洗浄および回収(再懸濁)には、遠心分離した後、滅菌水またはP B S (リン酸緩衝生理食塩水)などを使用することができるが、これらに限定されるものではない。

【0024】

(葉菜類)

本発明では、野菜として葉菜類を適用するのがよい。葉菜類は、主に葉の部分を利用とする野菜のことをいう。本発明では、葉菜類としては特に限定されるものではないが、例えばミツバ、レタス類(レタス、サニーレタス)、キャベツ、コマツナ、ニラ、ネギ、ハクサイ、チンゲンサイ、ホウレンソウ、セロリ、パセリ、シュンギク、フキ、ミズナ、ヨモギ等を適用することができる。

【0025】

本発明では、養液栽培において、P G P Rであるバチルス・アミロリケファシエンス、パントエア・アグロメランス、シュードモナス・フルオレセンスの少なくとも何れかを培養液に添加する。このような培養液を、野菜、特に葉菜類の養液栽培に使用することで、生長を促進させることができる。

【実施例】

【0026】

本発明の実施例について説明する。

非循環式湛液水耕方式にて、通常の水耕栽培設備(水畑、ゼンポー社製)によりミツバ(白茎三ツ葉 関西系、タキイ種苗)およびサニーレタス(タキイ種苗)の養液栽培を行った。

【0027】

ミツバ種子は、17%(W/V)の塩化ナトリウム水溶液に30分間浸漬して未熟種子や夾雑物などを取り除いた後に、水洗し、1晩流水に漬けおき、アク抜きした。その後、4に2週間保存し予措してから用いた。サニーレタス種子はそのまま用いた。ミツバおよびサニーレタスとも、播種から子葉が展開し始めるまでの期間は水のみで栽培し、その後、定植までの期間は、培養液として大塚化学A処方(pH6.0、電気伝導度1.2mS/cm(20))に調整、容量500mL)で栽培した。

ミツバ苗およびサニーレタス苗は、播種から14日目の苗をそれぞれ定植した。培養液として、大塚化学A処方(pH6.0、電気伝導度2.3mS/cm(20))に調整し調整、容量10L)を用いた。

【0028】

このようにして調製した培養液に、2種類のバチルス・アミロリケファシエンス(#111株(受託番号NITE P-01825)、#167株(受託番号NITE P-01826))をそれぞれ $10^5$ cfu/mLの濃度で添加した培養系を構築した(実施例1,2)。また、調製した培養液に、パントエア・アグロメランス#74株(受託番号NITE P-01823)(実施例3)、シュードモナス・フルオレセンス#78株(受託番号NITE P-01824)(実施例4:サニーレタスのみ実施)をそれぞれ $10^5$ cfu/mLの濃度で添加した培養系を構築した。

尚、上述した菌株は、T S B液体培地に各菌株を接種した後、30、16時間、140rpmで振盪培養し、培養後、遠心分離した後にP B Sで洗浄、再懸濁を3回繰り返したものを使用した。

【0029】

養液栽培は、明期を8000Lxの条件で13時間照射(20)し、暗期を11時間(15)とし、湿度は明期および暗期とも約50%RHの条件で行い、ミツバは定植後

10

20

30

40

50

4 1 日間、サニーレタスは定植後 4 5 日間栽培した。各実施例について、ミツバは 1 2 本 × 5 ウレタンブロックの計 6 0 本を、サニーレタスは 1 本 × 5 ウレタンブロックの計 5 本を栽培しており、ミツバの草丈は各ウレタンブロックの最大長の平均値を、ミツバおよびサニーレタスの地上部および根部新鮮重はウレタンブロック 5 個全ての苗の合計値とした。

【 0 0 3 0 】

また、実施例 5 として、植物培養用の容器（インキュティッシュ、バイオメディカルサイエンス社製）によりミツバ（白茎三ツ葉 関西系、タキイ種苗）の容器内養液栽培（非循環式湛液水耕方式）を行った。アク抜きおよび予措した種子をオートクレーブで滅菌（1 2 1、1 5 分）したパーミキュライトに使用し、播種から子葉が展開し始めるまでの期間は水のみで栽培し、子葉が展開し始めた後は、培養液として大塚化学 A 処方（pH 6. 0、電気伝導度 2. 3 m S / c m ( 2 0 )）に調整、1 0 0 m L）をパーミキュライトに添加した。

このようにして調製した培養液に、播種から 1 4 日目の時点で、シュードモナス・フルオレセンス # 7 8 株（受託番号 N I T E P - 0 1 8 2 4）を  $1 0^5$  c f u / m L の濃度で添加した培養系を構築した。

【 0 0 3 1 】

養液栽培は、明期を 1 0 0 0 0 L x の条件で 1 6 時間照射（2 0）し、暗期を 8 時間（2 0）とし、湿度は明期および暗期とも約 5 5 % R H の条件で行い、播種から 3 9 日間栽培した。ミツバは 9 本を栽培しており、草丈、地上部および根部新鮮重は全ての苗の平均値とした。

【 0 0 3 2 】

実施例 1 ~ 5 において、養液栽培後、全ての苗を収穫し、草丈、地上部新鮮重、根部新鮮重を測定した。結果を表 1 に示した。表 1 に示す数値は、コントロール（培養液に生長促進効果を有する微生物を全く添加せずに栽培したミツバおよびサニーレタス）における草丈、地上部新鮮重、根部新鮮重を 1. 0 とした場合の相対値を示した。

【 0 0 3 3 】

【表 1】

菌 種	ミツバ			サニーレタス	
	草丈	地上部新鮮重	根部新鮮重	地上部新鮮重	根部新鮮重
実施例1 パチルス・アミロリケファシエンス(#111)	1. 2	1. 4	1. 4	1. 8	1. 1
実施例2 パチルス・アミロリケファシエンス(#167)	1. 1	1. 2	1. 2	1. 5	1. 1
実施例3 パントエア・アグロメランス(#74)	1. 2	1. 3	1. 1	1. 5	1. 5
実施例4 シュードモナス・フルオレセンス(#78)	—	—	—	1. 4	1. 2
実施例5 シュードモナス・フルオレセンス(#78)	1. 4	1. 5	1. 4	—	—

【 0 0 3 4 】

この結果、ミツバにおいては、実施例 1 ~ 5 では、可食部である地上部の草丈は 1. 1 ~ 1. 4、地上部新鮮重は 1. 2 ~ 1. 5 の値が得られた。また、サニーレタスにおいては、実施例 1 ~ 4 では、地上部新鮮重は 1. 4 ~ 1. 8 の値が得られた。

【 0 0 3 5 】

従って、ミツバおよびサニーレタスの養液栽培において、P G P R であるパチルス・ア

ミロリケファシエンス、パントエア・アグロメランスおよびシュードモナス・フルオレセンスの何れかを培養液に添加することで、生長を促進することができた。

【産業上の利用可能性】

【0036】

本発明は、野菜の養液栽培に利用することができる。

【受託番号】

【0037】

N I T E P - 0 1 8 2 5

N I T E P - 0 1 8 2 6

N I T E P - 0 1 8 2 3

N I T E P - 0 1 8 2 4

---

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
C 1 2 N 1/00 P

(56)参考文献 特開2013-14573(JP,A)  
特表2003-529539(JP,A)  
特開2003-212708(JP,A)  
特表2013-534211(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
A 0 1 G 3 1 / 0 0  
A 0 1 G 7 / 0 0  
A 0 1 G 2 2 / 0 0  
A 0 1 N 6 3 / 0 0  
C 1 2 N 1 / 0 0  
C 1 2 N 1 / 2 0