

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580374

研究課題名(和文)メタン発酵消化液を用いた養液栽培への接ぎ木苗利用は根圏ストレスの緩和に有効か？

研究課題名(英文)The effectiveness of plant grafting on the mitigation of environmental stress at rhizosphere in hydroponics with biogas digestate

研究代表者

遠藤 良輔 (Endo, Ryosuke)

大阪府立大学・生命環境科学研究科(系)・助教

研究者番号：10409146

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：メタン発酵消化液は植物に必要な栄養素を多く含むが、養液栽培の培養液として用いると、液中のアンモニアや高pHが植物の養分吸収を阻害する要因となる。本研究では接ぎ木実験および消化液の生物酸化実験を行い、上記の阻害への緩和効果を調べた。接ぎ木実験では、台木の発根数が多く、根の乾物重が大きいときに阻害緩和効果が大きい傾向が見られた。生物酸化実験では、改質された消化液を用いた栽培したキュウリの生育が劇的に改善した。このように、接ぎ木および生物酸化の双方において、消化液を用いた養液栽培での植物の養分吸収能力の改善が可能であることがわかったが、その効果は消化液改質処理のほうが大きいことがわかった。

研究成果の概要(英文)：Digestate is one of the residual products in anaerobic digestion of organic wastes. The digestate is usually used as fertilizer, because it contains macro- and micronutrients required for plant growth. However, higher ammonium, no nitrate and high pH in the digestate are not suitable for nutrient solution for plant hydroponics. In this study, the effect of grafting on plant growth in hydroponics with digestate and continuous bio-oxidation of digestate by nitrifier bacteria have been examined. In digestate-cultured cucumber which grafted onto five rootstocks of squashes, dry mass of the grafting had tendency to be large when the length and dry mass of rootstock was long and large, respectively. In bio-oxidation experiment, dry mass of cucumber cultured by nitrified digestate hydroponically increased compared to that cultured by not-nitrified digestate. Consequently, both grafting and bio-oxidation of digestate improved the plant growth, and its effect was higher in the bio-oxidation.

研究分野：生物環境調節

キーワード：バイオマス利用 メタン発酵 植物生産 養液栽培

1. 研究開始当初の背景

近年、化石燃料や化学肥料の使用による環境問題が顕在化する中で、循環的・持続的社会の構築が急速に求められており、バイオマス利活用が積極的に推進されている。メタン発酵は生物学的バイオマス変換技術で、有機性廃棄物からエネルギーとしてメタンを、マテリアルとして液肥となる消化液を回収することができる。埋立地の限界や、化学肥料、とりわけリン価格高騰が問題となっている我が国にとっては、有機性廃棄物を資源化するメタン発酵技術は循環型社会構築の基幹を担うものであり、早急にその普及が求められている。しかしながら我が国では、液肥となるメタン発酵消化液の農業利用が進んでおらず、欧米に比べ普及が大幅に遅れている。他方農業現場では、養液栽培による閉鎖型植物生産施設の普及が急速に進んでいる。これらの施設では、生産する作物に合わせた物理環境条件(光・気温・湿度など)を人工的に作り出すことができ、植物の能力を最大限に発揮させた生育が行われつつある。一方で、このような施設では、植物の安定した成長が重視されるため、成分の調製が無機肥料ほど徹底されていないメタン発酵消化液のような有機物由来の養液は敬遠されてきた。しかしながら、化学肥料と液肥では、その化学的組成が異なるだけでなく有機物混在による物理的特性も異なっている。にもかかわらず、消化液の利用条件を最適化する試みは未だなされておらず、その潜在的能力はまだ完全に見出されていない。消化液が植物に及ぼす直接の影響は植物根部に集中している。無機物ではアンモニウムイオンが代表的であり、根部における硝酸イオンの吸収を阻害する他、根の正常な成長にも影響を及ぼす。さらに、根部へのストレスは、気孔閉鎖を介して光合成も低下させることが予想される。このような根圏環境の改善に対しては、上述の物理環境制御だけでなく、消化液からもストレスを感じずに養分を吸収できるような根部の強化と、植物が養分を吸収できるかたちに消化液の組成を改質する処理の両方が有効であると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、根圏環境ストレスに対する耐性が高い植物を台木として利用する接ぎ木法に着目し、接ぎ木法が植物根部における消化液からの養分吸収に及ぼす影響について明らかにし、さらに、消化液を培養液として利用するための改質処理手法を開発することを目的とした。

具体的には、

- (1)消化液由来の植物成長阻害に対する接ぎ木処理の効果
- (2)消化液が有する植物成長阻害特性の除去を目的とした生物酸化処理について検証した。

3. 研究の方法

(1)消化液由来の植物成長阻害に対する接ぎ木処理の効果

メタン発酵消化液による養液栽培で接ぎ木苗(台木:カボチャ5品種,穂木:キュウリ(北進))および通常の苗(キュウリ)を育成し、播種17日後の生理形態的特徴を評価することで、接ぎ木処理の有効性について検討した。養液栽培は湛液法により行った。栽培容器は4Lのものをを用い、植物個体数は1試験区あたり5個体とした。スチロール板に2cm四方の穴を5つあけ、そこに根部をスポンジで固定した播種後12日経過した接ぎ木苗(播種後7日目に接ぎ木処理を行い5日間養生したもの)を移植して、培養液を満たした栽培容器に浮かべた。実験中はバブリングを行い、根部に酸素を供給した。環境条件は、気温28℃、相対湿度60~70%、光合成有効光量子束密度は250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ とし、明期は16 h d^{-1} とした。培養液には、モデル生ごみ(我が国の生ごみ組成を模して肉・野菜等から作製したもの)を基質として長期間中温条件(37℃)でメタン発酵させた残さ液(消化液)を用いた。消化液は、養液栽培で広く用いられている大塚A処方標準培養液と全室素濃度が同様になるように、イオン交換水で希釈した。比較対象として、接ぎ木を行っていないキュウリ苗の試験区と、培養液を大塚A処方標準培養液とした試験区を設けた。その際、移植時の成長段階が同等となるように、播種日を調節することで各試験区の第一本葉の葉面積を揃えた。これらの試験区の他の環境条件は接ぎ木試験区と同様とした。計測は、形態的特徴と生理的特徴に注目して行った。形態的特徴として、移植直前の根について、根長・側根数・生体重・乾物重を計測した。メタン発酵消化液固形分中の有機物が根に直接作用する物理的な影響を解析するため、根細胞表面の顕微画像観察を行い、メタン発酵消化液中の有機性成分が根圏に及ぼす影響を評価した。本葉について、移植時の生体重・乾物重・葉面積を計測した。実験終了後に総乾物重を求めた。生理的特徴として、光合成蒸散測定装置(Li-6400, Li-Cor社)により移植実験前後の純光合成速度、蒸散速度および気孔コンダクタンスを測定した。

(2)消化液が有する植物成長阻害特性の除去を目的とした生物酸化処理

生物酸化処理に伴うメタン発酵消化液(以下、消化液)のアンモニウム濃度、硝酸濃度およびpHの変化について、アンモニウム濃度と硝酸濃度の比率に注目して調べた。メタン発酵槽、生物酸化槽、貯留槽を直列に接続して連続的に生物酸化処理を行った。酸化処理が安定した段階で、消化液中のアンモニウム濃度、硝酸濃度およびpHについて、貯留槽中

の生物酸化消化液と比較した。メタン発酵槽中の消化液は、モデル生ごみ（我が国の生ごみ組成を模して肉・野菜等から作製したもの）を基質として長期間メタン発酵させた。水温の設定値は 37 とした。生物酸化槽中で硝化を行う好氣的微生物群は、S 市の下水処理施設から活性汚泥を採取したものをを用いた。好氣的微生物の増殖を促すため、担体として 2cm 四方のスポンジを生物酸化槽に適量投入した。水温の設定値は 21 とし、溶存酸素濃度は $1.5\sim 2.5\text{ mg L}^{-1}$ となるよう曝気を行った。週に 3~5 日、メタン発酵槽から生物酸化槽に、また生物酸化槽から貯留槽に液の引き抜きおよび投入を行った。引き抜きおよび投入量は、生物酸化槽における水理学的滞留時間が 8~12 日になるように調節した。消化液を生物酸化槽に投入する際はイオン交換水で 3 倍に希釈した。生物酸化槽から貯留槽への引き抜きでは、中空糸膜（径 $0.20\text{ }\mu\text{m}$ ）を用いた固液分離を行い、沈殿物を含まない液相成分のみが貯留槽に貯留されるようにした。生物酸化槽に投入される前の消化液と貯留槽に投入される前の生物酸化消化液について、アンモニウム濃度、硝酸濃度、リン濃度、カリウム濃度、カルシウム濃度および pH を定期的に測定した。連続運転における反応状態が安定したと判断された時点において、生物酸化前後の計測値を比較検討した。

生物酸化後の消化液と化学液体肥料の組成およびキュウリの播種後 2 週間の初期成長の比較実験も行った。化学液体肥料との比較は、全窒素濃度が同一になるように消化液を希釈して行った。初期成長比較のための栽培実験は(1)のものと同条件で行った。

4. 研究成果

(1) 消化液由来の植物成長阻害に対する接ぎ木処理の効果

消化液を培養液として用いたとき、接ぎ木を行った植物の総乾物重は、接ぎ木を行っていない植物よりも有意に大きかった。移植時の根長および根部乾物重は、カボチャ台木を接ぎ木した根部のほうが、接ぎ木を行っていない根部よりも大きかった。接ぎ木した植物では、移植時の台木の根部乾物重が大きいと実験終了時の総乾物重が大きい傾向が見られた。根の顕微鏡観察の結果、消化液栽培前後でカボチャおよびキュウリのいずれにおいても既存の根の黒ずみ、細胞の萎凋が観察された。この傾向はキュウリ根でより顕著であった。カボチャ根では、新しい根の発生がキュウリ根に比べて盛んな傾向が見られた。消化液中で新しく発生した根は、移植前からある根とは異なり、色が白く細胞の萎凋が見られなかった。

一方、培養液として化学肥料を用いた試験区と消化液を用いた試験区を比較すると、消化液を用いた試験区の総乾物重は有意に小さかった。このことから、消化液由来の植物成

長阻害に対する接ぎ木処理の効果は、消化液による乾物重低下のインパクトに比べるとあまり大きくないこともわかった。

消化液を培養液として用いたときの、実験終了時における穂木の光合成速度、蒸散速度および気孔コンダクタンスについては、接ぎ木の有無による明確な差異は確認できなかった。培養液として化学肥料を用いた試験区と消化液を用いた試験区を比較すると、接ぎ木の有無にかかわらず消化液区で気孔コンダクタンスが非常に小さく、消化液による根部のストレスに伴う気孔閉鎖が植物成長を妨げている一因であると推察された。

以上から、接ぎ木による根部の強化は、消化液の根部への直接の障害をある程度緩和するが、光合成を制限する気孔閉鎖を緩和する効果は大きくないことが示唆された。

(2) 消化液が有する植物成長阻害特性の除去を目的とした生物酸化処理

生物酸化前の消化液のアンモニウム態窒素濃度が 260 mg L^{-1} であったのに対し、生物酸化後の消化液のアンモニウム態窒素濃度は 70 mg L^{-1} と大幅に低下した。硝酸態窒素は、生物酸化前の消化液には検出されなかったが、生物酸化後はその濃度が 186 mg L^{-1} に上昇した。生物酸化前後のアンモニウム態窒素濃度と硝酸態窒素濃度の和はほぼ等しくなった。硝化反応の中間生成物である亜硝酸態窒素は、生物酸化の前後にかかわらずほとんど確認されなかった。亜硝酸態窒素は、水温、溶存酸素濃度、pH といった環境条件が硝化細菌による亜硝酸酸化反応に適していないときに生じる。これらのことから、生物酸化槽内の硝化細菌群による硝化は、安定状態ではほぼ想定通りに反応が進行したと結論できた。

硝化反応では硝酸の生成に伴いプロトンが放出されるため、連続反応の安定状態において、消化液の pH は生物酸化前後で 7.2~7.5 から 5.0 付近まで低下した。カリウムイオン濃度は生物酸化前後でほとんど変化しなかったが、カルシウムイオンおよびリン酸イオン濃度は生物酸化後に有意に上昇した。カルシウム、リン酸およびマグネシウムといったイオン価の高い元素は、高 pH 条件でアンモニウムイオン等と結合し沈澱物を形成する。このことから、消化液中で沈澱物として存在していたカルシウムおよびリン酸が、生物酸化による pH 低下に伴って、その一部がイオン化されたと推察された。マグネシウムイオンについても同様の濃度上昇が期待されたが、本研究では確認できなかった。

化学液体肥料と組成を比較したところ、アンモニウム態窒素に対する硝酸態窒素の比は、生物酸化消化液のほうがやや小さかったもののほぼ同程度だった。カルシウムイオンやカリウムイオンがほぼ同程度の濃度だった一方、リン酸イオンやマグネシウムイオンの濃度は生物酸化消化液のほうが低かった。生物

酸化後の消化液を用いてキュウリの初期成長を調べたところ、生体重で化学液体肥料のものと同程度となった。一方、乾物重は化学液体肥料区よりもやや小さくなった。不足が確認されたリン酸イオンやマグネシウムイオンを追加した試験区では、乾物重の向上が見られた。

このように、接ぎ木および生物酸化の双方において、消化液を用いた養液栽培での植物の養分吸収能力の改善が可能であることがわかったが、その効果は消化液改質処理のほうが大きいことがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

Shibuya, T., Endo, R., Hayashi, N., Kitaya, Y. 2012. High-light-like photosynthetic responses of *Cucumis sativus* leaves acclimated to fluorescent illumination with a high red : far-red ratio: interaction between light quality and quantity. *Photosynthetica*. 50 (4): 623-629. 査読有り

Shibuya T., Endo, R., Yuba, T., Kitaya, Y. 2014. The photosynthetic parameters of cucumber as affected by irradiances with different red : far-red ratios. *Biologia Plantarum* 59 (1): 198-200. 査読有り.

遠藤良輔, 2014, メタン発酵による資源循環: 発酵消化液の植物生産への利用, 作物研究, 59, 73-77. 査読無し.
<http://ci.nii.ac.jp/naid/110009843967>

Shibuya, T., Itagaki, K., Wang, Y., Endo, R. 2015. Grafting transiently suppresses development of powdery mildew colonies, probably through a quantitative change in water relations of the host cucumber scions during graft healing. *Scientia Horticulturae*. In press. 査読有り

〔学会発表〕(計14件)

遠藤良輔. 嫌気条件がリター分解に及ぼす影響に関する基礎的考察. 生態工学会2012年次大会. 2012年6月. 北里大学(青森).

遠藤良輔・中村廣貴・渋谷俊夫・北宅善昭. 浮遊性シダ植物アゾラの連続メタン発酵によるエネルギーおよび窒素の回収. 生態工学会2012年次大会. 2012年6月. 北里大学(青森).

渋谷俊夫・板垣 芳・林 伸明・小室淳輝・遠藤良輔・東條元昭・平井規央. 高 R/FR 比の光照射は植物の展葉を遅くするが自己防御能力を高める. 日本生物環境工学会 2012 年大会. 2012 年 9 月. 東京大学(東京)

遠藤良輔・渋谷俊夫・林 伸明. 高 R/FR 光照射で育成されたキュウリ実生の光

合成および光障害緩和能力. 日本生物環境工学会 2012 年大会. 2012 年 9 月. 東京大学(東京)

Shibuya, T., Komuro, J., Hirai, N., Sakamoto, Y., Endo, R., Kitaya, Y. Fluorescent illumination with high red-to-far-red ratio reduces attractiveness of cucumber seedlings to sweetpotato whitefly through changes in leaf morphological characteristics. 7th International Symposium on Light in Horticultural Systems. 2012 年 10 月. Wageningen (Netherlands).

Endo, R., Shibuya, T., Kitaya, Y. Cucumber seedlings grown under high red-to-far-red illumination shows enhanced resistance to strong light stress. 7th International Symposium on Light in Horticultural Systems. 2012 年 10 月. Wageningen (Netherlands).

渋谷俊夫・弓場俊樹・遠藤良輔・北宅善昭. 異なる赤色/遠赤色比の光照射下で順化したキュウリ葉のガス交換特性. 日本生物環境工学会 2013 年大会. 2013 年 9 月. 香川大学(高松市)

Endo, R., Asai, T., Shibuya, T., Kitaya, Y. Methane fermentation of residues from *Jatropha curcas* BDF production. 9th Biomass-Asia Workshop. 2012 年 12 月. Tokyo.

Endo, R., Konishi, N., Takemura, K., Shibuya, T., Kitaya, Y. Bio-oxidation improves the availability of anaerobically digested sludge in hydroponics. The International Symposium on Growing Media and Soilless Cultivation 2013, 2013 年 6 月, Leiden (Netherlands).

Endo, R., Konishi, N., Takemura, K., Shibuya, T., Kitaya, Y. The effect of modification of anaerobically digested sludge for plant hydroponics on the growth and development of cucumber. 13th World Congress on Anaerobic Digestion 2013. 2013 年 6 月. Santiago de Compostela (Spain).

Endo, R., Nakamura, K., Qin, N., Shibuya, T., Kitaya, Y. Estimation of energy recovery potential from *Azolla* sp. by batch anaerobic digestion tests. 13th World Congress on Anaerobic Digestion 2013. 2013 年 6 月. Santiago de Compostela (Spain).

Endo, R. The effect of soil temperature on the natural anaerobic decomposition of foliar litter. International Symposium on Agricultural Meteorology. 2014 年 3 月. Sapporo (Japan).

遠藤良輔・久下晃平・武村憲二・渋谷俊夫・北宅善昭. メタン発酵消化液の生物酸化過程における肥料成分の動態. 生

態工学会 2014 年次大会. 2014 年 6 月. 沼津コンベンションセンター(沼津).
Endo, R., Takemura, K., Shibuya, T., Kitaya, Y. Supplemental macronutrients improve the effectiveness of oxidized anaerobic digestate for using as nutrient solution in hydroponics. International Horticultural Conference. 2014 年 8 月. Brisbane (Australia).

〔図書〕(計 1 件)

遠藤良輔, アドスリー出版, バイオマスの生物化学的変換　メタン発酵とエタノール発酵　「生態工学ハンドブック Vol.3」 pp.15-21. 2014 (電子版).

6. 研究組織

(1)研究代表者

遠藤良輔 (ENDO Ryosuke)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・助教

研究者番号：10409146

(2)連携研究者

渋谷俊夫 (SHIBUYA Toshio)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・准教授

研究者番号：50316014