

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2014～2016

課題番号：26304044

研究課題名(和文) バイオ炭の導入によるメコンデルタにおける農畜水複合システムの低環境負荷型革新

研究課題名(英文) Improvement of agro-stockbreeding-aquaculture complex system in Mekong Delta for reducing burden on environment by applying biochar

研究代表者

多羅尾 光徳 (Mitsunori, Tarao)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：60282802

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,700,000円

研究成果の概要(和文)：メコンデルタの農業システムの環境負荷を、バイオ炭(BC)を用いて軽減することを目的とした。小規模農家においても実施可能なBC製造技術を開発した。BCを水田に施用した結果、イネの収量に影響を及ぼすことなく、温室効果ガスの放出量が低下した。BCと堆肥を畑地に施用した結果、ダイズの収量が増えた。これは、土壌酵素活性が高まり養分供給が長期にわたって持続するためと考察された。BCを添加した餌を給餌したブタの下痢発症率が著しく低下した。これはBCに病原微生物が吸着するためであることを明らかにした。BCを用いることにより、温室効果ガスの放出を抑制し、農作物の収量を上げ、抗生物質を削減できる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：This research aimed to reduce burden on environment by applying biochar (BC) to agricultural system in the Mekong Delta. BC production technique applicable to small scale farmers was developed. Application of BC to paddy field resulted in reduction of emission of greenhouse gases (methane and nitrous oxide) without negative effect on rice yield. Application of BC and compost to a soybean field resulted in increase of the yield and stimulation of soil enzyme activities. Long-term nutrient supply to soybean due to stimulated enzyme activities is considered to be attributable to increasing the soybean yield. Diarrhea of swine, which is prevalent in the Mekong Delta, was prevented by feeding a mixture of feed and BC because BC is capable to absorb pathogens. For above results, application of BC effective and practical to reduce greenhouse gases emission, to increase crop yield, and to reduce emission and the amount of antibiotics administered to swines.

研究分野：環境微生物学

キーワード：バイオ炭 廃棄物資源化 土壌学 熱帯農業 人畜共通感染症

1. 研究開始当初の背景

ベトナムのメコンデルタでは、稲作・畜産・水産を複合した資源循環型の農畜水複合の農業システム (VAC システム) が広く普及しており、1軒の農家の中で物質循環サイクルが成り立っている。

我々はこれまで、科研費、JICA、文部科学省科学技術振興調整費などの支援を受けて、ベトナムのカントー大学と共同で、VAC システムの農業環境負荷の実態把握などを行なった。その結果、VAC システムに起因する抗生物質汚染や、抗生物質耐性微生物の広がりが明らかとなった。この理由のひとつとして、家畜の疾病治療に安易に多量の抗生物質が使用されていることがある。

いっぽう、我々は JICA の草の根技術協力事業の支援を受けて、ベトナム中部のバクマー自然公園において、木炭多用途低負荷農業技術研究を行ない、もみ殻を原料としたバイオ炭 (biochar) を養豚飼料に添加してブタの下痢発症を抑える成果を得た。簡便かつ安価に入手可能な炭を飼料に添加することで、子豚の下痢発生を予防できるのであれば、抗生物質の使用量を抑制でき、合わせて薬剤耐性菌の発生の抑制もできる。また、抗生物質を購入する必要がなくなるのでコストの削減もでき、農業経営上大きな利益が得られることが期待されている。

また、この研究においては、バイオ炭を入れた発酵たい肥 (通称、ぼかし) を用いた有機農業の導入により、農耕地の土質を改善した成果もあげた。熱帯では気温が高いため有機物分解が早く、有機物の施用のみでは土壌を改良することができない。バイオ炭は表面がマイナスに帯電しているため陽イオンを吸着することができ、分解速度が非常に遅く安定しているため、肥沃度改善につながることを期待される。

しかし、バイオ炭や発酵たい肥の、畜産や農業に対して示すこれらの効果が、農業体系および気候条件の異なるベトナムの他の地域においても期待できるかは不明であった。

さらに、バイオ炭については近年、温室効果ガス (GHGs) 削減の観点からも注目されるようになってきている。炭は微生物分解を受けにくいいため、炭素貯留の一手法として期待が高まっている。また、土壌にすき込まれたバイオ炭は亜酸化窒素を吸着し、土壌からの亜酸化窒素の放出を抑制する効果のあることも報告されている。

これらをふまえて、我々は VAC システムにバイオ炭と発酵たい肥を組み込むことにより、家畜・作物の生産性をさらに向上し、かつ環境負荷を抑制した改良型 (低環境負荷型) VAC システムを構築できると考え、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究は大きく 4 つを目的とした。

(1) 簡易なバイオ炭製造法の構築

メコンデルタの小規模農家が庭先で簡便にバイオ炭を製造するための技術を構築することを目的とした。

(2) バイオ炭施用水田における GHGs の放出に及ぼす影響

バイオ炭が水田からの GHGs 放出に及ぼす影響を評価することを目的とした。

(3) バイオ炭・堆肥施用が土壌酵素活性と収量に及ぼす影響

バイオ炭と堆肥が畑地の土壌有機物の性状、土壌酵素活性 (有機物の分解のされやすさ)、作物収量に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

(4) バイオ炭の畜産への適用

メコンデルタならびにベトナム中部における、下痢子豚の下痢起因ウイルスの保有状況を明らかにすることを目的に、PEDV、TGEV および PRV-A を検出する RT-PCR 法を用いて、メコンデルタならびにベトナム中部の下痢子豚から下痢起因ウイルス遺伝子の検出を行い、その保有状況を検討した。推定で、次いで、子豚の下痢発生を炭と木酢液を用いて予防する研究の一環として、実験的に下痢起因細菌ならびにウイルスに対する活性炭の吸着能を調べた。

さらに、ベトナム中部では子豚に下痢予防効果のみられた炭と木酢液を、メコンデルタの子豚に応用し、メコンデルタの農畜水複合農業においても有効か否かを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究はすべて、ベトナム・カントー大学の協力の下に行った。

(1) 簡易なバイオ炭製造法の構築

メコンデルタ・カントー市の小規模 VAC 農家において、ステンレス煙突を用いたくん炭製造装置 (図 1) を作成し、もみ殻を材料としてバイオ炭を製造した。



図 1. バイオ炭製造装置

(2) バイオ炭施用水田における GHGs の放出に及ぼす影響

VACB システムと稲作を一緒に実施している農家で試験を実施した。水田にそれぞれ無施用区、ヤシ殻活性炭施用区、もみ殻バイオ炭施用区を設定した。やし殻活性炭またはもみ殻バイオ炭 30 cm×70 cm の網袋に入れ、土壌下約 8cm の酸化層と還元層の間に埋藏した。イネ(*Oryza sativa* subsp. *Indica*)の栽培期間中、土壌の理化学性および土壌溶液中の有機物および窒素成分、イネ収穫後の収量、栽培期間中の GHGs (メタンおよび亜酸化窒素) フラックスを測定した。クローズドチャンバー法にて経時的に採取した気体中のメタンおよび亜酸化窒素分圧を、FID 付ガスクロマトグラフおよび ECD 付ガスクロマトグラフにて測定し、フラックスを求めた。

(3) バイオ炭・堆肥施用が土壌酵素活性と収量に及ぼす影響

カントー市トイライ地区の試験圃場内の Fluvi-Molic-Eutric Gleysoil でダイズを栽培した。化学肥料区 (C 区)、バイオ炭 (15 Mg ha⁻¹) 区 (B 区)、堆肥 (7.5 Mg ha⁻¹) 区 (O 区) およびバイオ炭堆肥混合区 (BO 区) の 4 処理区を設定した。圃場設定後 4 週目にダイズを播種し、15 週目に収穫した。土壌表層 0-5 cm を経時的に採取し、土壌酵素活性 (デヒドロゲナーゼ、ホスホモノエステラーゼ、 α -グルコシダーゼ、 β -グルコシダーゼ) を分析した。また、圃場試験開始 3 日後 (0 週目) および収穫後 (15 週目) の土壌化学性 (pH (H₂O)、電気伝導率 (EC)、全炭素、全窒素) を分析した。

(4) バイオ炭の畜産への適用

ベトナム下痢子豚における下痢起因ウイルス遺伝子の検出

メコンデルタ 1 市 6 省 (Can Tho 市ならびに Dong Thap, Ben Tre, Vinh Long, Hau Giang, Soc Trang および Bac Lieu の 6 省) ならびにベトナム中部 1 市 1 省 (Hue 市および Quang Tri 省) の小規模養豚農家において子豚の下痢便を採取し、供試検体とした。供試検体よりウイルス RNA を抽出し、豚流行性下痢ウイルス (PEDV) と豚伝染性胃腸炎ウイルス (TGEV) ならびに豚 A 群口タウイルス (PRV-A) を、PEDV, TGEV の N 遺伝子および PRV-A の VP6 遺伝子を標的とした RT-PCR 法により検出した。

活性炭吸着試験

活性炭への細菌の吸着試験は以下のようにして行った。毒素原性大腸菌の特異線毛抗原 F4, F5 および F18 を保有する 3 菌株 (それぞれ F4 株, F5 株ならびに F18 株) ならびに特異線毛抗原を持たない JCM5491 株の供試菌液 (10⁹ CFU/mL) 100 mL に活性炭が 1% (w/v) の濃度となるよう滅菌活性炭を加え、この 1.0% 活性炭菌液混合液 (以下、菌混合液) を混和した。菌混合液の上清中の細

菌数をコロニー形成法にて経時的に測定した。

活性炭へのウイルスの吸着試験は以下のようにして行った。活性炭が 1.0% (w/v) である 1.0% 活性炭ウイルス溶液混合液 (ウイルス混合液) を調整し、PEDV J-Gm1 株ならびに PRV-A H80 株を 60 分間回転混和した。混和後の上清中のウイルス力価を測定した。ウイルス力価は、単層培養した細胞に 10 倍段階希釈系列のウイルス液を接種した後、CPE の出現を指標として Reed&Muench 法による TCID₅₀/mL を算出する CPE 法によって測定した。

バイオ炭・木酢液を離乳豚に給与したときの下痢予防効果

2016 年 4 月~8 月にベトナム・カントー市周辺の 3 軒の養豚家において、226 頭の離乳豚に、炭と木酢液をそれぞれ 0.8% と 0.2% の割合で添加した飼料を給与し、その後の下痢の発生状況を観察した。また、コントロール群として、3 軒の養豚家で炭と木酢液は添加しない飼料を給与した 66 頭の離乳豚を観察し、下痢の発生状況を観察した。

4. 研究成果

(1) 簡易なバイオ炭製造法の構築

協力農家は本研究実施後、雨除けの簡易屋根を設置し雨水浸入防止用に円状に盛り土を施す自発的技術改良を行った。畜産に特化した VAC 農家では、煉瓦製のドーム型炭窯を建設し、副業として、ホームガーデンから伐採された果樹材等を用いて木炭生産を始めた。以上のように、現地の小規模農家が庭先で簡便・安価な BC 製造技術を実践し、自主的に技術改良できることが確認された。

これらの技術改良の事例に加えて、トゥアティエン・フエ省のバイオ炭施用を継続している小規模および中規模生産者の事例を再検討し、デルタ地域におけるバイオ炭普及の課題について考察した。メコンデルタ農村の現状に適した BC 普及技術は、ベトナム中部のバックマー国立公園周辺農村と比べて、大量のバイオマスを炭化できるよう装置を大きくし、集約栽培・大量飼育に伴う作物残渣・糞尿の処理特に堆肥化に対応できるものが望ましいと考えられた。その際、炭化の過程で生ずる煙を処理できることが望ましい。カントー大学の共同研究者によるバイオ炭製造施設では、炭化炉に煙の焼却装置を組み合わせており、今後のバイオ炭の普及導入に際しては、農家が導入できる簡易型の煙処理装置の開発導入を併行して進める必要がある。

さらに、今後のバイオ炭の普及導入に際しては、農家が導入できる簡易型の煙処理装置の開発導入を併行して進める必要がある。また、もみ殻やヤシ殻に加えて、イネ科やキク科雑草、水生雑草といった未利用バイオマスをを用いたバイオ炭の利用可能性調査が今後の課題として挙げられた。

(2) バイオ炭施用水田における GHGs の放出に及ぼす影響

収穫後のイネ収量 (kg m^{-2}) は、無施用区は 0.500, ヤシ殻活性炭施用区は 0.514, もみ殻バイオ炭施用区は 0.590 と、微量な差はあったものの有意差はみられなかった ($p < 0.01$)。イネの栽培期間中 (87 日間) に測定した GHGs のフラックスから、放出された全 GHGs の量を算出した (図 2)。その結果, すなわち, ヤシ殻活性炭はメタンを, もみ殻バイオ炭は亜酸化窒素の放出を抑制する傾向がみられた。この理由を解明するため, 今後は, GHGs の生成・消費に關与する微生物群集の構造とその動態を把握することが必要と考えられる。また, さらなる GHGs, 特にメタンの放出抑制を図るため, メタン酸化細菌を定着させたバイオ炭を水田にすき込む研究を行う予定である。

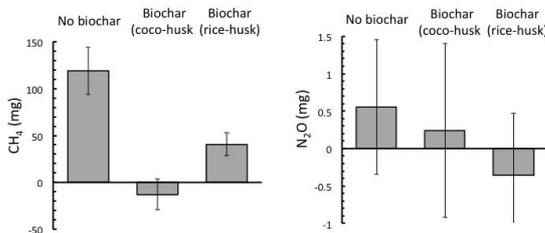


図 2. メコンデルタの水田のバイオ炭無施用区, ヤシ殻活性炭施用区, またはもみ殻バイオ炭施用区における, イネ栽培期間中の (左) 総メタンまたは (右) 総亜酸化窒素放出量. エラーバーは標準誤差を示す (n=3).

(3) バイオ炭・堆肥施用が土壤酵素活性と収量に及ぼす影響

土壤酵素活性

デヒドロゲナーゼ活性, β -グルコシダーゼ活性, およびホスホモノエステラーゼ活性では, 栽培を開始した 4 週目から 7 週目にかけて活性が高まった (図 3)。特に, 堆肥を施用した O 区のデヒドロゲナーゼおよび β -グルコシダーゼは 11 週目にかけても活性がさらに高まった。また, BO 区においても β -グルコシダーゼは 11 週目まで活性が高まった。このことから, 堆肥の分解が緩やかに行われたと考えられる。

土壤化学性

堆肥施用をした O 区および BO 区で pH(H₂O) は 0 週目と比べ, 15 週目で上昇した。また, O 区のみ電気伝導率 (EC) が低下した。全炭素および全窒素はどの処理区においても 0 週目と 15 週目の有意差は認められなかった。しかし, 土壤酵素活性が変化していることから, 処理区間で各週の炭素組成が異なったことが考えられる。

収量

ダイズの収量は, 堆肥を施用した O 区および BO 区で C 区および B 区よりも多かった。堆肥により, 植物への養分供給が行われたものと考えられる。さらに, 堆肥施用によって

デヒドロゲナーゼ活性および β -グルコシダーゼ活性が上昇したため, 11 週目までダイズ生育のための養分供給が継続的に行われたと考えられる。

今後, 土壤有機物と土壤酵素活性の関係を調べるため, 各週の易分解性炭素および糖を分析し, 土壤有機炭素の性状の変化を詳細に評価する必要がある。

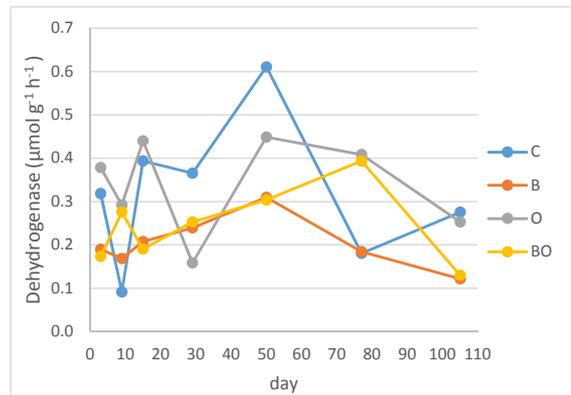
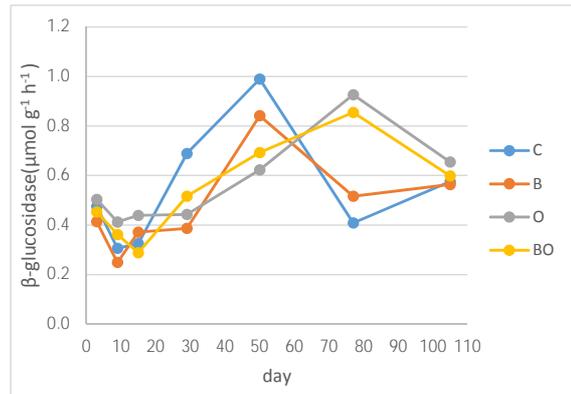


図 3. バイオ炭および/または堆肥を施用した大豆栽培ほ場における (上) デヒドロゲナーゼ活性と (下) β -グルコシダーゼ活性の経時変化

(4) バイオ炭の畜産への適用

RT-PCR 法による下痢起因ウイルス遺伝子の検出結果

調査した 296 頭のうち, PEDV および PRV-A の検出率はそれぞれ 14.5% (43/296) ならびに 18.2% (54/296) であった (表 1)。地域間ならびに哺乳豚と離乳豚間において, いずれのウイルスにおいても検出率に有意差は認められなかった。また, いずれの地域においても TGEV は検出されなかった。

活性炭吸着試験結果

毒素原性大腸菌数はいずれも, 反応 60 分後には処理前に比べ約 10^{-3} に低下した (図 4)。また, 菌株間で菌数の減少する様子に, 有意差は認められなかった。なお, 菌液の pH は 7.4, 活性炭混和後の pH は 8.4 であり, この pH での供試菌株の菌数の減少は認められなかった。

PEDV 液と PRV-A 液のウイルス力価は活性炭と反応後, 低下し, 60 分後には約 10^{-5}

に低下した(図5)。また、反応時間10分間後に、PEDVとPRV-A間でウイルス力価の減少率に有意差($p < 0.05$)がみられた。

表1. 調査地域ならびに哺乳豚、離乳豚別にみたPEDVおよびPRV-Aの検出率

調査地域	調査 検体数	ウイルス陽性検体数(%)		
		PEDV	PRV-A	
哺乳豚	ベトナム中部	124	18 (14.5)	26 (21.0)
	ベトナム・メコンデルタ	72	13 (18.1)	14 (19.4)
	小計	196	31 (15.8)	40 (20.4)
離乳豚	ベトナム中部	69	10 (14.5)	14 (20.3)
	ベトナム・メコンデルタ	31	2 (6.5)	0 (0.0)
	小計	100	12 (12.0)	14 (14.0)
計	ベトナム中部	193	28 (14.5)	40 (20.7)
	ベトナム・メコンデルタ	103	15 (14.6)	14 (13.6)
	計	296	43 (14.5)	54 (18.2)

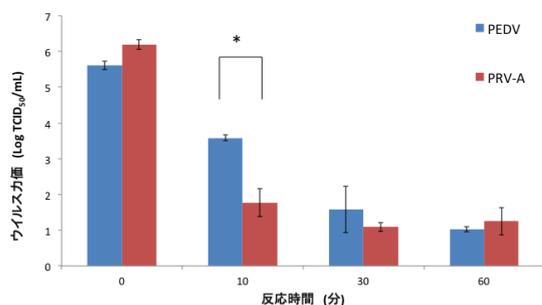


図4. 毒素原性大腸菌F4株、F5株、F18株およびJCM5491株を、1.0%(w/v)活性炭を含む培養液中で60分間反応させたときの菌数の経時変化。エラーバーは標準誤差を示す(n=3)。

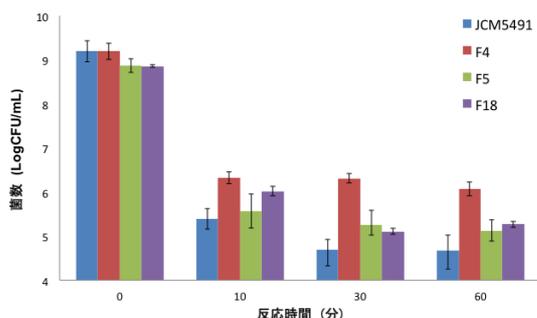


図5. PEDV液ならびにPRV-A液を、1.0%(w/v)活性炭を含む培養液中で60分間反応させたときのウイルス力価の経時変化。エラーバーは標準誤差を示す(n=3)。*:有意差あり($P < 0.05$)

バイオ炭・木酢液を離乳豚に給与した時の下痢予防効果成績

バイオ炭と木酢液を添加した飼料を給与された子豚226頭における下痢発生率は1.3%であった(表2)。一方、炭と木酢液を添加しなかった飼料を与えられた対照群の子豚66頭における下痢発生率は30.3%であった。バイオ炭と木酢液を添加された飼料を給与された離乳豚における下痢の発生率は、給与されなかったものに比べ有意に低かった($p < 0.05$)。

以上の結果より、ベトナムの子豚の下痢の原因として、毒素原性大腸菌のみならず、PEDVやPRV-Aといったウイルスも深く関わっていることが示された。活性炭はこれら下痢起因病原体を効率的に吸着することが明らかとなった。さらに、メコンデルタの養豚家で飼育されている離乳豚に炭と木酢液を給与すると、給与しなかったものに比べ有意に下痢の発生率が減少したことから、バイオ炭に高い下痢予防効果があることが確認された。原料の木材の種類によって、活性炭のパクテリオファーゼに対する吸着能が異なるとの報告もみられることから、今後は、特にメコンデルタで普遍的に存在する原料を用いて、素材の異なる炭の病原体吸着能を調べ、子豚の下痢予防に最も適した活性炭を選抜していきたい。

表2. 炭・木酢液を離乳豚に給与した時の下痢発生率

群	農場数	母豚数	実験頭数	下痢頭数(%)
投与群	3	21	226	3 (1.3)
対照群	3	6	66	20 (30.3)

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1件)

1. Ho T.T., Nguyen, V.C., Pham, H.S.H. and Hayashidani, H., Effects of supplementations of biocharcoal and wood vinegar in diets on diarrhea of pigs from suckling to weaning and from weaning to slaughtering. *J. Anim. Husbandry Sci. Technics.*, 査読あり, 203, 59-62, 2016.

[学会発表](計10件)

1. Oikawa, Y., Constrains and potential of charcoal application for small-scale farmers in the buffer zone villages of Bach Ma National Park, Vietnam, Joint Seminar on CTU-JICA Research Collaboration, 2016年7月28日, カントー市(ベトナム社会主義共和国).
2. Hayashidani, H., Application of charcoal and wood vinegar for pig breeding, Joint Seminar on CTU-JICA Research Collaboration, 2016年7月28日, カントー市(ベトナム社会主義共和国).
3. Tarao, M., Nakao, R. and Bellingrath-Kimura, S.D., Effect of biochar amendment on GHGs emissions in

- the paddy soil, Joint Seminar on CTU-JICA Research Collaboration, 2016年7月28日, カントー市(ベトナム社会主義共和国).
4. Oikawa, Y., Charcoal-applied Environmentally-friendly Farming with Livestock (CEFL) model for the small-scale farmers in central Vietnam and the derived model in Mekong Delta, International Symposium on Agroecology for Sustainable Agriculture and Food Systems, 2016年8月31日, 昆明市(中華人民共和国).
 5. 鈴木英佑, 川島大樹, 林谷秀樹, 谷口隆秀, 豚伝染性ウイルス(TGEV)強毒株T0-15と弱毒株T0-163の分子生物学的及び生物学的性状の比較, 第158回日本獣医学会, 2015年9月9日, 北里大学獣医学部(青森県十和田市).
 6. 堀江真悠, Vo Thi Minh Tam, Pham Hoang Son Hung, Ho Le Quynh Chau, Ho Trung Thong, 及川洋征, 柳川春香, Nguyen Khanh Thuan, Ly Thi Lien Khai, 辻岡瞳, 林谷秀樹, 谷口隆秀, ベトナムの下痢子豚における下痢起因ウイルスの検出状況, 第158回日本獣医学会, 2015年9月8日, 北里大学獣医学部(青森県十和田市).
 7. 及川洋征, Phan Vo Bao Dan, Phan Quoc Dung, Nguyen Vu Linh, 田中治夫, 林谷秀樹, 多羅尾光徳, ベトナム中部, バックマー国立公園周辺農村におけるバイオ炭普及事業後の課題, 2016年3月24日, 日本熱帯農業学会第119回講演会, 明治大学農学部(神奈川県川崎市).
 8. Ma, H., Okazaki, S., Oikawa, Y., Yokoyama, T. and Bellingrath-Kimura, S.D., Effect of biochar on soybean-rhizobium symbiosis and plant growth on sandy soil, 第60回日本土壌肥料学会, 2014年9月10日, 東京農工大学(東京都小金井市).
 9. Lorn, V., Bellingrath-Kimura, S.D., Tanaka, H. and Oikawa, Y., Effect of biochar from *Chlomolaena odorata* and rice husk combined with organic and inorganic fertilizer on soil property and crop biomass, 第60回日本土壌肥料学会, 2014年9月10日, 東京農工大学(東京都小金井市).
 10. Bellingrath-Kimura, S.D., Kobata, Y., Tsunoda, M., Dos Santos Jr., A., Oikawa, Y., Guerini, I.A. and Yamada, M., Soil organic carbon change due to agricultural land use in the tropics; comparison of case studies in Mozambique, Vietnam and Brazil, 20th World Congress of Soil Science, 2014年6月10日, 済州市(大韓民国)
- 〔その他〕
ホームページ等
<http://web.tuat.ac.jp/~tropical/charcoal.html>
6. 研究組織
 - (1) 研究代表者
多羅尾光徳(TARAO, Mitsunori)
東京農工大学・大学院農学研究院・准教授
研究者番号: 60282802
 - (2) 研究分担者
林谷秀樹(HAYASHIDANI, Hideki)
東京農工大学・大学院農学研究院・准教授
研究者番号: 30180988

及川洋征(OIKAWA, Yosei)
東京農工大学・大学院農学研究院・助教
研究者番号: 70323756

田中治夫(TANAKA, Haruo)
東京農工大学・大学院農学研究院・准教授
研究者番号: 20236615
 - (3) 研究協力者
ベリングラート木村園子ドロテア
(BELLINGRATH-KIMURA, Sonoko Drothea)
フンボルト大学・教授

Chau Minh Khoi
カントー大学・農畜産学部・准教授

Nguyen Khoi Nghia
カントー大学・農畜産学部・准教授

Nguyen Van Cong
カントー大学・自然資源環境科学部・准教授

Nguyen Hu Chiem
カントー大学・自然資源環境科学部・准教授

Tran Sy Nam
カントー大学・自然資源環境科学部・講師