

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月24日現在

機関番号：82641

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22380139

研究課題名（和文） 施設園芸における地球温暖化効果ガス排出動態の解明

研究課題名（英文） Analysis of GHG emission dynamics in hydroponics

研究代表者

吉原 利一（YOSHIHARA TOSHIHIRO）

一般財団法人電力中央研究所・環境科学研究所・上席研究員

研究者番号：60371506

研究成果の概要（和文）：

トマトのロックウール栽培をモデルケースとして、①栽培に伴って発生するGHG（CO₂、N₂O、CH₄）が気温や施肥量などの環境要因や、植物体の生育状況に強く依存すること、②ロックウール栽培と土耕栽培におけるGHG発生パターンには大きな差異は認められないが、発生量は土耕の方が大きいこと、③N₂Oの発生に関わる微生物は、種類・量ともに発生量とほとんど相関がないこと、などを明らかにした。また、特に④センサーによるN₂Oのリアルタイム測定法を確立したことによって、N₂Oの消長が施肥と極めて正確に同調しており、施肥開始後、増加を示すまでの時間は約10分程度、ピークに至るまでに30分から1時間程度、施肥をやめてから基底状態に戻るまでに約3～7時間程度と極めて、早い反応であることなどが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

A rockwool based nutrient dripping culture system for tomato was used as a model to clarify changes in GHG emissions (CO₂, N₂O, and CH₄) from the rhizosphere. The points of the results are as follows: 1. The GHG emissions were highly dependent on the environmental conditions, such as temperature, irradiation, and fertilization. 2. The changes in GHG emission during the culture were almost the same between the rockwool culture and a traditional soil culture, although the total GHG emission was basically larger in the soil culture than in the rockwool culture. 3. Changes in micro florals and the amounts were not correlated with the changes in N₂O emission. In particular, we established a continuous and real-time measurement system for N₂O emission, and newly discovered a very quick response of the N₂O emission to the fertilization (i. e., The N₂O emission began to increase at least within 10 to 15 min and peaked around 30 to 60 min from the beginning of each nutrient supply, and backed to the background level at most within 7 h after the end of the supply).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成22年度	7,900,000	2,370,000	10,270,000
平成23年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
平成24年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
年度			
総計	14,900,000	4,470,000	19,370,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業工学

キーワード：施設園芸、植物工場、地球温暖化効果ガス、持続的農業生産

1. 研究開始当初の背景

農業分野からの GHG 発生は CO_2 、 N_2O 、 CH_4 である。これまでの様々な研究から、 CO_2 については農作業や産物・資材輸送、肥料・資材製造における化石燃料の使用によるものを起源としていること、 N_2O と CH_4 については畑地における窒素源肥料の散布、あるいは家畜ルーメンや、水田からの有機物分解による排出などが主たる要因であることが明らかになっており、いずれも全産業に占める割合として無視できないとされている (IPCC, 2007; 農水省, 2008)。しかし、これらのデータは基本的に土壌を用いた露地栽培におけるものであり、養液栽培を基本とした施設園芸栽培において当てはまるか否かを示す例は極めて少なく、ましてどのような状況において GHG 排出が促進・抑制されるか示した例はなかった (Daum と Schenk, 1996)。一方、我が国では近年、LED などの新しい光源や高性能なヒートポンプの開発・利用によって施設園芸の光熱費が大幅に低減できる可能性が高まったことを契機として、高度な環境制御により低農薬で安定した生産量、品質を保つ野菜の工業的生産技術「植物工場」に関心が集まっている。また、食糧自給率向上や地域振興策、景気対策としての観点から立案された政策 (補助金、税制) も、その普及を後押ししている。国外においても、砂漠地帯や極寒地など露地での栽培が困難な場所において、効率的・計画的に野菜を生産する技術として普及しつつある (海老沢ら, 2008; 太陽光植物工場の新展開, 2012; 人工光型植物工場, 2012)。さらに、光環境や温熱環境を制御することによって生産効率・収量を高めつつ、ビタミンを初めとする種々の栄養価を増加させ産物の付加的価値をつけるような新しい生産方法の開発も盛んである (Shiga et al., 2009; Jokan et al., 2010; 庄子ら, 2010; Shoji et al., 2011)。このような背景をもとに、近年では「植物工場」を初めとする施設園芸全般において LCA 的評価研究を進める必要性が強く認識され始めている。

2. 研究の目的

施設園芸全般において LCA 的評価を進めるために必要な GHG 排出実態のうち、特に栽培に伴って根圏から排出される GHG を、その要因である微生物相の変化、および環境要因や植物の生育状況の変化と関連づけて明らかにすることを目的とする。

本研究では、「植物工場」における主たる

栽培方式である、基本的に土を使わない水耕や砂やロックウールなどの人工支持体に培養液を供給する方式 (砂耕、ロックウール耕など) のうちトマトのロックウール栽培をモデルケースとして、(1)栽培に伴って発生する GHG (CO_2 、 N_2O 、 CH_4) の定量と一般的な土耕栽培との相違、およびセンサーによるリアルタイム連続測定法の確立、(2)栽培における GHG の発生に関わるマイクロフローラの変化、(3)気温などの環境要因、施肥状況、植物体の生育状況の変化に伴う GHG 発生状況の変化、を明らかにすることを目標とする。

3. 研究の方法

(1) GHG のサンプリングと分析・定量

フィールド試験用 GHG サンプリング装置をポット試験に合うように植物体保持用特殊スポンジなどを改良して試験に供した。改良には北海道大学土壌学講座の HP に示されている土壌面ガス放出測定チャンバーを参考にした (図 1)

(<http://www.agr.hokudai.ac.jp/env/soil-science/globalchange/globalwarming01.htm>)。

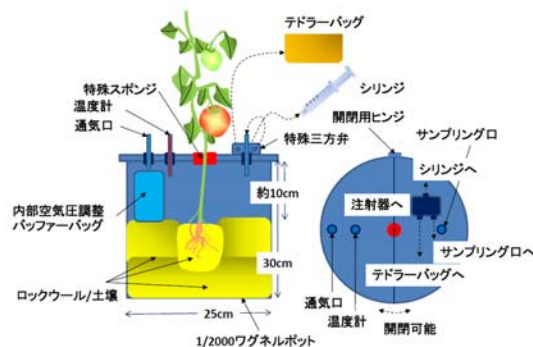


図 1. GHG サンプラー模式図

播種から約 60 日後に第 1 回目のサンプリングを行い、以降約 110 日後、約 150 日後、約 180 日後と、合計 4 回のサンプリングを行った。各回におけるサンプリングは、それぞれ午後 6 時から翌午後 4 時まで 4 時間おきに合計 6 回とした。ポット内培地から発生する空气の集積時間は 1 回あたり 15 分とし、それぞれのポットにおいて 1 L の空气をテドラーバッグにサンプリングして、GHG 分析のための試料とした (集積時間以外は通常の栽培時と同様にサンプリング用の蓋は外して解放した)。GHG の分析には対象とする 3 種の GHG (CO_2 、 N_2O 、 CH_4) を同時に分析可能な GHG 分析専用のガスクロマトグラフィー (7890A

GC-system; Agilent Tech. Inc., USA) を用いた。分離用のカラムは 6~8Ft HaySepQ80/100 (同) を使い、検出器は CO₂ には TCD、CH₄ には FID、N₂O には ECD を用いた。主な分析条件はメーカーの推奨する方法に従った。各サンプルの分析はサンプリング終了後 30 分以内に完了した。

(2) ミクロフローラの分析・定量

定植の 2 週間後から 14 週間後にかけて合計 7 回にわたり、栽培に用いたロックウールと土壌のサンプリングを行った。また、それぞれ新規の資材と経年使用した資材を用いて、差異を調べた。ロックウールからの DNA 抽出には、2g のロックウールを 3mL の 0.12 M リン酸ナトリウムバッファー (pH8.0)、直径 16 mm のタングステンビーズと共にビーズビーター (Retsch, MM300) で 30 秒間/室温条件で破碎し、フェノール、クロロホルム、イソアミルアルコールを用いた定法を改変した方法を用いた。土壌からの DNA の抽出には、ISOIL (ニッポン・ジーン、日本) を用いた。

遺伝子コピー数測定用のプラスミド作製は全長 3931bp の pCR2.1-TOPO ベクター (Life Technologies Japan Ltd. 日本) を用いた。文献情報から設計したプライマーセットを用いて増幅した断片をクリーンアップした後、ベクターへクローニングした。増幅したサンプルの断片長は既知であるため、これを元にプラスミド DNA の濃度から遺伝子コピー数を算出した。リアルタイム PCR には SYBR Premix Ex Taq (TaKaRa Bio, 日本) および Thermal Cycler Dice RealTime System TP850 (TaKaRa Bio) を用いた。鋳型として添加するリファレンスクローン DNA 量を 10 ng から 1 fg までの間で変化させ、それぞれの Threshold cycle (Ct) を測定し、検量線を作成した。サンプルの DNA 30 ng をリアルタイム PCR に供試し、反応後得られた Ct 値を用いて作成した検量線から各遺伝子コピー数を推定した。また、反応後に融解曲線分析を行い、増殖産物の特性を確認した。

(3) センサーによる N₂O のリアルタイム測定法の確立

CO₂ や CH₄ については赤外領域の波長をセンサーによってリアルタイムで連続的に測定する方法が開発されているのに対して、施肥の影響を最も受けると考えられる N₂O については、まだそのような方法が確立されていなかった。そこで、NTT の協力により、NTT の開発した最新の遠赤外領域のレーザー光を発生・測定する最新のセンサー技術を応用して、「根圏における N₂O 発生量をリアルタイムで連続的に測定」することを目標とした技術開発を進めた (図 2)。機器の構成は、①サンプリング・植物育成システム、②除湿システム、③制御・測定システムの 3 つに大別できる。①サンプリング・植物育成システムは、③制御・測定系

統からの信号を受けて種々の弁を動作し、サンプリング時以外の大気を取り込みによる植物育成ポットを兼ねたサンプリング用チャンバー内の低酸化をできる限り回避することや、サンプリング時の圧力低下により根圏からの過剰なガス成分の漏出を回避すること、植物体の生育を阻害せずにチャンバー内部のガスがチャンバー外に拡散しないことなどに配慮した設計とした。また、培養液の給液には、量や時間を適宜変えられるようにペリスタポンプを用い、タイマーによりサンプリングとは別に制御した。②除湿システムは、特殊な膜式の除湿装置一式 (Perma pure dryer, MD-110-12p-4; GL Sci. Co. Ltd. など) を、サンプル空気に含まれる N₂O 濃度に影響を与えないことを確認した上で組み込んだ。③制御・測定システムは、基本的に測定用の遠赤外波長をレーザー発振器により安定的に取り出し、特殊なガラスセルの中で 10m の光路長をとって封じ込めたサンプルガスによる吸収を測定する部分とこれらを制御する部分より成っている。いずれも NTT の開発した精密機器、あるいは本目的のために特注した機器 (弁開閉制御のためのシーケンサーなど) である。詳細については、現在論文を投稿中であることから割愛する。

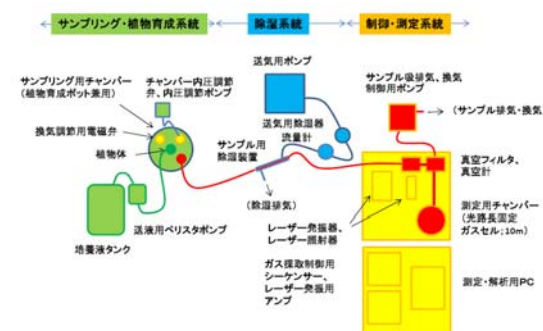


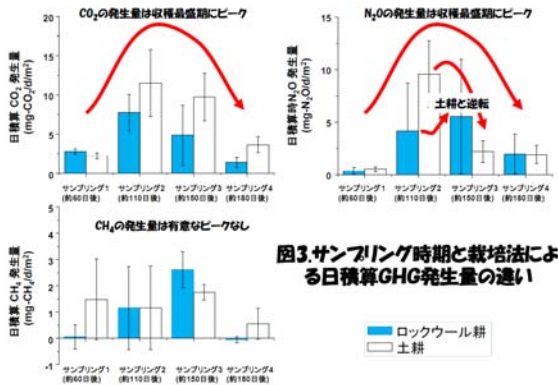
図2. N₂Oリアルタイム連続測定装置概要

4. 研究成果

(1) 栽培に伴って発生する GHG

サンプリング時期毎にみると第 1 回目 (播種から約 60 日後) についてはいずれの GHG についても比較的発生量が少なかったが、植物体が十分に生育した第 2 回目 (同約 110 日後)、あるいはまた第 3 回目 (同約 150 日後) についてはいずれの GHG についても有意な発生が増加が認められた。しかし、植物体の生育が衰えた第 4 回目 (同約 180 日後) についてはいずれの GHG についても発生量が減少し、ほぼ第 1 回目のレベルに戻った (図 3)。また、日変化としてみると、CO₂ と N₂O については日午後 2 時頃に最も発生量が多くなり、夜間午前 2 時頃に最も発生量が低くなる傾向が顕著であった。この傾向は、サンプリング時期としては特に第 2 回目、第 3 回目におい

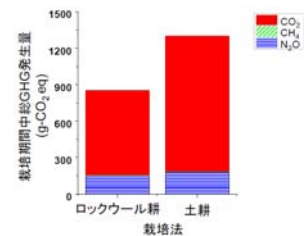
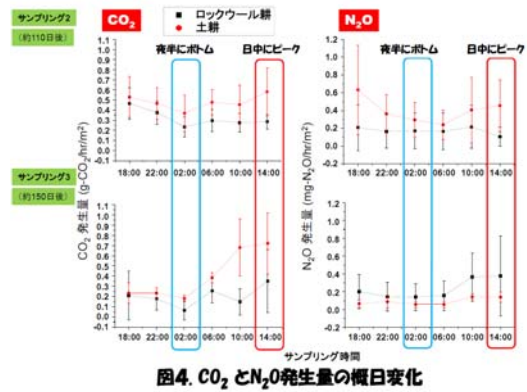
で顕著に示された(図4)。一方、 CH_4 については CO_2 と N_2O に認められるような概日変化は認められなかった。これらの結果から、 CO_2 と N_2O の発生量について植物体の生育ステージとの関連性が示唆される。また、このことについてDaumとSchenk(1996)は、トマトのロックウール栽培における N_2O 発生量を調べた結果、開花/収穫期において最も発生量が多くなったことを示しており、本報告における傾向と一致している。



(2) ロックウール栽培と土耕栽培におけるGHG発生量の比較

ロックウール栽培と土耕栽培におけるGHG発生量の比較をおこなったところ、 CO_2 ではほぼ一貫して土耕における発生量がロックウール耕よりも多かった(図3)。これに対し、 N_2O では、第2回目では土耕における発生量がロックウール耕よりも、第3回目ではロックウール耕における発生量が土耕よりも多く、時期による逆転が認められた。一方、 CH_4 についてはいずれのサンプルング時期においても CO_2 と N_2O に認められるような栽培法による明確な発生量の差異は認められなかった。また、概日変化についても、概ねロックウール耕と土耕の傾向は一致しており、基本的に土耕がロックウール耕よりも高い値(時間によって最大で数倍程度)を示した(図4)。ただし、 N_2O の発生量は、第3回目の測定において一日を通じてロックウール耕が土耕を上回っていた。これらの結果をまとめて栽培期間中に発生するGHG合計量を CO_2 換算値として推計したところ、ロックウール耕(約850 g- CO_2 eq)の方が土耕(約1300 g- CO_2 eq)より有意に低い値となった(図5)。このことは、全GHG発生量の8割以上を占める CO_2 発生量の差異を反映したものと考えられる。なお、 N_2O 発生量は施用した窒素分の3.8%(ロックウール耕)と4.9%(土耕)と推定された。なお、 CO_2 と N_2O 排出量の概日周期的変動は、Hydeら(2005)やSimekら(2010)など、多くの報告がある。しかし、そのピークとなる時間帯についてはいずれの報告においても測定する季節によって大きく異なる

ことが示されている。前項に示したようにGHGの発生量が植物体の活性・ステージに大きな影響を受けることにより、GHG発生量もそれぞれの条件によって異なる概日周期的な変化を示すのかもしれない。



※ N_2O 発生量は施用した窒素分の3.8%(ロックウール耕)と4.9%(土耕)であった。

(3) N_2O の発生に関わるマイクロフローの変化、および経年資材と新規資材を用いたロックウール栽培におけるGHG発生量と菌叢変動

CO_2 発生量は土耕において新規資材を使用した場合に比べて腐朽根を多く含む経年資材を使用した場合に増加した。 N_2O は同量の窒素源を給液したにも関わらず、土耕・ロックウール耕ともに経年資材の使用によって発生量が増加することが明らかとなった(図6A、7)。また、経年資材を使用した時の収穫量および植物生長量は同程度以上であった。この時、新規資材においても収穫期までに経年資材と同程度まで微生物が増殖していたが、GHG発生増加はなかった。 N_2O 発生ピーク時では、菌叢にはほとんど差がなく、GHG発生との相関はなかった。(図6B)。これらの結果より、GHG発生と根圏微生物量(硝化・脱窒プロセスに関わるもの)の間に有意な関連は見いだされなかったが、栽培法に関わらず経年資材の使用により N_2O 発生量が増大することが明らかとなった。その主な要因として経年資材中の残留窒素源により根圏微生物が活性化される可能性が示された。また、マイクロフロー形成だけでは N_2O 排出は増大しないこと、栽培後期の植物衰勢期(施肥効率低下期)に排出量増大することなどが明らかとなり、施設園芸によるGHG排出削減の

可能性 (34~47%)、複数年栽培時に N₂O 発生が増大する可能性 (3.8-fold yr⁻¹) などが示唆された。

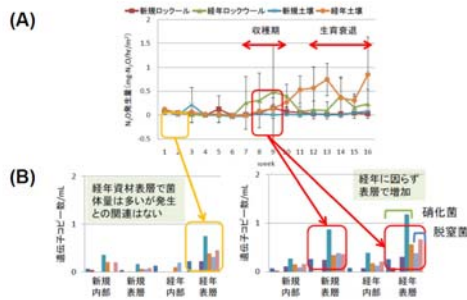


図6 経年資材と新規資材を用いたロックウール耕、土耕におけるN₂O発生量の比較(A)とロックウール耕における菌量・菌叢の推移(B)

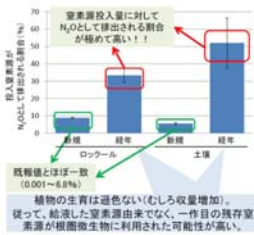


図7 栽培期間中に給液した窒素源がN₂Oとして排出される割合—経年資材と新規資材を用いたロックウール耕、土耕の比較—

(4) センサーによる N₂O のリアルタイム測定結果

代表的な測定結果を図8に示す。図下段の赤い四角は施肥のタイミング（大塚ハウス肥料使用、EC1.0に調整したものを1日午前7時から午後5時の間に60~80ml/hで3時間おきに1時間ずつ4回施用）を示す。その結果、N₂O量の消長が施肥と極めて正確に同調していることがはっきりと示された。また、施肥の量は毎回一定であるにも関わらず、発生するN₂Oの濃度はわずか4日間合計16回の各施肥毎の最大値として約3500ppbから9500ppbまで2.7倍の振幅をもって推移していることが示された。また、N₂O濃度が施肥を開始してから増加を示すまでの時間は約10分程度、ピークに至るまでに30分から1時間程度、施肥をやめてから基底状態に戻るまでに約3~7時間程度と極めて、早い反応であることが明らかとなった。なお、施肥の回数や量などの条件を変えずに開始時間を午後8時からとした場合にも、N₂O発生量は夜間に施肥を行った方が多いもののほぼ同様のN₂O発生と施肥タイミングの同調性が示された。

本測定装置を用いた測定では、この他、培養液の代わりに給水のみを行い、残存する施肥の影響を測定した結果や、培養液濃度を

1/2にして施用した結果、日中の測定におい

て N₂O 発生量と日射量との相関を取った結果、植物体の大きさを変えた時に同じ施肥量とした場合の N₂O 発生量に関する結果など、種々のデータを採取した。これらの結果には、例えば N₂O 発生量と日射量が極めて高い逆相関を示すこと、N₂O 発生量が夜間の施肥により昼間の施肥に比べて最大約5倍となることなどが含まれる。これらの結果から、ガスクロマトグラフィーを用いた経時的とはいえ頻度の低い単発的なサンプリングと測定によるこれまでの知見が精度を高めて証明されるとともに N₂O 発生が根圏のバクテリアの活性によって生じるもので、根圏における窒素源の量に大きく依存して増減すると改めて示唆された。その上で、これまでの知見では直接的な要因を特定できなかった植物体の生育ステージの変化に伴う N₂O 発生量の変化などが、主に養分の需給バランスの変化による結果であることが明らかとなった。すなわち、根圏における窒素源の量は基本的に植物体の吸収能力によって決まり、植物はバクテリア（少なくとも硝化・脱窒プロセスに関わるもの）が吸収・利用するよりも速い速度で与えた窒素源を吸収・利用しており、その結果としての N₂O が発生すると考えられた。これらを発展させれば、N₂O 濃度測定方法とその応用による施肥マネジメントにつなげられると考えられる。なお、これらの結果は本報告書には論文の投稿を終えていないため掲載していない。

最後に N₂O のリアルタイム測定法の確立において心臓部となる装置の開発に、日本電信電話株式会社(NTT) フォトニクス研究所 登倉明雄氏、遊部雅生氏、圓佛晃次氏、竹ノ内弘和氏にご尽力頂いた。また、(有)アキツ計測の正木美登史氏にもサンプリング装置の開発においてお力をお借りした。さらに、(株)セレスの志村博氏、および一般財団法人電力中央研究所の北崎一義氏（現九州沖縄農業研究センター）、松岡千夜子氏など多くの方々にご協力をいただいた。この場をお借りして改めて心より感謝を申し上げます。

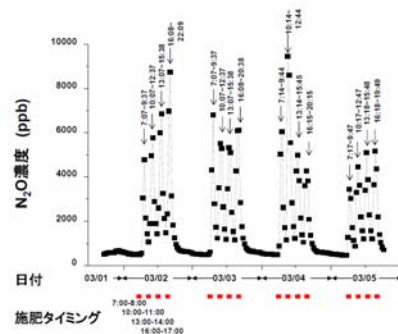


図8 センサーを用いた連続自動測定によるN₂O濃度の変化の把握
施肥のタイミング(各1時間;下段の赤い四角)はN₂O発生の消長とよく一致している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 17 件)

- 1) 橋田慎之介、吉原利一、後藤文之、庄子和博、北崎一義、経年資材と新規資材を用いたトマト栽培における温室効果ガスの発生量と菌叢変動の比較、一般財団法人電力中央研究所 研究報告 V11051 pp.1-20 (2012) (内部査読有り)
- 2) Tsuchida, Y., Yoshihara, T., Yakushiji, H., Jomura, N., Nakanishi, K., Okamuro, M., Goto, F. (2012) Dynamism in reserve carbohydrates until the following growth season in Japanese apricot 'Nanko' tree. J. Jap. Soc. Hort. Sci. 81: 332-336 (査読有り)
- 3) 後藤文之、庄子和博、省エネルギー植物生産技術の開発(4)ーレタス連続栽培における肥料成分の削減、一般財団法人電力中央研究所 研究報告 V11035 pp.1-12 (2012) (内部査読有り)
- 4) 吉原利一、橋田慎之介、後藤文之、庄子和博、浄閑正史、トマトのロックウール栽培と土耕栽培における温室効果ガス発生量の比較、(財)電力中央研究所 研究報告 V11004 pp.1-12 (2012) (内部査読有り)
- 5) 吉原 利一、土屋陽子、木質バイオマスのエネルギー利用における貯蔵・輸送行程での温室効果ガス排出量の再評価、(財)電力中央研究所 研究報告 V10025 pp.1-21 (2011) (内部査読有り)
- 6) 後藤文之、庄子和博、橋田慎之介、吉原利一、省エネルギー植物生産技術の開発(3)ー養液栽培に用いられる培養液の栽培品目ごとの適正濃度ー、(財)電力中央研究所 研究報告 V10022 pp.1-19 (2011) (内部査読有り)

[学会発表] (計 21 件)

- 1) Hashida, S., Yoshihara T., Kitazaki, K., Shoji, K., Goto, F. A comparison of GHG emission and microflora dynamics during tomato repeated cultivation with rockwool and soil system in greenhouse. Plant Biology2012, The Austin Convention Center, US, 2012 年 7 月
- 2) Yoshihara T., Hashida, S., Kitazaki, K., Shoji, K., Goto, F. An observation of GHG emission for tomato rockwool culture. 第 1 回国際園芸微生物学会 SWEDEN, ALNARP, 2011 年 5 月
- 3) Goto, F., Johkan M., Hashida, S.,

Yoshihara T., Shoji, K. Optimizing the concentration of nutrient solution for hydroponic culture of leafy vegetables. 第 28 回国際園芸学会 (IHC Lssboa 2010) Lisboa, Portugal 2010 年 8 月

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 植物の肥料吸収状況診断方法とこの方法を利用した施肥管理方法

発明者: 吉原利一、橋田慎之介

権利者: 一般財団法人電力中央研究所

種類: 特許権

番号: 特願 2013-94093

出願年月日: 2013 年 4 月 26 日

国内外の別: 国内外

[その他]

ホームページ等

http://criepi.denken.or.jp/jp/kenkikaku/cgi-bin/report_reference.cgi

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉原 利一 (YOSHIHARA TOSHIHIRO)

一般財団法人電力中央研究所・環境科学研究所・上席研究員

研究者番号: 60371506

(2) 研究分担者

橋田 慎之介 (HASHIDA SHIN-NOSUKE)

一般財団法人電力中央研究所・環境科学研究所・主任研究員

研究者番号: 60516649

後藤 文之 (GOTO FUMIYUKI)

一般財団法人電力中央研究所・環境科学研究所・主任研究員

研究者番号: 20371510

庄子 和博 (SHOJI KAZUHIRO)

一般財団法人電力中央研究所・環境科学研究所・上席研究員

研究者番号: 10371527

植本 弘明 (UEMOTO HIROAKI)

一般財団法人電力中央研究所・環境科学研究所・上席研究員

研究者番号: 50371505

浄閑 正史 (JOKAN MASAFUMI) (H22 のみ)

一般財団法人電力中央研究所・環境科学研究所・特別契約研究員

研究者番号: 50574050

(3) 連携研究者

川合 真紀 (KAWAI MAKI) (H24 のみ)

埼玉大学・理工学研究科・准教授

研究者番号: 10332595