

光強度がウチワサボテンの成長と バイオミネラル蓄積に及ぼす影響

堀部貴紀

Effect of light intensity on growth and biomineral accumulation in *Nopalea cochenillifera*

Takanori Horibe

Calcium oxalate (CaOx) crystals are insoluble salts that form when oxalic acid ($[\text{COOH}]_2$) combines with calcium ions (Ca^{2+}), leading to precipitation. Cacti are known to accumulate significant amounts of biominerals, including CaOx, within their stems, although the physiological functions of these accumulations remain largely unclear. In this research, we investigated the effects of light intensity on the growth and the amount of CaOx in cactus stems. Daughter cladodes developed from mother cladodes in all treatments. The speed of elongation growth of cladodes became high under strong light intensity, resulting in high fresh weight of daughter cladodes. Interestingly, the fresh weight of root was also high under high light intensity. With regards to CaOx amount, the amount became larger as light intensity became stronger. Thus, controlling the light environment is important for increasing the amount of CaOx in cactus stems. Some cacti, including *N. cochenillifera*, can reach heights of over 5 meters and weigh several hundred kilograms, making them a potential long-term carbon fixation resource. Due to their rapid growth rate and substantial biomass, they can be utilized for carbon fixation even in arid regions.

Keywords : Biomineralization, Cladodes, Carbon, LED, Environmental control

1. はじめに

サボテン科は約 130 属 1450 以上の種を含み、さらにコノハサボテン亜科、マイフェニア亜科、ウチワサボテン亜科、カクタス亜科の 4 つの亜科に分けられる¹⁾。ウチワサボテン亜科は約 20 属 300 種を含み、このうちの数種が食用に利用される。ウチワサボテンの利用の歴史は古く、少なくとも 8,000 年前には栽培が行われていたと考えられている²⁾。食用サボテンは、ウチワサボテンの若い葉状茎を可食部とし、野菜や加工品原料、家畜飼料として主に中南米や北アフリカなどの地域で利用されている。これらの食用にも利用されるウチワサボテンは高い生産性・健康機能性・環境ストレス耐性を併せ持っており、健康的な食品や家畜飼料として、また乾燥・高温・強光などストレス耐性のメカニズムを解明するモデル植物としても活用が期待される作物である。

生物によってつくられる鉱物をバイオミネラルと呼び、身近な例としてサンゴ、貝殻、真珠、甲殻類の外骨格、動物の骨、珪藻土などが挙げられる³⁾。サボテンの体内を観察すると、いたるところにバイオミネラルであるシュウ酸カルシウム (CaC_2O_4) の結晶が観察される。これまでの研究で、シュウ酸カルシウム結晶はほとんどすべてのサボテンで観察されており、多いものでは乾燥重量の約 80% をシュウ酸カルシウム結晶が占める種も報告されている^{4,5,6)}。しかしながら、サボテンにおけるシュウ酸カルシウム結晶の生理的役割はほとんど分かっていない。表皮付近の細胞に多く見られることから、動物や昆虫による食害の回避や、強烈な太陽光線からの防御などの役割があるのではないかと予測される⁷⁾。また近年、いくつかの植物では、シュウ酸カルシウム結晶が CO_2 の貯蔵庫として機能していることが明らかとなっている。体内にシュウ酸カルシウム結晶を含む、ホソアオゲイトウ (*Amaranthus hybridus*) やセキチク (*Dianthus chinensis*) は、乾燥した環境ではこれらの結晶がシュウ酸オキシダーゼという酵素によって分解されて CO_2 を放出し、光合成に利用されることが分かっている^{8,9,10)}。乾燥にさらされると、植物は気孔を閉じて水分が体内から流出するのを防ぐが、気孔を閉じると光合成に必要な CO_2 を大気から取り入れることができなくなる。そこでシュウ酸カルシウム結晶を CO_2 の貯蔵庫として利用することで、気孔を閉じた状態でも光合成を行なえるようにしているわけである。

シュウ酸カルシウム結晶は植物が根から吸収したカルシウムと空気中の CO_2 に由来する化合物である。また植物体中のシュウ酸カルシウム結晶は、植物体が枯死した後も土壤中に蓄積し、長期間安定して存在することが明らかとなっている³⁾。これらの性質から、サボテンは CO_2 の長期固定にも活用できる可能性があると考えられる。そこで本研究では、サボテンが体内に蓄積するバイオミネラル (シュウ酸カルシウム結晶) の含量調節技術の確立を目指し、光強度がサボテンの成長とシュウ酸カルシウム結晶蓄積に及ぼす影響を調査した。

2. 材料および方法

2.1 植物材料

本実験で使用したウチワサボテン (*Nopalea cochenillifera*) の茎節は、愛知県内のサボテン農家 (後藤サボテン) にて、定植後 3 ~ 4 年の個体から採取された (Fig.1)。採取した茎節の平均的なサイズは長さ 17 cm、横幅 7.5 cm、厚さ 1.2 cm であった。収穫された茎節は収穫後 1 時間以内に研究室に移送し、長さを均一にするため長さ 15 cm にカットされた。茎節は暗所、室温で 5 日間静置され、切断面が十分に乾燥した状態のものを実験に用いた。



Fig. 1 *Nopalea cochenillifera*.

2.2 栽培試験

茎節は赤玉土を詰めたプラスチック容器内に定植された。灌水は週に 1 度行われ、月に 1 度は市販の液体肥料 (OAT ハウス肥料 A 処方) を施与した。施与した液体肥料の電気伝導率 (EC) は 2.6 dS m^{-1} 、含有される各イオン濃度は以下の通りである (N-NO_3^- : 233 ppm, N-NH_4^+ : 23 ppm, P: 120 ppm, K: 405 ppm, Ca: 230 ppm, Mg: 60 ppm, Mn: 1.5 ppm, Cu: 0.03 ppm, Zn: 0.09 ppm, Mo: 0.03 ppm, Fe: 2.7 ppm)。光源には赤色 LED (ピーク波長: 660 nm)、緑色 LED (ピーク波長: 525 nm)、青色 LED (ピーク波長: 445 nm) を 1:1:1 の比率で照射したものを使用した (Fig.2)。また各光源の強度を調節することで、光合成光量子束密度 (PPFD) を 0, 9.4, 18.8, 37.5, 75, 150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ に設定した処理区を設けた。日長は明期 14 時間、暗期 10 時間とし、明期の温度を 30°C、暗期の温度を 20°C に設定した。栽培試験は 12 週間実施し、定植した茎節から発生した茎節 (娘茎節) の長さを毎週測定した。12 週経った時点で各茎節を収穫し、新鮮重を測定した。そ

の後茎節を温風乾燥機にて 85℃で 5 日間程度処理して乾燥させ、乾燥重量を測定した後、粉末破碎してシュウ酸カルシウム結晶含量の測定を行った。

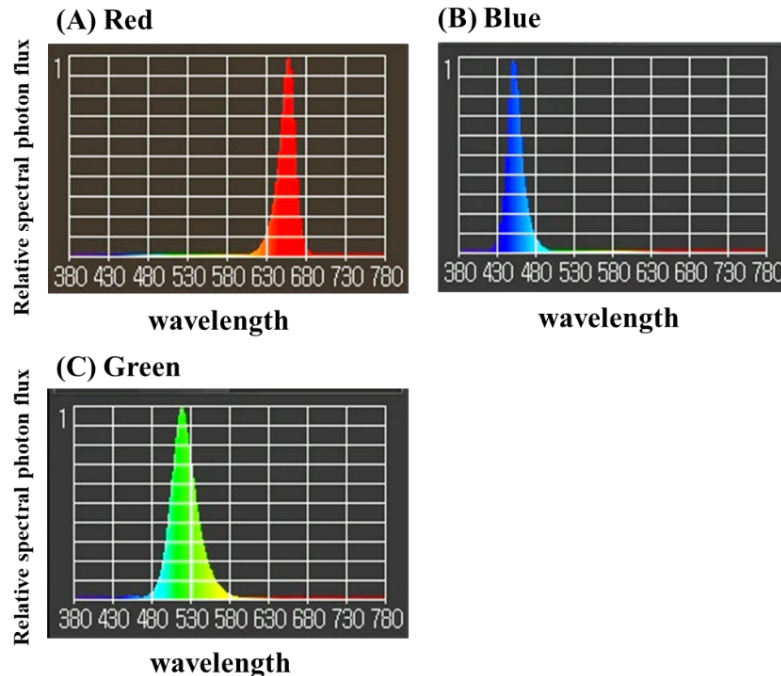


Fig. 2 The relative spectral photon flux distribution of the LED lights used in this experiment. (A) red light, (B) Blue light, (C) Green light.

2.3 不溶性シュウ酸含量の測定

サボテン茎節に含まれる不溶性シュウ酸（シュウ酸カルシウム結晶量）の分析は、既報の手法を一部改変して実施した¹⁾。茎節の乾燥粉末を水中（1.5 ml チューブ内）にて破碎し、遠心分離を行った。上澄み（可溶性シュウ酸）を捨て、沈殿物を不溶性シュウ酸濃度の測定に使用した。沈殿物に 2N の HCl を加え、混合物を 60℃ で 1 時間加熱して沈殿物中の不溶性シュウ酸を溶解した。次に混合物の pH を調整し（pH 5～7）に調節した。その後、市販のシュウ酸測定キット(Sigma, MAK315) を使用して、混合物に含まれるシュウ酸含有量（不溶性シュウ酸量）を測定した。

3. 結果と考察

ウチワサボテン (*N. cochenillifera*) は、定植された茎節の上部から娘茎節が発生し、このプロセスが繰り返されることで成長が行われる。全ての処理区において、処理開始 2～6 週間までには定植した茎節から娘茎節の発生が認められた (Fig.3)。発生した娘茎節は暗処理区（PPFD 0 区）を除いて実験終了日まで伸長成長を続け、娘茎節調は光強度の高い処理区で長くなる傾向が見られた (Fig.4)。暗処理区（PPFD 0 区）で発生した娘茎節は着色せず白色となったが、これは光が当たらなかったことでクロロフィルが合成されなかったためと思われる。発生した娘茎節の新鮮重は、光強度の増加に伴って大きくなり、PPFD 0 区で最小、PPFD 150 区で最大の値が得られた (Table 1)。一方、定植に使用した親茎節の新鮮重には処理区間で有意な差は認められなかった。また興味深いことに、光強度が強くなるにつれて、親茎節から発生した根の新鮮重において増加が確認された。

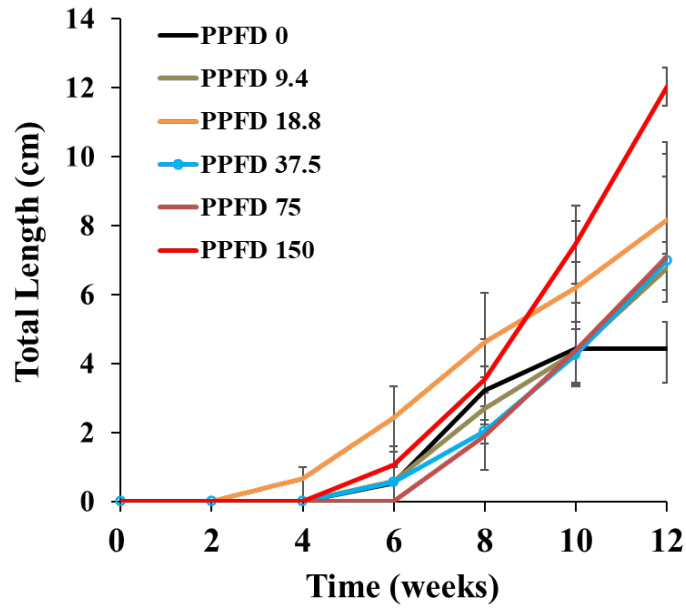


Fig. 3. The total length of the daughter cladodes. The treatments consisted of red light with PPFD 0, 9.4, 18.8, 37.5, 75 and 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. The values are means $\pm$ SE (n = 4).

(A) (B) (C) (D) (E) (F)



Fig.4. *Nopalea cochenillifera* cladodes 2 weeks after treatment. (A) light with PPFD 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (PPFD 0), (B) PPFD 9.4 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (PPFD 9.4), (C) PPFD 18.8 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (PPFD 18.8), (D) PPFD 37.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (PPFD 37.5), (E) PPFD 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (PPFD 75), (F) PPFD 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (PPFD 150).

Table. 1 Fresh weight of plant organs in each treatment.

Plant organ	Treatment	FW(g)
Daughter cladode	PPFD 0	0.8±0.2 a
	PPFD 9.4	2.9±0.5 b
	PPFD 18.8	4.8±1.4 c
	PPFD 37.5	4.8±1.1 c
	PPFD 75	9.8±1.6 d
	PPFD 150	15.6±1.7 e
Mother cladode	PPFD 0	43.1±3.1 a
	PPFD 9.4	46.7±3.9 a
	PPFD 18.8	44.9±3.2 a
	PPFD 37.5	42.5±2.6 a
	PPFD 75	41.6±2.2 a
	PPFD 150	43.5±1.6 a
Roots	PPFD 0	0.08±0.01 a
	PPFD 9.4	0.27±0.07 b
	PPFD 18.8	0.45±0.06 c
	PPFD 37.5	0.68±0.11 d
	PPFD 75	1.02±0.06 e
	PPFD 150	1.61±0.18 f

Different letters indicate significant differences among treatments in same plant part (least significant difference test, $P < 0.05$).^z Average ± SE (n=4).

これらの結果は、光の強度や波長がウチワサボテンの娘茎節の成長と形態形成に強く影響することを示唆している。植物の茎の伸長成長は、温度、光環境、土壤中養分量など、多くの環境条件の影響を受ける^{12, 13)}。特に光は植物にとって不可欠であり、その波長と強度は植物の成長と形態形成に影響を及ぼす^{14, 15)}。例えば青色光による茎の成長抑制は多くの植物種で観察されている^{16, 17)}。シロイヌナズナでは、青色光はクリプトクロムを介したシグナル伝達経路を介して胚軸の成長を阻害することが報告されており、これは青色光への曝露による胚軸中 GA₄濃度の低下が主な要因であることが明らかになっている¹⁸⁾。サボテンにおいてもこれまでの研究で、光の強度がサボテンの伸長成長と茎節内のリンゴ酸含有量に影響することが示されている^{19, 20)}。

本実験では、光強度が茎節中のバイオミネラル量（シュウ酸カルシウム結晶量）に及ぼす影響も調査した（Table 2）。その結果、娘茎節に含まれるシュウ酸カルシウム結晶濃度（乾燥重 1g 当たりのシュウ酸カルシウム結晶量）は光強度の上昇に伴い有意に減少したが、娘茎節に含まれる総量は光強度の上昇に伴い有意に増加した。これは光強度の上昇に伴い娘茎節の重量が増加したためと考えられる（Table

1)。一方、親茎節においてはシュウ酸カルシウム結晶濃度・総量ともに処理区間で有意な差は観察されなかった。

Table. 2 Amount of insoluble oxalate in cladodes in each treatment.

Plant organ	Treatment	Insoluble oxalate concentration (mg/gDW)	Insoluble oxalate amount (mg)
Daughter cladode	PPFD 0	59.7±2.3 a	1.6±0.06 a
	PPFD 9.4	46.8±2.8 b	6.1±0.36 b
	PPFD 37.5	41.3±1.3 c	8.9±0.51 c
	PPFD 150	36.1±2.8 d	36.1±2.8 d
Mother cladode	PPFD 0	65.8±6.4 a	159.3±16.3 a
	PPFD 9.4	63.4±4.1 a	167.3±11.1 a
	PPFD 37.5	61.4±5.8 a	163.8±15.6 a
	PPFD 150	63.2±3.9 a	168.6±10.6 a

Different letters indicate significant differences among treatments in same plant part (least significant difference test, $P < 0.05$). ^z Average ± SE (n=4).

シュウ酸カルシウム結晶は植物中に針状、三角柱状、ドゥルーズ状など、さまざまな形で存在することが知られている²¹⁾。これまでの著者らの研究で⁷⁾、*N. cochenillifera* の茎節に含まれるシュウ酸カルシウム結晶のほとんどがドゥルーズ状であり、茎節内の全体に観察されるが、特に表皮組織に豊富に存在することが分かっている。これらの結晶の形態は、その機能に関連していると考えられている。例えば、針状のシュウ酸カルシウム結晶は、針状結晶と呼ばれ、昆虫などの食害回避に機能していると考えられている。具体的には、針状結晶が昆虫の組織を貫通することで、植物体に含まれる防御物質の効果を高めることが知られており、このプロセスは「needle-effect (針効果)」と呼ばれている²²⁾。しかしながら、ウチワサボテンの茎に含まれるドゥルーズ状のシュウ酸カルシウム結晶の役割についてはほとんど分かっていない。表皮組織中のシュウ酸カルシウム結晶濃度が高いこと⁷⁾や、本実験での高い光強度下で含有量が増加したことを考慮すると、他の植物で報告されているように³⁾、これらの結晶は植物体へのストレスとなる強光を反射して防御する役割を果たしている可能性が考えられる。これまでに、シュウ酸カルシウム結晶の含有量は、土壌の栄養状態や水の利用可能性などの環境要因に強く影響されることが示されている^{23,24)}。著者の調べた限り、サボテンに含まれるシュウ酸カルシウム結晶量に対する光の作用を評価した研究は存在しない。従って本研究は、光環境制御によりサボテンのシュウ酸カルシウム結晶含量を制御できる可能性を示唆する最初の報告である。

土壌中のシュウ酸栄養細菌は、植物由来のシュウ酸カルシウム結晶を代謝して、非常に安定した ($10^2 \sim 10^6$ 年持続する) 炭酸カルシウム (CaCO_3) を生成する^{8, 9, 25)}。シュウ酸を炭酸カルシウムなどの無機炭酸塩に変換するこの代謝経路は、「シュウ酸-炭酸塩経路 Oxalate-Carbonate Pathway (OCP)」として知られている^{10, 26, 27, 28)}。この OCP は、大気中の CO_2 を減らし、土壌の炭素含有量を高める上で重要な役割を果たすと考えられている^{10, 26, 27, 28)}。本実験で使用了 *N. cochenillifera* を含む一部のサボテンは、高さ 5 m 以上、重さ数百 kg に成長し、相当量のシュウ酸カルシウム結晶を蓄積する。そのためこれらのサボテンは乾燥地域から湿潤地域までさまざまな気候に適応できる長期的な炭素固定源として機能する可能性があると考えられている。本実験により、サボテン中のシュウ酸カルシウム結晶量は光な

どの外的な刺激により含量が大きく変化することが示された。環境制御技術によってサボテンに含まれる シュウ酸カルシウム結晶量を増やすことができれば、炭素固定源としてのサボテンの可能性はさらに高まると思われる。

4. まとめと今後の展望

本研究では、光強度がウチワサボテン茎節の成長と茎節に含まれるバイオミネラル（シュウ酸カルシウム結晶）量に及ぼす影響を調査した。その結果、光強度が上昇するにつれて茎節の成長や発根が促進され、また茎節内に蓄積するシュウ酸カルシウム結晶量も増加することが明らかとなった。サボテンの成長やバイオミネラルの蓄積には、光強度の他にも灌水頻度や気温、培地の栄養成分なども強く影響することが予想される。サボテンのライフサイクルにおけるバイオミネラルの生理学的役割を明らかにし、その蓄積を増やす技術を開発するには、さらなる研究が必要である。サボテンの炭素固定源として活用を進めるため、今後も環境制御によるバイオミネラルの調節技術の開発を進めたい。

謝辞

本研究は中部大学先端研究センター 2024 年度プロジェクト 2 の援助を受け遂行されたものであり、ここに謝意を表します。

参考文献

- 1) Hernández-Hernández, T., Hernández, H.M., De-Nova, J.A., Puente, R., Eguiarte, L.E. and Magallón, S. (2011). Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *Am. J. Bot.* 98, 44–61.
- 2) Food and Agriculture Organization of the United Nations and the International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. Crop ecology cultivation and uses of cactus pear. (2017).
- 3) Lawrie, N.S., Cuetos, N.M., Sini, F., Salam, G.A., Ding, H., Vancolen, A., Nelson, J.M., Erkens, R.H.J., and Perversi, G. (2023). Systematic review on raphide morphotype calcium oxalate crystals in angiosperms. *AoB Plants*. 15, plad031. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plad031>.
- 4) Cheavin, W.H.S. (1938). The crystals and cystolites found in plant cells. part 1: crystals. *Microscope*. 2, 155–158.
- 5) Hartl, W.P., Klapper, H., Barbier, B., Ensikat, H.J., Dronskowski, R., Müller, P., Ostendorp, G., Tye, A., Bauer, R., and Barthlott, W. (2007). Diversity of calcium oxalate crystals in Cactaceae. *Can. J. Bot.* 85, 501–517 <https://doi.org/10.1139/B07-046>
- 6) De la Rosa-Tilapa, A., Maceda, A., and Terrazas, T. (2020). Characterization of biominerals in cactaceae species by FTIR. *Crystals*. 10, 432; <https://doi.org/10.3390/cryst10060432>
- 7) Horibe, T., Mamiya, M., Miyashita, Y. and Yamaguchi, R. Large amounts of calcium oxalate crystals accumulate in epidermis of edible cactus (*Nopalea cochenillifera*). (2024). *Acta Hort.* 1404, 1149–1156.
- 8) Cailleau, G., Braissant, O., and Verrecchia, E.P. (2011). Turning sunlight into stone: the oxalate-carbonate pathway in a tropical tree ecosystem. *Biogeosci. Discuss.* 8, 1755–1767 <https://doi.org/10.5194/bg-8-1755-2011>
- 9) Cailleau, G., Mota, M., Bindschedler, S., Junier, P., and Verrecchia, E.P. (2014). Detection of active-oxalate-carbonate pathway ecosystems in the Amazon Basin: global implications of a natural potential C sink. *Catena* 116, 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2013.12.017>

- 10) Syed, S., Buddolla, V., and Lian, B. (2020). Oxalate carbonate pathway-conversion and fixation of soil carbon-a potential scenario for sustainability. *Front. Plant Sci.* 11, 591297. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.591297>
- 11) Nakata, P.A., and McConn, M.M. (2000). Isolation of *Medicago truncatula* mutants defective in calcium oxalate crystal formation. *Plant Physiol.* 124, 1097–1104. <https://doi.org/10.1104/pp.124.3.1097>
- 12) Hidaka K., Okamoto A., Araki T., Miyoshi Y., Dan K., Imamura H. and Kitano M. (2014). Effect of photoperiod of supplemental lighting with light-emitting diodes on growth and yield of strawberry. *Environmental Control in Biology* 52, 63–71.
- 13) Shibutani S. and Kinoshita K. (1968). Studies on the ecological adaptation of lettuce. III. The ecological adaptation of Great Lakes 54 in the growth cabinet in which the temperature is controlled. Scientific reports of the Faculty of Agriculture, Okayama University 32, 25–34. [in Japanese with English abstract]
- 14) Mortensen L.M. and Strømme E. (1987). Effects of light quality on some greenhouse crops. *Scientia Horticulturae* 33, 27–36.
- 15) Yanagi, T., Yachi T., Okuda N. and Okamoto K. (2006). Light quality of continuous illuminating at night to induce floral initiation of *Fragaria chiloensis* L. CHI-24-1. *Scientia Horticulturae* 109, 309–314.
- 16) Kigel J. and Cosgrove D.J. (1991). Photoinhibition of stem elongation by blue and red light. Effects on hydraulic and cell wall properties. *Plant Physiology* 95: 1049–1056. DOI: 10.1104/pp.95.4.1049.
- 17) Maas F.M., Bakx E.J. and Morris D.A. (1995). Photocontrol of stem elongation and dry weight partitioning in *Phaseolus vulgaris* L. by the blue-light content of photosynthetic photon flux. *Journal of Plant Physiology* 146, 665–671.
- 18) Zhao X., Yu X., Foo E., Symons G.M., Lopez J., Bendehakkalu K.T., Xiang, J., Weller, J.L., Liu, X., Reid, J.B. and Lin, C. (2007). A study of gibberellin homeostasis and cryptochrome-mediated blue light inhibition of hypocotyl elongation. *Plant Physiology* 145, 106–118.
- 19) Littlejohn R.O. and Ku M.S.B. (1985). Light and temperature regulation of early morning crassulacean acid metabolism in *Opuntia erinacea* var *columbiana* (Griffiths) L. Benson. *Plant Physiology* 77, 489–491.
- 20) North G.B., Lin Moore T. and Nobel P.S. (1995). Cladode development for *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae) under current and doubled CO₂ concentrations. *American Journal of Botany* 82, 159–166.
- 21) Raman, V., Horner, H.T., and Khan, I.A. (2014). New and unusual forms of calcium oxalate raphide crystals in the plant kingdom. *J. Plant Res.* 127, 721–730. <https://doi.org/10.1007/s10265-014-0654-y>
- 22) Konno, K., Inoue, T.A., and Nakamura, M. (2014). Synergistic defensive function of raphides and protease through the needle effect. *PLOS ONE*. 9, e91341. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091341>.
- 23) Islam, M.N., and Kawasaki, M. (2015). Evaluation of calcium regulating roles of guttation and calcium oxalate crystals in leaf blades and petioles of hydroponically grown eddo. *Plant Prod. Sci.* 18, 11–21 <https://doi.org/10.1626/pp.18.11>
- 24) Gómez-Espinoza, O., González-Ramírez, D., Méndez-Gómez, J., Guillén-Watson, R., Medaglia-Mata, A., and Bravo, L.A. (2021). Calcium oxalate crystals in leaves of the extremophile plant *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (Caryophyllaceae). *Plants (Basel)*. 10, 1787 <https://doi.org/10.3390/plants10091787>
- 25) Pongrac, P., Serra, T., Castillo-Michel, H., Vogel-Mikus, K., Arcon, I., Kelemen, M., Jencic, B., Kavcic, A., Villafort Carvalho, M.T. and Aarts M.G.M. (2018). Cadmium associates with oxalate in calcium oxalate crystals and competes with calcium for translocation to stems in the cadmium bioindicator *Gomphrena claussenii*. *Metallomics* 10, 1576–1584. <https://doi.org/10.1039/C8MT00149A>
- 26) Braissant, O., Cailleau, G., Aragno, M., and Verrecchia, E.P. (2004). Biologically induced mineralization in the tree *Milicia excelsa* (Moraceae): its causes and consequences to the environment. *Geobiology* 2, 59–66 <https://doi.org/10.1111/j.1472-4677.2004.00019.x>
- 27) Cailleau, G., Braissant, O., Dupraz, C., Aragno, M., and Verrecchia, E.P. (2005). Biologically induced accumulations of CaCO₃ in orthox soils of Biga, Ivory Coast. *Catena* 59, 1–17 <https://doi.org/10.1016/j.catena.2004.06.002>

- 28) Rowley, M. C., Estrada-Medina, H., Tzec-Gamboa, M., Rozin, A., Cailleau, G., Verrecchia, E. P. and Green, I. (2017). Moving carbon between spheres, the potential oxalate-carbonate pathway of *Brosimum alicastrum* Sw.; Moraceae. *Plant Soil* 412, 465–479 <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3135-3>