

ジャトロファ (*Jatropha curcas* L.) の重金属耐性および
非油脂バイオマスの有効利用に関する研究

(Study on the heavy metal tolerance and non-oil
biomass utilization of *Jatropha curcas* L.)

小中隆文

2020 年

目次

第1章 序論.....	5
1-1. 背景.....	5
1-1-1. ジャトロファ (<i>Jatropha curcas</i> L.).....	5
1-1-2. 食糧耕作不適地におけるジャトロファ栽培の意義.....	5
1-1-3. 非油脂ジャトロファ・バイオマスの有効利用	6
1-1-4. ジャトロファ・バイオチャーによる土壌改良、もしくは食用作物生産 性の向上	7
1-2. 本研究の目的	8
第2章 酸性、銅およびニッケル汚染土壌におけるジャトロファ生育耐性の研究	9
2-1. 要約	9
2-2. 序論	9
2-3. 材料と方法	10
2-3-1. 実験地	10
2-3-2. 実験土壌	11
2-3-3. 実験植物	12
2-3-4. 成長観察	12
2-4. 結果と考察	13
2-5. まとめ	19
第3章 銅およびニッケル高含有土壌におけるジャトロファの生育と植物内蓄積 挙動の解析	21
3-1. 要約	21
3-2. 序論	21
3-3. 材料と方法	23
3-3-1. 重金属	23
3-3-2. 実験土壌	23

3-3-3. 植物材料	24
3-3-4. 成長観察	24
3-3-5. バイオマス内ミネラル含有量の測定	24
3-3-6. 統計解析	25
3-4. 結果と考察	25
3-4-1. ジャトロファの生育状況	25
3-4-2. ジャトロファ・バイオマスのミネラル含有量	26
3-4-3. ジャトロファによる銅とニッケルの蓄積状況	28
3-4-4. 生育したジャトロファが実際に蓄積した銅の量	28
3-4-5. 生育したジャトロファが実際に蓄積したニッケルの量	29
3-4-6. ジャトロファによる土壌浄化の可能性	30
3-5. まとめ	31
第4章 酸性貧栄養土壌におけるジャトロファ落葉炭化物の土壌改良剤としての活用	33
4-1. 要約	33
4-2. 序論	33
4-3. 材料と方法	35
4-3-1. ジャトロファ落葉バイオチャーの製造と分析	35
4-3-2. 実験土壌	37
4-3-3. 実験植物と成長観察	37
4-3-4. 栄養素の測定	38
4-3-5. 土壌保水力の評価	38
4-4 結果と考察	39
4-4-1. ジャトロファ落葉バイオチャーの特性評価	39
4-4-2. ジャトロファ落葉バイオチャーの物理化学特性	40
4-4-3. ジャトロファ落葉バイオチャーの酸性貧栄養土壌における野菜栽培への効果	43
4-4-4. ジャトロファ落葉バイオチャーの土壌保水力に与える影響の評価	47

4-5. まとめ	48
第5章 ジャトロファ落葉バイオチャーの葉菜栽培における有機肥料としての施用効果の検証	49
5-1. 要約	49
5-2. 序論	50
5-3. 材料と方法	51
5-3-1. ジャトロファ落葉バイオチャーの製造と分析	51
5-3-2. 実験土壌	51
5-3-3. 植物材料	52
5-3-4. 実験植物の生育測定	53
5-4. 結果と考察	53
5-4-1. ジャトロファ落葉バイオチャーの物理化学特性	53
5-4-2. 土壌の状況	54
5-4-3. 植物の生育状況	56
5-4-4. Phorbol ester の影響評価	59
5-5. まとめ	60
第6章 ジャトロファの組織および温度を変えて炭化したバイオチャーの物理化学特性に関する比較研究	61
6-1. 要約	61
6-2. 序論	62
6-3. 材料と方法	63
6-3-1. 植物材料	63
6-3-2. ジャトロファ・バイオチャーの製造	64
6-3-3. バイオチャーの物理化学特性の分析	64
6-3-4. バイオチャーの保水力の測定	66
6-3-5. 統計解析	66
6-4. 結果と考察	66
6-4-1. ジャトロファ・バイオチャーの収量と物理特性	66

6-4-2. 炭素、窒素、その他のミネラル含有量	70
6-4-3. 保水力評価	74
6-4-4. バイオチャーの物理化学特性に関する相関	75
6-4-5. 主成分分析	77
6-5. まとめ	78
第7章 結論	79
第8章 謝辞	81
第9章 引用	83
第10章 博士論文摘要	99
ABSTRACT	102
第11章 本論文に関連する学会誌公開論文	105

第1章

序論

1-1. 背景

1-1-1. ジャトロファ (*Jatropha curcas* L.)

ジャトロファは、邦名をナンヨウアブラギリといい、トウダイグサ科の落葉低木で、種子に油分を多く含む熱帯の植物である。中南米原産であるが、乾燥に強く (Quinn et al. 2015)、年間降雨量が 200 mm から 1,500 mm という広い範囲で生息できることから (Openshaw 2000) 世界各地に広がり、アフリカや東南アジアにも広く植生している (Jongschaap et al. 2007)。この種子の油からはバイオディーゼルが製造できることから (Sahoo and Das 2009)、世界的な環境意識の高まりを背景に、化石燃料利用による温暖化の問題、特に温室効果ガスの削減などに貢献できる再生利用可能なエネルギー源として注目を集めている (Ishimoto et al. 2018, Koh et al. 2011, Montes and Melchinger 2016, Parawira 2010, van Eijck et al. 2014)。ジャトロファ・ディーゼルの大規模な商業化にあたっては、生産コストが高いことや、果実収量が少ないことから、現時点においては、価格面で化石燃料と競争することが難しく大規模商業化の目処が立っていないが、比較的簡易な設備でディーゼル油を製造できることから、地方貧困村の開発に寄与することが考えられる (Wicke et al. 2011)。例えば、未電化地域にある貧困村等での活用などである。

1-1-2. 食糧耕作不適地におけるジャトロファ栽培の意義

バイオエネルギーを生産する際に考慮しなくてはならない観点の一つに、食用作物との競合があげられる。食糧不足が問題視される中で、食物耕作地を油糧作物が占有することは避けなければならない。ジャトロファの一つの特徴は栄養素の少ない侵食土壌や荒廃した土壌でも生育できる点にある (Barua 2011, Chauhan et al. 2012, Francis et al. 2005, Pandey et al. 2012, Parawira 2010, Ye et al. 2009)。ジャトロファのこの性質は、作物の生産等に不向きな不毛の土

地での植林に際して、食糧の安全保障面での影響が少ない。つまり、食用作物との共存が可能であると言える。

また、現代社会においては、人類の経済活動が活発化し、採鉱、エネルギー生産、化学肥料の利用などが増えることに伴って重金属などを含む荒廃地が拡大している(Chang et al. 2014, Sarwar et al. 2017, Yousaf et al. 2016)。こうした土地の活用や土壌浄化は喫緊の課題となっており(Sarwar et al. 2017)、植物を利用した重金属汚染土壌の浄化が、経済面や安全面の観点から注目されている(Erakhrumen 2007, Ghosh and Singh 2015, Mahar et al. 2016, Wang et al. 2017)。そしてジャトロファがこれに寄与できる可能性がこれまでも指摘されている(Abdullahi et al. 2017, González and González-Chávez 2006, Mangkoedihardjo and Surahmida 2008)。荒廃地でのジャトロファの栽培は、荒廃地を緑化することに加えて、生産性の少ない土壌でエネルギーを生産できる可能性があり検討に値するが、重金属を含む土壌におけるジャトロファの生育については、更なる耐性或植物生理応答についての研究が求められている。

耕作不適地というのは重金属に汚染された土壌のみではない。酸性が強く食用作物栽培が難しい土壌や、栄養素が乏しく食用作物栽培にあたって化学肥料等が必要な土壌もある。こうした荒廃地にジャトロファを栽培し、ジャトロファが生産するバイオマスを食用作物栽培に有効利用することができれば、環境に優しい、継続性をもった農業や社会開発が可能となる。

1-1-3. 非油脂ジャトロファ・バイオマスの有効利用

ジャトロファ・バイオマスの利用にあたっては、種子に含まれる油はもちろんのこと、種子油以外のバイオマスの利用も研究されている。例えば、油脂搾取後の種子残渣を肥料や土壌改良剤として活用すること(Abudul Khalil et al. 2013, Selanon et al. 2014)や、エネルギー源もしくは燃料としての利用である(Biradar et al. 2014, Chintala et al. 2017, Das et al. 2015, Jingura et al. 2010, Kongkasawan et al. 2016, Ramírez et al. 2019)。ただ、これまでのジャトロファ研究は主に果実や種子の利用に関するものが多く、果実以外のバイオマスの利用の研究はまだ十分に行われているとは言えない。ジャトロファは乾燥には強い

一方寒さには弱く(Pandey et al. 2011, Singh 2014)、寒さが厳しくなると落葉し枝が枯れる(Inafuku-Teramoto et al. 2013, Ishimoto et al. 2017, Pandey et al. 2011)。そのため、乾季に寒さが厳しくなる地域においては、栽培にあたって大量の落葉が発生する。また、枯れた枝や幹は剪定する必要がある、植物の成長には不要な枝や幹が発生する。これまでは、こうして生じたバイオマスは廃棄されてきたが、これらのバイオマスが活用できれば、資源や資金が少ない貧困村では貴重な資材源となり得ると考えられる。ジャトロファの廃棄バイオマスの活用は、ジャトロファを総合的に有効利用するためにもその効果を検証することが必要である。

1-1-4. ジャトロファ・バイオチャーによる土壌改良、もしくは食用作物生産性の向上

持続性のある農業を実施していく上で、バイオマスを炭化しバイオチャー(biochar)として利用する研究が進められている。バイオチャーとは植物バイオマスを、空気の流入を低減させた状態で熱し、熱分解することで生成したものであり(Lehmann and Joseph 2015)、多孔体でミネラル分を多く含むバイオチャーの構造は、土壌に混入させることで様々な土壌改良への効果を生じさせる(Chia et al. 2015, Ippolito et al. 2015)。これまでの研究から、バイオチャーが食用作物栽培のための土壌改良等に寄与することが多数報告されている(Anders et al. 2013, Ogura et al. 2016, Sohi et al. 2010)。また、肥料としての効果も指摘されている(Atkinson et al. 2010, Glaser et al. 2002, Steiner et al. 2007)。しかし、ジャトロファの廃棄バイオマスを炭化し活用する研究はまだ十分に行われているとは言えない。ジャトロファ・バイオマスを炭化し、土壌に施用した際の食用作物栽培への効果、ジャトロファ・バイオチャーの物理化学特性の解明は、総合的なジャトロファ・バイオマスの利用を促進するためにも、その可能性を検証する意義が大きい。

1-2. 本研究の目的

そこで本研究は次の目的を持って行なった。

- 1) ジャトロファの重金属土壌、特に、酸性で銅およびニッケル高含有土壌における生育耐性の試験
- 2) ジャトロファの銅およびニッケル含有土壌での生育における、ジャトロファ・バイオマス内の銅およびニッケル蓄積挙動の解明
- 3) ジャトロファ非油脂バイオマスである落葉をバイオチャーとして活用し、酸性かつ貧栄養な劣悪土壌の土壌改善と、食物耕作土壌における野菜の生産性向上にかかる試験
- 4) ジャトロファの落葉、剪定枝、幹を、炭化温度を変えて製造したバイオチャーの、物理化学特性の解析

これらの研究を通してジャトロファの有効利用の方法を検討する。

第2章

酸性、銅およびニッケル汚染土壌におけるジャトロファ生育耐性の研究

2-1. 要約

この研究は、バイオ燃料を生産する再生可能エネルギー源として注目されているジャトロファ (*Jatropha curcas* L.) と、広く南部アフリカに生息しているアカシア (*Acacia burkei*) を、酸性 pH 条件下で銅およびニッケルを高濃度で含む土壌において生育させ、その耐性を評価するものである。

ジャトロファとアカシアを二つの土壌、1) 農作物の生産に使われている土壌 (FS) と、2) FS と比較して酸性で、銅の含有量が 58 倍、ニッケルの含有量が 14 倍の土壌 (ACNS) で6ヶ月間成長させ、地上部の生育状況を観察した。

結果として、ACNS で生育したアカシアは、FS で生育したアカシアに比べ、枝および側枝の数が少なく、樹径が細く、クロロフィル含有量が少ないという成長阻害が見られた。一方ジャトロファでは、樹高、樹径、若枝の長さなどの比較基準において、ACNS と FS 土壌間で統計上の有意差は認められなかった。また、ジャトロファ葉における銅およびニッケルの蓄積量の調査では、銅においては統計上の有意差が認められなかったものの、ニッケルにおいては ACNS 土壌で生育したジャトロファの葉に少量の増加が認められた。

この結果から、ジャトロファは酸性で銅およびニッケルを多く含む土壌に対して強い耐性があることが示された。この研究結果は、ジャトロファによる再生可能エネルギーの生産と、銅およびニッケル汚染土壌の緑化を同時に実施できる可能性を秘めている。

2-2. 序論

ジャトロファ (*Jatropha curcas* L.) はトウダイグサ科に属し、荒廃地でも生き抜くことができる。そのため、植物による重金属汚染土壌の土壌浄化にジャトロファを

活用することは先行研究で言及されている (Agamuthu et al. 2010, Chang et al. 2014)。Majid ら(2012)は銅、鉛、亜鉛が含まれたおが屑土壌でジャトロファを育て、重金属の吸収特性に関して発表した。Abdullhahi ら(2017)はジャトロファによる、亜鉛、銅、カドミウムに汚染された土壌の浄化の特性について研究した。Ghavri and Sigh(2012)はジャトロファの挿木栽培によって、銅に汚染された土壌でジャトロファを育てる試験を行なっている。また、マンガンとボーキサイト鉱山土壌で育てたジャトロファとコントロール土壌で育てたジャトロファを比較したところ、地上部も根も乾燥重量に差がないことが報告されている (Mathiyazhagan and Natarajan 2012)。これらの研究報告はジャトロファが様々な重金属汚染土壌で育つ耐性を持っていることを示唆している。本研究は、これまでの先行研究などから着想を得て、ジャトロファは、アフリカのサバンナ地域に自然に生育している植物と比較して、銅・ニッケル汚染土壌での生育に耐性が強いという仮説を立て、ボツワナで栽培実験を行なったものである。ジャトロファとの生育比較に選んだ植物はアカシア (*Acacia burkei*) である。アカシアはボツワナに広く自生し、巨木となっている木も目にするため、ボツワナの環境下で生育することが確認できるからである。この研究は、酸性で銅およびニッケルを多く含んでいる土壌を用いて、ジャトロファとアカシアを育て、その生育状態を観察したものである。

2-3. 材料と方法

2-3-1. 実験地

この実験はアフリカ南部のボツワナ共和国 (Republic of Botswana) で実施した。ボツワナで実施した理由は、ボツワナ政府は自国のエネルギー政策の一環としてジャトロファの利用を検討し、ジャトロファ試験栽培圃場が整備され生育試験が行われているため (Inafuku-Teramoto et al. 2013)、ジャトロファがボツワナの自然環境で生育することが確認できていること、かつ実験に使用するための挿木の確保が容易であること、また、ボツワナ共和国には酸性が強く、銅およびニッケルが多く含まれた土壌が銅・ニッケル鉱山の近くに存在することが報告さ

れており(Vurayai et al. 2015)、試験土壌が確保できるためである。

ボツワナは 582,000km² の国土を持ち、南アフリカ共和国、ナミビア、ジンバブエ、ザンビアに囲まれた内陸国である。国の南西部には国土の約 70%を占めるカラハリ砂漠が広がっている(Batisani and Yarnal 2010)。ケッペンの気候区分においては半乾燥地に属しており(Jonsson 2004)、降雨量は 230 mm から 500 mm、気温は -5°C から 40°C で、乾燥している(Inafuku-Teramoto et al. 2013)。

2-3-2. 実験土壌

この実験では二つのタイプの違う土壌を使用した。一つは、ボツワナの首都ハボロネ市セベレ地域にある農務省の農業試験場(Department of Agricultural Research: DAR)から約 4 km 離れたところに位置する試験圃場の土壌である。この土壌はジャトロファの栽培試験場としても使用された(Inafuku-Teramoto et al. 2013)。この論文ではこの土壌を FS (Field Soil)と呼ぶことにする。もう一つは、ボツワナ中央州のセレビ・ピクウェ市近郊にある銅・ニッケル鉱山の近くの土壌である。この土壌は酸性が強く、銅およびニッケルの含有量が多いことから、この論文では ACNS (Acidic and Cu/Ni-rich Soil)と呼ぶことにする。

土壌の pH は inoLab pH 720 meter (WTW GmbH, Weiheim Germany)を使用し、土壌対水:1対 10(w/v)で測定した。有機炭素の含有量は、二クロム酸カリウム抽出法(Walkley and Black 1934)を用いて分光光度計(Labomed, Los Angeles, CA, USA)にて測定した。土壌の成分分析は次のような方法を用いて分析した。土壌を 70°C で二日間乾燥させた後、0.2 g のサンプルを乳鉢と乳棒で粉碎し、それを三角フラスコに入れ 10 mL の濃硝酸を加えて、液体量が約 3 mL になるまでホットプレート上で煮沸した。続いて 10 mL の塩酸を加え、液体量が 3 mL になるまで更に加熱した。その液体を、ペーパーフィルターを通して濾過し、それに 40 mL の蒸留水を加えた。そして 1% (v/v)の硝酸で希釈した。この液体を誘導結合プラズマ発光分析器 (ICP-AES; SPECTRO CIROS CCD, SPECTRO Analytical Instruments GmbH, Nordrhein-Westfalen, Germany)で測定した。

2-3-3. 実験植物

栽培実験に用いたジャトロファは挿木法を用いて苗木を準備した。挿木として使用したジャトロファの枝は、ボツワナの Mineral Resources, Green Technology and Energy Security 省の Water Affairs 局がハボロネ市内で管理している木から採取した。枝は DAR の植物温室内で、約 15 cm の長さに切り、市内で販売されている園芸土壌 (Potting Soil, New Frontiers, Lobatse, Botswana) を 5 L のビニールバッグに入れ、それに挿した。挿木してから約1ヶ月後、新芽が伸び、幹の直径が土壌から 5 cm のところで約 5 mm、地上部の樹高が約 5 cm になったものを実験に使用した。ジャトロファとの生育比較に用いたのはアカシアである。アカシアはボツワナの自然環境下で自生しており、ボツワナの乾燥高温かつ雨量が少ないという気象条件に適応していると考えられたからである。アカシア (*Acacia burkei*) の種はハボロネ市ブロック8地区にある母木より採取し、同じ園芸土壌を用いて DAR の植物温室内で発芽させた。樹高が約 10 cm、幹の直径が土壌から 5 cm のところで約 3 mm に成長したものを実験に使用した。

2-3-4. 成長観察

ジャトロファ3本、アカシア3本の苗木を、10 kg の FS、ACNS が入った鉢に1本ずつ注意深く移植し、DAR の植物温室内でその成長を観察した。1週間に1度、約 1 L の水を与えた。実験を通じて化学肥料は与えていない。移植後、ジャトロファ、アカシア共に成長観察の基準となる樹高、地上部 5 cm の部分の幹の径を継続して6ヶ月間測定した。加えて、アカシアについては、第一側枝、第二側枝 (Ickert-Bond et al. 2015) と葉柄の数を測定した。ジャトロファについては、新しく延伸した若枝の長さや葉の数を測定した。完全展開した上部の葉のクロロフィル含有量は先行文献の方法 (Han et al. 2018) を次のように一部修正し測定した。木の上部に位置する完全展開した葉から、直径 6 mm の円盤状のサンプルを採取した。そして、それを 80% (v/v) のアセトンに浸し、乳鉢と乳棒ですり潰して均一にした後、12,000 × g で 5 分間遠心分離した。この上澄みを分光光度計 (Cecil Instruments, Peterborough, UK) を用いて、645、663、720 nm の波

長で測定し、得られた値から算出した(Porra et al. 1989)。

ジャトロファ葉の栄養素及び重金属は次のような方法を用いて測定した。約 0.2 g の乾燥葉をフラスコに入れ、10 mL の濃硝酸を加えて、240°C で容量が約 1 mL になるまで加熱した。そして、この溶液に 1% (v/v)の硝酸を加えて 25 mL の溶液を作り、それを、誘導結合プラズマ発光分析器を用いて測定した。

ジャトロファが葉内に蓄積したミネラルの目安となる濃縮係数(Enrichment Factor: EF)は次の式を用いて算出した(Zu et al. 2005)。

$$EF = \text{葉のミネラル蓄積量} / \text{土壌のミネラル含有量}$$

2-4. 結果と考察

この実験に使用した2種類の土壌 FS と ACNS の主な元素成分は Table 2-1 のとおりである。FS の pH は 4.92 で、有機炭素は 0.31%であった。多く含まれている上位5つの成分はアルミニウム、鉄、カルシウム、マンガンとチタンであった。一方、ACNS の pH は 3.39 と強酸性を示していた。有機炭素は 0.12 %で FS よりも低い。銅、ニッケル、チタンを除く両土壌の主成分の含有量は差異が4倍以内となっていたが、ACNS に含まれる銅、ニッケル、チタンの含有量は、それぞれ、58 倍、14 倍、8.9 倍 FS よりも多かった。特筆すべきは銅とニッケルの含有量である。重金属汚染土壌のジャトロファによる土壌浄化を研究した先行文献に使用された土壌と比較してみると(Chang et al. 2014)、先行文献では銅、ニッケルの含有量がそれぞれ、23.7 mg kg⁻¹、20.99 mg kg⁻¹だが、ACNS 土壌では銅 604 ± 3 mg kg⁻¹、ニッケル 365 ± 5 mg kg⁻¹と大変多く含まれていることがわかった。

Table 2-1. 実験に使用した土壌の酸度(pH), 有機炭素(organic carbon), ミネラル含有量

	Soil		p-value ³	Fold difference ⁴
	FS ¹	ACNS ²		
pH	4.92	3.39		
Organic carbon (%)	0.31	0.12		
Mineral content (mg kg ⁻¹ soil) ⁵				
Al	40,100 ± 300	52,700 ± 1,100	2.9 × 10 ⁻⁴	1.3
Ca	5,880 ± 40	19,300 ± 100	2.1 × 10 ⁻⁹	3.3
Cd	3.42 ± 0.05	5.21 ± 0.04	3.2 × 10 ⁻⁵	1.5
Co	78.6 ± 2.2	151 ± 1	2.8 × 10 ⁻⁵	1.9
Cr	67.5 ± 0.5	52.4 ± 0.6	7.9 × 10 ⁻⁵	0.78
Cu	10.5 ± 0.2	604 ± 3	9.1 × 10 ⁻⁸	58
Fe	13,100 ± 100	28,900 ± 200	8.3 × 10 ⁻⁷	2.2
K	299 ± 2	578 ± 2	8.1 × 10 ⁻⁷	1.9
Mg	25.4 ± 0.3	90.4 ± 0.1	1.3 × 10 ⁻⁷	3.6
Mn	704 ± 7	125 ± 1	1.7 × 10 ⁻⁶	0.18
Ni	25.2 ± 0.3	365 ± 5	3.4 × 10 ⁻⁶	14
P	136 ± 2	241 ± 2	1.1 × 10 ⁻⁵	1.8
Pb	61.3 ± 0.8	61.0 ± 0.5	0.57	n.a. ⁶
Sn	19.6 ± 0.8	23.6 ± 0.9	1.3 × 10 ⁻²	1.2
Ti	334 ± 3	2,960 ± 50	1.8 × 10 ⁻⁶	8.9
Zn	19.6 ± 0.1	60.9 ± 0.6	2.5 × 10 ⁻⁶	3.1

¹FS: Field Soil.²ACNS: Acidic and Cu/Ni-rich Soil.³The probability values for the significant difference between the content of two soils were calculated by *t*-test ($p < 0.05$).⁴Fold difference of the value for ACNS in comparison to that of FS.⁵Values are the average and standard deviation ($n = 2-3$).⁶n.a: not applicable because the difference was not statistically significant.

アカシアの生育は FS 土壌と比較して、ACNS 土壌では極端に悪かった (Fig. 2-1, Table 2-2)。ACNS 土壌で生育したアカシアの葉柄数は平均 11.7 ± 5.0 本で、これは FS の土壌で生育したものの平均 82.7 ± 4.7 本と比較して 14%しかなかった。ACNS 土壌で生育したアカシアの側枝数も大変少なく、ACNS 土壌のアカシアが平均 2.0 ± 1.0 本であった一方、FS 土壌で生育したアカシアは 5.0 ± 0.0 本であった。アカシアの樹高には統計上の有意差が見られなかったものの、

土壌面から 5 cm の所で計測した樹径は、ACNS は平均 10.3 ± 0.6 mm と FS 土壌の 14.0 ± 1.0 mm と比較して 26% 細かった。完全展開した上部の葉のクロロフィル含有量は ACNS で 2.2 ± 0.6 $\mu\text{g chl cm}^{-2}$ となっており、これは FS 土壌 (7.2 ± 0.4 $\mu\text{g chl cm}^{-2}$) と比較して大変低かった。これらの結果から、アカシアは酸性で銅、ニッケル含有量の多い土壌では成長が著しく阻害されると言える。ニッケルは植物の生育にとって、ウレアーゼなどの酵素の作用に欠かせない。しかし、ニッケルの過剰な吸収は細胞の破壊や植物の枯死につながる (Yusuf et al. 2011)。なぜアカシアの成長が阻害されるのか、そのメカニズムの解明は次なる研究として求められているが、そうしたニッケルの負の影響が成長を阻害した可能性が大きい。

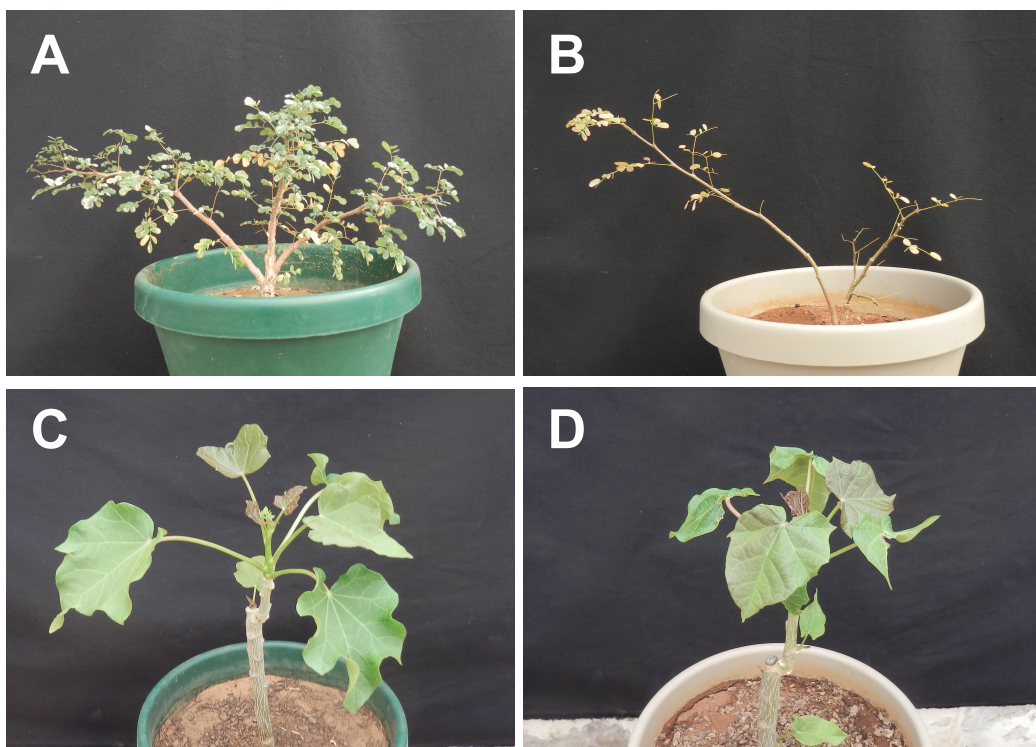


Fig. 2-1. 栽培6ヶ月後のアカシアおよびジャトロファの生育状況の比較. FS土壌で生育したアカシア(A), ジャトロファ(C), ACNS土壌で生育したアカシア(B), ジャトロファ(D).

Table 2-2. アカシアとジャトロファのFS土壌およびACNS土壌における栽培6ヶ月後の生育状況

Growth Parameter	Acacia ¹				Jatropha ¹			
	FS ²	ACNS ³	p-value ⁴	Fold ⁵	FS ²	ACNS ³	p-value ⁴	Fold ⁵
Height (cm)	28.3 ± 6.0	31.0 ± 10.4	0.72	n.a. ⁶	24.3 ± 8.7	25.0 ± 7.0	0.92	n.a. ⁶
Diameter (mm)	14.0 ± 1.0	10.3 ± 0.6	5.3 × 10 ⁻³	0.74	14.7 ± 0.6	16.0 ± 1.0	0.12	n.a. ⁶
Number of petioles per tree	82.7 ± 4.7	11.7 ± 5.0	5.8 × 10 ⁻⁵	0.14	n.d. ⁷	n.d. ⁷	n.d. ⁷	n.d. ⁷
Number of branches per tree	5.0 ± 0.0	2.0 ± 1.0	6.5 × 10 ⁻³	0.40	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0	1.0
Total length of emerged branch	n.d. ⁷	n.d. ⁷	n.d. ⁷	n.d. ⁷	45.0 ± 21.8	56.7 ± 55.1	0.75	n.a.
Number of leaves per tree	n.d. ⁷	n.d. ⁷	n.d. ⁷	n.d. ⁷	5.3 ± 2.9	10.3 ± 1.2	4.9 × 10 ⁻²	1.9
Chlorophyll contents (µg chl cm ⁻²)	7.2 ± 0.4	2.2 ± 0.6	3.2 × 10 ⁻⁴	0.31	11.4 ± 0.6	10.2 ± 1.6	0.28	0.89

¹Values are the average and standard deviation (n = 3).

²FS: Field Soil.

³ACNS: Acidic and Cu/Ni-rich Soil.

⁴The probability values for the significant difference between the two soils were calculated by t-test ($p < 0.05$).

⁵Fold difference of the value for ACNS in comparison to that of FS.

⁶n.a.: not applicable because the difference was not statistically significant.

⁷n.d.: not determined.

アカシアと比較してジャトロファの生育は、ACNSとFS土壌の間に形態的な差異は認められなかった (Fig. 2-1, Table 2-2)。ACNS土壌で生育したジャトロファの樹高は平均 25.0 ± 7.0 cm で、FS土壌で生育したジャトロファの樹高 24.3 ± 8.7 cm との間には統計上の有意差は認められなかった。土壌面から 5 cm の高さで計測した樹径についても ACNS で平均 16.0 ± 1.0 mm、FS で平均 14.7 ± 0.6 mm とほぼ似通っていた。ACNS土壌、FS土壌のどちらの土壌で生育したジャトロファも若枝は1本しか伸びなかった。この若枝の長さは ACNS で平均 56.7 ± 55.1 mm、FS で平均 45.0 ± 21.8 mm と個体差が大きく、二つの、土壌条件の異なる環境においても統計上の有意差は認められなかった。なお、ACNS土壌で生育したジャトロファの葉の数は 10.3 ± 1.2 枚とFS土壌で生育したジャトロファの 5.3 ± 2.9 枚よりも多かった。これは、FS土壌で生育したジャトロファがカイガラムシなどの病害虫の影響を多く受けたことが影響したのではないかと考えられる。クロロフィルの含有量についても、ACNS土壌で生育したジャトロファは 10.2 ± 1.6 µg chl cm⁻²、FS土壌で生育したジャトロファは 11.4 ± 0.6 µg chl cm⁻² と統計上の有意差は認められなかった。この実験はポットを使用し6ヶ月間という短期間に行ったものであることから、自然環境の中で長期間

に渡って生育させた場合の結果を見る必要があるが、この実験からはジャトロファが ACNS 土壌においても生育し、土壌から成長を阻害するような影響を受けないことが示唆されている。この研究において、ジャトロファの銅およびニッケルの含有量が多い土壌での耐性を観察できたことは、ジャトロファによる銅・ニッケル汚染で荒廃した土地での植林の可能性を示している。

次に、ジャトロファが ACNS 土壌においても生育に必要な栄養素を吸収しているかを調べるため、完全展開した上位葉内のミネラル蓄積量を分析した。また、合わせて、銅、ニッケルを含む重金属の蓄積量を分析した。その結果、ジャトロファの葉に含まれる栄養素および重金属の蓄積量は、ニッケルとチタンを除いて、FS、ACNS の双方で生育したジャトロファに統計上の有意差は認められなかった。一方、ニッケルとチタンについては、ACNS で生育したジャトロファは FS 土壌で生育したジャトロファより、ニッケルで3倍、チタンで 2.5 倍多くの量が葉に含まれていた(ニッケル:ACNS; 5.55 ± 2.34 , FS: $1.84 \pm 1.28 \text{ mg kg}^{-1}$ 、チタン:ACNS; 2.76 ± 0.05 , FS; $1.10 \pm 0.10 \text{ mg kg}^{-1}$)。しかし、葉の蓄積量の差は、土壌含有量の差であるニッケル 14 倍、チタニム 8.9 倍(Table 2-1)よりは小さくなっている。

次に、ミネラルの土壌濃度と葉内濃度の比率から濃縮係数(EF)を求めた。ACNS 土壌で生育したジャトロファの葉における濃縮係数はニッケルで $1.5 \times 10^{-2} \text{ mg kg}^{-1}$ 、チタンで $9.3 \times 10^{-4} \text{ mg kg}^{-1}$ と大変小さい(Table 2-3)。この結果から、ACNS 土壌に含まれている余剰のニッケルとチタンはジャトロファの根で吸収されないか、もしくは、根で吸収されたとしても葉には効果的に移行しないことが示唆される。ニッケルの過剰な吸収は細胞の破壊や植物の枯死につながる(Yusuf et al. 2011)。また、チタンは植物にとって必要不可欠のものではないものの、土壌中に適切な量の含有量があれば、植物に良い影響を与える一方、過剰な摂取は植物にとって毒となることが報告されている(Lyu et al. 2017)。このような先行研究から、ジャトロファはこうした、植物にとっては過剰に摂取すると毒となる物質を葉に吸収しないようにして(Baker 1981)身を守っていると考えられる。

特筆すべきことに、ジャトロファの葉における銅の含有量は ACNS で生育した

ものが $3.67 \pm 1.16 \text{ mg kg}^{-1}$ 、FS で生育したものが $3.90 \pm 0.17 \text{ mg kg}^{-1}$ であり、土壌における銅の含有量には大きな差があったにも拘らず (ACNS の銅含有量は FS の 58 倍; Table 1-1)、葉の蓄積量には差が見られなかった (Table 2-3)。この結果は、ジャトロファの葉の銅蓄積の恒常性を維持する機能はニッケル、チタンよりも厳格にコントロールされていることが示唆されている。銅は様々な酵素活性に必須の共同因子として生物に必要とされており、例えば、植物の正常な成長と発育に必要とされる鉄の運搬に必要不可欠である (Nagajyoti et al. 2010)。但し、植物体内中に余剰な銅が存在する場合は植物にとっては有害である (Shahid et al. 2014)。本実験で観察されたジャトロファの葉の銅蓄積量は銅が多く含まれている土壌での生育においても過剰に蓄積されていない。この結果は、ジャトロファが銅を過剰に摂取することによるダメージを避けるために、必要量以上の銅の葉への蓄積を避けているものと示唆される。

先行研究では、ジャトロファは銅を葉よりも根に蓄積させる傾向があることが言及されている (Chang et al. 2014, Ghavri and Singh 2012, Majid et al. 2012)。一方で、ジャトロファの葉と幹が根よりも銅を吸収するという研究も発表されている (Abdullahi et al. 2017)。こうした先行研究及び本実験観察からは、銅含有量の多い土壌におけるジャトロファの対応は多岐に渡っており、生体内のどこに銅を蓄積するのかという生態は、土壌の物理性や、ジャトロファの生理機能や遺伝的な多様性といった、様々な要因に起因するものと考えられる。

加えて、ACNS で生育したジャトロファにおける、必須栄養素である、カリウム (K)、マグネシウム (Mg)、リン (P) の濃縮係数は、ニッケル、チタン等重金属と比較して高い (Table 2-3)。このことから、ジャトロファは土壌の重金属の葉への転流はうまく避けながらも、生育に必要な栄養素を選んで転流していることが示唆される。

Table 2-3. ジャトロファ葉内の栄養素および重金属蓄積量と濃縮係数(EF)

Mineral	FS ¹		ACNS ²		p-value ⁵	Fold difference ⁶
	Content (mg kg ⁻¹) ³	EF ⁴	Content (mg kg ⁻¹) ³	EF ⁴		
Al	341 ± 200	8.5 × 10 ⁻³	503 ± 372	9.5 × 10 ⁻³	0.51	n.a. ⁷
Ca	5,120 ± 1,780	0.87	8,110 ± 7,670	0.42	0.54	n.a.
Cd	< 0.1	n.a.	< 0.1	n.a.	n.a.	n.a.
Co	3.52 ± 0.18	4.5 × 10 ⁻²	4.27 ± 0.36	2.8 × 10 ⁻²	7.7 × 10 ⁻²	n.a.
Cr	2.31 ± 0.60	3.4 × 10 ⁻²	1.93 ± 1.46	3.7 × 10 ⁻²	0.69	n.a.
Cu	3.90 ± 0.17	0.37	3.67 ± 1.16	6.1 × 10 ⁻³	0.81	n.a.
Fe	57.8 ± 19.1	4.4 × 10 ⁻³	79.1 ± 63.7	2.7 × 10 ⁻³	0.60	n.a.
K	9,180 ± 6,860	31	4,600 ± 3,530	8.0	0.21	n.a.
Mg	1,870 ± 2,430	74	1,860 ± 960	21	0.99	n.a.
Mn	48.0 ± 5.3	6.8 × 10 ⁻²	64.7 ± 37.1	0.52	0.48	n.a.
Ni	1.84 ± 1.28	7.3 × 10 ⁻²	5.55 ± 2.34	1.5 × 10 ⁻²	4.1 × 10 ⁻²	3.0
P	6,270 ± 1,500	46	5,190 ± 610	21	0.15	n.a.
Pb	2.54 ± 1.45	4.1 × 10 ⁻²	2.85 ± 2.03	4.7 × 10 ⁻²	0.83	n.a.
Sn	4.95 ± 1.02	0.25	4.79 ± 1.48	0.20	0.87	n.a.
Ti	1.10 ± 0.10	3.3 × 10 ⁻³	2.76 ± 0.05	9.3 × 10 ⁻⁴	1.1 × 10 ⁻⁴	2.5
Zn	35.5 ± 11.0	1.8	37.3 ± 10.5	0.61	0.82	n.a.

¹FS: Field Soil.²ACNS: Acidic and Cu/Ni-rich Soil.³Values are the average and standard deviation (n = 2-6).⁴EF: Enrichment Factor, [Elements]_{leaf} / [Elements]_{soil}.⁵The probability values for the significant difference between the content of two soils were calculated by t-test (p < 0.05).⁶Fold difference of the value for ACNS in comparison to that of FS.⁷n.a.: not applicable because the difference was not statistically significant.

2-5. まとめ

この実験によって、ジャトロファは強酸性で銅およびニッケルの含有量が多い土壌においても、コントロール土壌と同様に生育することができると明らかになった。一方アカシアは、強酸性で、銅およびニッケルの含有量が多い土壌では生育が大きく阻害された。ジャトロファの葉における重金属の蓄積量は、銅およびニッケル含有量が多い土壌で生育した群において、ニッケルの蓄積量が増えたものの、銅の蓄積量はコントロール土壌で生育したものと統計上の有意差がなかった。このことから、重金属、特に銅の葉への転流は効果的に抑制されていることが示唆される。この観察から、強酸性で銅およびニッケル含有量が多い土壌

におけるジャトロファの耐性が示唆され、この特性は油糧植物であるジャトロファの活用方法として、銅およびニッケルに汚染された荒廃土壌における植林の可能性を示唆している。

第3章

銅およびニッケル高含有土壌におけるジャトロファの生育と植物内蓄積挙動の解析

3-1. 要約

この研究は再生可能エネルギー源として注目されているジャトロファ (*Jatropha curcas* L.) の、銅およびニッケル汚染土壌における生育耐性と、土壌中からの銅とニッケルの吸収特性を評価したものである。実験では、ポットに土壌と 50、150、300 mg kg⁻¹ の異なる量の銅およびニッケルを混入し、植物温室内で実験土壌を使ってジャトロファを栽培した。生育の観察においては、樹高、樹径、若枝の数と、一番長く成長した若枝の長さを定期的に測定した。銅とニッケルの蓄積状態の評価には、成長観察後にジャトロファを収穫し、バイオマス乾燥重量とミネラル成分分析を実施した。この実験結果を見ると、ジャトロファの生育状況は、銅およびニッケル混入土壌においても、土壌内の銅およびニッケルの濃度に左右されることなく、コントロール土壌と比較して統計上の有意差はなく、ジャトロファが銅およびニッケルが多く含まれている土壌に耐性を示し、阻害されることがなく生育することが明らかになった。ミネラル分析からは、地上部に比較して、根に多くの銅とニッケルを吸収していることが確認できた。また、銅に比べてニッケルの吸収量が多く、特に、若枝、老化葉にもニッケルを蓄積することが明らかになった。このことから、若枝、老化葉を取り除くことでニッケル汚染土壌の土壌浄化の可能性も示唆された。

3-2. 序論

荒廃した耕作放棄地、特に重金属が含まれる土壌は、採鉱、エネルギー生産、農薬の使用等、人類の経済活動の結果として、年々その面積が拡大している (Chang et al. 2014, Sarwar et al. 2017)。重金属による土壌汚染は環境問題を引き起こすだけでなく、人間の健康にも大きな影響を及ぼす (Sarwar et al.

2017, Yousaf et al. 2016)。そのため、こうした重金属汚染土壌の緑化および浄化は緊急の課題となっている。植物による汚染土壌の緑化に加えて土壌浄化を行う試みはこれまでも研究されてきた (Antoniadis et al. 2017, Mahar et al. 2016, Pandey et al. 2016)。植物による土壌浄化は、経済的に効率がよいという面と環境に優しいという面から注目されている (Mahar et al. 2016, Wang et al. 2017)。

トウダイグサ科のジャトロファ (*Jatropha curcas* L.) は、これまでも浸食された土地や荒廃した土地でも生育できると言われていたが、第2章において、ジャトロファが銅およびニッケルを多く含む土壌においても、植物栽培が行われている土壌と同様に生育し、アカシア (*Acacia burkei*) と比較して銅およびニッケル土壌での生育に耐性があることが明らかになった (Konaka et al. 2019a)。これにより、ジャトロファによる銅およびニッケル汚染土壌の緑化が期待できることが示された。本実験では、この結果に加えて、ジャトロファの生育過程における、銅およびニッケルのバイオマス内での吸収状況を明らかにすることで、銅およびニッケル汚染土壌の植物浄化の可能性について考察した。

ジャトロファによる重金属の吸収については先行研究が行われている。例えば、ジャトロファによるヒ素、クロム、亜鉛 (Yadav et al. 2009)、鉛、カドミウム (Mangkoedihardjo and Surahmida 2008)、銅、鉄、鉛、アルミニウム、亜鉛 (Majid et al. 2012)、亜鉛、銅、カドミウム (Abdullahi et al. 2017)、カドミウム、クロム、銅、ニッケル、鉛、亜鉛 (Chang et al. 2014) 等の吸収である。また、Agamuthu ら (2010) は、ジャトロファによる使用済み潤滑油の吸収を試験している。実際に採鉱によって生じた廃棄土壌の現場で生育したジャトロファによる重金属の吸収効率の試験も行われている (González and González-Chávez 2006)。しかしながら、銅およびニッケルを多く含んだ土壌におけるジャトロファの重金属の吸収についてはまだ十分な研究が示されていない。第2章において、ジャトロファは成長に余剰な銅を葉に蓄積しないことが示された一方、ニッケルに関しては、濃縮係数は低いものの葉への蓄積が明らかになった (Konaka et al. 2019a)。この実験の目的は、第2章で示されたジャトロファの銅およびニッケル吸収に関して、土壌中の銅およびニッケルの含有量の違いによりジャトロファの

体内蓄積に変化があるのかを確認すること、および、第2章では十分に明らかにすることができなかった、バイオマスにおけるどの部位に銅およびニッケルを蓄積するのかを探究することである。

3-3. 材料と方法

3-3-1. 重金属

この実験では粉末状の $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (99.0~102%)と $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (99.5%) (Fujifilm wako pure chemical, Osaka Japan)を使用した。銅とニッケルは植物の健康的な成長に必要な微量栄養素である (Fageria et al. 2009)。銅は Ascorbate oxidase などの転写調整因子の働きに必要とされ (Festa and Thiele 2011)、酵素活性に必要なミネラルであるが、土壌に高濃度に存在する際には植物毒となり得る (Nagajyoti et al. 2010, Shahid et al. 2014)。ニッケルはウレアーゼなどの酵素にとって重要な成分であり、いくつかの酸化還元酵素の作用に欠かせないミネラルであるが、量が多すぎると細胞に大きなダメージを与え、植物に死をもたらす (Yusuf et al. 2011)。このため両ミネラルとも Potentially toxic elements (潜在的毒性元素) と呼ばれることもある。

3-3-2. 実験土壌

実験には、日本国内で家庭での花や野菜栽培に一般的に使用されている植物栽培土壌 (pH 6.5 ± 0.5) を使用した (花と野菜の土、グリーン・グロウ、岡山、日本)。実験においては、植物栽培用のポットに 3 kg のこの土を入れたものをコントロールとして、土 1 kg 当たり銅とニッケルがそれぞれ 50 mg (以降 50NC と呼ぶ)、150 mg (150NC)、300 mg (300NC) となるように混入させ、均一になるようにシャベルで混ぜ合わせた。全てのコンディションにそれぞれ3ポットを反復として準備した。ジャトロファの栽培を始める前に、コントロール土壌および銅とニッケルを混入した土壌を温室の中に安置し、500 mL の水を毎週1回の頻度で与えて土壌中成分の均一化を図った。その際、土壌中の銅とニッケルがポット内から床等に水とともに排出されることを避けるために、深めの受け皿をポットの下に

置き、水がポットから排出された際には回収できるようにした。ポットからの排水が認められた際には、受け皿に排出された水の量を測り、次に給水する際に同じポットに戻した。

3-3-3. 植物材料

実験には鳥取大学の植物温室で栽培している樹齢3年以上のジャトロファの枝を使用し、挿木栽培で行った。鳥取大学の植物温室において、ジャトロファの枝を約 20 cm の長さに切り、挿木専用土壌(挿し芽種まきの土、花ごころ、名古屋、日本)に挿して新芽の成長を促した。約1ヶ月後、新芽が成長したジャトロファの挿木を前述の植物栽培用土壌に移植し、その後更に1ヶ月間成長させ、ジャトロファが問題なく生育することを確認した。実験には、生育させたジャトロファの苗木のうち、土壌から高さ 3 cm の位置における樹径が約 1 cm、挿木した幹から新たに発芽し成長した若枝の長さが各土壌のコンディションで平均約 5 cm になるように苗木を選定し、これらを実験土壌に移植して実験を開始した。

3-3-4. 成長観察

ジャトロファ栽培は 128 日間実施した。この間、ジャトロファの樹高(土壌表面から茎頂まで)、土壌から 3 cm の位置における樹径、若枝の数と一番長く成長している若枝の長さを定期的に測定した。栽培期間中を通じて、実験を行ったポットの土壌表面が乾燥している場合には、土壌の状況や温室内の温度の状況などを考慮して、500 mL から 1,000 mL の水を各ポットに同時に与えた。栽培期間中、化学肥料は一切使用していない。ポットの底から排水が生じた場合は、排出された水の量を測り、次の給水時に同じポットに戻し入れた。

3-3-5. バイオマス内ミネラル含有量の測定

銅とニッケルをはじめとする、ジャトロファ・バイオマスに含まれているミネラルの測定にあたっては、根、幹、若枝、上部の若葉、下部の老化葉を 70°C のオーブンで2日間乾燥させたものを使用した。これらのサンプル 0.1 g を 10 mL の硝酸で先行文献に沿って分解し(Konaka et al. 2019b)、誘導結合プラズマ発光

分光分析装置 (ICP-AES、SPECTRO CIROS CCD, SPECTRO Analytical Instruments GmbH, Nordrhein-Westfalen, Germany) を用いて測定した。

3-3-6. 統計解析

全ての実験は、各土壌の状況に対して3サンプルを用意して行なった。分散分析 (ANOVA) は js-STAR version 8.1.1j を用いて、 $p < 0.05$ を有意とし、Holms 法を用いて検定した (<http://www.kisnet.or.jp/nappa/software/star/>)。

3-4. 結果と考察

3-4-1. ジャトロファの生育状況

ジャトロファの苗木を 2018 年 6 月 25 日に実験土壌に移植し、翌日から 128 日間成長を観察した。128 日目のジャトロファの樹高はコントロール土壌で 80.3 ± 9.3 cm であったが、50NC 土壌で 93.3 ± 12.3 cm、150NC 土壌で 71.7 ± 14.5 cm、300NC 土壌で 82.3 ± 6.5 cm (Fig. 3-1A) と、どの土壌での生育においても統計上の有意差は見られなかった。樹径 (Fig. 3-1B)、若枝の数と長さ (Fig. 3-1 C, D) についても同様に統計上の有意差は見られなかった。128 日後にジャトロファを地上部、地下部ともに収穫し、乾燥させた後に各土壌環境 (コントロール、50NC、150NC、300NC) における幹、根、若枝、若葉、老化葉の乾燥重量を測定した (Fig. 3-1E)。バイオマスの乾燥重量についても統計上の有意差は認められなかった (Fig. 3-1E)。第 2 章ではボツワナで行なった銅およびニッケル含有土壌と、耕作土壌を用いたジャトロファの成長比較の結果、ジャトロファが銅・ニッケル含有土壌でもコントロール土壌と同様に成長することを示したが、当実験の結果からは、加えて、土壌中における銅・ニッケルの含有量の差にかかわらず、コントロール土壌と同様に成長することが示された。このことから、ジャトロファが銅およびニッケル含有土壌における耐性を持っていることが示唆される。

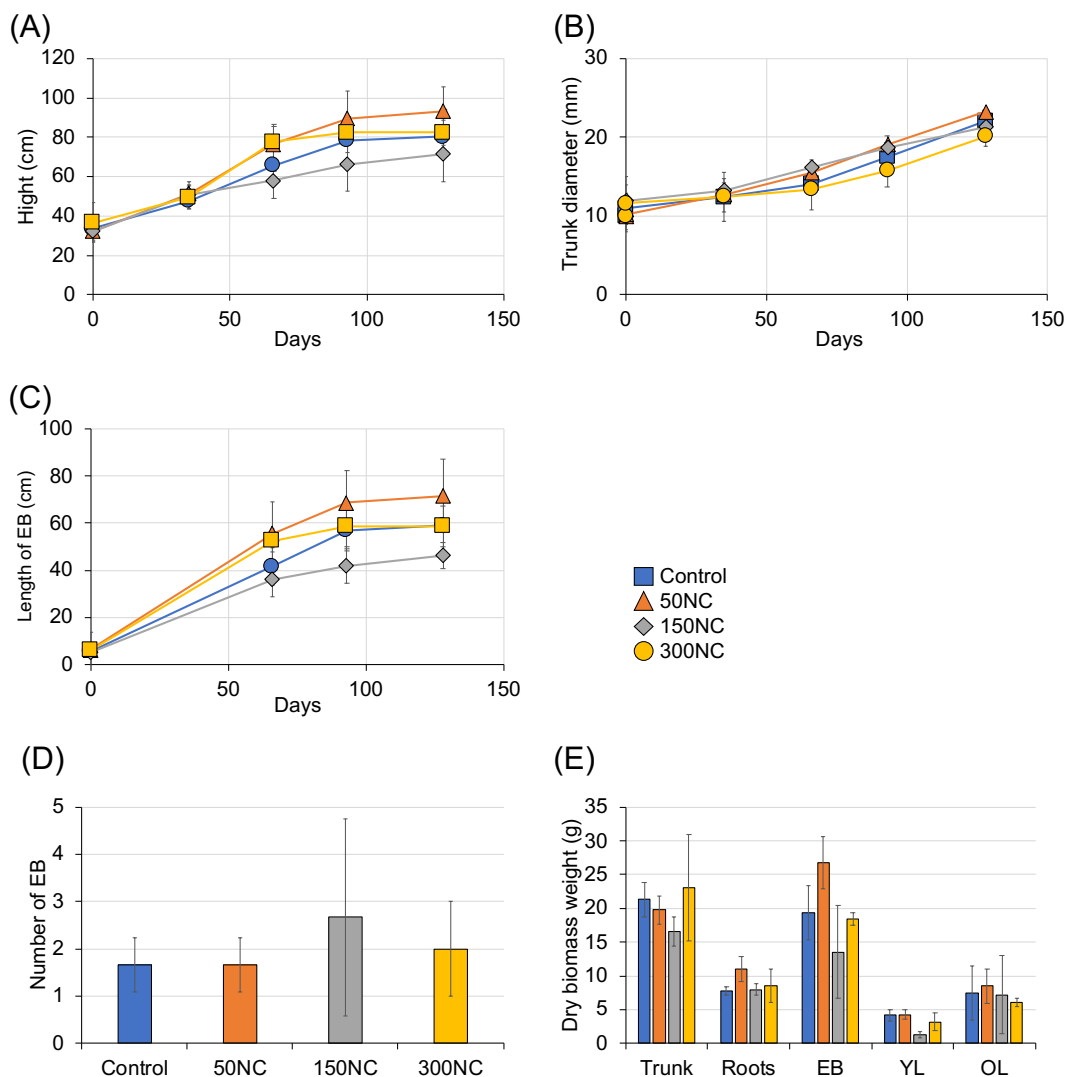


Fig. 3-1. ジャトロファを異なる含有量の銅とニッケルを混入させた土壌(Control:混入なし, ニッケルと銅をそれぞれ 50NC: 50mg kg⁻¹混入, 150NC: 150mg kg⁻¹混入, 300NC: 300mg kg⁻¹混入)で栽培した際の生育状況. (A)樹高, (B)土壌から3cmの高さの樹径, (C)若枝(EB: Emerged branch)の長さ, (D)若枝の数, (E)乾燥重量(Trunk:幹)(Roots:根)(EB:若枝)(YL(Young leaf):若葉)(OL(Old leaf):老化葉). 値は各3サンプルの平均値と標準偏差. ANOVAにおける (Holm's test, $p < 0.05$)有意検定の結果, (A)(B)(C)(D)(E)全てに有意差は認められなかった.

3-4-2. ジャトロファ・バイオマスのミネラル含有量

ジャトロファが銅およびニッケルを多く含む土壌においてもコントロール土壌同様に成長するという結果を受けて、ジャトロファは、銅およびニッケルが含有された土壌においても、成長に必要な栄養素を吸収できているという仮説を立て、それを明らかにするために、葉における各栄養素の吸収量を分析した。分析の結果、ジャトロファが成長に必要なとされる多量栄養素であるリン、カリウム、カルシウ

ム、マグネシウムや微量栄養素である鉄、マンガン、亜鉛などの吸収に関して、銅およびニッケル混入土壌においても負の影響を受けていないことが明らかになった。多量栄養素であるリン、カリウム、カルシウム、マグネシウムの含有量を Fig. 3-2A に示している。銅およびニッケルが土壌中に多く含まれている土壌での成長においても、特にそれらの吸収量に大きな変化はなかった。微量栄養素である鉄、マグネシウム、亜鉛の吸収量については Fig. 3-2B で示している。唯一、鉄の吸収において、300NC で成長したジャトロファが統計上有意に吸収しているが、マグネシウム、亜鉛の吸収量には差異が見られなかった。300NC で成長したジャトロファが鉄を多く吸収した理由は現時点では不明であり、今後のさらなる解析が必要である。しかし、これらの結果は、ジャトロファが銅およびニッケルが多く含まれている土壌においても、成長に必要な栄養素を十分に吸収していることを示唆している。

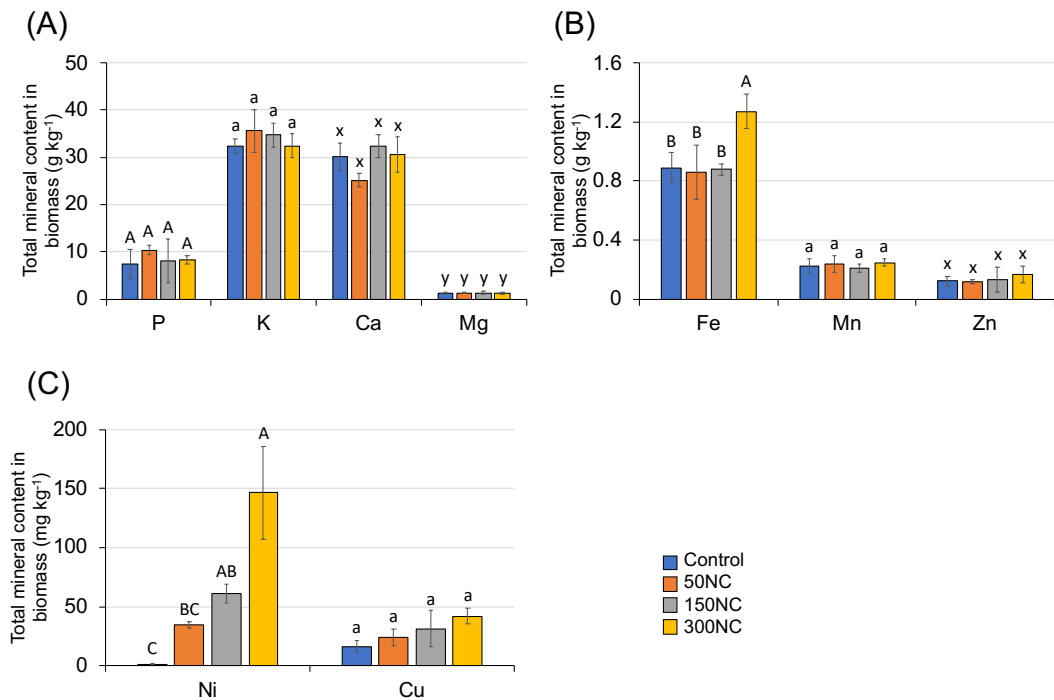


Fig. 3-2. ジャトロファを異なる含有量の銅とニッケルを混入させた土壌(コントロール:混入なし, ニッケルと銅をそれぞれ50NC: 50mg kg⁻¹混入, 150NC: 150mg kg⁻¹混入, 300NC: 300mg kg⁻¹混入)で栽培した際のバイオマス内の総ミネラル含有量. (A)多量栄養素, (B)微量栄養素, (C)ニッケルおよび銅. 値は平均値と標準偏差(n=3). アルファベットはANOVAによる有意性を示している(Holm's test, $p < 0.05$).

3-4-3. ジャトロファによる銅とニッケルの蓄積状況

ジャトロファによる銅とニッケルの吸収量は Fig. 3-2C で示している。銅とニッケルではジャトロファの吸収量に差が生じた。銅の吸収量は、コントロール土壌、50NC、150NC、300NC 土壌において統計上の有意差は認められなかった。この結果から、ジャトロファは土壌内に銅が多く含まれていたとしても、必要量以上の銅をバイオマス内に吸収することがないことが示唆されている。この生理反応は第2章と同様の結果を示している。一方、ニッケルの蓄積量は土壌中におけるニッケルの含有量と正の相関を示している。コントロール土壌で生育したジャトロファと 300NC 土壌で生育したジャトロファを比較すると、300NC で生育したジャトロファは 124 倍のニッケルを蓄積している(300NC: $147 \pm 40 \text{ mg kg}^{-1}$ 、コントロール: $1.19 \pm 0.39 \text{ mg kg}^{-1}$)。このことから、ジャトロファは土壌内のニッケルが増すに従って、生育には余剰なニッケルをも吸収することが示唆される。

3-4-4. 生育したジャトロファが実際に蓄積した銅の量

ジャトロファ・バイオマスにおける銅の蓄積量は Fig. 3-3 に示すとおりである。銅のバイオマス内の蓄積傾向を見ると、銅の土壌中の含有量が増えるに従って、根への蓄積量が増えている(コントロール: $0.06 \pm 0.01 \text{ mg plant}^{-1}$ 、50NC: $0.13 \pm 0.04 \text{ mg plant}^{-1}$ 、150NC: $0.15 \pm 0.05 \text{ mg plant}^{-1}$ 、300NC: $0.29 \pm 0.05 \text{ mg plant}^{-1}$)。他のバイオマス内への蓄積状況を比較してみると、50NC の若枝が $0.12 \pm 0.07 \text{ mg plant}^{-1}$ の銅を蓄積している以外、土壌内の銅含有量が増加しても、幹(コントロール: 0.11 ± 0.05 、50NC: 0.11 ± 0.05 、150NC: 0.09 ± 0.07 、300NC: $0.11 \pm 0.06 \text{ mg plant}^{-1}$)、若枝(コントロール: 0.04 ± 0.03 、50NC: 0.12 ± 0.07 、150NC: 0.05 ± 0.07 、300NC: $0.03 \pm 0.01 \text{ mg plant}^{-1}$)、若葉(コントロール: 0.01 ± 0.01 、50NC: 0.01 ± 0.00 、150NC: 0.00 ± 0.01 、300NC: $0.00 \pm 0.00 \text{ mg plant}^{-1}$)、老化葉(コントロール: 0.00 ± 0.01 、50NC: 0.01 ± 0.01 、150NC: 0.02 ± 0.02 、300NC: $0.00 \pm 0.00 \text{ mg plant}^{-1}$)と、各部のバイオマス内の蓄積量にほとんど差がない。Fig. 3-2C ではコントロール土壌で生育したジャトロファと他土壌で生育したジャトロファの銅吸収量に差が生じなかったが、Fig. 3-3 を合わせて考察してみると、ジャトロファは生育に必要以上の銅はあまり吸

収しないものの、土壌中の銅含有量の増加に伴って余分量を吸収した際には根に蓄積し、地上部へは移行させないことが示唆される。なお、50NC の若枝の蓄積量が多かった理由は現時点で不明である。

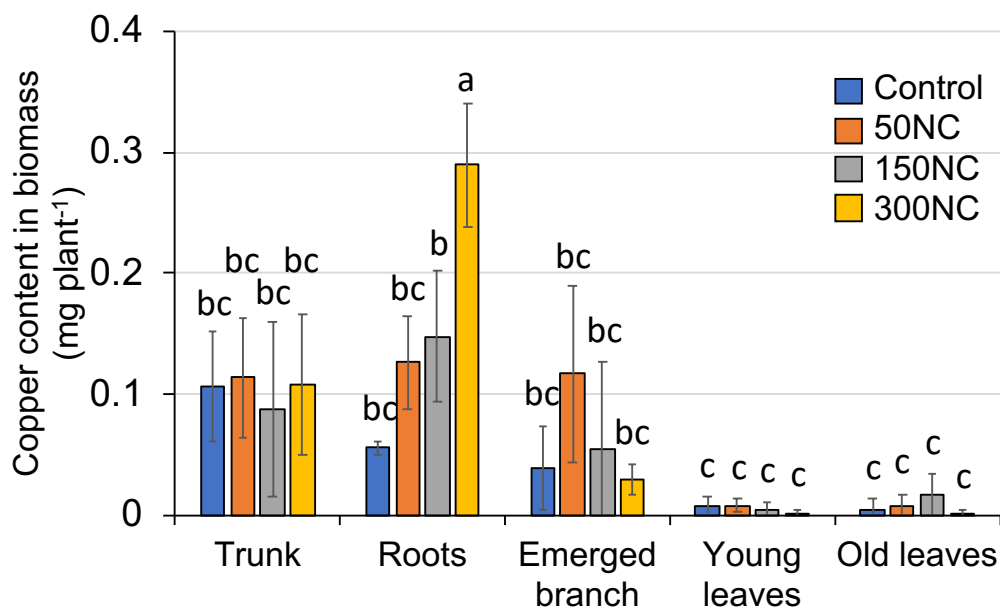


Fig. 3-3. 異なる含有量の銅とニッケルを混入させた土壌(Control:混入なし, 銅とニッケルをそれぞれ, 50NC: 50mg kg⁻¹, 150NC: 150mg kg⁻¹, 300NC: 300mg kg⁻¹混入)で栽培した際のジャトロファの幹(Trunk), 根(Roots), 若枝(Emerged branch), 若葉(Young leaves), 老化葉(Old leaves) 内における銅の含有量. 値は平均値と標準偏差 (n=3). アルファベットは各土壌内のANOVAによる有意性を示している (Holm's test, $p < 0.05$).

3-4-5. 生育したジャトロファが実際に蓄積したニッケルの量

ジャトロファ・バイオマスにおけるニッケルの蓄積量は Fig. 3-4 に示すとおりである。コントロール土壌で生育したジャトロファは、若枝に若干ニッケルの蓄積が見られるものの (0.02 ± 0.01 mg plant⁻¹)、ニッケルはほとんど蓄積していない (Fig. 3-4)。50NC、150NC、300NC 土壌での蓄積状況を比較してみると、土壌中のニッケルの含有量と、根の蓄積量 (50NC: 0.15 ± 0.02 mg plant⁻¹, 150NC: 0.22 ± 0.05 mg plant⁻¹, 300NC: 0.63 ± 0.01 mg plant⁻¹) と老化葉の蓄積量 (50NC: 0.09 ± 0.01 mg plant⁻¹, 150NC: 0.13 ± 0.11 mg plant⁻¹, 300NC: 0.22 ± 0.08 mg plant⁻¹) に正の相関があることがわかる (Fig. 3-4)。また、若枝の蓄

積量 (50NC: $0.19 \pm 0.06 \text{ mg plant}^{-1}$ 、150NC: $0.11 \pm 0.08 \text{ mg plant}^{-1}$ 、300NC: $0.29 \pm 0.08 \text{ mg plant}^{-1}$)も 150NC を除いて増加している (Fig. 3-4)。このことから、土壌中にニッケルが多く含まれていると、ニッケルの多くは根に蓄積するものの、老化葉や若枝にも蓄積することが示唆される。第2章では、濃縮係数が少ないながら、ニッケル含有土壌で生育したジャトロファの若葉にニッケルの蓄積が見られた。本実験においても同様な蓄積挙動が見られており、このことから、第2章のジャトロファにおいても、成長に余分なニッケルを根に多く蓄積し、加えて、老化葉や若枝にも蓄積していた可能性が示唆される。

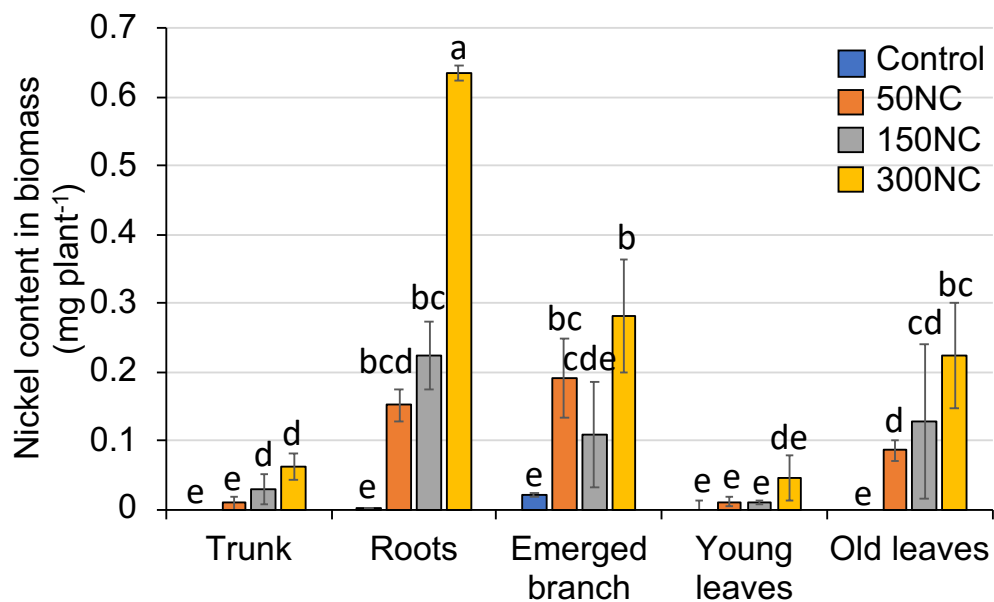


Fig. 3-4. 異なる含有量の銅とニッケルを混入させた土壌(Control:混入なし, 銅とニッケルをそれぞれ, 50NC: 50 mg kg^{-1} , 150NC: 150 mg kg^{-1} , 300NC: 300 mg kg^{-1} 混入)で栽培した際のジャトロファの幹(Trunk), 根(Roots), 若枝(Emerged branch), 若葉(Young leaves), 老化葉(Old leaves)内におけるニッケルの含有量. 値は平均値と標準偏差($n=3$). アルファベットは各土壌内のANOVAによる有意性を示している(Holm's test, $p < 0.05$).

3-4-6. ジャトロファによる土壌浄化の可能性

植物による土壌浄化(Phytoremediation)は、重金属等の含有量が増すことで汚染された土壌から、植物によって有害となる物質を除去する方法として提案された。植物の重金属蓄積特性を活かして次のような方法が提唱されてきた。

Phytostabilisation は植物の根が重金属を吸収する能力を利用して、土壌中の重金属の拡散を減少させようという試みである。Phytoextraction は植物の転流機能を利用して、土壌中の重金属を地上部に蓄積させて取り除く方法である。その他にも植物の気孔から有害物質を蒸散させることで土壌を浄化する Phytovolatilization といった方法が示されてきた (Erakhrumen 2007, Ghosh and Singh 2005)。

この実験では、ジャトロファがニッケル含有土壌においてもその生育が阻害されることなく成長することに加えて、ニッケルを根に多く蓄積するとともに、地上部においては、若枝、老化葉にも蓄積させることが明らかになった。ジャトロファは落葉植物であることを考えると、老化葉の除去はジャトロファの生育に大きな負荷を与えることは少ないと考えられる。また、落葉が生じた場合は落葉を回収することで容易に老化葉を取り除くことができる。加えて、ジャトロファは枝を剪定しても幹や残った枝から新芽が発芽してくるため、若枝を取り除いても木自体が枯死するような負荷を木に与えることはない。こうしたジャトロファの生育特性を考えると、若枝や老化葉を排除することで、土壌中のニッケルを取り除く効果が期待できる。この結果からは、ニッケル汚染土壌の浄化を検討する際、ジャトロファを生育させることで、土壌中のニッケルを根に吸収することによって他の土壌に広がることを阻害する Phytostabilisation とともに、若枝、老化葉を回収することで土壌中のニッケルを除去できる Phytoextraction の可能性が示唆されている。

3-5. まとめ

第2章ではジャトロファが銅およびニッケルを含有する土壌においても、耕作土壌と変わらず生育することが示されたが、加えてこの実験では、ジャトロファの銅およびニッケル含有土壌における生育耐性を更に確かなものとした。また、銅およびニッケルの土壌含有量の差を変えて比較することで、ジャトロファはニッケルを、その土壌含有量が多いほどバイオマス内に蓄積することが明らかになった。更に、ニッケルのバイオマス内の蓄積においては、ニッケルを根に蓄積する

のみならず、若枝、老化葉にも蓄積することが示唆された。この実験結果から、若枝、老化葉を除去することでニッケル汚染土壌の浄化が期待され、ジャトロファが植物土壌浄化の重要な候補となり得ることが示された。ジャトロファは種子に含有する油からバイオエネルギーを生産することができる。重金属に汚染された荒廃土壌、特にニッケルによる汚染土壌においては、ジャトロファを植林することで、汚染土壌を緑化し、土壌浄化を行いながら、エネルギー生産を行える可能性が示唆される。

第4章

酸性貧栄養土壌におけるジャトロファ落葉炭化物の土壌改良剤としての活用

4-1. 要約

ジャトロファ (*Jatropha curcas* L.) は乾燥地における再生可能バイオエネルギーの資源として、種子に含まれている油糧成分からバイオディーゼルを生産できるが、その活用はバイオディーゼルの生産にとどまらず、油脂採取後の残渣を肥料に利用するなど活用されている。ジャトロファは寒さが厳しい季節になると落葉し、大量の落葉が発生するが、こうした不要物として扱われるバイオマスの活用についての研究は多くはない。この研究では、ジャトロファの落葉を、アフリカの地方村でも活用できることを考慮して、使用済みの 200 L のドラム缶を簡易炭化装置として使用して炭化した上で、炭化物を土壌改良材として利用して、フダンソウ (*Beta vulgaris* subsp. *cicla*. Swiss chard ‘Fordhook Giant’) をボツワナの酸性貧栄養土壌で栽培し、その効果を調べたものである。ジャトロファ・バイオチャーを施用した土壌で生育させたフダンソウでは、葉面積など複数の試験項目で向上が見られた。収穫後の乾燥重量については、バイオチャーの施用量 3%、5%、10% の土壌で生育させたものは、バイオチャーを施用していないコントロール土壌で生育させたものに比べ、それぞれ 1.57、1.88、2.32 倍重くなった。このことからバイオチャーの施用量と収量には正の相関が認められた。こうした結果を総合して勘案すると、ジャトロファ落葉のバイオチャーは野菜の生産性を向上させる機能を持ち合わせていると考えられる。

4-2. 序論

ジャトロファ (*Jatropha curcas* L.) は種子の中に油を含有しており、その油はバイオディーゼルの原料となるため、バイオエネルギー源としての利用が研究されている。また、ジャトロファの油脂以外のバイオマスの利用についても、ジャトロフ

アの総合的な活用という観点から研究が進められている(Navarro-Pineda et al. 2016, Abdul Khalil et al. 2013, Srinophakun et al. 2012, Selanon et al. 2014)。これまでに、油脂搾取後の残渣を肥料として活用することや、固形燃料としての活用が研究されてきた。また、ジャトロファの木を炭化し、エネルギー源として利用することも研究された(Kumar and Sharma 2008)。ジャトロファの葉を利用した薬用軟膏(Esimone et al. 2008)やダニの防虫剤(Juliet et al. 2012)、セラピー剤(Oskoueian et al. 2011)としての効果も研究されている。加えて、ジャトロファの育苗において、ジャトロファの木と葉を炭化して土壤に施用することで、生育に好影響をもたらすことも研究されている(Ogura et al. 2016)。最近では、ジャトロファによる炭素触媒としての活用についての研究が行われている(Álvarez-Mateos et al. 2019, García-Martín et al. 2019)。

ジャトロファは落葉木で、寒い季節になると葉を落とす。ジャトロファの総合的な活用を目指すためには、この落葉は無視することのできないバイオマスである。インドの Patancheru 地域におけるジャトロファ栽培では、1年目の木で 550 g、3年目の木で 1,450 g、4年目の木で 6.14 kg 程度の落葉が発生すると発表されている(Wani et al. 2012)。よって、ジャトロファの栽培の過程で生じる落葉は、重要なバイオマスと言っても過言ではない。

先行研究では、植物を炭化して作るバイオチャーには、土壤の物理化学特性を改善させることによって農業生産の向上に寄与できる可能性(Ogura et al. 2016, Anders et al. 2013, Sohi et al. 2010)や、肥料としての効果(Atkinson et al. 2010, Glaser et al. 2002, Steiner et al. 2007)が指摘されている。木や有機廃棄物のバイオチャーを土壤に施用し、作物、例えば、コメ(*Oryza sativa*)やトウモロコシ(*Zea mays*)を栽培した際にその生育を促進させたことが指摘されている(Asai et al. 2009, Gaskin et al. 2008, Major et al. 2010)。落葉をバイオチャーとして活用した研究も行われている。例えば、イチョウ(*Ginkgo biloba*)やカエデ(*Acer spp.*)の落葉を炭化し、それを使用しての、重金属に汚染された土壤の浄化法が研究されている(Lee et al. 2017, Nejad et al. 2017)。イチョウ(Mitchell et al. 2013)やユーカリ(*Eucalyptus saligna*) (Singh et al. 2010)の落葉を炭化したバイオチャーに関する物理化学特性についても研究がなされて

いる。しかし、ジャトロファ落葉のバイオチャーが野菜の生産にどのように寄与するかについての研究は十分とは言えない。

この研究は、ボツワナで行われているジャトロファ試験栽培地の落葉を炭化し、酸性貧栄養土壌に施用して、土壌改良剤としての効果を試験したものである。加えて、アフリカの資源が乏しい地方貧困村での活用を想定し、高価ではない使用済みのドラム缶が簡易炭化装置として機能するのかを試みた。これまでも簡易な炭化装置を用いた炭製造は研究されているが (Abdel-Fattah et al. 2015, Cobb et al. 2012, Ishii and Kadoya 1994)、この実験では、中古ドラム缶を縦に設置し単体で使用することを試している。試験栽培の作物にはフダンソウ (*Beta vulgaris* subsp. *cicla*. Swiss chard ‘Fordhook Giant’) を使用した。理由は、この葉菜はボツワナで広く消費されているからである。

4-3. 材料と方法

4-3-1. ジャトロファ落葉バイオチャーの製造と分析

ジャトロファの落葉は 2016 年 7 月 (冬期) にボツワナの首都ハボロネ郊外に位置する農業研究所 (Department of Agricultural Research: DAR) の本部から 4 km 北東にあるジャトロファの試験圃場 (Inafuku-Teramoto et al. 2013) から収集した。当試験圃場のジャトロファはこれまでも気候が寒くなると落葉が生じていることが確認されている。(Inafuku-Teramoto et al. 2013, Ishimoto et al. 2017)。落葉はバイオチャーを製造する前に、日差しが強く空気が乾燥しているボツワナの天日で十分に乾燥させた。

簡易炭化装置は、一般的な 200 L 中古ドラム缶 (直径 57.2 cm、高さ 85.1 cm) を用いて作製した。ドラム缶の上部の蓋は取り除き、鉄で自作した中央に小さな煙突 (高さ 15 cm、直径 7 cm) が付いた蓋と交換した (Fig. 4-1A)。ドラム缶の底部には 10 cm から 15 cm 間隔で空気を取り入れるための穴をあけた (Fig. 4-1B)。ドラム缶は4つのレンガを均等に配置した上に設置し、点火時に空気が底から入るようにした。

約 44 kg の落ち葉をドラム缶に入れ、成人男性が体重をかけ、足で踏み固め

ながら上部まで密に詰め込んだ。最初の点火は、紙に火をつけ、それを上部の落ち葉に直接着火させることによって行った。着火 30 分後に自作の蓋を上部に乗せ約 1 時間燃焼させた後、レンガを煙突の上に乗せ、底部のレンガの間を土で埋めることでドラム缶内の空気の流れを遮断した。そして 46 時間半そのままの状態に炭化を促進した。炭化促進中は -50°C から 800°C まで測定できる 3 つの温度計 (TL-13K; Sato Shouji, Tokyo, Japan) をドラム缶の底部から 15 cm、45 cm、75 cm の部分に開けた小さな穴から差し込み、内部の温度を定期的にデータロガー (Ondotori MCR-4; T&D Corporation, Nagano, Japan) を用いて測定した。着火 48 時間後、ドラム缶の蓋を厚手の軍手を用いて手で取り除き、直後に 10 L の水を上部から流し入れることで消火した。6 時間そのまま放置した後、炭化した落葉をスチールシートの上に広げ約 10 日間乾燥させた。乾燥させた落葉バイオチャーは均等になるようにシャベルでかき混ぜた。バイオチャーの表面構造はデジタルマイクロスコープ HX-D500 (Keyence, Osaka, Japan) で観察した。



Fig. 4-1. ジャトロファ落葉バイオチャーを製造した、中古ドラム缶を利用した簡易炭化装置. (A)側面. ドラム缶はレンガの上に乗せ、自作した煙突付きの蓋で上部を塞いだ. 熱分解を進める際には煙突の上部をレンガで塞いだ. (B)底面. 熱分解開始時に空気を取り入れる穴を複数開けた.

バイオチャーの pH はバイオチャー対水 1:50 (w/v) で Laqua D-51pH メーター (HORIBA Scientific, Kyoto, Japan) を用いて測定し、EC はバイオチャー対水 1:10 (w/v) で JENCO VisionPlus (JENCO, San Diego, CA, USA) を用いて測定した。バイオチャーの CEC は先行論文を参照にしながら (Schollenberger and Simon 1945)、次のような修正を加えて測定した。1 g のバイオチャーを試験チューブに取り、25 mL の 1 M 硝酸アンモニウムを加えた上、1 時間振盪、その後遠心分離機 830 × g で 5 分間遠心した。遠心後、上澄みを除き、80% のエタノールを加え、5 分間遠心した。このエタノールでの洗浄を 3 回行った後、上澄みを除き、10% の塩化ナトリウムを加えて、更に 1 時間振盪後、830 × g で 5 分間遠心した。この後、上澄みをフラスコに取り、5 mL の 18% フォルマリンを加え、200 μg の 1% ティモールブルーを加えた。この溶液を 0.1 N の水酸化ナトリウムで滴定し、中和滴定量から算出した。

4-3-2. 実験土壌

実験土壌として、野菜の栽培に不適と考えられる、酸性で銅およびニッケルの含有量が多く、必須栄養素が少ない土壌を、ボツワナ中央州のセレビ・ピクウェ市近郊から採取した (Vurayai et al. 2015)。有機炭素量は二クロム酸カリウム抽出法を用いて (Walkley and Black 1934) UVD2950 分光器 (LABOMED, Los Angeles, CA, USA) で測定した。

4-3-3. 実験植物と成長観察

フダンソウの種子は Sakata Seed South Africa (Lindsay, South Africa) を用いた。フダンソウの種子は一般的な野菜栽培用の土壌 (Potting soil, New Frontiers, Lobatse, Botswana) を用いて、発芽用のプラスチックトレイで発芽させ、本葉第 2 葉が成長するまで約 2 週間生育させた。その後、苗は 2 L のプラスチック製のポットに、0% (コントロール)、3%、5%、10% (w/w) のバイオチャーを混ぜた試験土壌を用意し、それに移植した。移植後は 0.5 L の水を 2 日毎に与えた。

一番長く成長した葉の長さをスチールのメジャーテープで毎週測定した。試験

土壌に移植 44 日後に、成長した葉の数を調べ、その後地上部、地下部ともに収穫した。葉の合計面積は葉面積測定器 (LI-3100; LI-COR, Lincoln, NE USA) で測定した。収穫した植物は乾燥機に入れ 70°C で2日間乾燥させた後、電子天秤で乾燥重量を測定した。

4-3-4. 栄養素の測定

土壌中のミネラルの測定は先行文献を参照し (Robinson et al. 1998)、濃硫酸で分解した上で、誘導結合プラズマ質量分析器 (ICP-AES) (SPECTRO CIROS CCD; SPECTRO Analytical Instruments GmbH, Nordrhein-Westfalen, Germany) で測定した。リンはブレイ 2 抽出法 (Bray and Kurtz 1945)、カリウム、カルシウム、マグネシウムは酢酸アンモニウム抽出法 (Knudsen et al. 1982) で抽出し、原子吸光分析装置 (AAS Agilent Technologies 2000 series, CA, USA) で測定した。バイオチャーと収穫したフダンソウの地上部は先行文献の方法をもとに (Yamada et al. 2018)、次のような変更を加えて分解した。乾燥させたバイオチャーのサンプル (0.2 g) とフダンソウの地上部 (0.1 g) をそれぞれフラスコに入れ、10 mL の濃硝酸を加えて 90°C、140°C、190°C で各1時間加熱した上で、バイオチャーは 220°C、植物体では 240°C に温度をあげ、液量が約 1 mL になるまで加熱した。その液体を 25 倍に希釈したものを、前述した ICP-AES で分析した。土壌に含まれる水溶性の硝酸態窒素とアンモニア態窒素は、5 g の土壌に対して 50 mL の蒸留水を加え1時間攪拌した上で、RQflex10 reflectometer (Merck, Darmstadt, Germany) を使用して測定した。

4-3-5. 土壌保水力の評価

植物を収穫後、実験土壌を室温が毎日最高 40°C から 49°C 程度になる温室内のシートに広げ1ヶ月間自然乾燥させた。乾燥させた土壌 1 kg を温室内で元のポットに戻し 500 mL の水を加えた。500 mL を加水した時点でポット下部からの流出がみられたため加水を止めて静置し、加水後 1 日経過した時点から毎日全ての実験ポットの保水量を測定した。

4-4 結果と考察

4-4-1. ジャトロファ落葉バイオチャーの特性評価

ジャトロファの落葉の炭化にあたっては、200 L の中古ドラム缶型炭化装置 (Fig. 4-1A, B) に落葉を上部まで密に詰め込み、上部の葉に点火することで開始した。点火約1時間半後に上部と下部両方の空気流通のための穴を塞ぎ、ドラム缶内の酸素を限定することで内部の落葉を熱分解した。この熱分解の方法は、生の植物体に直接火をつけ、空気の供給量をコントロールすることによって熱分解を進める auto-thermal process をもとにしている (Boateng et al. 2015)。

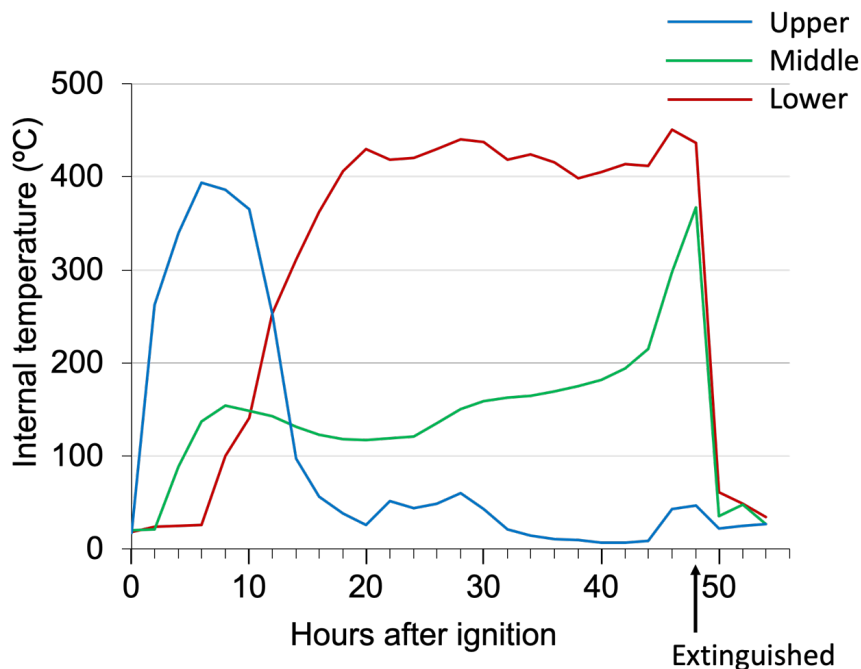


Fig. 4-2. 中古ドラム缶型簡易炭化装置の内部温度の推移. ドラム缶底部から15 cm (lower), 45 cm (middle), 75 cm (upper) に温度計を差し込み計測した. 点火48時間後に消火した.

熱分解を進めている間、内部の温度は3カ所の高さに設置した温度計によって測定した。ドラム缶上部(ドラム缶底部から75 cmの高さ)の温度は、着火後急速に上昇し、6時間後には最高温度の395.1°Cに到達した。その後、急激に低下し、着火後10から15時間後には100°C以下となった。中部(ドラム缶底部から45cmの高さ)では、着火1から2時間後に最初のピークを迎え、温度は156

°C に達した。その後温度は8時間から 42 時間の間、120°C から 200°C の範囲で燃焼し、その後 48 時間後には急激に 370°C に上昇した。下部(ドラム缶底部から 15 cm の高さ)の温度は6から 18 時間の間に急速に上昇して 400°C に達し、その後は鎮火するまで 396°C から 454°C の範囲で燃焼した。下部の最高温度は着火 46 時間後の 454°C であった。

着火後 10 から 20 時間の間、上部の温度が 365.3°C から 26.3°C に低下するのに反して、下部の温度は着火後6時間から 20 時間の間に、25.6°C から 429.5°C に上昇している。この現象は熱分解が上部から下部に向かって進んでいったことを示唆している。一方、特筆すべきことに、6時間から 18 時間の間の中部の温度は 137.7°C から 118.5°C と大きくは変化していない。この理由は現時点で不明であるが、一つの可能性として、熱分解はドラム缶の周囲を伝って上部から下部に移行し、温度計が差し込まれていた中心部を回避していたのではないかと示唆される。また、下部の温度が 18 時間から 48 時間の長時間に渡って高温を保っていることも大変興味深いものである。この現象についても現時点においてその理由は不明であるが、大変密に詰め込まれた落葉が、葉の重量の圧力で下部の密度を高め、それによって熱分解が継続したと考えることができる。ドラム缶内部の温度状況から、落葉は常に 100°C から 450°C の熱に晒されていたことが示唆される。この温度範囲は植物のヘミセルラーゼやセルロース、リグニンを熱分解する温度に近い(Álvarez-Mateos et al. 2019)。

4-4-2. ジャトロファ落葉バイオチャーの物理化学特性

消化にあたっては、水を上部から掛けることで実施したが、煤煙が 50 cm ほど上ったものの蒸気爆発は起こらなかった。ドラム缶内部の温度の移行状況からわかるように、熱分解により生産されたジャトロファ・バイオチャーは不均一であることが見込まれたため、完全に消化が終わった後、シャベルで均一になるように混ぜた。製造されたジャトロファ・バイオチャーは黒と茶色のマダラのような外観をしており、個々の大きさも不均一であった (Fig. 4-3A)。バイオチャーの表面を電子顕微鏡で観察すると、多孔性の形状を見ることができたが (Fig. 4-3B)、これはバイオチャーに一般的に見られる特徴である (Chia et al. 2015)。

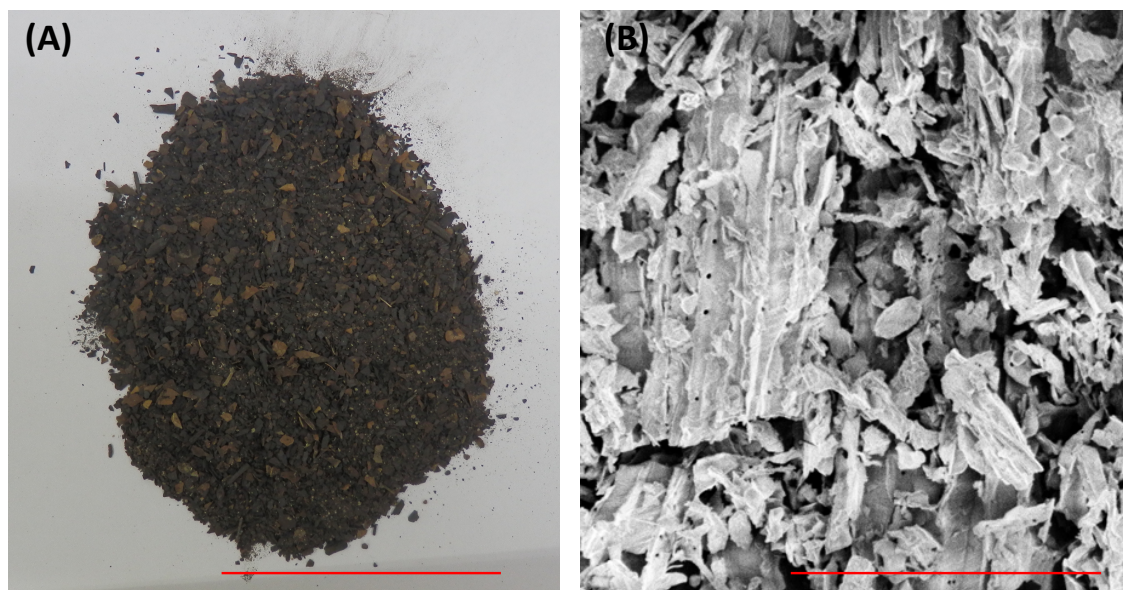


Fig. 4-3. (A) 簡易炭化装置を用いて製造したジャトロファ落葉バイオチャー. 赤線は5cmを示す. (B) Electron microscope による表面拡大図. 赤線は100 μ mを示す.

この実験で製造したジャトロファ落葉によるバイオチャーの pH は 9.84 ± 0.08 (Table 4-1)であったが、これは Awasthi らの先行研究で示されたジャトロファ葉の pH 8.85 より高い値であった。EC は $575 \pm 108 \mu\text{S cm}^{-1}$ で、先行研究のジャトロファの葉の EC 値 $920 \mu\text{S cm}^{-1}$ より低くなっている (Awasthi et al. 2017)。CEC の値は $16.9 \pm 1.9 \text{ cmolc kg}^{-1}$ を示し、これはこれまでに発表されている小麦・大麦バイオチャーの $10.3 \text{ cmolc kg}^{-1}$ より高いが、トウモロコシ $60.7 \text{ cmolc kg}^{-1}$ 、稲藁 $21.2 \text{ cmolc kg}^{-1}$ のバイオチャーよりは低い値を示している (Ippolito et al. 2015)。

ジャトロファ落葉のバイオチャーの成分の一つとして高い濃度のアルミニウムが検出された ($52,900 \pm 700 \text{ mg kg}^{-1}$)。なぜ高濃度のアルミニウムが検出されたかは現時点では不明であるが、一つの可能性として考えられるのは、落葉を圃場から回収した際に、アルミニウムの含量が多い圃場の土壌が混入したということが挙げられる。もう一つの可能性は、使用した中古ドラム缶内部の表面にあったアルミニウムが落葉バイオチャーに付着した可能性である。中古のドラム缶はもちろん使用する前によく洗浄したが、この可能性を否定することはできない。また、アルミニウムの多大な吸収は通常植物にとっては毒となるものであるが、落

葉がその葉の中に吸収したアルミニウムが検出されたという可能性もある。しかし、第2章において耕作土壌で栽培したジャトロファの葉に蓄積していたアルミニウムの濃度は $341 \pm 200 \text{ mg kg}^{-1}$ であったため、その場合、炭化によって葉内のアルミニウム濃度が大幅に高まったことになる。なぜ高濃度のアルミニウムが検出されたかは今後の研究で検証することが期待される。

Table 4-1. この実験で使用したジャトロファ落葉炭の特性

Property	Value ¹
pH	9.84 ± 0.08
EC ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	575 ± 108
CEC (cmolc kg^{-1})	16.9 ± 1.9
Element content (mg kg^{-1})	
Al	$52,900 \pm 700$
C	$227,000 \pm 13,000$
Ca	$18,000 \pm 1,000$
Cd	1.19 ± 0.03
Co	16.4 ± 0.2
Cr	29.8 ± 6.8
Cu	9.39 ± 0.66
Fe	$5,080 \pm 340$
K	$6,220 \pm 530$
Mg	740 ± 60
Mn	617 ± 46
N	$15,000 \pm 1$
Ni	43.4 ± 3.4
P	$1,450 \pm 230$
Pb	18.0 ± 0.0
Sn	< 0.1
Ti	12.1 ± 3.3
Zn	80.1 ± 6.7

¹ 値は平均値と標準偏差 (n=3).
EC; 電気伝導率. CEC; 陽イオン交換容量.

4-4-3. ジャトロファ落葉バイオチャーの酸性貧栄養土壌における野菜栽培への効果

ボツワナのセレビ・ピクウェ市から採取してきた実験土壌は、強い酸性、pH 3.39 ± 0.03 (Table 4-2)、を示していた。通常、高い酸性土壌は植物の成長を鈍らせることが知られている (Kochian et al. 2004, Marschner 1991)。また、この実験土壌は主要栄養素の含有量が少ない反面 (e.g., P: $2.67 \pm 0.91 \text{ mg kg}^{-1}$, K: $5.87 \pm 2.76 \text{ mg kg}^{-1}$, Ca: $98.2 \pm 8.5 \text{ mg kg}^{-1}$, and Mg: $20.7 \pm 12.0 \text{ mg kg}^{-1}$, Table 4-2)、高濃度の銅 ($772 \pm 8 \text{ mg kg}^{-1}$) とニッケル ($249 \pm 2 \text{ mg kg}^{-1}$) を含有している (Table 4-2)。

Table 4-2. この実験で使用した土壌の特性

Property	Value ¹
pH	3.39 ± 0.03
Organic carbon (%)	0.12 ± 0.00
Nitrate nitrogen (mg kg^{-1})	0.12 ± 0.04
Ammonia nitrogen (mg kg^{-1})	0.10 ± 0.01
Element content (mg kg^{-1})	
Al	$69,400 \pm 900$
Ca	98.2 ± 8.5
Cu	772 ± 8
Fe	$38,300 \pm 100$
K	5.87 ± 2.76
Mg	20.7 ± 12.0
Ni	249 ± 2
P	2.67 ± 0.91
Zn	40.4 ± 0.2

¹ 値は平均値と標準偏差. 栄養素及び窒素含有量は3サンプル, pHと有機炭素は2サンプル.

ジャトロファ落葉バイオチャーを土壌に施用した際の効果を調べるため、バイオチャーを土壌の重量に対して 3%、5%、10% (w/w) 施用したものを用意し、それでフダンソウの生育を観察した。フダンソウを実験に選んだのは、フダンソウが

ポツワナで栽培されている主要な野菜であるためである。苗を実験ポットに移してから 28 日目には、バイオチャー施用率 5%、10%の土壌では、フダンソウの葉の長さはコントロール土壌に比べて著しく大きく成長した(5%: 7.33 ± 0.58 cm、10%: 9.67 ± 0.58 cm、コントロール: 5.67 ± 0.58 cm、5%土壌で 1.29 倍、10%土壌で 1.71 倍大きかった)。そして収穫を行ったポット移植後 44 日目には 5%土壌で 9.33 ± 1.53 cm、10%土壌で 11.0 ± 1.00 cm とコントロール土壌 6.00 ± 1.00 cm と比較してそれぞれ 1.56 倍、1.83 倍大きく成長した(Fig. 4-4A)。

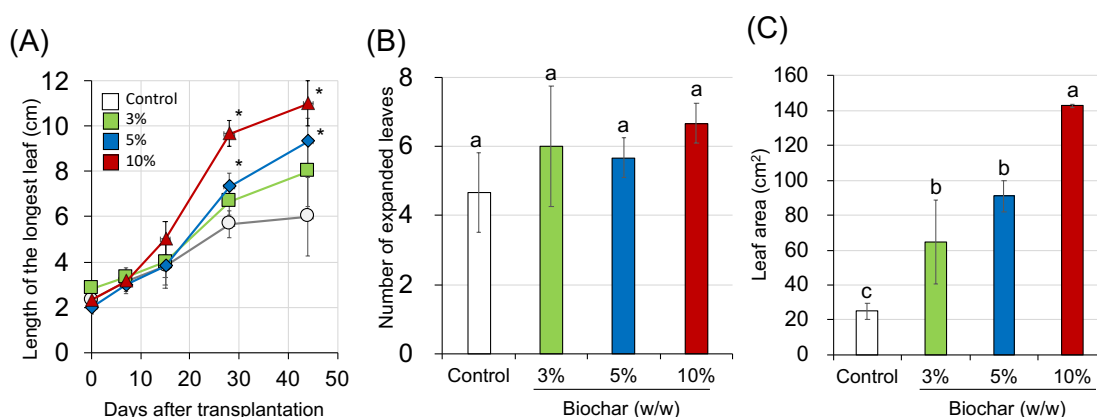


Fig. 4-4. ジャトロファ落葉バイオチャーを土壌に施用することによるフダンソウ栽培への効果の検証。フダンソウをジャトロファ落葉バイオチャー(3%, 5%, 10% (w/w))を施用した土壌と落葉バイオチャーを施用しないコントロール土壌で栽培し、その生育状況を比較した。(A)最大葉の長さ。(B)葉数。(C)実験土壌に移植後44日目の葉面積。値は平均値と標準偏差 (n = 3)。アスタリスクはコントロールと比較しての有意性を示している(A) (*t*-test, $p < 0.05$)。また、ANOVAによる有意差はアルファベットで示している(B, C)。 (Holm's test, $p < 0.05$)。

実験ポットに移植後 44 日目に収穫を行い、葉の枚数、総葉面積、乾燥重量を測定した。葉の枚数については、バイオチャーを施用した土壌で栽培したフダンソウもコントロール土壌で栽培したものも統計上の有意差は無かったが、総葉面積はコントロール土壌で栽培したものと比較して、3%土壌で 2.58 倍、5%土壌で 3.64 倍、10%土壌で 5.71 倍大きかった(Fig. 4-4C)。更に、乾燥根重量においては統計上の有意差は認められなかったものの、地上部の乾燥重量においては、バイオチャーを施用していないコントロール土壌での栽培に比べ、3%、5%、10%バイオチャー施用土壌においては、それぞれ 1.57、1.88、2.32 倍重かった(Fig. 4-5)。この観察結果からは、ジャトロファ落葉バイオチャーを試験土壌に施用することで、フダンソウの茎、葉の成長を促進することができたとと言える。

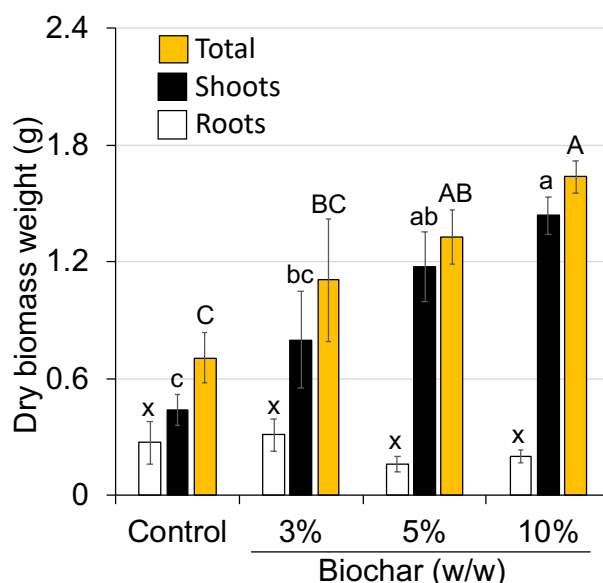


Fig. 4-5.フダンソウをジャトロファ落葉バイオチャー(3%, 5%, 10% (w/w))を施用した土壌と落葉バイオチャーを施用しないコントロール土壌で栽培し、収穫後に計測した乾燥重量の比較. 値は平均値と標準偏差. 各棒グラフに示したアルファベットはANOVAによる有意性の検定 (Holm's test, $p < 0.05$).

バイオチャー施用によりフダンソウの成長が促進されたという観察結果を受けて、収穫後の土壌の状況と植物体の栄養素の状況を分析してみた。バイオチャーを酸性の実験土壌 (pH 4.03 ± 0.21) に施用することにより、土壌の pH は、バイオチャー施用量に沿ってより中性に近づいた。10%バイオチャー施用土壌では、pH の値が 6.62 ± 0.28 となった (Fig. 4-6A)。更に、土壌中のアンモニア態窒素の濃度には変化がなかったものの、硝酸態窒素については、濃度はわずかながらも、5%、10%バイオチャー施用土壌で増加が認められた (Fig. 4-6B、C)。つまり、土壌中の吸収可能窒素を増加させる効果が認められたと言える。フダンソウの葉に含まれていた主要栄養素の量については、カリウムを除いて大きな変化は認められなかった。しかし、カリウムの量は 3%、5%、10%バイオチャー施用土壌でそれぞれ 2.17、3.76、4.00 倍の増加が認められた (Table 4-3)。このカリウムの増加は、ジャトロファ落葉バイオチャーにカリウムが多く含まれていることによるものと考えられる ($6,220 \pm 530 \text{ mg kg}^{-1}$; Table 4-1)。

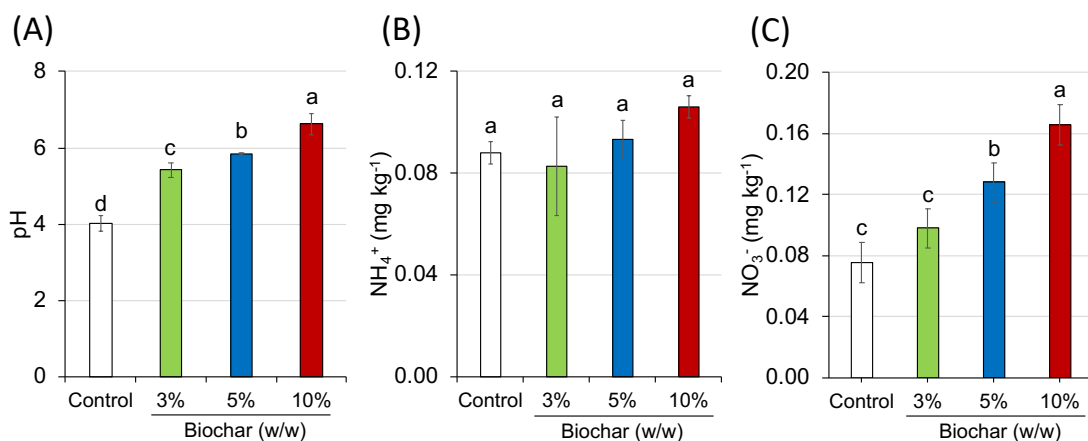


Fig. 4-6. ジャトロファ落葉バイオチャーを施用した土壌の収穫時のpH (A). アンモニア態窒素(B), 硝酸態窒素 (C)の含有量. 値は平均値と標準偏差(n = 3). ANOVAによる有意性はアルファベットで示している (Holm's test, $p < 0.05$).

Table 4-3. フダンソウ地上部のミネラル含有量

Mineral	Content (mg plant ⁻¹) ¹			
	Control	3% Biochar	5% Biochar	10% Biochar
Al	5.35 ± 1.75 ^a	3.23 ± 1.41 ^a	3.72 ± 3.72 ^a	4.53 ± 2.82 ^a
Ca	7.79 ± 2.72 ^a	6.87 ± 1.96 ^a	5.89 ± 2.09 ^a	5.98 ± 1.47 ^a
Cu	0.01 ± 0.01 ^b	0.02 ± 0.00 ^{ab}	0.02 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^{ab}
Fe	0.41 ± 0.20 ^a	0.19 ± 0.10 ^a	0.22 ± 0.21 ^a	0.30 ± 0.18 ^a
K	22.0 ± 0.8 ^c	47.8 ± 14.5 ^b	82.7 ± 14.8 ^a	88.1 ± 9.7 ^a
Mg	0.34 ± 0.04 ^b	0.48 ± 0.10 ^{ab}	0.68 ± 0.08 ^a	0.68 ± 0.05 ^{ab}
Mn	0.38 ± 0.10 ^b	0.72 ± 0.24 ^{ab}	0.89 ± 0.16 ^a	0.78 ± 0.07 ^{ab}
Ni	0.04 ± 0.02 ^b	0.15 ± 0.06 ^{ab}	0.20 ± 0.06 ^a	0.04 ± 0.01 ^b
P	23.1 ± 1.9 ^a	19.9 ± 6.5 ^a	19.8 ± 5.7 ^a	21.8 ± 8.9 ^a
Ti	0.01 ± 0.01 ^a	0.00 ± 0.01 ^a	0.01 ± 0.01 ^a	0.01 ± 0.01 ^a
Zn	0.27 ± 0.07 ^a	0.28 ± 0.07 ^a	0.19 ± 0.03 ^a	0.15 ± 0.05 ^a

¹ 値は平均値と標準偏差(n=3). アルファベットはANOVAによる有意性を示している (Holm's test, $p < 0.05$).

4-4-4. ジャトロファ落葉バイオチャーの土壤保水力に与える影響の評価

バイオチャー施用による実験土壤の保水力に関しても収穫後に実験を行った。土壤の保水力は1 kgの乾燥させた実験土壤に500 mLの水を供給し、その重量の変化を測定した。実験ポットの重量はバイオチャー施用の量に相関して重くなった(Fig. 4-7)。実験開始から4日後にはコントロール土壤の重量は給水以前のレベルに戻ったが、バイオチャー施用土壤では、コントロール土壤に比べて、3%バイオチャー施用土壤で 3.3 ± 1.2 g、5%バイオチャー施用土壤で 16.3 ± 1.2 g、10%バイオチャー施用土壤で 42.3 ± 2.1 gと、より多くの水を蓄えている。バイオチャー施用による土壤保水力の向上は先行文献でも発表されているが(Ogura et al. 2011, Masiello et al. 2015, Speratti et al. 2017)、この実験からは、ジャトロファ落葉バイオチャーにおいても、土壤の保水力を向上させる効果があると言える。

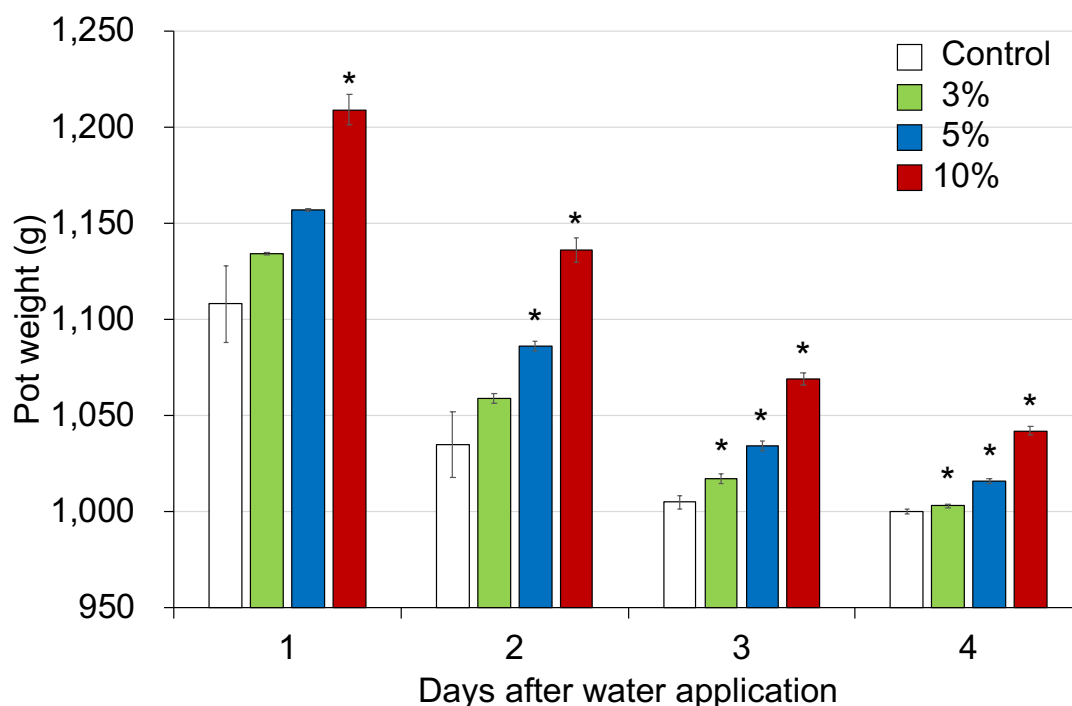


Fig 4-7. ジャトロファ落葉バイオチャー施用土壤における水分量の推移. ポット重量を毎日計測しポットからの水分排出量を見積もった. 値は平均値と標準偏差(n=3).アスタリスクはコントロールと比較しての有意性を示している (t -test, $p < 0.05$).

4-5. まとめ

この実験では、ジャトロファの落葉を、簡易な中古ドラム缶を炭化装置として、炭化に必要な燃焼を外部から加えた後は自然燃焼による炭化を進める **Auto-thermal** プロセスによって製造したバイオチャーについて言及した。炭化装置内部の燃焼温度は 100°C から 450°C を保持し、製造されたバイオチャーは一般的に炭に見られる多孔体を呈していた。このバイオチャーを酸性で貧栄養の土壌に施用し、モデル野菜としてフダンソウを栽培したところ、植物の生育に大きく寄与することが認められた。こうした実験結果から、ジャトロファは工業生産品としてのエネルギーの生産に留まらず、土壌改良剤として農業生産の向上にも寄与することが示唆された。

第5章

ジャトロファ落葉バイオチャーの葉菜栽培における有機肥料としての施用効果の検証

5-1. 要約

バイオチャーは土壌改良剤として環境に優しい農業への活用が模索されている。特に植物の廃棄バイオマスを生質バイオチャーとして活用することで、循環型の農業が期待される。この実験では、ジャトロファ(*Jatropha curcas* L.)の廃棄バイオマスである落葉に改めて注目した。ジャトロファは気温が低下すると落葉する。そのため、落葉を利用することは、ジャトロファ・バイオマスの総合的利用という点からも有益である。第4章では、ジャトロファ落葉バイオチャーが酸性貧栄養下の土壌において土壌改良剤として活用できる可能性を指摘した。しかし、ジャトロファ落葉バイオチャーの葉菜栽培における効果について、化学肥料の施肥と比較して検討する研究はこれまでなかった。この実験では、ジャトロファ落葉を炭化し、有機肥料として土壌に施用することによる葉菜の生育への効果を検証した。植物温室内でのポット栽培によって、2つの葉菜、Swiss chard 'Fordhook Giant' (*Beta vulgaris* var. *cicla*) (以降フダンソウと称する)と Mustard (*Brassica juncea*) (カラシナ)の成長を観察した。2つの葉菜を、土壌のみ(コントロール)、ジャトロファ落葉バイオチャーを施用した土壌、ジャトロファ落葉バイオチャーと乾燥牛糞を施用した土壌、および化学肥料を施肥した土壌で栽培し、その生育を比較した。比較にあたって、収穫後に、葉菜の乾燥重量、一番成長した葉の長さ、葉の数および葉の総面積を測定した。結果として、両方の葉菜ともに、ジャトロファ落葉バイオチャーを施用した土壌で葉菜の生育に対する正の効果が見られた。例えば、コントロール土壌で生育したものと比較し、落葉バイオチャー5%(w/w)を施用したフダンソウの乾燥重量は3.5倍、カラシナにおいても3.3倍重く、共に化学肥料2 g kg⁻¹を施肥した土壌と統計上の有意差が見られなかった。こうした結果から、ジャトロファ落葉バイオチャーは有機肥料として葉菜の生産性向上に効果的であることが示された。

5-2. 序論

化学肥料などの使用による土壌の汚染が進む中 (Chang et al. 2014)、バイオチャーを環境に負荷を与えにくい土壌改良剤として利用することが注目されている。バイオチャーは酸素の供給を制限した環境下で 250°C 以上の熱分解によって製造したものである (Lehmann and Joseph 2015)。バイオチャーの利用は、化学肥料の利用に比べて環境に負荷を与えず、炭素を土壌に長く留めることにより (Smith et al. 2010)、温暖化ガスの削減に寄与することが示唆されている (Cowie et al. 2015)。また、先行研究によると、炭は土壌改善に寄与する可能性があり (Anders et al. 2013, Sohi et al. 2010, Laird et al. 2010)、肥料として利用できる可能性も指摘されている (Atkinson et al. 2010, Glaser et al. 2002, Steiner et al. 2007)。バイオチャーを土壌に施用することによって稲や麦の成長を促進することは先行研究で示されている (Asai et al. 2009, Gaskin et al. 2008, Major et al. 2010, Konaka et al. 2019b)。一方で、バイオチャーを利用するために木を伐採するのは環境破壊に繋がる恐れがあり、環境問題を避けるためにも有機廃材をバイオチャーとして利用することは有益であると言える。

ジャトロファはトウダイグサ科の落葉低木で、種子に含まれる油からバイオディーゼルが製造できる。ジャトロファは乾燥に強く、荒廃地でも生育する。しかし寒さに弱く、気温が低くなると成長を止め落葉が生じる。よって、気温の低下が生じる半乾燥地でのジャトロファの栽培においては、落葉は重要なバイオマスと言っても過言ではない。

ジャトロファの油以外のバイオマスの活用については様々な研究が行われている。特に油を絞った後の残渣の利用に関する研究が多く、残渣を肥料として活用することや、固形燃料として活用することなどが研究されている。ジャトロファの落葉の利用については、落葉バイオチャーが、酸性で貧栄養下の土壌において植物の生育を向上させる効果があることが第4章で示されているが (Konaka et al. 2019b)、野菜の生育に関してどのような効果をもたらすのかについてはまだ十分な研究が行われていない。この実験では、実際に野菜栽培に利用されている土壌を用いて、ジャトロファ落葉バイオチャーを施用し、化学肥料を施肥した土壌およびジャトロファ落葉バイオチャーを乾燥牛糞と混合して施

用した土壌で葉菜を栽培し、その生育状況を比較することで、ジャトロファ落葉バイオチャーの効果を検証したものである。実験には2種類の葉菜としてフダンソウとカラシナを使用し、効果が複数の種に渡って見られるのかを検証した。

5-3. 材料と方法

5-3-1. ジャトロファ落葉バイオチャーの製造と分析

ジャトロファの落葉バイオチャーの製造と分析は、燃焼時間を変更した他は第4章と同じ方法で行なった。

ボツワナ国の首都ハボロネ郊外に位置するセベレ地域の DAR (Department of Agricultural Research) がジャトロファ栽培を実施している試験圃場から、2016年7月下旬に新たに収集し、晴天乾燥下のボツワナの天日で十分に乾燥させたジャトロファ落葉をバイオチャー製造に使用した。落葉バイオチャー製造には、第4章で示した中古ドラム缶を利用した簡易炭化装置を使用して実施した (Konaka et al. 2019b)。その際、空気を遮断して炭化する時間を48時間から64時間に延長した。これは、自然炭化の際に生じる焼きムラがどのように変化するか観察したかったためである。

落葉バイオチャーの特性は第4章と同様に、pH はバイオチャー対水 1:50 (w/v) で Laqua D-51pH メーター (HORIBA Scientific, Kyoto, Japan) を用いて測定し、EC はバイオチャー対水 1:10 (w/v) で JENCO VisionPlus (JENCO, San Diego, CA, USA) を用いて測定した。CEC 測定も第4章 (Konaka et al. 2019b) の通りに行なった。炭素、窒素量は CN コーダー (Macro Corder JM1000CN, J-Science Lab Co., Ltd, Kyoto, Japan) を用いて測定した。

5-3-2. 実験土壌

実験に使用した土壌は DAR が野菜栽培試験に使用している土壌である。土壌 pH は前述の Laqua pH メーターを使用し、土壌と水の比率 1:10 (w/v) で測定した。有機炭素 (Organic Carbon: OC) の含有量は、二クロム酸カリウム抽出法 (Walkley and Black 1934) を用いて分光光度計 UVD2950 (LABOMED,

Los Angeles, CA, USA)で測定した。土壌ミネラル含有量は濃硫酸で分解し (Robinson et al. 1998)、誘導結合プラズマ発光分析器 ICP-AES (SPECTRO CIROS CCD; SPECTRO Analytical Instruments GmbH, Nordrhein-Westfalen, Germany)を用いて分析した。実験を行うにあたっては、ポットに5 kg の土壌を入れたものをコントロールとして(以下 C と称する)、5 kg の土壌にジャトロファ落葉バイオチャーを 50 g 施用したもの(JB1%)、150 g 施用したもの(JB3%)、250 g 施用したもの(JB5%)、ジャトロファ落葉バイオチャーと乾燥牛糞を均等な重量比で混合したものを 50 g 施用したもの(JBCD1%)、150 g 施用したもの(JBCD3%)、250 g 施用したもの(JBCD5%)、化学肥料(Wander Vitaliser Plant & Veg NPK 2:3:4, Tulbagh Nursery, South Africa)を 2 g kg⁻¹ 施用したもの(CF)を各3ポット、フダンソウ実験用に準備した。カラシナの実験においては、ポットに 5 kg の土壌を入れたものをコントロールとして(C)、5 kg の土壌にジャトロファ落葉バイオチャーを 250 g 施用したもの(JB)、ジャトロファ落葉バイオチャーと乾燥牛糞を均等な重量比で混合したものを 250 g 施用したもの(JBCD)、前述の化学肥料を 2 g kg⁻¹ 施用したもの(CF)を各3ポット準備した。乾燥牛糞は完全に乾燥し、無臭で、牛糞内に昆虫などが目視で確認できないものを DAR の家畜牧場から調達した。

5-3-3. 植物材料

実験に使用したフダンソウ(Swiss chard 'Fordhook Giant' (*Beta vulgaris* var. *cicla*))とカラシナ(Mustard (*Brassica juncea*))の種子は、Sakata Seed Southern Africa (Lindsay, South Africa)が製造したものを園芸店で購入した。フダンソウは 2016 年の8月から9月にかけて、カラシナは同年の 10 月から 12 月にかけて、DAR の植物温室内で試験栽培を行った。フダンソウ、カラシナの種は市販の園芸土(Potting soil, New Frontiers, Lobatswe, Botswana)とプラスチックの発芽トレーを用いて約2週間、第2葉が完全展開するまで育苗した。その後苗を実験用のポットに移植した。

5-3-4. 実験植物の生育測定

フダンソウは実験ポットに移植後 54 日目に、カラシナは移植後 44 日目に地上部、地下部ともに収穫し、葉の数を測定した後、葉面積計 (LI-COR3100, Lincoln, NE USA) で葉の総面積を測定した。その後 70°C のオーブンで2日間乾燥させ、乾燥重量を電子天秤で測定した。ジャトロファに含まれている毒素 (ホルボール・エステル: Phorbol ester) の葉への移行の有無を調べるため、JB5%で生育させたフダンソウの葉を先行研究 (He et al. 2011, King et al 2013) の方法に従って HPLC (L-7100, Hitachi, Tokyo JP) で測定した。葉に含まれているミネラルは第4章の方法 (Konaka et al. 2019b) を用いて、ICP-MS (Agilent8900/MassHunter, Agilent, CA USA) で測定した。

5-4. 結果と考察

5-4-1. ジャトロファ落葉バイオチャーの物理化学特性

200 L の中古ドラム缶を簡易炭化装置として用いた落葉バイオチャー製造は、第4章の方法を用いて、炭化時間を 64 時間として実施した。製造した落葉バイオチャーは炭化後、晴天乾燥下のボツワナの天日で乾燥させ、炭化状況が均等になるように十分にシャベルで混ぜ合わせた。製造したバイオチャーの物理化学特性は、pH: 8.52 ± 0.01 、電気伝導率 (EC) : $835 \pm 38 \mu\text{S cm}^{-1}$ 、陽イオン交換容量 (CEC) : $12.1 \pm 2.3 \text{ cmolc kg}^{-1}$ であった (Table 5-1)。焼きムラに関しては、目視での観察上では前回との違いは見られなかった。

Table 5-1. 実験で使用したジャトロファ落葉炭の特性

Property	Value ¹
pH	8.51 ± 0.01
EC (µs cm)	835 ± 38
CEC (cmolc kg ⁻¹)	12.1 ± 2.3
Element content (mg kg ⁻¹)	
Al	28,400 ± 2,700
C	327,000 ± 33
Ca	15,200 ± 700
Cd	< 0.1
Cu	11.6 ± 1.2
Fe	3,810 ± 390
K	2,540 ± 70
Mg	719 ± 28
Mn	492 ± 23
N	15,400 ± 1,500
Ni	22.4 ± 0.5
P	920 ± 112
Pb	3.32 ± 0.03
Zn	41.6 ± 4.3

¹ 値は平均と標準偏差(n=3).

5-4-2. 土壌の状況

土壌の pH は 6.04 ± 0.23 (Table 5-2)と若干の酸性を示していた。主要栄養素はリン $250 \pm 20 \text{ mg kg}^{-1}$ 、カリウム $428 \pm 3 \text{ mg kg}^{-1}$ 、カルシウム $1,160 \pm 0 \text{ mg kg}^{-1}$ と先行文献で示されていた土壌中含有量の平均値よりは少ないものの、先行文献が示す土壌含有量の範囲内であった(Bowen 1979)。有機炭素(OC)は $0.31 \pm 0.02\%$ であった。OC に関しては、カラシナ収穫後、再度、コントロール土壌、ジャトロファ落葉バイオチャー5%施用土壌、化学肥料施肥土壌の有機炭素を測定した。結果は Table 5-3 で示している。実験開始前の土壌中の有機炭素(OC)は $0.31 \pm 0.02\%$ であったものが、ジャトロファ落葉バイオチャーを 5%施用したものでは $0.78 \pm 0.08\%$ に上昇した。これは 2.52 倍の増加である。コントロール土壌($0.38 \pm 0.03\%$)、化学肥料施肥土壌($0.31 \pm 0.06\%$)共に OC 含有量に

大きな変化が生じなかったことと比較すると、ジャトロファ落葉バイオチャーの施用により有機炭素が増加することが示唆された。

Table 5-2. 実験で使用した土壌の特性

Property	Value ¹
pH	6.04 ± 0.23
Element content (mg kg ⁻¹)	
Al	43,500 ± 0
Ca	1,160 ± 0
Cd	< 0.1
Cu	9.66 ± 0.05
Fe	12,100 ± 100
K	428 ± 3
Mn	513 ± 5
Ni	8.53 ± 0.12
P	250 ± 20
Pb	14.8 ± 0.2
Zn	10.3 ± 0.1

¹ 値は平均と標準偏差(n=3).

Table 5-3. 土壌中の有機炭素 (OC) 含有量

Organic Carbon (%)		
	Value ¹	Fold difference
Before cultivation	0.31 ± 0.02	N.A. ²
Control	0.38 ± 0.03	1.23
Baiochar	0.78 ± 0.08	2.52
Chemical Fertilizer	0.31 ± 0.06	1.00

¹ 値は平均と標準偏差(n=2(栽培前土壌),n=4(栽培後土壌)).

² 該当なし

5-4-3. 植物の生育状況

植物の生育実験にフダンソウとカラシナを選んだのは、両葉菜ともボツワナでは一般に広く食されているからである。まずフダンソウで栽培実験を行い、その結果を確認した後にカラシナでの栽培実験を行った。両実験ともに、植物を栽培して生育状況を観察し、フダンソウでは 54 日、カラシナでは 44 日間の栽培後、地上部を収穫して葉の数、葉の総面積、最大葉の長さ、葉の乾燥重量を測定した。

フダンソウの栽培実験では、コントロール、化学肥料の施肥土壌での生育状況と比較するために、ジャトロファ落葉バイオチャーの施用土壌に加えて、ジャトロファ落葉バイオチャーと乾燥牛糞を同量混合したものを施用した土壌を使用した。その際、落葉バイオチャーの効果を測るために、施用量を土壌に対してそれぞれ 1%、3%、5%と変えて混入した。ジャトロファ落葉バイオチャーの効果を比較検討する上で、乾燥牛糞とジャトロファ落葉バイオチャーの混合材の施用を試みたのは、ボツワナにおいて牛糞は比較的手に入りやすいことから、炭と混合し施用することで植物の成長促進につながるのであれば、有機肥料として検討できると考えたからである。完全乾燥の牛糞を使用したのは、未堆肥化牛糞による植物の生育への負の効果を考慮したためである。

フダンソウの栽培結果では (Fig. 5-1)、葉の数、最大葉の長さに関しては、ジャトロファ落葉バイオチャーを施用した土壌の植物と他の土壌で生育した植物に統計上の有意差は認められなかった。しかし、地上部の乾燥重量に関しては JB3%が 7.20 ± 1.69 g、JB5%が 7.12 ± 2.70 g とコントロール土壌の栽培植物 2.06 ± 0.42 g に比べてそれぞれ 3.5 倍、3.46 倍重く、化学肥料を施肥した土壌で栽培した植物 5.74 ± 0.60 g と同等の成長を示した。また、葉の総面積については JB3%が 7.91 ± 1.23 cm²、JB5%が 8.10 ± 2.37 cm² とコントロール土壌で栽培した植物 2.54 ± 0.42 cm² に比べてそれぞれ 3.11 倍、3.18 倍大きく、化学肥料を施用した土壌で生育した植物 7.46 ± 1.22 cm² との間に統計上の有意差は認められなかった。葉菜は葉部分を食するため、葉が大きく成長することは収量の増大を意味する。この結果は、ジャトロファ落葉バイオチャー3%、5%の土壌への施用が、化学肥料 2g kg⁻¹ の土壌への施肥に匹敵する植物生育の向

上に寄与していると言える。なお、ジャトロファ落葉バイオチャーを乾燥牛糞と混合させた土壌で栽培した植物は、コントロール土壌の植物と比較して特に生育への効果が見られなかった。しかし JBCD5% (乾燥重量: 3.89 ± 1.07 g、最大葉の長さ: 15.0 ± 1 cm、葉面積: 4.68 ± 0.51 cm²、葉数: 7.67 ± 1.15 枚) は JB1%、JB3%、JB5% および CF とともに統計上の有意差がなく、ジャトロファ落葉バイオチャーと牛糞の混合物においても、施用量が増すことで植物の成長が促進されているということが示された。

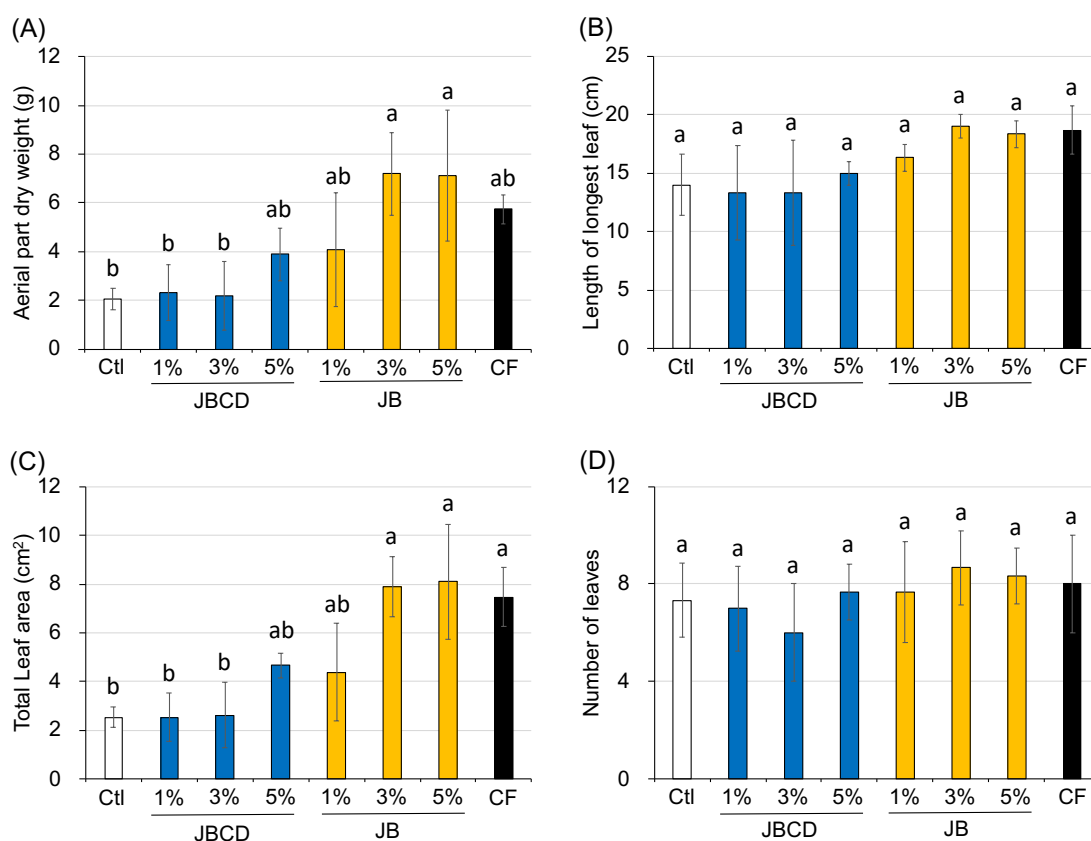


Fig. 5-1. フダンソウの生育状況。コントロール土壌(Ctl), ジャトロファ落葉バイオチャーと乾燥牛糞の混合材1%, 3%, 5% (w/w)施用土壌(JBCD), ジャトロファ落葉バイオチャー1%, 3%, 5% (w/w)施用土壌 (JB), 化学肥料2g kg⁻¹ 施肥土壌 (CF). (A) 地上部の乾燥重量, (B) 最大葉の葉長, (C) 総葉面積, (D) 葉数. 値は平均と標準偏差(n= 3). ANOVAによる有意性はアルファベットで示している. (Holm's test, $p < 0.05$).

カラシナの栽培実験はフダンソウの栽培結果を得て行なった。フダンソウの栽培実験では、ジャトロファ落葉バイオチャーを施用することで化学肥料を 2g kg⁻¹ 土壌に施肥した場合と同様の生育効果が示された (Fig. 5-1)。また、JBCD5%

施用土壌においても同様に CF と統計上有意差はない効果が見られた (Fig. 5-1)。よって、カラシナの栽培実験では、改めて JB5% (JB) と JBCD5% (JBCD) のみを、コントロール (Ctl) と化学肥料 2g kg^{-1} 施肥土壌 (CF) とで比較した。カラシナの成長記録は Fig. 5-2 に示している。

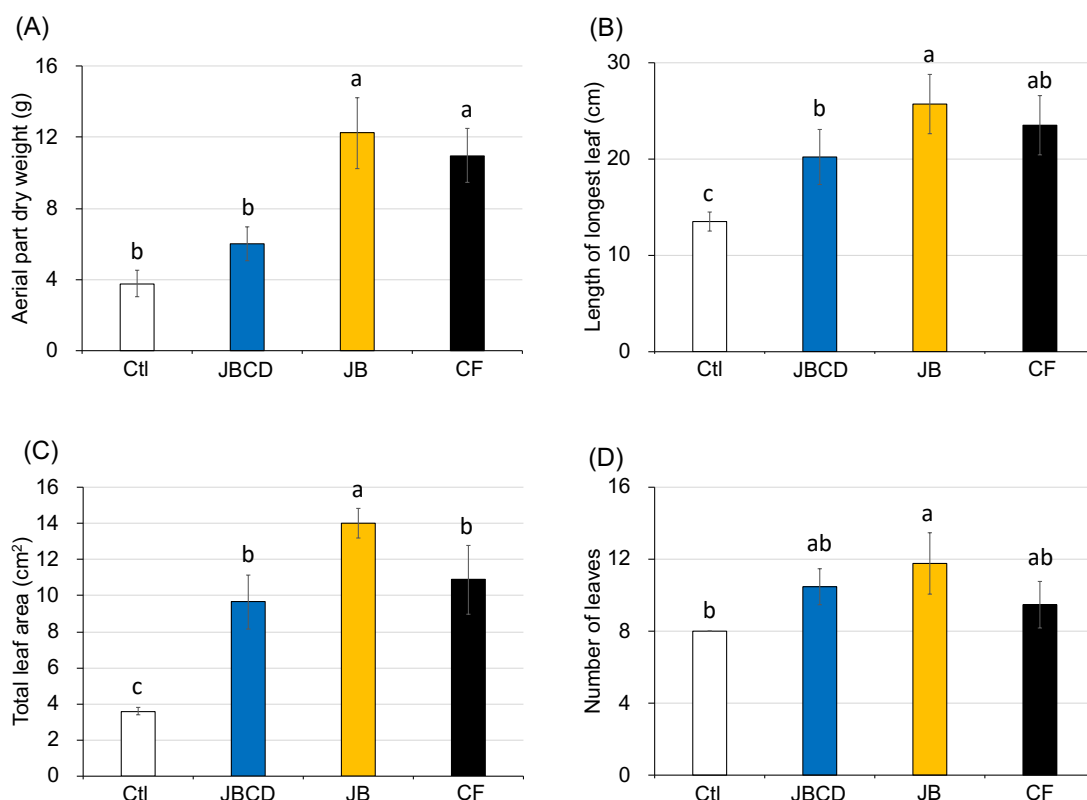


Fig. 5-2. カラシナの生育状況. コントロール土壌 (Ctl), ジャトロファ落葉バイオチャーと乾燥牛糞の混合材5% (w/w) 施用土壌 (JBCD), ジャトロファ落葉バイオチャー5% (w/w) 施用土壌 (JB), 化学肥料 2g kg^{-1} 施肥土壌 (CF). (A) 地上部の乾燥重量, (B) 最大葉の葉長, (C) 総葉面積, (D) 葉数. 値は平均と標準偏差 ($n=3$). ANOVAによる有意性はアルファベットで示している. (Holm's test, $p < 0.05$).

JB 土壌で生育したカラシナはコントロール土壌で生育したものに比べて乾燥重量で 3.25 倍重く (Ctl: $3.77 \pm 0.73\text{ g}$, JB: $12.3 \pm 2.0\text{ g}$) (Fig. 5-2A)、最大葉の長さ (Ctl: $13.5 \pm 1\text{ cm}$, JB: $25.8 \pm 3.1\text{ cm}$) (Fig. 5-2B)、葉面積 (Ctl: $3.59 \pm 0.22\text{ cm}^2$, JB: $14.0 \pm 0.8\text{ cm}^2$) (Fig. 5-2C)、葉数 (Ctl: 8.00 ± 0.00 枚, JB: 11.8 ± 1.7 枚) (Fig. 5-2D) においても統計上の有意差を示していた。また、化学肥料施肥土壌と比較して、乾燥重量 (CF: $11.0 \pm 1.5\text{ g}$)、最大葉の長さ (CF:

23.5 ± 3.1 枚)、葉数(CF: 9.5 ± 1.3 枚)では統計上の有意差がなく同等の効果が見られた。特筆すべきことに、葉の総面積においては、JB 土壌で生育したものは CF 土壌で生育したもの(10.9 ± 1.92 cm²)と比較して 1.29 倍大きかった(Fig. 5-2C)。なお、JBCD は、葉面積(9.65 ± 1.51 cm²)と最大葉の長さ(20.3 ± 2.9 cm)でコントロール(Ctl)よりは有意に生育したが、JB と比較すると生育が劣っていた。

この二つの実験結果から、ジャトロファ落葉バイオチャーを 5% 施用した土壌は、コントロール土壌で生育したものよりも植物の成長を促進し、その効果は、2 g kg⁻¹ の化学肥料を施肥したものと同様の効果をもたらすことが明らかになった。

5-4-4. Phorbol ester の影響評価

Phorbol ester (ホルボール・エステル) はジャトロファに含まれ、体内に取り込むと腫瘍を生じさせる可能性がある毒素である。ジャトロファの利用にあたってはその影響への懸念が常に付き纏う。ジャトロファ落葉バイオチャーの食用作物への利用にあたって、植物体へのホルボール・エステルの影響を調べるために、JB5% で栽培したフダンソウの葉、およびコントロール土壌で栽培した葉各 3 枚からメタノールでホルボール・エステルを含む抽出物を抽出し、HPLC で分析した(Fig. 5-3)。ホルボール・エステルの測定にはボツワナ国で産出されたジャトロファ JK1 (Inafuku-Teramoto et al. 2013) の種子を使用し、種核を粉末状にした後、粉末 15 mg を先行文献 (King et al. 2013) に沿ってメタノールで抽出したものを使用した。HPLC の測定には先行文献を参照した (He et al. 2011)。結果としてフダンソウの可食部分である葉からホルボール・エステルは検出されなかった。この実験結果からはジャトロファ落葉バイオチャー 5% の土壌への施用では、そこで栽培されたフダンソウの葉にはホルボール・エステルは影響を及ぼさないことが示唆される。なお、ホルボール・エステルが炭化によって分解されたのか、もしくは葉に吸収されなかったのかについては、今後の更なる検証が必要である。

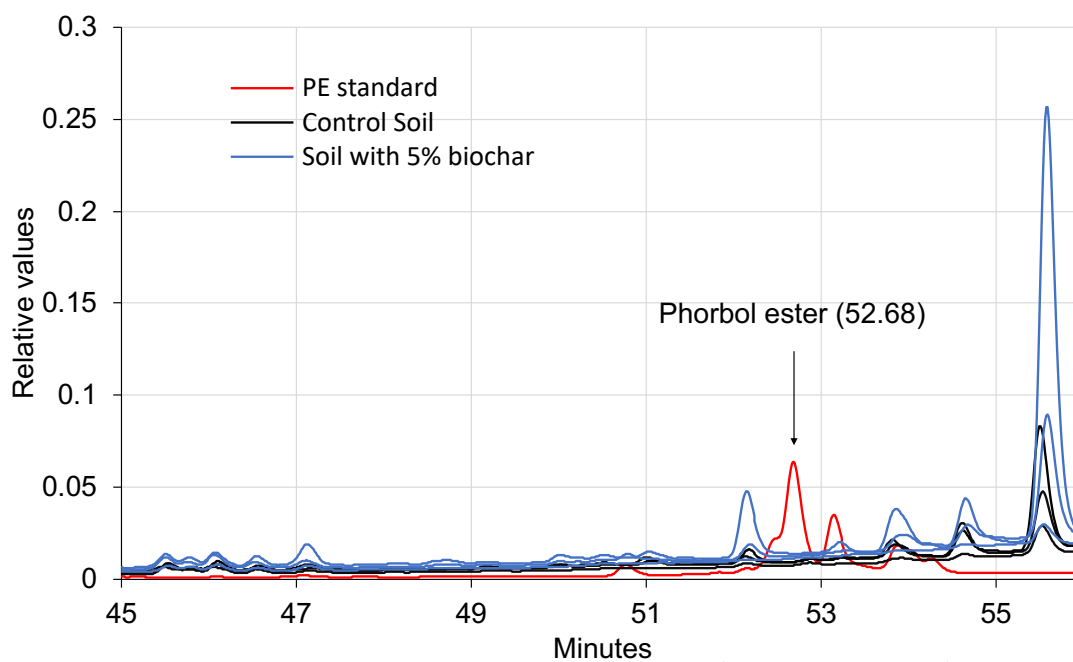


Fig. 5-3. ジャトロファ落葉炭5%を施用し栽培したフダンソウの葉 (Soil with 5% biochar) 、およびコントロール土壌で栽培した葉(Control soil)のメタノール抽出液をHPLCで測定した。ホルボールエステルの標準品(PE standard)はジャトロファ種子から調整した。

5-5. まとめ

この実験からは、ジャトロファ落葉バイオチャーを一定程度以上土壌に施用することで、化学肥料を施肥した栽培と同程度の効果を葉菜にもたらしことが示された。特に葉菜の重量や葉面積の増加に寄与している。また、土壌中の有機炭素の増加も観察することができた。こうした結果から、化学肥料に頼らない循環型で持続性を持った農業の実施に、ジャトロファの廃棄バイオマスである落葉が寄与できることが示された。

第6章

ジャトロファの組織および温度を変えて炭化したバイオチャーの 物理化学特性に関する比較研究

6-1. 要約

ジャトロファは種子の中にバイオディーゼルを製造できる油を持つ多年生の植物である。乾燥環境に強いため、乾燥地域における油糧作物の一つとして注目を集めている。ジャトロファは栽培過程において大量の落葉や剪定枝など油以外にバイオマスが出る。ジャトロファの有効利用を促進するためには、油以外のこれらのバイオマスの利用もまた期待されている。本論文の第4章および第5章では、ジャトロファの廃棄バイオマスである落葉を炭化し、土壤に施用することによって土壤改良および葉菜の生育向上に寄与することが示唆された。この実験は、第4章および第5章の結果を受けて、ジャトロファ・バイオチャーを深く理解するために、その物理化学特性を評価したものである。ジャトロファ・バイオチャーの特徴の評価にあたっては、3つのジャトロファ組織(葉、幹、枝)を用い、それぞれを4つの燃焼温度(300, 400, 500, 600°C)で製造した12種類のバイオチャーの物理化学特性を比較して分析した。各組織のバイオチャーは、一般的な傾向として、温度が上がるにつれ pH、電気伝導率が増す一方、収量、陽イオン交換容量が減少することが確認できた。葉で製造したバイオチャーは他の組織で製造したバイオチャーに比べ、炭素量が低い一方、窒素、リン、カリウム、マグネシウムの量が多いという顕著な特徴を示していた。硅砂にバイオチャーを1%(w/w)混合させた土壤においては、12種類全てのバイオチャーで保水量が改善した。ピアソン相関と主成分分析の結果からは、低温度で熱分解したバイオチャーほど収量と陽イオン交換容量が高くなる傾向が見られた。また低温度で分解した葉で製造したバイオチャーには窒素、リン、マグネシウムが多く含まれ、幹で製造したバイオチャーにはカルシウムが多く含まれているなどの物理化学特性を示していた。この実験結果からは、バイオチャーを製造する際のジャトロファの組織と炭化温度の組み合わせによって、土壤改良剤や肥料など様々な

農業のニーズに合ったバイオチャーを効果的に製造できることを示唆している。

6-2. 序論

化石燃料の枯渇が危ぶまれ、地球温暖化の脅威が増す中、再生利用可能エネルギー源として期待されているジャトロファ(*Jatropha curcas* L.)を有効利用することは、環境に負荷を与えず、持続性を持った社会の構築に貢献できる可能性がある。第4章および第5章では、油以外のジャトロファ・バイオマスの活用方法として、栽培上生じるジャトロファ落葉を炭化し土壤に施用することで、土壤改良や食用作物の生産性向上に寄与する可能性があることを示した。

バイオチャーは、バイオマスを酸素の供給を限定した上で熱分解することで製造できる固形の炭化物である。これまでに多数の先行研究において、バイオチャーを土壤に施用することで、植物栽培における成長の活性化と収量の向上が述べられている。例えば、木材のバイオチャーを土壤に混合することによるトウモロコシの生産性の向上(Major et al. 2010)などである。バイオチャーを土壤に施用することによる植物の生産性の向上は、バイオチャーによる土壤状態の改善を通じて効果を現している。例えば、土壤における陽イオン交換容量(CEC)の向上(Haefele et al. 2011, Lehmann et al. 2003, Jien and Wang 2013)、土壤の保水力の向上(Ogura et al. 2016, Dugan 2010, Duong et al. 2017, Glab et al. 2016, Masiello et al. 2015, Konaka et al. 2019b)、植物成長に欠かせない必須栄養素であるカリウムの供給(Oram et al. 2014)や窒素の供給(Haefele et al. 2011)、また、これらの効果の相互作用によるものである。

バイオチャーを土壤改良剤として活用することのメリットの一つとして、農業や経済活動によって生じる廃棄バイオマスを利用できることがあげられる。廃棄バイオマスを利用することにより、持続性を持った、環境に負荷をかけない農業に貢献できる。例えば、先行研究で木材の廃材をバイオチャーとして土壤に施用することにより米粒の収量数が増加した(Asai et al. 2009)、また、木廃材を成長促進剤として利用することによって木の成長が促進された(Tian et al. 2012)などが明らかになっている。また、第4章および第5章では、ジャトロファの生育において生じる落葉をバイオチャーとして土壤に施用し、葉菜の生産性の向上に

寄与することが示された (Konaka et al. 2019b)。

一方、バイオチャーの利用が常に収量の増加に効果をあげているわけではない。アカシア廃材のバイオチャーをタスマニアのリンゴ農園で施用したが、保水力の向上は認められなかった (Hardie et al. 2014)、生活廃材によるバイオチャーでは牧草の生産性向上には効果がなかった (Slavich et al. 2013) といった先行研究もある。

こうした先行研究から考えられることは、バイオチャーの効用を最大限に生かすためには、バイオチャーの物理化学特性を十分に理解した上で、バイオチャー施用の効果を検証することの重要性である。例えば、バイオチャーの材料と熱分解の状況に関していえば、燃焼温度はバイオチャーの pH、熱伝導率、陽イオン交換容量や栄養素の含有量などバイオチャーの特性を左右するため (Ippolito et al. 2015, Cantrell et al. 2012)、バイオチャーの材料となるバイオマスの選定、目的にあった熱分解温度などの設定が農業へのバイオチャーの利用にとっては大変重要になってくる。

ジャトロファ・バイオチャーの有効利用を図るためには、ジャトロファ・バイオマスを炭化した際に、そのバイオチャーが持つ物理化学特性を多角的に検証することが必要である。本章では、ジャトロファ・バイオマスの3つの組織を、炭化温度を変えて炭化し、各バイオチャーの特徴を掴むことを試みた。この結果を検証することにより、ジャトロファ・バイオチャーの利用において、より効果的な施用に貢献できる可能性がある。

6-3. 材料と方法

6-3-1. 植物材料

この実験では、鳥取大学の温室で栽培されている樹齢3年超のジャトロファ (*Jatropha curcas* L.) cv. IP-3P (Nanasato et al. 2015) と acc. Jackals1 (Inafuku-Teramoto et al. 2013) を使用した。使用したのは主にジャトロファの栽培過程において廃棄されると考えられるバイオマスである。落葉と枯れ葉色となって枝に残っている葉を収集後混ぜ合わせ、それを手でもんで細かくしたものを

落葉バイオチャーとして使用した(以降“葉炭”と称する)。幹のバイオチャーは、剪定して枝がなくなったジャトロファの木の幹を地上部約 5 cm のところで小型のノコギリを用いて切断し、剪定バサミで小片に剪断して使用した(幹炭)。枝バイオチャーは、寒さで枯死した枝を剪定バサミで剪定し、小片に剪断して使用した(枝炭)。材料となるバイオマスはバイオチャー製造にあたる前に 70°C のオーブンで3日間乾燥させた。

6-3-2. ジャトロファ・バイオチャーの製造

バイオチャーの製造にあたっては、マッフル炉(HPM-0N, AS ONE, Osaka, Japan)を使用し、次のような方法で行った。乾燥させた葉、幹、枝の各サンプル 10 g から 20 g を陶器製の坩堝に入れ、マッフル炉のチャンバー中央に設置した。マッフル炉を熱する前にチャンバー内に窒素を毎分 100 mL で1時間注入した。チャンバー内の温度が毎分 10°C の割合で上昇するようにセットし、目標の燃焼温度である 300、400、500、600°C に達したところで 20 分間燃焼させた。20 分後には燃焼を止め自然に温度が低下するようにした。窒素は燃焼中も継続して毎分 100 mL 注入し、それをチャンバー内の温度が 100°C 以下になるまで続けた。

6-3-3. バイオチャーの物理化学特性の分析

バイオチャーの pH は pH メーター(Laqua D-51, Horiba scientific, Kyoto, Japan)を使用して、バイオチャーと水の比率を 1:10 (w/v)に設定した上で、先行文献(Hendershot et al. 1993)の方法で測定したが、その際振盪時間を 30 分から1時間に変更し、また、ペーパーフィルター(Advantec 2, Toyo Roshi, Tokyo, Japan)を通して水溶液のサンプルを回収した。

バイオチャーを継続的に水で洗浄することによる pH の変化の測定には、枝炭(直径最大 5 mm)を利用した。枝炭の重量を 0.5 g に設定し、枝炭と水 25 mL を 50 mL チューブに入れ、振盪器(StackShake C, WakenBtech, Kyoto, Japan)の振盪速度を 150 rpm、温度を 25°C に設定した上で1時間振盪させた。その溶液を前述のペーパーフィルターを通して新しいチューブに回収し、前述の pH メ

ーターを使用して測定した。フィルターで濾過した枝炭は別の新しい 25 mL の水を入れたチューブに入れて前述の振盪器で 10 分間洗った後、水を排出し、新たに水を入れて改めて1時間の振盪を行った。このサイクルを1日に数回行い、最終 pH の測定後は枝炭を次の日まで 25 mL の水に浸して保管した。この測定を枝炭の pH が約8になるまで繰り返し行った。

電気伝導率はバイオチャー対水の比率を 1:10 (w/v)に設定した上で1時間振盪させた水溶液を JENCO VisionPlus 電導計 (JENCO, San Diego, CA, USA) を使用して測定した。陽イオン交換容量の測定は、アンモニウムイオンの交換容量を測定するフォルモール滴定法 (Tucker, 1974) を第4章で記述した方法 (Konaka et al. 2019b) で行い、次の数式を用いて数値化した。

$$CEC = \left(\frac{100}{w}\right)\left(\frac{25 + a}{20}\right)(T - bk)F$$

ここで、 w はバイオチャーの量を、 a は水酸化ナトリウムを加える前のバイオチャーに付着したエタノール残量を、 T と bk は 0.1 M の水酸化ナトリウムによってホルムアルデヒド混合溶液を中和化する滴定量を、 F は 0.1 M 水酸化ナトリウムのファクターを表す。炭素と窒素の含有量は CN コーダー (Macro coder JM 1000CN, J-Science Labo, Kyoto, Japan) で測定した。

バイオチャーに含まれている総ミネラルの含有量は第4章で記述した方法 (Konaka et al. 2019b) で硝酸分解を行って測定した。酢酸アンモニウム抽出可能ミネラルと、水溶性ミネラル含有量はそれぞれ、Simard (1993) と Rodriguez ら (2003) の方法を次のように修正して測定した。バイオチャー 0.3 g を摺鉢と摺棒で粉状にし、遠心チューブに入れ、20 mL の 1 M 酢酸アンモニウム、もしくは純水を加え、振盪器で2時間振盪した。この溶液を前述のペーパーフィルターを使って濾過し溶液サンプルを抽出した。アンモニアで抽出したものは 0.1% の硝酸で 100 倍希釈することで酸性化し、純水で抽出したのものには 1 N の塩酸を溶液の保存のために加えることで酸性化させた。この抽出液を ICP-AES で分析した (Konaka et al. 2019b)。

6-3-4. バイオチャーの保水力の測定

保水力の測定は先行文献を参照に (Yu et al. 2013) 次のような修正を加えて行った。0.5 g のバイオチャーを摺鉢と摺棒で小片にし、49.5 g の珪砂 (平均粒径約 0.9 mm, No. 4, Toyo Matelan, Aichi, Japan) を混ぜて、サンプルのバイオチャーの混合率を 1% とした。この混合珪砂と、コントロールとして珪砂のみ 50 g をそれぞれ 50 mL のチューブに入れ、チューブをポリエチレンテレフタレートとポリエチレンでできたティーバッグ (Cainz, Saitama, Japan) で蓋をし水中に 24 時間浸して、水が十分にサンプルに浸透するようにした。その後チューブの上下を逆にし、チューブから水が重力によって抜けるように設置した上で 24 時間室温の部屋に放置した。24 時間放置後、チューブの中のサンプルをアルミニウムのプレートにあけ、電子天秤で湿潤重量を計測した。その後、サンプルをオーブンに入れ 80°C で 24 時間乾燥させた後、乾燥重量を測定した。そして、保水力は次の数式を用いて数値化した (Yu et al. 2013)。

$$\text{保水力 (\%)} = (\text{湿潤重量} - \text{乾燥重量}) / \text{乾燥重量} \times 100$$

6-3-5. 統計解析

全ての実験は3回繰り返し実施した。ANOVA は Holms 法を js-STAR version 8.1.1j (<http://www.kisnet.or.jp/nappa/software/star/>) を用いて、 $p < 0.05$ の有意で検定した。保水力は t -test ($p < 0.05$) を用いて検定した。バイオチャーの様々な物理化学特性の相関関係は、ピアソン相関を js-STAR を用いて検定した。主成分分析は R Studio version 1.2.1335 (<https://rstudio.com>) を用いて、prcomp と fviz_pca_biplot によって分析した。

6-4. 結果と考察

6-4-1. ジャトロファ・バイオチャーの収量と物理特性

ジャトロファの3つの組織 (葉、幹、枝) を4つの異なった温度で熱分解したバイオチャーの物理特性は Fig. 6-1 の通りである。最大収量を得ることができたのは、葉を 300°C で熱分解したバイオチャーであり (炭化前の乾燥バイオマス重量

の 53.3 ± 9.2 %)、最小収量は幹を 600°C で熱分解したものであった (27.5 ± 3.9 %) (Fig. 6-1A)。3つの組織とも、熱分解の温度が高くなるほど収量は低くなる傾向が見られた。これらは先行文献で示された別の材料、麦藁、トウモロコシ茎、ピーナッツ殻を 400°C から 600°C で1時間半熱分解したバイオチャーでも見られた傾向である (Gai et al. 2014)。

熱分解の温度が高くなるに従って、3つの組織から製造したバイオチャー全てで電気伝導率も高くなる傾向が見られた (Fig. 6-1B)。電気伝導率が一番高かったのは葉を 600°C で熱分解したものであり (19.8 ± 0.3 mS cm^{-1})、一番低かったのは枝を 300°C で熱分解したものであった (6.3 ± 3.1 mS cm^{-1})。ジャトロファバイオチャーのバイオチャー対水比率 1 対 10 (w/v) における電気伝導率は、先行研究で示されている同じ 300°C から 600°C の範囲で熱分解した稲藁 ($5.57 \pm 0.02 \sim 7.31 \pm 0.05$ mS cm^{-1}) や、米糠 ($1.12 \pm 0.01 \sim 3.67 \pm 0.03$ mS cm^{-1}) (Li et al. 2013) よりも高かったが、毎分 10°C ずつ温度を上昇させ、15 から 20 分かけて到達温度で燃焼し製造した樫材 ($48 \sim 116$ mS cm^{-1}) や、松材 ($38 \sim 192$ mS cm^{-1}) を材料にしたバイオチャーを比率 1 対 20 で測定した数値 (Rajkovich et al. 2012) よりは低かった。

陽イオン交換容量の最大値は枝を 300°C で熱分解したものであった (42.3 ± 5.7 cmolc kg^{-1})。また、最小値は幹を 600°C で熱分解したものであった (19.2 ± 2.7 cmolc kg^{-1}) (Fig. 6-1C)。ジャトロファバイオチャーの3つの組織の陽イオン交換容量の範囲は 300°C : $41.9 \pm 2.3 \sim 42.3 \pm 5.7$ cmolc kg^{-1} 、 400°C : $29.2 \pm 6.4 \sim 35.4 \pm 2.1$ cmolc kg^{-1} 、 500°C : $20.5 \pm 5.0 \sim 23.3 \pm 2.6$ cmolc kg^{-1} 、 600°C : $19.2 \pm 2.7 \sim 21.1 \pm 0.9$ cmolc kg^{-1} であった。3つの組織とも熱分解温度が上昇するに従って陽イオン交換容量の低下が見られた。この傾向は先行研究でも示されているが (Gaskin et al. 2008, Cantrell and Martin 2012)、これは高温度になるに従って、揮発性の有機官能基の損失が多く生じることによるものと考えられる。一方で、ジャトロファの3つの組織のバイオチャー間には陽イオン交換容量に関する統計上の有意差は認められなかった。

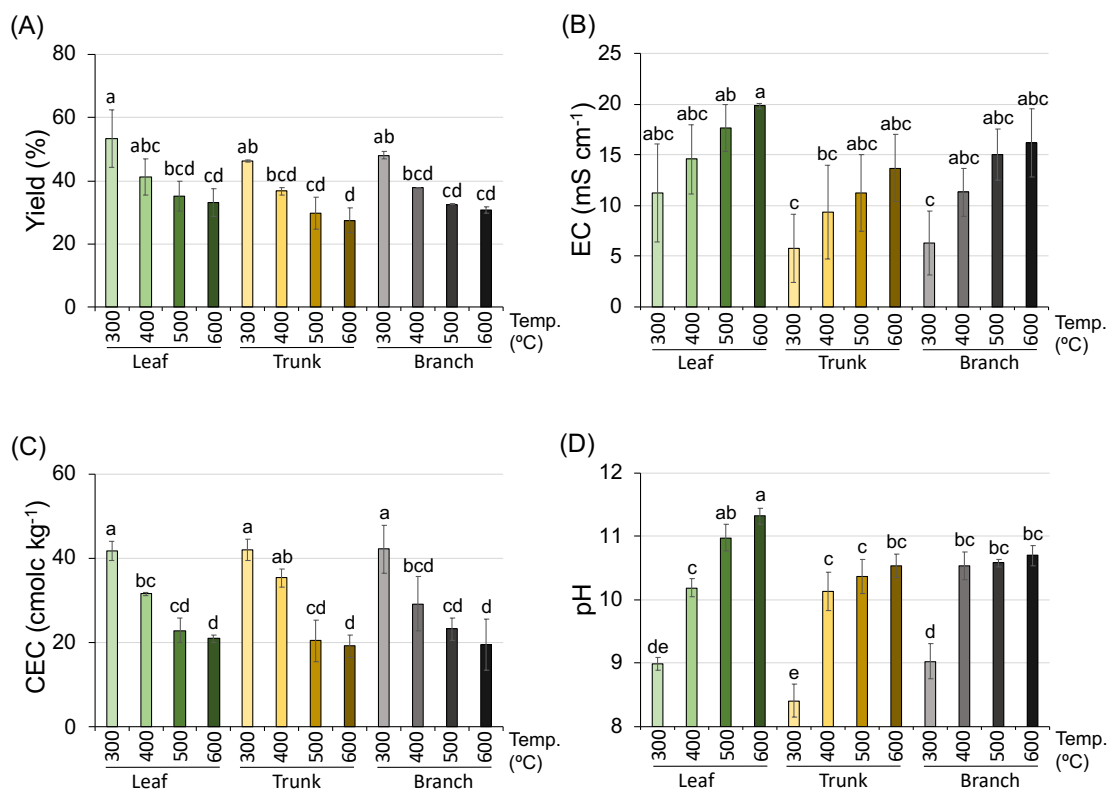


Fig. 6-1. ジャトロファ・バイオチャーの炭化収量と物理特性. ジャトロファの3つの組織を温度を変えて炭化した炭化物の、炭化収量 (A), 電気電導率(EC) (B), 陽イオン交換容量(CEC) (C), 酸度(pH) (D) を示す. 値は平均値と標準偏差 (n = 3). ANOVAによる有意性はアルファベットで示している. (Holm's test, $p < 0.05$).

pH 値が一番高かったのは葉を 600°C で燃焼させたものであった (11.3 ± 0.1)。一方、一番低かったのは幹を 300°C で燃焼させたものであった (8.40 ± 0.25) (Fig. 6-1D)。熱分解温度が高くなるに従って pH 値が高くなる傾向が見られたが、特に3つの組織から製造した炭に共通して、温度が 300°C から 400°C に上がるところで pH 値が急激に高くなっている。この傾向は先行研究でも示されており、高温での熱分解においては、熱分解されない無機物質と灰の含有量が増すことによる pH 値の上昇が考えられる (Novak et al. 2009, Ahmad et al. 2012)。特に酪農堆肥 (dairy manure) で製造したバイオチャーでは、300°C を超えるとアルカリ塩が有機物質から分離されることが示されている (Cao and Harris 2010)。収量と同様に、pH 値においても材料となる組織間の特性は認められなかった。このことから、ジャトロファバイオチャーの pH 値においては、材料よりも熱分解の温度が大きく影響すると言える。

ジャトロファ・バイオチャーが示した高い pH 値を得て、バイオチャーのアルカリ

物質がどのくらい残存するのか、もしくは溶解するのかの実験を次に行った。この実験ではバイオチャーを繰り返し水で洗浄し、洗浄した水の pH 値を測定することによってその推移を観察した (Fig. 6-2)。

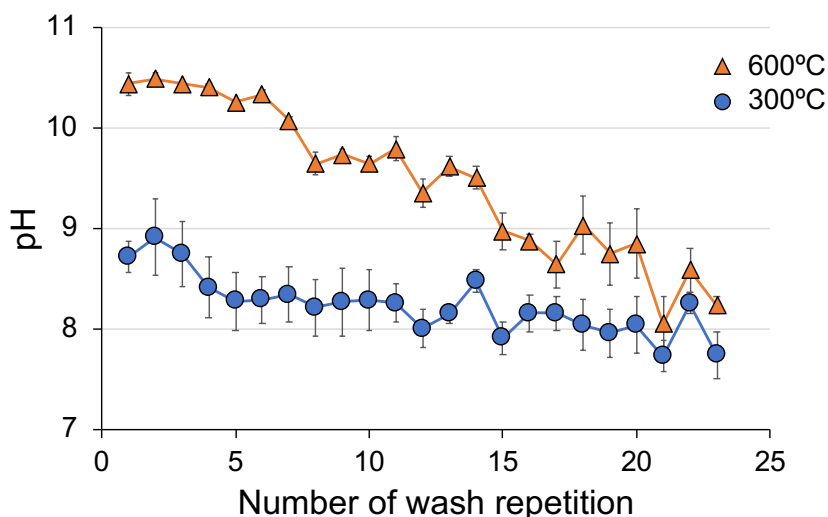


Fig 6-2. 連続水洗による炭化温度300°C(青)と600°C(橙)のジャトロファ枝炭のpHの推移. 値は平均値と標準偏差(n=3).

この実験では枝のバイオチャーを使用した。その理由は、炭化後の枝のバイオチャーは炭化前の形状を保っており、また崩れ難く、繰り返し洗浄するのに扱いやすいと考えたからである。最初の洗浄後の pH は 300°C で製造したものと 600°C で製造したものが、それぞれ 8.71 ± 0.16 と 10.4 ± 0.1 を示していた。この高い pH 値は洗浄開始から6回目までは継続していたが、23 回目の洗浄サイクル終了後には $7.73 \sim 8.23$ の範囲に低下した。この実験結果から、アルカリ物質は継続した水和環境において徐々に溶解することが確認できた。ただし、この実験では、バイオチャーと水の比率を 1 対 50 とし、1時間に 20 回以上の振盪による水抽出を行っている。水の流量が大変少ない乾燥地や半乾燥地の土壌においては、アルカリ物質が長く滞在する可能性が考えられ、アルカリ物質を継続的に土壌に供給できる可能性が示唆される。

6-4-2. 炭素、窒素、その他のミネラル含有量

バイオチャーに含まれている炭素、窒素の含有量は Fig. 6-3 で示している。炭素を一番多く含有しているのは、枝を 500°C (58.4 ± 0.1%) で熱分解したバイオチャーで、これは熱分解をしていない枝と比較して 34%多くなっていた (Fig. 6-3A)。窒素含有量では葉を 300°C (3.97 ± 0.09%) で熱分解したものが一番多く含んでおり、これは熱分解をしていない葉に比べて 10%多かった (Fig. 6-3B)。3つの組織の炭化状態で比較したところ、葉炭において、一番少ない量の炭素と一番多い量の窒素が観察された。この傾向は熱分解を行っていない状態の葉と同様であった (Fig. 6-3)。特筆すべきことは、炭素含有量に関しては、葉炭において炭素量が熱分解の温度を上げるほどに微量だが少なくなっていくこと、また、窒素含有量に関しては、葉炭、枝炭において、熱分解の温度を上げるほど少なくなっていくことである。なお、幹炭と枝炭の炭素含有量、幹炭の窒素含有量に関しては特に熱分解の温度による影響は見られていない。この結果から、バイオチャーに含まれる炭素量、窒素量は熱分解の温度よりも、炭化する材料の違いによるということが言える。

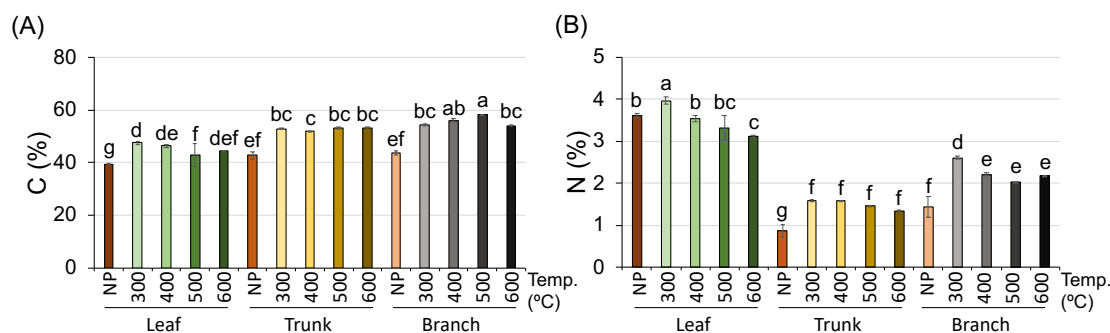


Fig. 6-3. ジャトロファの3つの組織を温度を変えて炭化した炭化物の炭素(A)と窒素(B)の含有量. NPは未炭化の乾燥組織. 値は平均値と標準偏差(n=3). ANOVAによる有意性はアルファベットで示している. (Holm's test, $p < 0.05$).

主栄養素である、リン、カリウム、カルシウム、マグネシウムの含有量は Fig. 6-4 で示し、統計上の有意性に関しては Table 6-1 で示している。主栄養素は次の3つの方法で抽出した。

- 1) 水による水溶性ミネラル抽出 (Rodriguez et al. 2003)

2) 酢酸アンモニウムによる迅速なイオン交換可能なミネラルの抽出 (Simard, 1993)

3) 硝酸による総ミネラルの抽出 (Yamada et al. 2018)

ただし、リンに関する酢酸アンモニウム抽出は行っていない。理由は、酢酸アンモニウムによるリンの抽出は、リンがカルシウム、アルミニウム、鉄など他のイオンと結びつく性質を持っており、正確な含有量が測定できないからである (Olsen and Sommers 1982)。

結果として、総ミネラルの含有量は熱分解の温度が上がるほどに多くなっている (Fig. 6-4)。この結果は先行研究の結果とも一致している (Ippolito et al. 2015)。これは、栄養素の中でも容易に揮発し分解する物質が熱分解にもなってバイオチャーから排出されることから生じるものと考えられる。一方、水溶性のリンの含有量は熱分解温度が上昇するに従って減少している (Fig. 6-4A)。この状況に関しても炭化材にダンチク (“Giant reed”, *Arundo donax* L.) を用いた先行研究 (Zheng et al. 2013) の結果と一致している。この現象は、高温度の熱分解が進むと、リンが結晶化によって不溶解性になることから生じると考えられる。カリウムの含有量においては、酢酸アンモニウムで抽出した量と、硝酸で抽出した量はほぼ同量を示したが、水で抽出した量はそれらに比較して大変少量だった (Fig. 6-4B)。この結果は、カリウムはその多くがイオンの形態で存在しており、イオンと強く結びつく溶液によって抽出されたことが考えられる。一方、酢酸アンモニウムによって抽出したカルシウムとマグネシウムの量は硝酸によって抽出したものと比較して総じて低量だった (Fig. 6-4C, D)。酢酸アンモニウム抽出量の硝酸抽出量に対する割合は、カルシウムで 9.0% (葉炭 300°C) から 15.8% (枝炭 500°C)、マグネシウムで 24.4% (幹炭 500°C) から 63.1% (葉炭 300°C) だった。ジャトロファ・バイオチャーにおけるこれらの比率は、先行研究で示された、軟木材を 300°C から 410°C で炭化したもの (Robertson et al. 2012) と比べて (カルシウム:35.4%、マグネシウム:26.4%)、カルシウムが少なく、マグネシウムが多いという傾向が見られた。

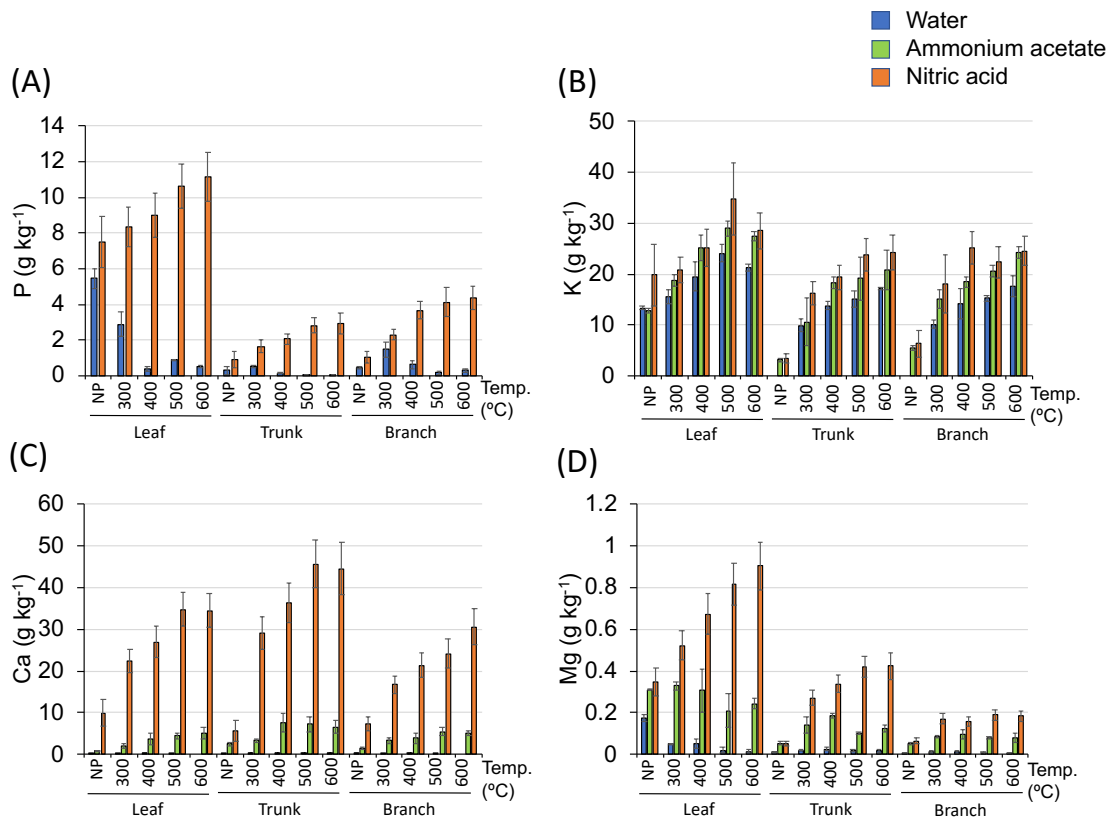


Fig. 6-4. ジャトロファの3つの組織を温度を変えて炭化した炭化物の栄養素含有量. リン酸(A), カリウム(B), カルシウム(C), マグネシウム(D). 各栄養素の含有量は、水(青), 酢酸アンモニウム(緑), 硝酸分解(橙)による抽出. 値は平均値と標準偏差(n=3).

3つの組織の比較では、葉炭で、全ての熱分解温度において、硝酸抽出のリン、カリウム、マグネシウムの含有量が多かった (Fig. 6-4. A,B,D)。主栄養素が葉炭に多く含まれていることは、酢酸アンモニウムで抽出した利用可能状態のカリウム、マグネシウムの含有量についても、全ての熱分解温度下において多かったことからわかる。これらの結果からは、炭化後の含有量の差は炭化材料の含有量の差と一致することが示されており、光合成をする葉が他の組織より多くの栄養素を必要とすることが関係していると考えられる。なおカルシウムに関しては、硝酸抽出、酢酸アンモニウム抽出の含有量共に幹炭に多く含まれていた (Fig. 6-4C)。これは、幹の特性として、樹木を成長させるために、細胞におけるペクチンの代謝にカルシウムが必要とされていることに関連していると考えられる (Fraeye et al. 2010)。

Table 6-1. ジャトロファバイオマスおよび炭化バイオマスにおける主栄養素の含有量

		Mineral content (mg kg ⁻¹) ¹			
		Nitric acid extraction			
Jrtropha Biochar		P	K	Ca	Mg
Leaf	NP ²	7,500 ± 1,40d	19,800 ± 6,000defg	9,900 ± 3,180h	349 ± 67f
	300°C	8,330 ± 1,100c	20,900 ± 2,600cdefg	22,400 ± 2,900ef	521 ± 70d
	400°C	8,990 ± 1,270b	25,100 ± 3,700bc	27,000 ± 3,900d	672 ± 100c
	500°C	10,600 ± 1,250a	34,800 ± 7,100a	34,800 ± 4,100b	815 ± 101b
	600°C	11,100 ± 1,400a	28,600 ± 3,500b	35,400 ± 4,100b	904 ± 115a
Trunk	NP ²	899 ± 448k	3,490 ± 970h	5,750 ± 2,530i	53.2 ± 10.5j
	300°C	1,650 ± 330j	16,200 ± 2,300g	29,100 ± 4,000cd	270 ± 37g
	400°C	2,060 ± 320ij	19,400 ± 2,400efg	36,300 ± 4,8000b	337 ± 43f
	500°C	2,840 ± 420gh	23,800 ± 3,200bcde	45,700 ± 5,700a	421 ± 51e
	600°C	2,910 ± 580g	24,300 ± 3,400bcde	44,600 ± 6,400a	424 ± 63e
Branch	NP ²	1,040 ± 230k	6,410 ± 2,650h	7,350 ± 1,600i	64.7 ± 14.4j
	300°C	2,310 ± 310hi	18,000 ± 5,800fg	16,700 ± 2,000g	171 ± 23hi
	400°C	3,670 ± 490f	25,200 ± 3,300bc	21,400 ± 2,900f	157 ± 21i
	500°C	4,130 ± 800ef	22,300 ± 3,100cdef	24,100 ± 3,500e	189 ± 26h
	600°C	4,350 ± 650e	24,600 ± 2,900bcd	30,600 ± 4,400c	183 ± 24hi

		Water extraction			
Jrtropha Biochar		P	K	Ca	Mg
Leaf	NP ²	5,460 ± 540a	13,400 ± 400de	58.5 ± 5.0a	173 ± 15a
	300°C	2,890 ± 680b	15,600 ± 1,500cd	63.3 ± 59.0a	48.6 ± 3.3b
	400°C	394 ± 103de	19,500 ± 2,800bc	130 ± 114a	51.4 ± 22.5b
	500°C	896 ± 38cd	24,100 ± 1,800a	8.84 ± 15.3a	20.1 ± 12.7c
	600°C	531 ± 60de	21,300 ± 700ab	0.00 ± 0.00a	14.7 ± 8.6c
Trunk	NP ²	299 ± 241de	0.00 ± 0.00f	39.6 ± 18.8a	11.8 ± 2.9c
	300°C	516 ± 78de	9,940 ± 1,230e	209 ± 85a	18.4 ± 2.5c
	400°C	147 ± 21de	13,800 ± 800de	271 ± 138a	25.6 ± 6.3bc
	500°C	49.3 ± 30.7e	15,100 ± 1,600d	221 ± 168a	15.9 ± 6.3c
	600°C	12.2 ± 21.1e	17,200 ± 300bcd	196 ± 144a	16.8 ± 8.1c
Branch	NP ²	445 ± 56de	0.00 ± 0.00f	163 ± 74a	7.65 ± 0.98c
	300°C	1,480 ± 430c	10,200 ± 700e	97.9 ± 24.3a	11.8 ± 6.2c
	400°C	622 ± 244de	14,200 ± 2,900de	195 ± 169a	10.1 ± 6.4c
	500°C	172 ± 84de	15,300 ± 600cd	71.1 ± 53.1a	7.27 ± 3.06c
	600°C	304 ± 116de	17,600 ± 2,100bcd	0.00 ± 0.00a	4.90 ± 3.14c

		Ammonium acetate extraction			
Jrtropha Biochar		P	K	Ca	Mg
Leaf	NP ²	NA ³	12,800 ± 400ef	833 ± 77f	311 ± 2ab
	300°C	NA ³	18,800 ± 1,200bcde	2,020 ± 460def	329 ± 21a
	400°C	NA ³	25,200 ± 2,400ab	3,740 ± 1,350bcdef	307 ± 103ab
	500°C	NA ³	29,000 ± 1,420a	4,390 ± 720abcde	208 ± 80bcd
	600°C	NA ³	27,400 ± 1,000a	5,110 ± 1,310abcd	244 ± 27abc
Trunk	NP ²	NA ³	3,180 ± 390h	2,430 ± 370def	53.6 ± 6.4e
	300°C	NA ³	10,700 ± 4,600fg	3,330 ± 400cdef	140 ± 37cde
	400°C	NA ³	18,400 ± 1,100cde	7,580 ± 2,230a	185 ± 10cd
	500°C	NA ³	19,200 ± 4,200bcde	7,210 ± 1,820ab	103 ± 4de
	600°C	NA ³	20,900 ± 3,800bcd	6,530 ± 1,540abc	124 ± 16de
Branch	NP ²	NA ³	5,480 ± 390gh	1,400 ± 250ef	52.2 ± 4.7e
	300°C	NA ³	15,100 ± 1,900def	3,370 ± 700cdef	84.4 ± 5.7e
	400°C	NA ³	18,500 ± 1,000cde	3,880 ± 1,210bcdef	94.2 ± 22.6e
	500°C	NA ³	20,600 ± 1,100bcd	5,470 ± 1,080abcd	79.2 ± 7.8e
	600°C	NA ³	24,200 ± 1,200abc	4,970 ± 530abcd	77.2 ± 22.4e

¹ 値は平均値と標準偏差(n=3)。アルファベットは各抽出方法による各要素のANOVAの有意性を示す(Holm's test $p < 0.05$)。

² NP = 未炭化のバイオマス。

³ NA = 該当データなし。

6-4-3. 保水力評価

バイオチャーを珪砂に混入させた際の保水力の実験結果は Fig. 6-5 に示している。

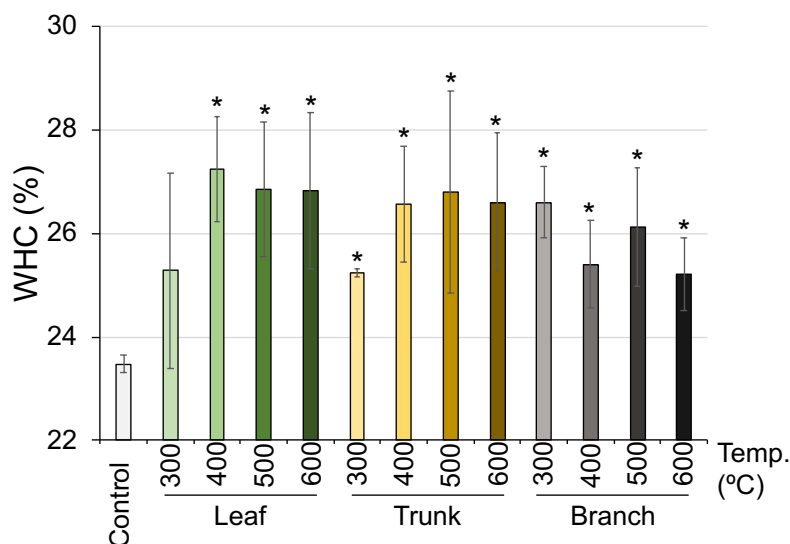


Fig. 6-5. 珪砂にジャトロファの3つの組織を温度を変えて炭化したバイオチャー1%(w/w)を混入させた土壌の保水力. コントロールに対する有意性はアスタリスクで示している(t -test, $p < 0.05$).

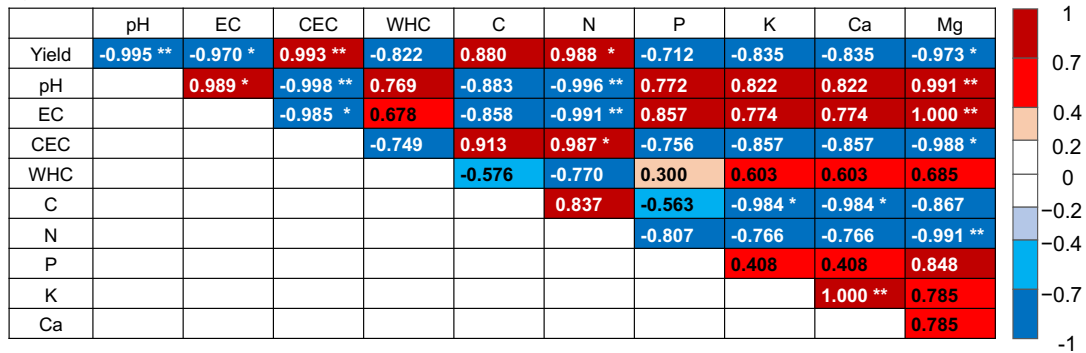
葉を 300°C で炭化したものは標準偏差が大きく、バイオチャーを混入させていないコントロールと比較して統計上の有意差は認められなかったが、他の炭化物を混入させたものに関しては、組織、熱温度にかかわらず、バイオチャーの混入による珪砂の保水力の向上が見て取れる (t -test, $p < 0.05$)。バイオチャーを土壌に混入させることによる保水力の向上は先行研究でも示されている (Ogura et al. 2016, Masiello et al. 2015, Speratti et al. 2017, Duong et al. 2017)。バイオチャーを混入することによる保水力向上には、バイオチャーの表層に大小様々な多孔形質があることが機能していると考えられる (Masiello et al. 2015)。第3章では、ジャトロファの葉をシンプルな中古ドラム缶を用いて炭化し、酸性土壌に 3%、5%、10% (w/w) で混入した結果として、ジャトロファ葉炭による土壌の保水力の向上が示されている。この実験においては、1%という少ない重量比においても珪砂の保水力を向上させることが示された。

6-4-4. バイオチャーの物理化学特性に関する相関

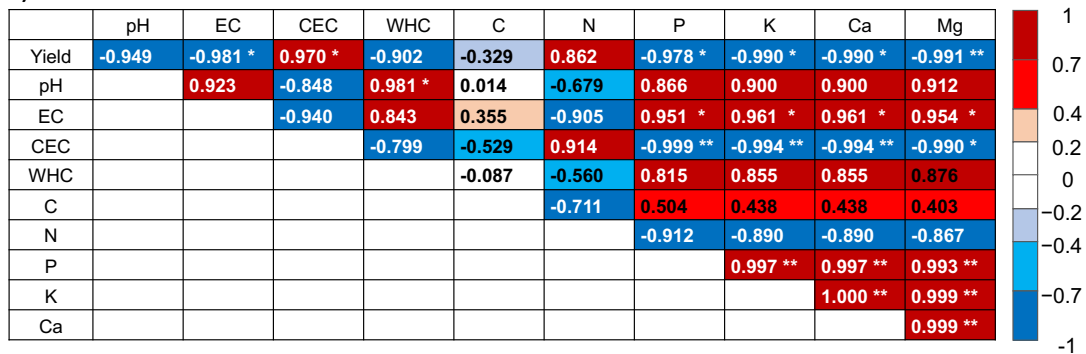
ジャトロファの3つの組織を4つの熱分解温度で製造したバイオチャーの物理化学特性に関する相関は Fig. 6-6 で示している。葉炭では、pH、EC とリン、カリウム、カルシウム、マグネシウム含有量において、強い正の相関(相関係数 0.7 以上)が示されている。一方、収量と pH、pH と CEC、収量とリン、カリウム、カルシウム、マグネシウム含有量間には、強い負の相関(相関係数-0.7 以上)が見て取れる(Fig. 6-6A)。窒素含有量は収量、CEC、炭素量と正の相関にあるが、pH と EC、リン、カリウム、カルシウムとマグネシウムの含有量には強い負の相関が示されている。これらの傾向は幹炭、枝炭においても同様に示されている(Fig. 6-6B,C)。これらの結果は、熱分解温度を上げるに従って pH、EC、無機物質の含有量が上昇し、収量、CEC が低下することを示している。これは揮発性物質と表層の有機物質の喪失とバイオチャーの塩化と灰要素の増加が生じるため、という先行研究(Gaskin et al. 2008, Song and Guo 2012)と同様な現象を表している。

興味深いことに、3つの組織を総合して解析した相関では違う結果が示された(Fig. 6-6D)。例えば、組織を総合して解析した相関では、窒素含有量はリン、カリウム、カルシウム含有量と正の相関を示した(Fig. 6-6D)が、一方、組織別の解析では、強い負の相関が示されている(Fig. 6-6A, B, C)。窒素とリンの含有量(Fig. 6-7A)と窒素とカリウムの含有量(Fig. 6-7B)の関係を示す散布図を見ると、各組織においては、熱分解温度に従ってほぼ直線状に負の相関が見られるが、これら3つの組織を総合すると、各組織の特性の大きな違いが、各組織の負の相関を相殺し、組織間の相関としては強い正の直線に置き換わっていることがわかる(Fig. 6-7A,B)。この結果から、炭化する材料の特性が炭の物理化学特性に大きく影響を与えているということがわかる。

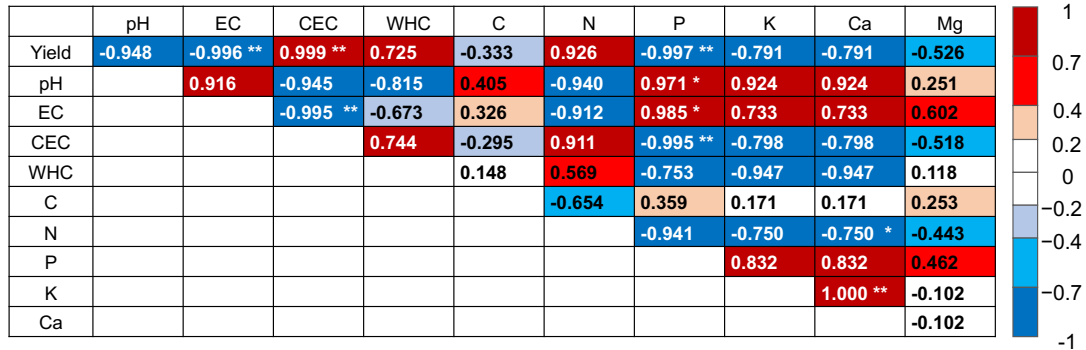
(A) Leaf



(B) Trunk



(C) Branch



(D) Total

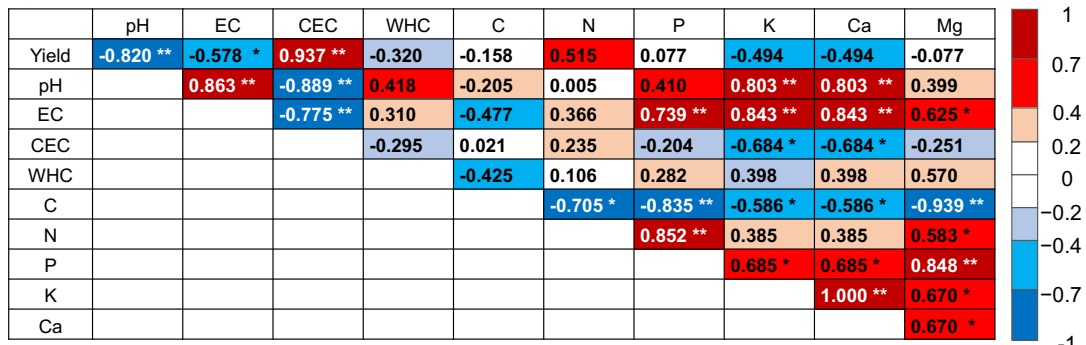


Fig. 6-6. ジャトロファの3つの組織を炭化温度を変えて製造したバイオチャーにかかるピアソン相関表。(A)葉, (B)幹, (C)枝を300, 400, 500, 600°Cの温度で炭化した12のデータベースによって解析した表(n=3)。(D)4つの温度で炭化した3つの組織の総合36のデータベースによって解析した表。栄養素の含有量は硝酸で抽出した総合含有量。表は相関係数の強弱によって正の相関は赤の色調, 負の相関は青の色調で表右側のラベルに沿って表示している。値の有意性は次の通り“****” = $p < 0.01$, “***” = $p < 0.05$, “**” = $p < 0.1$ (t-test)。

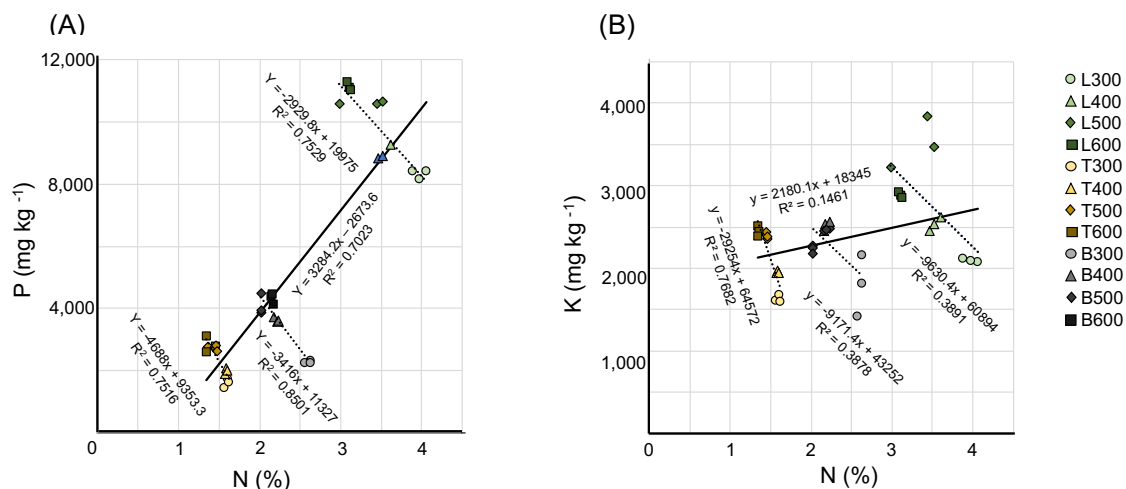


Fig. 6-7. ジャトロファの3つの組織を炭化温度を変えて製造したバイオチャーにおける窒素とリン(A), 窒素とカリウム(B)の相関散布図。表示記号の意味は表右側に示している。“L”は葉，“T”は幹，“B”は枝を表し、3桁の数字は300から600°Cの炭化温度を表す。

6-4-5. 主成分分析

ジャトロファ各バイオチャーの物理化学特性をPCAで分析した(Fig. 6-8)。熱分解温度300°Cで製造したバイオチャーは組織を超えて象限IIにまとまっている。葉炭を400°Cから600°Cで製造したものは象限Iに発現し、幹炭、枝炭を400°Cから600°Cで製造したものはPC2軸の負の面に発現している。この結果は、バイオチャーの材料となる組織と熱分解の温度の組み合わせによってバイオチャーの物理化学特性が現れることを示唆している。収量とCECはPC1軸の負とPC2軸の正の位置に伸びており、300°Cで製造したバイオチャーとの強い関連性を示している。これは、熱分解温度が低いほど収量やCECが高いというこれまでの結果を裏付けている(Fig. 6-1)。一方、窒素、リン、マグネシウムはPC1とPC2の正の位置に伸びており、葉炭の400°Cから600°Cとの関連を示している。これは、葉炭を高い熱分解温度で製造することによって、これらのミネラル含有量が多くなるという実験結果と一致している(Fig. 6-4)。こうした結果を総合して判断すると、炭の材料となる組織と熱分解の温度の組み合わせによって、バイオチャーの物理化学特性にある特徴が生じ、この特徴を活かすことで、環境に負荷をかけない土壌改良剤や肥料といった農業製品を製造できる可能性が示唆されている。

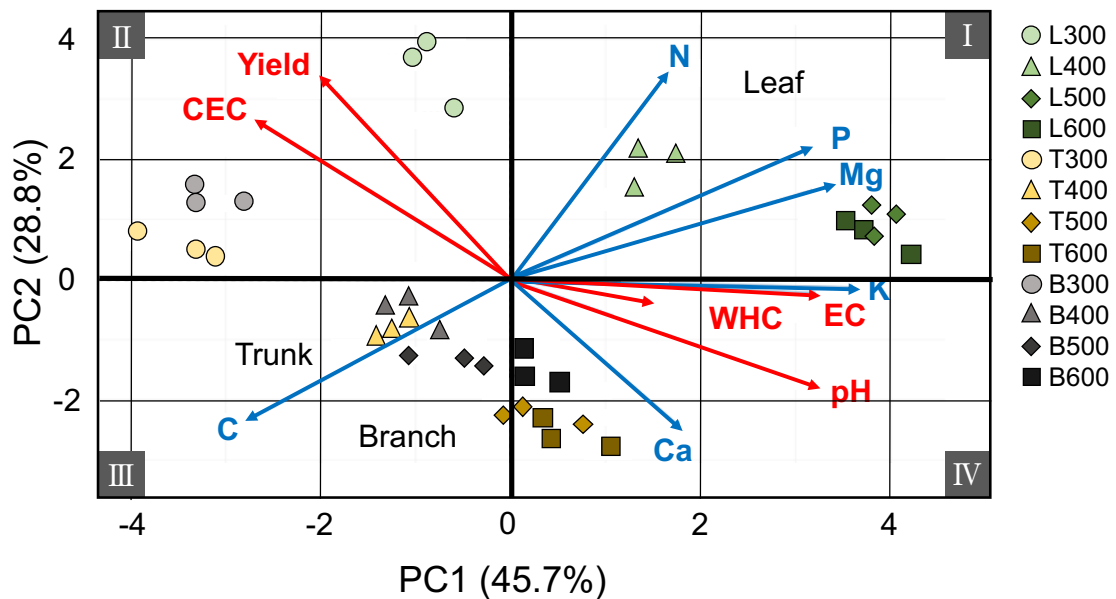


Fig. 6-8. ジャトロファの3つの組織を炭化温度を変えて製造したバイオチャーの主成分分析表。各バイオチャーのサンプルはPC-1とPC-2の間において75%の確率による相似を表している。表示記号の意味はFig 6-7.と同様であり、表右側に示している。表の“I”から“IV”の数字は表の4つの空間を示している。赤と青のベクトルは方向によって傾向を、長さで強弱を表している。

6-5. まとめ

この実験では、バイオディーゼルの生産ができるジャトロファの非油脂バイオマスである、葉、幹、枝を、熱分解温度を変化させて製造したバイオチャーが、それぞれ特徴のある物理化学特性を持っていることが示された。例えば、窒素、リン、マグネシウムは葉炭に多く含まれており、幹炭はカルシウムを多く含んでいる。また、熱分解温度が低いほど収量とCECは上がり、高温ほどpHとECが上がるということがわかった。これらの実験結果からは、物理化学特性に特徴を持ったバイオチャーを、ジャトロファの組織と炭化温度の組み合わせを利用することによって製造できる可能性が示唆されている。再生利用可能エネルギーとして注目されているジャトロファの利用によって、バイオディーゼルの生産のみならず、持続性を持った循環可能な農業、産業の構築に貢献できる可能性が示唆されている。

第7章 結論

本論文では再生利用可能エネルギー源として注目されているジャトロファのバイオマスの有効利用を目指して、荒廃地での栽培と廃棄バイオマスの活用について検証した。荒廃地での生育においては、酸性で銅およびニッケル含有量の多い土壌を用いて生育状態をアカシアと比較した。結果、アカシアは生育に阻害が生じたが、ジャトロファはコントロール土壌で生育したものと同等の生育を見せ、銅およびニッケル含有量の多い荒廃地における生育耐性を示した。この結果は、銅やニッケルに汚染された荒廃地でジャトロファを栽培して、荒廃地を緑化しつつ新たなエネルギー生産の可能性を示唆している。また、酸性で貧栄養といった劣悪な食用作物耕作不適地でのジャトロファの栽培は、エネルギー生産と食糧生産との競合を避けることができることを示している。環境問題対策のための再生利用可能エネルギーの拡充を進めるにあたって、世界の人口増加に対応する食糧増産の必要性等を考慮すると、食用作物耕作不適地でのジャトロファ栽培の可能性を提示できた意義は大きい。また、人間の経済活動の拡大による重金属汚染土壌が増加しており、そうした荒廃地にジャトロファを植林することで地球温暖化対策に寄与できる可能性も示唆している。加えて、ジャトロファは銅およびニッケル含有土壌での生育において、特にニッケルをバイオマス内に蓄積する特性を持つことを明らかにした。ジャトロファはニッケルの多くを根に蓄積するが、老化葉、若枝にも蓄積している。ジャトロファは落葉植物のため、老化葉を取り除いても生育には影響が少ない。また、ジャトロファ栽培の方法として剪定による栽培が試されているが、若枝を剪定しても枯死することは少ない。そのため、ジャトロファから老化葉や若枝を取り除くことで、ジャトロファの生育に大きな負荷を与えずに、土壌中のニッケルを土壌から取り除くことができる可能性がある。このことからニッケル汚染土壌にジャトロファを植林することによる土壌浄化の可能性が示されている。また、ジャトロファが荒廃地でも生育するという特性は、貧困村の社会開発においても重要である。食糧の生産が芳

しくない土壌に植林することで、農作物の生産といった経済活動を阻害することなくエネルギー生産やバイオマスの有効利用が行える可能性があるからである。

また、当論文では、ジャトロファ栽培上で生じる廃棄バイオマスを利用した農作物の生産性の向上を検証した。ジャトロファ栽培によって生じる廃棄バイオマスを有効利用することによる農作物の生産性向上は、投入資源や資本が限られている貧困村における生活改善に寄与することができる。実験ではジャトロファの落葉を特殊な装置を使わず、中古ドラム缶を用いた簡易炭化装置で炭化し、それを酸性で貧栄養といった劣悪な土壌に施用することで土壌状況が改善すること、および食物耕作土壌における葉菜の生産性を向上させることを明らかにした。葉菜の生産性の向上にあたっては、実験環境の条件下において、化学肥料を施肥して得られる効果と同程度の効果があることが示唆された。これは環境に負荷をかけない、持続性を持った農業の可能性につながるものである。

加えて、ジャトロファ落葉バイオチャーの特性を分析するため、ジャトロファ落葉、剪定枝、剪定後の幹を、4つの温度で炭化することでジャトロファ・バイオチャーを製造し、バイオマス各部位と炭化温度の組み合わせによるバイオチャーの物理化学特性を明らかにした。これによって、土壌の状態を改善することや、農産物の生産性の向上といった改善目的に合わせて、バイオチャーをその特性に合わせて効果的に製造し、施用することの可能性が示された。

本論文の結果から、ジャトロファを荒廃地で栽培することで、環境改善も視野に入れた、持続的な社会開発や農業生産性の向上に寄与する可能性が示された。

第8章 謝辞

本研究を実施するにあたっては数多くの方に助けていただきました。まず始めに感謝したいのは、鳥取大学農学部の明石欣也教授です。明石教授には実験の進め方、実施方法に関する有益なアドバイスを数多くいただいたばかりか、論文執筆から投稿に至るまできめ細かいご指導をいただきました。心からの感謝を申し上げます。明石教授との出会いがなければ本論文は生まれておらず、この論文を発表できたことは、まさに明石教授のご指導の賜物です。本当にありがとうございました。

鳥取大学乾燥地研究センターの辻本壽教授にも多くのご助言をいただき、論文執筆にあたって、ご自身の知識、経験を惜しむことなく分け与えていただきました。また、鳥取大学乾燥地研究センターの設備の利用にあたっても多くのご便宜を図っていただきました。どうもありがとうございました。

島根大学の増永二之教授には論文のデータ分析にあたって熱心にご指導をいただきました。その的確なご指摘は論文執筆にあたって大変参考になりました。どうもありがとうございました。

鳥取大学の山本定博教授には実験の進め方、データの解析方法等についてきめ細かいご指導をいただきました。貴重なご助言から多くのことを学ぶことができました。どうもありがとうございました。

琉球大学の上野正実名誉教授、川満芳信教授、鹿児島大学の藪田伸博士からは、ジャトロファ栽培の現場で栽培方法や炭化に関する貴重なアドバイスやご指導をいただきました。暑いボツワナの地で汗にまみれながらも、惜しげもなく知識を与えていただき、実験を実地でご指導いただいたことに心から感謝いたします。本当にありがとうございました。この現場での活動が論文執筆の原点であり、上野名誉教授、川満教授、藪田博士との出会いなくしてはこの論文はありませんでした。

青森公立大学の石本雄大博士にも感謝いたします。実験を実施するにあつ

て大きなご協力をいただきました。石本博士のご支援がなければ実験の実施は困難でありました。どうもありがとうございました。

ボツワナ農務省 Department of Agricultural Research の Mazereku 氏とボツワナ大学農学部の Moseki 教授には、ボツワナでの実験に多大なご支援を賜りました。どうもありがとうございました。また、ボツワナで実施された SATREPS プロジェクトに参加されていた皆様からも貴重なご助言を多数いただきました。心から感謝いたします。

鳥取大学農学部分子細胞生物学研究室の皆様にも大変お世話になりました。ラボにおいて実験機器等の操作を支援していただいたばかりではなく、様々な活動を通じて研究を助けていただきました。どうもありがとうございました。

最後に私の研究活動に理解を示し支援してくれた妻に心から感謝いたします。

第9章 引用

- Abdel-Fattah TM, Mahmoud ME, Ahmed SB, Huff MD, Lee JW and Kumar S. (2015): Biochar from woody biomass for removing metal contaminants and carbon sequestration. *J. Ind. Eng. Chem.* 22:103-109.
- Abdul Khalil HPS, Sri Aprilia NA, Bhat AH, Jawaid M, Paridah MT and Rudi D. (2013): A jatropha biomass as renewable materials for biocomposites and its applications. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 22:667-685.
- Abdullahi Z, Audu AA and Bala S. (2017): Assessment of the phytoremediation potentials of *Jatropha curcas* in the removal of heavy metals from contaminated soil of the Challawa industrial estate kano, Nigeria. *Bayero J. Pure Appl. Sci.* 10:579-583.
- Agamuthu P, Abioye OP and Aziz AA. (2010): Phytoremediation of soil contaminated with used lubricating oil using *Jatropha curcas*. *J. Hazardous Materials* 179:891-894.
- Ahmad M, Lee SS, Dou X, Mohan D, Sung JK, Yang JE and Ok YS. (2012): Effects of pyrolysis temperature on soybean stover- and peanut shell-derived biochar properties and TCE adsorption in water. *Bioresource Tech.* 118:536-544.
- Álvarez-Mateos P, Alés-Álvarez FJ and García-Martín JF. (2019): Phytoremediation of highly contaminated mining soils by *Jatropha curcas* L. and production of catalytic carbons from the generated biomass. *J. Environ. Manag.* 231:886-895.
- Anders E, Watzinger A, Rempt F, Kitzler B, Wimmer B, Zehetner F, Stahr K, Zechmeister-Boltenstern S and Soja G. (2013): Biochar affects the structure rather than the total biomass of microbial communities in

- temperate soils. *Agri. Food Sci.* 22:404-423.
- Antoniadis V, Levizou E, Shaheen SM, Ok YS, Sebastian A, Baum C, Prasad MNV, Wenzel WW and Rinklebe J. (2017): Trace elements in the soil-plant interface: phytoavailability, translocation, and phytoremediation - a review. *Earth-Sci. Rev.* 171:621-645.
- Asai H, Samson BK, Stephan HM, Songyikhangsuthor K, Homma K, Kiyono Y, Inoue Y, Shiraiwa T and Horie T. (2009): Biochar amendment techniques for upland rice production in Northern Laos 1. Soil physical properties, leaf SPAD and grain yield. *Field Crops Res.* 111:81-84.
- Atkinson CJ, Fitzgerald JD and Hips NA. (2010): Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: a review. *Plant Soil* 337:1-18.
- Awasthi MK, Li J, Kumar S, Awasthi SK, Wang Q, Chen H, Wang M, Ren X and Zhang Z. (2017): Effects of biochar amendment on bacterial and fungal diversity for co-composting of gelatin industry sludge mixed with organic fraction of municipal soil waste. *Bioresour. Tech.* 246:214-223.
- Baker AJM. (1981): Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *J. Plant Nutri.* 3:1-4.
- Barua PK. (2011): Biodiesel from seeds of *Jatropha* found in Assam, India. *Int. J. Energy Info. Comm.* 2:53-65.
- Batisani N and Yarnal B. (2010): Rainfall variability and trends in semi-arid Botswana: Implications for climate change adaptation policy. *Appl. Geography* 30:483-489.
- Biradar CH, Subramanian KA and Dastidar MG. (2014): Production and fuel quality upgradation of pyrolytic bio-oil from *Jatropha curcas* de-oiled seed cake. *Fuel* 119:81-89.
- Boateng AA, Garcia-Perez M, Mašek O, Brown R and del Campo B. (2015): Biochar production technology. In *Biochar for Environmental Management*, 2nd ed.; Lehmann J and Joseph S (Eds.), Routledge: Oxon,

- UK and New York, USA: pp.63-87.
- Bowen HJM. (1979): *Environmental Chemistry of the Elements*. Academic Press: London, UK, New York and San Francisco, USA, Toronto, CA, Sydney, AU: pp.60-61.
- Bray RH and Kurtz LT. (1945): Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59:39-46.
- Chang FC, Ko CH, Tsai MJ, Wang YN and Chung CY. (2014): Phytoremediation of heavy metal contaminated soil by *Jatropha curcas*. *Ecotoxicology.* 23:1969-1978.
- Cantrell KB and Martin II JH. (2012): Stochastic state-space temperature regulation of biochar production. Part II: application to manure processing via pyrolysis. *J. Sci. Food Agri.* 92:490-495.
- Cantrell KB, Hunt PG, Uchimiya M, Novak JM and Ro KS. (2012): Impact of pyrolysis temperature and manure source on physicochemical characteristics of biochar. *Bioresource Tech.* 107:419-428.
- Cao X and Harris W. (2010): Properties of dairy-manure-derived biochar pertinent to its potential use in remediation. *Bioresource Tech.* 101:5222-5228.
- Chauhan BS, Kumar N and Cho HM. (2012): A study on the performance and emission of a diesel engine fueled with *Jatropha* biodiesel oil and its blends. *Energy* 37:616-622.
- Chia CH, Downie A and Munroe P. (2015): Characteristics of biochar: physical and structural properties. In *Biochar for Environmental Management*, 2nd ed.; Lehmann J and Joseph S (Eds.), Routledge: Oxon, UK and New York, USA: pp.89-109.
- Chintala V, Kumar S, Pandey JK, Sharma A and Kumar S. (2017): Solar thermal pyrolysis of non-edible seeds to biofuels and their feasibility assessment. *Energy Convers. Manag.* 153: 482-492.
- Cobb A, Warms M, Maurer EP and Chiesa S. (2012): Low-tech coconut shell

- activated charcoal production. *Int. J. Serv. Learning Eng.* 7:93-104.
- Cowie A, Woolf D, Gaunt J, Brandão M, de la Rosa RA and Cowie A. (2015): Biochar, carbon accounting and climate change. In *Biochar for Environmental Management*, 2nd ed.; Lehmann J and Joseph S (Eds.), Routledge: Oxon, UK and New York, USA: 2015; pp.763-794.
- Das P, Dinda M, Gosai N and Maiti S. (2015): High energy density bio-oil via slow pyrolysis of *Jatropha curcas* shells. *Energy Fuels* 29:4311-4320.
- Dugan E, Verhoef A, Robinson S and Sohi S. (2010): Bio-char from sawdust, maize stover and charcoal: impact on water holding capacities (WHC) of three soils from Ghana. 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for Changing World. <https://www.researchgate.net/publication/228779250/> (accessed 11 June 2019).
- Duong VT, Khanh NM, Nguyen NTH, Phi NN, Duc NT and Xo DH. (2017): Impact of biochar on the water holding capacity and moisture of basalt and grey soil. *J. Sci. Ho Chi Minh City Open Univ.* 7:36-43.
- Erakhrumen AA. (2007): Phytoremediation: an environmentally sound technology for pollution prevention, control and remediation in developing countries. *Edu. Res. Rev.* 2:151-156.
- Esimone CO, Nworu CS and Jackson CL. (2008): Cutaneous wound healing activity of herbal ointment containing the leaf extract of *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae). *Int. J. Appl. Res. Nat. Prod.* 1:1-4.
- Fageria NK, Filho MPB, Moreira A and Guimarães CM. (2009): Foliar fertilization of crop plants. *J. Plant Nutr.* 32:1044-1064.
- Festa, RA. and Thiele DJ. (2011): Copper: An essential metal in biology. *Curr. Biol.* 21: 877-883.
- Fraeye I, Duvetter T, Doungla E, Loey AV and Hendrickx M. (2010): Fine-tuning the properties of pectin-calcium gels by control of pectin fine structure, gel composition and environmental conditions. *Trend Food*

- Sci. Tech. 21:219-228.
- Francis G, Edinger R and Becker K. (2005): A concept for simultaneous wasteland reclamation, fuel production, and socio-economic development in degraded areas in India: Need, potential and perspectives of *Jatropha* plantations. Natural Resources Forum 29:12-24.
- Gai X, Wang H, Liu J, Zhai L, Liu S, Ren T and Liu H. (2014): Effects of feedstock and pyrolysis temperature on biochar adsorption of ammonium and nitrate. PLoS ONE 9:e113888.
- García-Martín JF Alés-Álvarez FJ, Torres-García M, Feng CH and Álvarez-Mateos P. (2019): Production of oxygenated fuel additives from residual glycerine using biocatalysts obtained from heavy-metal-contaminated *Jatropha curcas* L. roots. Energies 12:740.
- Gaskin JW, Steiner C, Harris K, Das KC and Bibens B. (2008): Effects of low-temperature pyrolysis conditions on biochar for agricultural use. Trans. Am. Soc. Agri. Biol. Eng. 51:2061-2069.
- Ghavri SV and Singh RP. (2012): Growth, biomass production and remediation of copper contamination by *Jatropha curcas* plant in industrial wasteland soil. J. Environ. Biol. 33:207-214.
- Ghosh M and Singh SP. (2005): A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of it's by products. Asian J. Energy Environ. 6:214-231.
- Glab T, Palmowska J, Zaleski T and Gondek K. (2016): Effect of biochar application on soil hydrological properties and physical quality of sandy soil. Geoderma 281:11-20.
- Glaser B, Lehmann J and Zech W. (2002): Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal – a review. Biol. Fertil. Soils 35:219-230.
- González RC and González-Chávez MCA. (2006): Metal accumulation in

- wild plants surrounding mining wastes. *Environ. Pollution* 144:84-92.
- Haefele SM, Konboon Y, Wongboon W, Amarante S, Maarifat AA, Pfeiffer EM and Knoblauch C. (2011): Effects and fate of biochar from rice residues in rice-based systems. *Field Crops Res.* 121:430-440.
- Han Q, Luo J, Li Z, Korpelainen H and Li C. (2018): Improved drought resistance by intergeneric grafting in Salicaceae plants under water deficits. *Environ. Exp. Bot.* 155:217-225.
- Hardie M, Clothier B, Bound S, Oliver G and Close D. (2014): Does biochar influence soil physical properties and soil water availability? *Plant Soil* 376:347-361.
- He W, King AJ, Khan MA, Cuevas JA, Ramiaramananana D and Graham IA. (2011): Analysis of seed phorbol-ester and curcumin content together with genetic diversity in multiple provenances of *Jatropha curcas* L. from Madagascar and Mexico. *Plant Phys. Biochem.* 49:1183-1190.
- Hendershot WH, Lalonde H and Duquette M. (1993): Soil reaction and exchangeable acidity. In *Soil sampling and method of analysis*. Carter M.R (Eds.), Lewis publishers: Boca Raton and Ann Arbor, USA, London, UK and Tokyo, Japan: pp.141-145.
- Ickert-Bond SM, Gerrath JM, Posluszny U and Wen J. (2015): Inflorescence development in the *Vitis-Ampelocissus* clade of Vitaceae: the unusual lamellate inflorescence of *Pterisanthes*. *Bot. J. Linn. Soc.* 179:725-741.
- Inafuku-Teramoto S, Mazereku C, Coetzee T, Gwafila C, Lekgari LA, Ketumile D, Fukuzawa Y, Yabuta S, Masukujane M, George DGM, Chite SM, Ueno M, Kawamitsu Y and Akashi K. (2013): Production approaches to establish effective cultivation methods for *Jatropha (Jatropha curcas L.)* under cold and semi-arid climate conditions. *Int. J. Agr. Plant Prod.* 4:3804-3815.
- Ippolito JA, Spokas KA, Novak JM, Lentz RD and Cantrell KB. (2015): Biochar elemental composition and factors influencing nutrient

- retention. In *Biochar for Environmental Management*, 2nd ed.; Lehmann J and Joseph S (Eds), Routledge: Oxon, UK and New York, USA: pp.139-163.
- Ishii T and Kadoya K. (1994): Effects of charcoal as a soil conditioner on citrus growth and vesicular-arbuscular mycorrhizal development. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 63:529-535.
- Ishimoto Y, Kgokong S, Yabuta S, Tominaga J, Coetzee T, Konaka T, Mazereku C, Kawamitsu Y and Akashi K. (2017): Flowering pattern of biodiesel plant *Jatropha* in frost- and drought-prone regions of Botswana. *Int. J. Green Energy* 14:908-915.
- Ishimoto Y, Yabuta S, kgokong S, Motsepe M, Tominaga J, Teramoto S, Konaka T, Mmopelwa G, Kawamitsu Y, Akashi K and Ueno M. (2018): Environmental evaluation with greenhouse gas emissions and absorption based on life cycle assessment for a *Jatropha* cultivation system in frost- and drought-prone regions of Botswana. *Biomass Bioenergy* 110:33-40.
- Jien SH and Wang CS. (2013): Effects of biochar on soil properties and erosion potential in a highly weathered soil. *Catena*. 110:225-233.
- Jingura RM, Musademba D and Matengaifa R. (2010): An evaluation of utility of *Jatropha curcas* L. as a source of multiple energy carriers. *Int. J. Eng. Sci. Tech.* 2:115-122.
- Jongschaap REE, Corré WJ, Bindraban PS and Brandenburg WA. (2007): Claims and facts on *Jatropha curcas* L. Global *Jatropha curcas* evaluation, breeding and propagation programme. Report 158, Plant Res. Int. B.V.; Laren, The Netherlands.
- Jonsson P. (2004): Vegetation as an urban climate control in the subtropical city of Gaborone, Botswana. *Int. J. Climatol.* 24:1307-1322.
- Juliet S, Ravindran R, Ramankutty SA, Gopalan AKK, Nair SN, Kavillimakkil AK, Bandyopadhyay A. Rawat AKS and Ghosh, S. (2012): *Jatropha curcas* (Linn) leaf extract-A possible alternative for population

- control of *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. Asian Pac. J. Trop. Dis. 2012:225-229.
- King AJ, Montes LR, Clarke JG, Affleck J, Li Y, Witsenboer H, van der Vossen E, van der Linde P, Tripathi Y, Tavares E, Shukla P, Rajasekaran T, van Loo EN and Graham IA. (2013): Linkage mapping in the oilseed crop *Jatropha curcas* L. reveals a locus controlling the biosynthesis of phorbol esters which cause seed toxicity. Plant Biotech. J. 11:986-996.
- Knudsen D, Peterson GA and Pratt PF. (1982): Lithium sodium and potassium. In *Method of soil analysis Part 2-Chemical and Microbiological Properties*, 2nd ed.; Page AL, Miller RH and Keeney DR (Eds.), Agronomy No.9 American Society of Agronomy: Madison, USA: pp.225-246.
- Kochian LV, Hoekenga OA and Piñeros MA. (2004): How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. Annu. Rev. Plant Biol. 55:459-493.
- Koh MY, Idaty T and Ghazi M. (2011): A review of biodiesel production from *Jatropha curcas* L. oil. Renew. Sustain. Energy Rev. 15:2240-2251.
- Konaka T, Ishimoto Y, Yamada M, Moseki B, Tsujimoto H, Mazareku C and Akashi K. (2019a): Tolerance evaluation of *Jatropha curcas* and *Acacia burkei* to acidic and copper/nickel-contaminated soil. J. Environ. Biol. 40:1109-1114.
- Konaka T, Yabuta S, Mazareku C, Kawamitsu Y, Tsujimoto H, Ueno M and Akashi K. (2019b): Use of carbonized fallen leaves of *Jatropha curcas* L. as a soil conditioner for acidic and undernourished soil. Agronomy 9:236.
- Kongkasawan J, Nam H and Capareda SC. (2016): *Jatropha* waste meal as an alternative energy source via pressurized pyrolysis: a study on temperature effects. Energy 113:631-642.
- Kumar A and Sharma S. (2008): An evaluation of multipurpose oil seed crop

- for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): a review. *Ind. Crops Prod.* 28:1-10.
- Laird DA, Fleming P, Davis DD, Horton R, Wang B and Karlen DL. (2010): Impact of biochar amendments on the quality of a typical midwestern agricultural soil. *Geoderma* 158:443-449.
- Lee ME, Park JH and Chung JW. (2017): Adsorption of Pb(II) and Cu(II) by ginkgo-leaf-derived biochar produced under various carbonization temperatures and time. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 14:1528.
- Lehmann J, Pereira da Silva Jr. J, Steiner C, Nehls T, Zech W and Glaser B. (2003): Nutrient availability and leaching in an archaeological anthrosol and a ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. *Plant Soil.* 249:343-357.
- Lehmann J and Joseph S. (2015): Biochar for environmental management: an introduction. In *Biochar for Environmental Management*, 2nd ed.; Lehmann J and Joseph S. (Eds.), Routledge: Oxon, UK and New York, USA: pp.1-13.
- Li X, Shen Q, Zhang D, Mei X, Ran W, Xu Y and Yu G. (2013): Functional groups determine biochar properties (pH and EC) as studied by two-dimensional ¹³C NMR correlation spectroscopy. *PloS ONE.* 8: e65949.
- Lyu S, Wei X, Chen J, Wang C, Wang X and Pan D. (2017): Titanium as a beneficial element for crop production. *Front. Plant Sci.* 8:597.
- Mahar A, Wang P, Ali A, Awasthi MK, Lahori HL, Wang Q, Li R and Zhang Z. (2016): Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 126:111-121.
- Majid NM, Islam MM and Riasmi Y. (2012): Heavy metal uptake and translocation by *Jatropha curcas* L. in sawdust sludge contaminated soils. *Aust. J. Crop Sci.* 6:891-898.
- Major J, Rondon M, Molina D, Riha SJ and Lehmann J. (2010): Maize yield

- and nutrition during 4 years after biochar application to a Colombian savanna oxisol. *Plant Soil* 333:117-128.
- Mangkoedihardjo S and Surahmida. (2008): *Jatropha curcas* L. for phytoremediation of lead and cadmium polluted soil. *World Appl. Sci. J.* 4:519-522.
- Marschner H. (1991): Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. *Plant Soil* 134: 1-20.
- Masiello CA, Dugan B, Brewer CE, Spokas KA, Novak JM, Liu Z and Sorrenti G. (2015): Biochar effects on soil hydrology. In *Biochar for Environmental Management*, 2nd ed.; Lehmann J and Joseph S. (Eds.), Routledge: Oxon, UK and New York, NY, USA, pp.543-562.
- Mathiyazhagan N and Natarajan D. (2012): Impact of mine waste dumps on growth and biomass of economically important crops. *J. Environ. Biol.* 33:1069-1074.
- Mitchell PJ, Dalley TSL and Helleur RJ. (2013): Preliminary laboratory production and characterization of biochars from lignocellulosic municipal waste. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 99:71-78.
- Montes JM and Melchinger AE. (2016): Demonstration and breeding of *Jatropha curcas* L. *Trends Plant Sci.* 21:1045-1057.
- Nagajyoti PC, Lee KD and Sreekanth TVM. (2010): Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environ. Chem. Lett.* 8:199-216.
- Nanasato Y, Kido M, Kato A, Ueda T, Suharsono S, Widyastuti U, Tsujimoto H and Akashi K. (2015): Efficient genetic transformation of *Jatropha curcas* L. by means of vacuum infiltration combined with filter-paper wicks. *In Vitro Cell. Dev. Biol. - Plant.* 51:399-406.
- Navarro-Pineda FS, Baz-Rodríguez SA, Handler R and Sacramento-Rivero JC. (2016): Advances on the processing of *Jatropha curcas* towards a whole-crop biorefinery. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 54:247-269.

- Nejad ZD, Kim JW and Jung MC. (2017): Reclamation of arsenic contaminated soils around mining site using solidification/stabilization combined with revegetation. *Geosci. J.* 21:285-396.
- Novak JM, Lima I, Xing B, Gaskin JW, Steiner C, Das KC, Ahmedna M, Rehrah D, Watts DW, Busscher WJ and Schomberg H. (2009): Characterization of designer biochar produced at different temperatures and their effects on a loamy sand. *Ann. Environ. Sci.* 3:195-206.
- Ogura T, Date Y, Maskujane M, Coetzee T, Akashi K, and Kikuchi J. (2016): Improvement of physical, chemical, and biological properties of aridisol from Botswana by the incorporation of torrefied biomass. *Sci. Rep.* 6:28011.
- Olsen SR and Sommers LE. (1982): Phosphorus. In *Method of soil analysis Part 2-Chemical and Microbiological Properties*, 2nd ed.; Page AL, Miller RH and Keeney DR (Eds.), Agronomy No.9 American Society of Agronomy: Madison, USA: pp.403-430.
- Openshaw K. (2000): A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. *Biomass Bioenergy* 19:1-15.
- Oram NJ, van de Voorde TFJ, Ouwehand GJ, Bezemer TM, Mommer L, Jeffery S and Van Groenigen JW. (2014): Soil amendment with biochar increases the competitive ability of legumes via increased potassium availability. *Agri. Ecosystems Environ.* 191:92-98.
- Oskoueian E, Abdullah N, Saad WZ, Omar AR, Ahmad S, Kuan WB, Zolkifli NA, Hendra R and Ho YW (2011): Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Jatropha curcas* Linn. *J. Med. Plants Res.* 5:49-57.
- Pandey KK, Pragya N and Sahoo PK. (2011): Life cycle assessment of small-scale high-input *Jatropha* biodiesel production in India. *Appl. Energy* 88:4831-4839.
- Pandey VC, Singh K, Singh JS, Kumar A, Singh B and Singh RP. (2012):

- Jatropha curcas*: a potential biofuel plant for sustainable environmental development. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 16:2870-2883.
- Pandey VC, Bajpai O and Singh N. (2016): Energy crop in sustainable phytoremediation. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 54:58-73.
- Parawira W. (2010): Biodiesel production from *Jatropha curcas*: a review. *Sci. Res. Essays* 5:1796-1808.
- Porra RJ, Thompson WA and Kriedemann PE. (1989): Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 975:384-394.
- Quinn LD, Straker KC, Guo J, Kim S, Thapa S, Kling G, Lee DK and Voigt TB: (2015): Stress-tolerant feedstocks for sustainable bioenergy production on marginal land. *Bioenergy Res.* 8:1081-1100.
- Rajkovich S, Enders A, Hanley K, Hyland C, Zimmerman AR and Lehmann J. (2012): Corn growth and nitrogen nutrition after additions of biochars with varying properties to a temperate soil. *Biol. Fertil Soils* 48:271-284.
- Ramírez V, Martí-Herrero J, Romero M and Rivadeneira D. (2019): Energy use of *Jatropha* oil extraction wastes: pellets from biochar and *Jatropha* shell blends. *J. Cleaner Prod.* 215:1095-1102.
- Robertson SJ, Rutherford PM, López-Gutiérrez JC and Massicotte HB. (2012): Biochar enhances seedling growth and alters root symbioses and properties of sub-boreal forest soils. *Can. J. Soil Sci.* 92:329-340.
- Robinson BH, Leblanc M, Petit D, Brooks RR, Kirkman JH and Gregg PEH. (1998): The potential of *Thlaspi caerulescens* for phytoremediation of contaminated soils. *Plant Soil* 203:47-56.
- Rodriguez RR, Basta NT, Casteel SW, Armstrong FP and Ward DC. (2003): Chemical extraction methods to assess bioavailable arsenic in soil and

- solid media. *J. Environ. Qual.* 32:876-884.
- Sahoo PK and Das LM. (2009): Process optimization for biodiesel production from *Jatropha*, *Karanja* and *Polanga* oils. *Fuel* 88:1588-1594.
- Sarwar N, Imran M, Shaheen MR, Ishaque W, Kamran MA, Matloob A, Rehim A and Hussain S. (2017): Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: modifications and future perspectives. *Chemosphere* 171:710-721.
- Schollenberger CJ and Simon RH. (1945): Determination of exchange capacity and exchangeable bases in soil – ammonium acetate method. *Soil Sci.* 59:13-24.
- Selanon O, Saetae D and Suntornsuk W. (2014): Utilization of *Jatropha curcas* seed cake as a plant growth stimulant. *Biocatalysis Agric Biotech.* 3:114-120.
- Shahid M, Pourrut B, Dumat C, Nadeem M, Aslam M and Pinelli E. (2014): Heavy-metal-induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physicochemical changes in plants. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 232:1-44.
- Simard RR. (1993): Ammonium acetate-extractable elements. In *Soil sampling and method of analysis*. Carter MR (Eds.), Lewis publishers: Boca Raton and Ann Arbor, USA, London, UK, Tokyo, Japan: pp.39-42.
- Singh B, Singh BP and Cowie AL. (2010): Characterisation and evaluation of biochars for their application as a soil amendment. *Aust. J. Soil Res.* 48:516-525.
- Singh MK. (2014): Performance of winter crops in *Jatropha curcas* based intercropping system in semi-arid region on Haryana. *Forage Res.* 40:18-22.
- Slavich PG, Sinclair K, Morris SG, Kimber SWL, Downie A and Zwieten LV. (2013): Contrasting effects of manure and green waste biochars on the properties of an acidic ferralsol and productivity of a subtropical pasture.

- Plant Soil 366:213-227.
- Smith JL, Collins HP and Bailey VL. (2010): The effect of young biochar on soil respiration. *Soil Biol. Biochem.* 42:2345-2347.
- Sohi SP, Krull E, Lopez-Capel E and Bol R. (2010): A review of biochar and its use and function in soil. *Adv. Agr.* 105:47-82.
- Song W and Guo M. (2012): Quality variations of poultry litter biochar generated at different pyrolysis temperatures. *J. Anal. Appl. Pyrolysis.* 94:138-145.
- Speratti AB, Johnson MS, Sousa HM, Torres GN and Couto EG. (2017): Impact of different agricultural waste biochars on maize biomass and soil water content in Brazilian Cerrado Arenosol. *Agronomy* 7:49.
- Srinophakun P, Titapiwatanakun B, Sooksathan I and Punsuvon V. (2012): Prospect of deoiled *Jatropha curcas* seedcake as fertilizer for vegetables crops - a case study. *J. Agri. Sci.* 4:211-226.
- Steiner C, Teixeira WG, Lehmann J, Nehls T, Vasconcelos de Macêdo JL, Blum WEH and Zech W. (2007): Long term effects of manure, charcoal and mineral fertilization on crop production and fertility on a highly weathered Central Amazonian upland soil. *Plant Soil* 291:275-290.
- Tian Y, Sun X, Li S, Wang H, Wang L, Cao J and Zhang L. (2012): Biochar made from green waste as peat substitute in growth media for *Calathea rotundifolia* cv. *Fasciata*. *Scientia Horticulturae.* 143:15-18.
- Tucker BM. (1974): Laboratory procedures for cation exchange measurements on soils. CSIRO Aust. Div. Soils Tech. Pap. 23:1-46.
- van Eijck J, Romijn H, Balkema A and Faaij A. (2014): Global experience with *Jatropha* cultivation for bioenergy: an assessment of socio-economic and environmental aspect. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 32:869-889.
- Vurayai R, Nkoane B, Moseki B and Chaturvedi P. (2015): Assessment of heavy metal pollution/ contamination in soils east and west Bamangwato

- Concession Ltd (BCL) Cu/Ni mine smelter in Selebi-Phikwe, Botswana. *J. Biol. Environ. Sci.*, 7:111-120.
- Walkley A and Black IA. (1934): An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37:29-38.
- Wang L, Ji B, Hu Y, Liu R and Sun W. (2017): A review on in situ phytoremediation of mine tailings. *Chemosphere* 184:594-600.
- Wani SP, Chander G, Sahrawat KL, Rao ChS, Raghvendra G, Susanna P and Pavani M. (2012): Carbon sequestration and land rehabilitation through *Jatropha curcas* (L.) plantation in degraded lands. *Agri. Ecosyst. Environ.* 161:112-120.
- Wicke B, Smeets E, Watson H and Faaij A. (2011): The current bioenergy production potential of semi-arid and arid regions in sub-Saharan Africa. *Biomass Bioenergy* 35:2773-2786.
- Yadav SK, Juwarkar AA, Kumar GP, Thawale PR, Singh SK and Chakrabarti T. (2009): Bioaccumulation and phyto-translocation of arsenic, chromium and zinc by *Jatropha curcas* L.: impact of dairy sludge and biofertilizer. *Bioresource Tech.* 100:4616-4622.
- Yamada M, Malambane G, Yamada S, Suharsono S, Tsujimoto H, Moseki B and Akashi k. (2018): Differential physiological responses and tolerance to potentially toxic elements in biodiesel tree *Jatropha curcas*. *Sci. Rep.* 8:1635.
- Ye M, Li C, Francis G and Makkar HPS. (2009): Current situation and prospects of *Jatropha curcas* as a multipurpose tree in China. *Agrofor. Syst.* 76:487-497.
- Yousaf B, Liu G, Wang R, Imtiaz M, Zia-ur-Rehman M, Munir MAM and Niu Z. (2016): Bioavailability evaluation, uptake of heavy metals and potential health risks via dietary exposure in urban-industrial areas. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23:22443-22453.

- Yu OKY, Raichle B and Sink S. (2013): Impact of biochar on the water holding capacity of loamy sand soil. *Int. J. Energy Environ. Eng.* 4:44.
- Yusuf M, Fariduddin Q, Hayat S and Ahmad A. (2011): Nickel: an overview of uptake, essentiality and toxicity in plants. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 86:1-17.
- Zheng H, Wang Z, Deng X, Zhao J, Luo Y, Novak J, Herbert S and Xing B. (2013): Characteristics and nutrient values of biochars produced from giant reed at different temperatures. *Bioresource Tech.* 130:463-471.
- Zu Y, Li Y, Chen J, Chen H, Qin L and Schwartz C. (2005): Hyperaccumulation of Pb, Zn, and Cd in herbaceous grown on lead-zinc mining area in Yunnan, China. *Environ. Int.* 31:755-762.

第 10 章 博士論文摘要

トウダイグサ科の落葉低木であるジャトロファは、種子にバイオディーゼルを製造できる油分を多く含み、再生利用可能なエネルギー源として注目されている。ジャトロファによるバイオディーゼルの製造は、アフリカ貧困村等における地産地消型のエネルギー源として期待できるが、食糧の供給が十分ではない貧困地域において、耕作可能地への植林は適切とは言えない。一方、人間の産業活動の拡充や環境の悪化によって食糧耕作不適地は増えている。こうした問題を解決する手段としてジャトロファの荒廃地での栽培が期待される。ジャトロファを荒廃地に栽培することにより荒廃地を緑化するとともに、バイオマスを有効利用することで、経済的生産性を高めることが期待できる。こうした問題意識のもと、当論文ではジャトロファの食糧耕作不適地での栽培と廃棄バイオマス利用の可能性を検討した。

当論文ではまず、食糧耕作不適地、特に、重金属汚染土壌におけるジャトロファ栽培の可能性を検討した(2章)。ジャトロファとアカシアを、農作物生産に使われている土壌(FS)と、FSと比較して酸性かつ銅の含有量が58倍、ニッケルの含有量が14倍のボツワナ由来土壌(ACNS)で成長させ、生育状況を観察した。その結果、アカシアではFSで生育したものに比べACNSでは成長に阻害が生じたが、ジャトロファでは樹高、幹の径、若枝の長さ等の比較基準において統計的に有意な成長阻害は認められなかった。これらの結果からジャトロファは銅およびニッケル含有土壌での成長に耐性を示していることが示唆された。

次の実験では、銅およびニッケルを300 mg kg⁻¹までの異なる濃度で混入させた土壌でジャトロファを成長させ、高濃度の銅およびニッケルがジャトロファに及ぼす影響とジャトロファ植物内の蓄積量を分析した(3章)。その結果、ジャトロファは銅およびニッケルを高濃度で含む土壌においても、その成長を阻害されることなく成長することが確認された。また、ジャトロファは余剰なニッケルを根に蓄積するだけでなく、若枝や老化葉にも蓄積することが明らかになり、若枝や老化

葉を除去・回収することにより土壤中のニッケルを浄化できる可能性が示唆された。こうした実験結果から、ジャトロファは重金属汚染土壌、特にニッケル汚染土壌の緑化と土壌浄化に寄与できる可能性が示唆された。

次にジャトロファの廃棄バイオマスの有効利用に関する可能性を検討した(4章)。ジャトロファは栽培にあたって、落葉など不要物として扱われるバイオマスを多く生じる。落葉を、中古ドラム缶を利用した簡易炭化装置を用いて炭化し、ジャトロファ落葉炭を土壌改良剤および有機肥料として活用することができるか実験した。まず、酸性貧栄養下の土壌に施用してフダンソウを栽培し、葉面積、乾燥重量等を計測して植物の生育状態を観察したところ、落葉炭を3%、5%、10% (w/w) 施用した土壌で栽培したフダンソウはコントロール土壌に比較し、乾燥重量がそれぞれ、1.57, 1.88, 2.32倍重くなり、施用量と収量に正の相関が認められた。加えて、落葉炭を混入させることで土壌の保水力の向上などの効果が明らかになった。

次の生育実験では、ジャトロファ落葉炭を通常の野菜栽培用土壌に施用し、フダンソウとカラシナという2種類の葉菜の生育を評価した(5章)。その結果、落葉炭5% (w/w) 施用土壌では、フダンソウの地上部の乾燥重量はコントロールと比較して3.5倍重く、同じくカラシナは3.25倍重く、どちらも化学肥料 2g kg^{-1} を施肥したものと同等の成長を示した。これらの結果から、簡易炭化装置で製造した落葉炭は葉菜の収量増大に寄与し得ることが明らかになった。

これらの栽培結果を受けて、ジャトロファ炭の物理化学特性を分析した(6章)。落葉に加えて、剪定枝および幹を、4つの炭化温度(300, 400, 500, 600°C)で製炭し、製造したジャトロファ・バイオチャーの特性を評価した。結果として、一般的な傾向として、温度が上がるにつれ、pHおよび電気伝導率が増す一方、収量および陽イオン交換容量が減少すること、落葉炭は枝炭や幹炭と比較し、炭素量が低い一方、窒素量、リン酸、カリウム、マグネシウムの量が多いなどの特性が明らかになった。この結果から、土壌の状態や用途に合わせたジャトロファ・バイオチャーを炭化温度や組織を変えることで製造できることが示唆された。

当論文では、こうした結果から、ジャトロファを用いることで環境改善を促進するとともに、ジャトロファを再生利用可能エネルギー源として利用するにとどまらず、

ジャトロファ・バイオマスを有効利用することで持続性を持った農業に貢献できる可能性を示した。

Abstract

Jatropha curcas L. (Jatropha) belongs to the family Euphorbiaceae, and produces seed oil which can be converted to biodiesel. Therefore, Jatropha has gained attention as a source of renewable energy. It is expected to utilize Jatropha biodiesel as a local energy source, especially for rural villages that lack energy infrastructure. However, an issue of concern has been pointed out regarding the land competitiveness between food security and bioenergy production in farm lands. On the other hand, wastelands, especially that are contaminated with heavy metals, have been expanding due to the expansion of the human economic activities. It has been discussed that cultivating Jatropha in wastelands has a potential to solve these problems, by contributing the reforestation of the wastelands, and simultaneously by promoting the social development through industrialization of Jatropha biomass utilization. This thesis therefore focused on the following research, i.e., evaluating the Jatropha cultivation on heavy metal-contaminated soils, and the assessment on the possibility for utilizing waste material of Jatropha.

In the first study, tolerance of Jatropha in heavy metal-contaminated soil was evaluated (chapter 2). Above-ground growth of Jatropha and Acacia were monitored for 6 months in two different soil types: a typical field soil (FS) and acidic and Cu/Ni-rich soil (ACNS), the latter containing 58- and 14-fold higher levels of Cu and Ni respectively, than FS. Growth of Acacia was markedly inhibited in ACNS compared to plants grown in FS. In contrast, tree height, stem diameter, and length of emerged branches of Jatropha showed no significant difference in growth between FS and ACNS.

In the second study, pots trial was conducted in glasshouse using

soils with different amounts of nickel and copper supplementation, and the *Jatropha* growth and mineral accumulation pattern in *Jatropha* tissues were investigated (chapter 3). The result showed that there was no statistically difference in growth parameters among different heavy metal levels including control condition. Higher amount of nickel and copper was accumulated in roots than in shoot, and in the case of nickel, considerable amount of nickel was observed in the emerged branches and old leaves as well. These observations suggested the possibility of *Jatropha* as a means of phytoremediation, that can eliminate nickel from the contaminated soils by collecting the emerged branches and old leaves from the *Jatropha* trees.

In the third study, possibility of utilizing *Jatropha* waste biomass was addressed by manufacturing biochar from fallen leaves, and effect of the biochar application on vegetable production in acidic and undernourished soil was evaluated (chapter 4). *Jatropha* fallen leaves were pyrolyzed in a simple carbonizer which was made from an old oil drum, then applied to the acidic and undernourished soil, and the growth of a model vegetable Swiss chard was analyzed. Dry weights of the harvested shoots were 1.57-, 1.88-, and 2.32-fold higher in plants grown in soils containing 3%, 5%, and 10% biochar respectively, compared with non-applied soil. Moreover, water holding capacity of soil was improved when biochar was applied to soil. These observations suggested that *Jatropha* fallen leaves biochar can function as a soil conditioner and/or organic fertilizer that enhances vegetable production.

In the fourth study, effects of *Jatropha* fallen leaves biochar on vegetable production in soils from the horticultural field were evaluated (chapter 5). Consequently, improved growth performance was observed for the two model plants, Swiss chard and Mustard, in biochar-amended soils in comparison to the control soils. For instance, dry biomass weight of Swiss chard and Mustard in the biochar applied soil (5% w/w) was 3.50 and 3.25

times larger than the control, respectively, showed the equivalent effect with application of chemical fertilizer at 2 g kg^{-1} in concentration. These results again demonstrated that *Jatropha* fallen leaves biochar made by a simple carbonizer can be contributed to improve vegetable growth.

The final study, physicochemical properties of *Jatropha* biochar were investigated in details (chapter 6). Twelve kinds of *Jatropha* biochar were produced by the combination of three tissues (leaf, trunk, and branch) and four pyrolysis temperatures (300, 400, 500, and 600°C). Comparative physicochemical analyses revealed that, as a general trend, the pH and electrical conductivity were increased, and yield and cation exchange capacity were decreased as pyrolysis temperature increased. Leaf biochar had lower carbon and higher nitrogen, phosphate, potassium and magnesium contents than other tissue biochars, while trunk biochar had highest calcium content among all tissue biochars. These results suggested that specific combination of *Jatropha* tissues and pyrolysis temperature can be utilized for various agronomic needs.

Overall, this thesis suggested that *Jatropha* can be utilized not only for producing renewable energy, but also to contribute to the environmental problems resolution and the sustainable agricultural development.

第 11 章
本論文に関連する学会誌公開論文

第2章:

Title: Tolerance evaluation of *Jatropha curcas* and *Acacia burkei* to acidic and copper/nickel-contaminated soil

Authors: Konaka T, Ishimoto Y, Yamada M, Moseki B, Tsujimoto H, Mazereku C and Akashi K.

Journal: Journal of Environmental Biology 40 (5):1109-1114

Date: September, 2019.

第4章:

Title: Use of carbonized fallen leaves of *Jatropha curcas* L. as a soil conditioner for acidic and undernourished soil

Authors: Konaka T, Yabuta S, Mazereku C, Kawamitsu Y, Tsujimoto H, Ueno M and Akashi K.

Journal: Agronomy 9 (5):236 (DOI:10.3390/agronomy9050236)

Date: May, 2019.