

課題名 E-0905 バイオ燃料農業生産を基盤とした持続型地域社会モデルに関する研究

課題代表者名 久留主泰朗（茨城大学農学部資源生物科学科分子微生物工学研究室）

研究実施期間 平成21～23年度

累計予算額 117,292 千円（うち23年度 36,401千円）
 予算額は、間接経費を含む。

研究体制

- （1）食料経済リスク低減型燃料作物の開発・栽培に関する研究（茨城大学）
- （2）農地オンサイト型バイオ燃料生産系システムの開発に関する研究（茨城大学）
- （3）食料安全保障とバイオ燃料生産の両立を図る農業システム解析（茨城大学）

研究概要

1. はじめに（研究背景等）

我が国は「京都議定書」において、2008年から2012年までの間に温室効果ガス排出量を1990年比6%削減することを目標とし、2002年に決定された「地球温暖化対策推進大綱」のもと様々な政策を展開してきた。その一環として2002年の「バイオマス・ニッポン総合戦略」において、国産バイオマス由来の輸送用燃料の利用促進を図るため、①サトウキビなど国産農産物等を原料としたエタノール利用の実例の創出、②原料となる農産物等の安価な調達手法の導入や関係者の協力体制の整備、③高バイオマス量を持つ農作物の開発・導入や木質バイオマス等からの効率的なエタノール生産技術の開発、低コスト生産技術の開発が提唱された。その後、さらにこれらの取り組みをより一層強化すべく、2009年には温室効果ガスを同じく1990年比で25%削減することを目標とし、「チャレンジ25」キャンペーンが展開されてきた。一方、第4期科学技術基本計画では、国家戦略の柱として「グリーン・イノベーション」が推進されることになり、自然共生社会の実現、温暖化への適応や低炭素社会の実現に向け、環境先進都市・地域の構築が急務となってきた。

近年、北米や南米諸国などで食料作物であるサトウキビやトウモロコシを原料としたバイオエタノール生産が活発である。米国では、トウモロコシ国内生産量の20%以上がバイオエタノール生産に利用された結果、家畜用の飼料価格が上昇し、そのため世界的な畜産品の価格上昇を招いている。また、バイオディーゼル原料への転作のため栽培面積が減少したダイズにも価格上昇が生じており、非食料作物原料へのシフトが必要視されている。

さらに、CO₂吸収に関して森林が大きな役割を担っているが、自然林を破壊し栽培を行うアブラヤシ等は、温室効果ガスの低減効果にも大きな課題が生じている。アカシアやユーカリ等の木質バイオマス等からのエタノール生産技術開発も同様である。特に熱帯雨林では、パームオイルやパルプの原料を生産するプランテーションの急速な拡大・開発に伴う広範囲の森林伐採が問題となっている。元来、この地域の森林は腐食層が貧弱なため土壌は酸性化し植物の生育に適さない状態になりやすい。再生のためには、土壌改善、樹種の選定など、技術的にも、資金・技術的にも困難な課題を抱えている。一方、世界におけるCO₂の産業排出量は、1位米国、以下中国、ロシア、日本の順である（エネルギー・経済統計要覧2005年版）が、世界21位のインドネシアが、これら熱帯泥炭地からの排出量を含めると、ロシアを抜いて世界3位となる（国際湿地保全連合）。

以上のことから、バイオ燃料作物を選択する際の重要な視点として、食料生産・経済と競合しないこと、そして環境問題を生じない持続可能な生産であることが極めて重要である。

2. 研究開発目的

本研究は、地域社会の持続性と自立性に資するバイオ燃料の生産と利用の地域システムを構築し、地域社会での環境影響と有効性評価を行うことを目的とする。そのため、本研究ではバイオの原料として非食料作物である「スイートソルガム」に着目し、耕作放棄地を利活用して、栽培から収穫・バイオ燃料生産・

残渣利用までのプロセスを開発する。そして、食料安全保障とバイオ燃料生産の両立を図る農業システムの評価を行う。具体的には以下の3つのサブテーマで構成される。

(1) 食料経済リスク低減型燃料作物の開発・栽培に関する研究
ネ科植物であるスイートソルガムの栽培管理方法を検討し、効率的安定生産技術を確立する。また、アルコール原料となる糖の含量が増大したスイートソルガムの開発およびスイートソルガムに共生し栄養供給の働きを担う菌類を用いた生産性向上を図り、粗放的でも可能な栽培方法の確立を目指す。

(2) 農地オンサイト型バイオ燃料生産系システムの開発に関する研究

スイートソルガムの搾汁液中の糖類と酵母を用いて効率的にエタノールを生産する方法を確立する。また、スイートソルガム搾りかす残渣の効率的分解条件を検討し、二次発酵への再利用と家畜飼料への利用を図り、持続可能なバイオ燃料生産システムの確立を目指す。さらに、スイートソルガム搾汁液を用いて次世代バイオ燃料であるブタノールを効率的に生産する方法を開発する。

(3) 食料安全保障とバイオ燃料生産の両立を図る農業システム解析

上記(1)のスイートソルガム生産の環境負荷の定量化と生産コストの算定によりコスト面を評価し、また上記(2)のエネルギー変換効率を元に、エネルギー生産量の試算によりエネルギー生産面を評価する。そして、地域におけるバイオ燃料生産システム導入による代替エネルギーの効果を経済的に評価するモデルシミュレーションを実施し、バイオ燃料作物の経済・社会影響評価を行う。

3. 研究開発の方法

(1) 食料経済リスク低減型燃料作物の開発・栽培に関する研究

スイートソルガムの糖収量におよぼす伸長節間数の影響については本学内の圃場で栽培試験を行った。最適品種の探索には市販品種を中心に、ソルゴー型ソルガム9品種、子実型ソルガム1品種、スーダン型ソルガム1品種およびスーダングラス1品種を供試した。特に、供試品種として、中生の高糖分ソルゴー (FS501)、極晩生のビッグシュガーソルゴー (FS902)、晩生のスーパーシュガー (KCS105) を用いた。バイオアルコール生産に適した品種の選抜と耕種概要確立のため、播種時期、施肥方法、収穫時期を検討した。加えて省力・低コスト栽培条件確立に向けて、施肥量の影響、無除草栽培の検討を行なった。高次倍数体の開発には、材料としてスイートソルガムの高糖含量純系品種SIL-5を用いた。染色体倍加薬剤として、0.01または0.1%濃度のコルヒチンを用い、倍加試薬の濃度、処理時間、処理方法、倍加試薬を処理する生育ステージを検討した。また、共生菌を用いた安定生産技術の開発には、最適栄養条件の検討を、*Phialocephala fortinii*を用いてスイートソルガムの栽培を行った。栽培後、地上部の乾燥重量、葉緑素を対照区と比較した。また、エンドファイト接種用培養土を作成しスイートソルガムを植え、エンドファイトを接種し、宿主根の横断切片観察および植物バイオマスの測定により行った。さらに、低温時に起きるスイートソルガムの生育停滞を克服するため、共生菌である根部エンドファイト (DSE) の選抜を行なった。さらに選抜されたDSEとスイートソルガムとの共生と環境条件との関係性について調査した。

(2) 農地オンサイト型バイオ燃料生産系システムの開発に関する研究

エタノール生産条件については、スイートソルガムの3品種 (FS902、FS501、およびKCS105) の搾汁液を、酵母は *Saccharomyces cerevisiae* NBRC 0216 (1) および茨城県工業技術センターから分与されたHitachi株の2株を使用し、エタノール収率と糖消費率を求めた。繰り返し回分発酵についても上記2株を使用した。スイートソルガム搾りかすの処理方法として、蒸煮・爆砕処理についてはバッチ式蒸気爆砕装置を用い、サイレーズ調製については雪印種苗(株)製の乳酸菌 (*Lactobacillus rhamnosus*) パウダーと雪印種苗(株)製のセルラーゼ (*Acremonium cellulolyticus* および *Trichoderma viride*由来) パウダーを使用した。また、搾汁後のスイートソルガム残渣を切断・乾燥させたものをコントロールサンプル、蒸煮・爆砕処理によるサンプルとは、切断した残渣をバッチ式蒸煮・爆砕装置に投入し、バッチ内の温度を220度まで昇温させて比較した。さらに、保持時間による繊維の解繊具合を評価するため、220°Cに到達後、保持0時間、保持1時間、保持3時間後に、圧力を解除後、それぞれ回収したものを、乾燥粉碎したもの (処理0h、処理1h、処理3h) を用いて実施した。ブタノール生産菌株の分離は、スイートソルガム栽培畑地土壌から行い、分離株の同定は16SリボソームRNA遺伝子を解析して調べた。ブタノール馴化培養によるブタノール高生産株の選抜と生産条件の最適化は、土壌から分離したSBP1株とSBP2株用いて行った。エタノール及びブタノール生産に関する生化学的・発酵工学的データベースを構築するために、スイートソルガムの品種と糖の利用性について解析した。また、ブタノール発酵ではバッチ培養、流加培養、連続培養といった培養法が行われている。連続培養法の一つであるケモスタットは、特定の栄養基質を増殖制限因子として細菌の増殖速度を制御した培養を行う方

法で、pH、温度、増殖速度などの培養条件をコントロールでき、代謝の変化を詳細に解析することができることから、ケモスタット培養法を用いてpH、糖濃度、酵母エキス濃度の3因子を変化させ、代謝産物の変化を解析した。

(3) 食料安全保障とバイオ燃料生産の両立を図る農業システム解析

本サブテーマでは、耕作放棄地におけるスイートソルガム栽培による分散型システムのエネルギー、経済評価、環境評価を行った。分散型システムは規模が小さいためバイオエタノールの生産について効率的とは言い難いが、それでもエネルギーおよびコストにおいてメリットが出るのであれば、さらに耕作放棄地対策としての効果や環境負荷が少なくすむというメリットを持つため、循環型エネルギー利用の技術として検討する価値のあるシステムである。研究の対象地としたのは、茨城県南部のA町で、都市近郊の平地農業地域で、耕作不便、農家の高齢化等の原因により、耕作放棄地の増加が問題となっている。農業人口を年齢別にみると、40～64歳が37%、65以上が56%と、全体の約9割が40歳以上である。耕作放棄地は耕地面積1haに対し、5aの密度で存在し、広く、薄く分布している。これにより、農地の荒廃、地域の水利システムに支障をきたすなど、農業生産に影響を与えている。また、景観の悪化、不法投棄の増加なども危惧される。平地農業地域の耕作放棄地は中山間地域と比較して、荒廃が軽度のもので多い一方で、分散的に存在しているため対策が立てにくい。そこで、分散状況の把握のため、A町における耕作放棄地のGISデータを作成した。A町の耕作放棄地の分布を町役場から入手した耕作放棄地状況図と土地利用図（国土地理院）をGIS上で編集し、耕作放棄地の分布のみを表示したものである。分析はこの耕作放棄地分布図を基に行った。

システムのエネルギー評価にあたってはLCA（Life Cycle Assessment）を行った。LCAはインベントリを求め、システム内の工程ごとにエネルギー、GHG（温室効果ガス）排出量を積み上げることで求めた。Fig. 1にLCAのインベントリ分析の対象システムを示す。本システムの概要は、A町に存在する全ての耕作放棄地369haにてスイートソルガムを栽培し、設定したプラント（仮想的に設定したため茨城大学農学部内とした）に運搬し、そこでバイオエタノール製造、業者への販売を行うというものである。このバイオエタノール生産システムを3つのプロセスに大別し、各プロセスでのエネルギー投入量、CO2排出量を算出する。3つのプロセスとは、①スイートソルガム栽培プロセス、②運搬プロセス、③バイオエタノール製造プロセス、の栽培から製造までで、販売はシステムの境界外とした。スイートソルガム栽培プロセスにおけるシステムの時間的な境界は耕作放棄地における耕起から収穫までとした。栽培は1年に1作行うことを想定し、できるだけ粗放的管理で行うことを前提とした。運搬プロセスにおけるシステム境界は栽培したスイートソルガムを、地域に分布する各耕作放棄地から後述する仮想プラントまで運搬するところまでとした。仮想プラントでのバイオエタノール製造におけるエネルギー投入量は、スイートソルガムの搾汁残渣（バガス）を燃焼することによってまかなうと想定した。

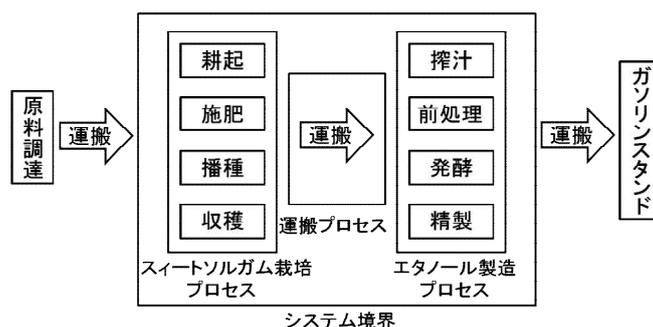


Figure 1 インベントリ分析対象システム

4. 結果及び考察

(1) 食料経済リスク低減型燃料作物の開発・栽培に関する研究

栽培制御研究については、播種日が伸長節間数におよぼす影響は品種によって異なり、晩生品種は播種日の影響を強く受け、糖含有量の増減にも強い影響を受けること、糖の多収栽培には茎全体の糖濃度を高めるための栽培・収穫基準が必要であること等が明らかになった。また、ソルガム12品種を供試して茨城県南部地域におけるスイートソルガム最適品種の選抜を試みた結果、糖収量が高く、収穫時期が適当なスーパーシュガー、クミアイソルガムハチミツ、甘味ソルゴの3品種が有望と考えられた。また、耕種条件の検討を行い、6月上旬に播種、11月上旬に収穫するのが適当と考えられた。さらに、施肥量と除草管理が糖収量へおよぼす影響を調査した結果、施肥量は窒素、リン酸、カリウム

それぞれ12.0、10.7、12.0 gm^{-2} で高収量が得られること、この施肥量は栽培地による変動が小さく、安定的な収量が得られることが明らかになった。慣行栽培との比較で無除草栽培の糖収量を比較したところ、7月に播種すると雑草の影響があまりなく、栽植密度を高くすることにより収量が増加することが認められた。

スイートソルガムの高次倍数体開発の可能性を検討した結果、染色体倍加個体を学界ではじめて作出することができた。また、コルヒチンよりもオリザリンが低濃度・短時間処理で致命的な薬害をおよぼすことが明らかになった。さらに、スイートソルガムの倍数体作出を行なったところ、幼植物の葉を切りつめてからコルヒチン水溶液に浸漬すると茎基部の生長点に倍加試薬が浸入しやすいこと、減圧下でコルヒチン水溶液に浸漬すると薬液の茎基部への浸入を促進することが明らかになり、生存個体の倍加効率は向上し2個体の混数体が得られ、そのうち1個体は開花し、自殖種子を得ることに成功した。

共生菌（根部エンドファイト）を用いた安定生産技術を検討した結果、低温条件では *Phialocephala fortinii*を付与することによりバイオマス量および葉緑素量が増加することが、また窒素源として有機態窒素がバイオマス増加に有効であることが明らかになった。以上の結果はいずれも新知見である。初期生育時の低温によるスイートソルガム個体の生育遅延を改善するため、共生菌エンドファイトの有効性を検討した結果、低温栽培条件下でスイートソルガムの地上部および地下部の生育を促進する *Veronaeopsis simplex*を選抜した。これらDSEの環境に対する反応を解析した結果、スイートソルガムは、13°Cでは *P. fortinii*、23°C及び30°Cでは *V. simplex*と共生関係を結ぶことでより大きなバイオマス量を獲得することができることが明らかとなった。加えてこれらDSEはスイートソルガムのカドミウム耐性を高めることも明らかになった。

（2）農地オンサイト型バイオ燃料生産系システムの開発に関する研究

スイートソルガム（糖含量およそ10%）3品種を原料とし、アルコール発酵に適した酵母の選抜および発酵条件の検討を行った結果、試験したスイートソルガム3品種の内、FS902のみで良好な酵母の生育が確認され、30°C、3日間の発酵で糖に対する変換効率が80%以上と非常に良好なエタノール生成量であり、酵母とスイートソルガムの組合せとしてはHitachi株およびFS902、発酵時間は3日間、発酵温度は30°Cが最適という結果を得た。また、繰り返し回分発酵（Repeated-batch fermentation）について検討した結果、FS902株の搾汁液を用い、1~10サイクルで、酵母Hitachi株は10.1%の糖から5.59%~6.13%(v/v)のエタノールを生産し、83.3%~91.4%の極めて高い変換効率を示した。酵母NBRC 0216株を用いた場合は、2サイクル目でエタノール収率が61.4%と低かったが、それ以外では78.7%~89.2%と高いエタノール収率を示し、同株も十分に繰り返し回分発酵に使用可能であった。

スイートソルガムの搾りかすの飼料化について検討し、スイートソルガム残渣の繊維を蒸煮・爆砕処理したところ、繊維が分解を受け、粉状のソルガム残渣を回収（収量約60%）できた。また、蒸煮条件と繊維成分を構成しているセルロースやヘミセルロース、リグニン等の定量を行い、反芻家畜の飼料としての利用性を検討した結果、搾りかすの蒸煮処理は、リグニンを減少させず、むしろ増加させる作用のあることが確認されたことから、搾りかすの繊維成分に及ぼす蒸煮・爆砕処理においては、蒸煮時間をなるべく最低限にすることで、リグニンの増加を抑制し粗飼料として有効なセルロース量を増加させる効果があることを明らかにした。さらに、乳酸菌およびセルラーゼを用いて、サイレージが調製可能であることが判明した。

スイートソルガム搾汁液を発酵材料としてブタノール生産を試みたが、既知細菌株では十分な生育が見られなかったため、新規細菌を土壌から探索し、スイートソルガム搾汁液中の糖を発酵してブタノールを生産する菌株を2株分離した。両分離株を同定した結果、グラム陽性の芽胞形成嫌気性細菌のグループに属する *Clostridium beijerinckii*であった。また、ブタノール馴化培養によるブタノール高生産株の選抜と生産条件の最適化を検討した結果、2.4%(v/v)のブタノールに耐性を持つ株とブタノール耐性限界濃度2.2%(v/v)の菌株を選抜した。また、ブタノール転換効率について検討した結果、グルコースとフルクトースはほぼ同じ挙動をみせ、スクロースはこれとは異なっていた。スイートソルガム品種FS902搾汁液では、希釈率0.1~0.5までグルコースとフルクトースの消費率はほぼ100%であり、希釈率が0.5を超えて糖濃度が高くなると、消費率が低下した。スイートソルガム品種KGS105搾汁液では、希釈率0.06、0.1、0.16でグルコースとフルクトースの消費率が60~70%となり最も良好な結果を得た。さらに、スクロースの消費率はグルコースとフルクトースの消費率が頭打ちになる時期で上昇し始める傾向にあり、糖の添加時期により生成効率が改善されることが示唆された。

（3）食料安全保障とバイオ燃料生産の両立を図る農業システム解析

スイートソルガムの単位面積当たりの平均収量および乾物重量、糖分含有率は2010年に茨城大学フィールドサイエンスセンター内の圃場で実測された橋本ら（2011）の値を引用した。エタノール変換効率は発酵効率、遠心分離効率、精製効率を乗じて求めた。Table 1にこれを示す。スイートソルガムの単位面積当たりの平均収量に糖含有率および変換効率を乗じて算出したエタノール生産量は1,900L/haとなった。エタノール製造コストは、設備費、人件費、運転費、運搬費および原料調達費の5つの費用項目から算出した。Fig. 2にエタノール生産コストの算出フローチャートを示す。まず、耕作放棄地面積と単位面積当たりのスイートソルガムの収量からA町で得られるバイオマス量を算出し、仮想プラントの規模を決定した。このプラント規模に対応した設備費、人件費および運転費を求めた。次にバイオマス量と耕作放棄地の分布から、運搬費を求めた。また、耕作放棄地面積と単位面積当たり原料生産費から、原料調達費を求めた。

Table 1 スイートソルガム実測データ

平均収量	46.46t/ha
乾物重量	10.39t/ha
糖分含有率	0.11
エタノール変換効率	0.53
エタノール生産量	1,900L/ha

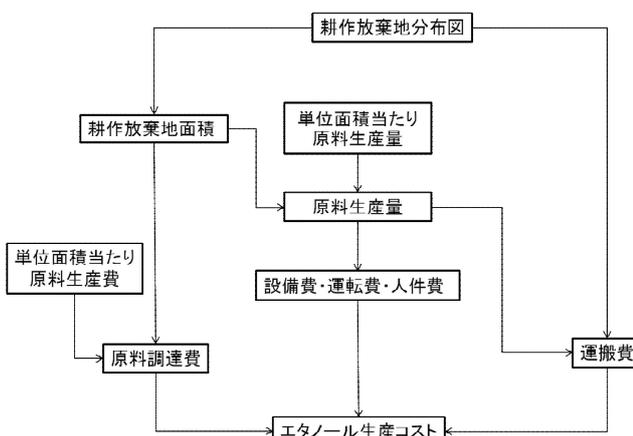


Figure 2 エタノール生産コストフローチャート

システム全体におけるエネルギー投入量をFig. 3に示す。燃料使用（農作業）、燃料製造、機械製造、肥料、および運搬の項目に分けて積算を行った。対象市町村に対するエネルギー投入量の合計値は、7.8TJとなった。作業プロセス別で見ると、運搬におけるエネルギー投入量が2.6TJと最も大きくなった。A町は平地農業地域であり、耕作放棄地が小規模であり分散的に地域内に存在するといった特徴により、運搬にかかるエネルギーが増大したと考えられる。また、燃料使用と肥料におけるエネルギー投入量も相対的に大きな割合を占めている。本分散型システムでは、農作業の効率化は低い状態にあると考えられる。実際に、農家や農業経営体においては、スイートソルガム専用の農業機械は持っていないため、代用可能な農業機械での作業を想定しており、この点の効率化は今後の課題である。また、施肥量をできるだけ減らし、営農管理を極力行わない粗放的な作業体系で、一定の収量を目指す方法を検討することも必要である。Fig. 4にエネルギー収支を、Fig. 5にCO2収支を示す。エネルギー収支とはエネルギー産出量からエネルギー投入量を減じたものとして定義する。エネルギー産出量はエタノール収量を発熱量換算したものであり、エネルギー投入量はスイートソルガム栽培プロセス・運

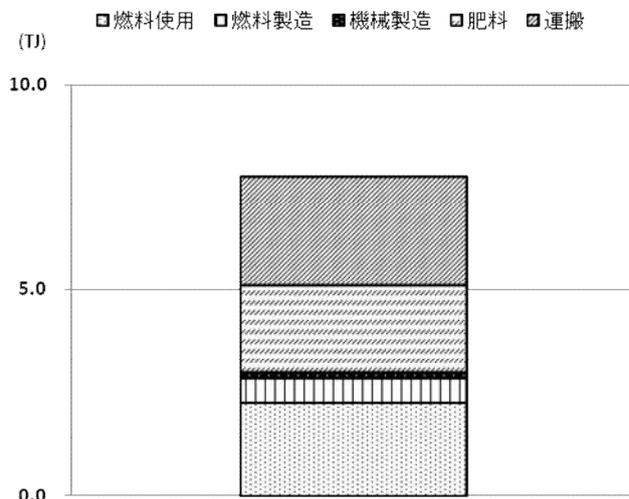


Figure 3 エネルギー投入量

搬プロセス・バイオエタノール製造プロセスにおける投入エネルギーの合計である。結果、産出エネルギーは14.7TJ、投入エネルギーは7.8TJであり、エネルギー収支は6.9TJのプラス、780tのCO2削減効果があることもわかった。しかし、エネルギー収支の観点からは、産出エネルギー/投入エネルギーが1.0よりも大きいことが不可欠で、3.0以上が望まれる。本システムの産出エネルギー/投入エネルギーは1.9であり、これについては、労働力・肥料等の削減やより効率の良いエネルギー生産など、今後更なる検討が必要である。A町での年間のバイオエタノール製造コストをFig. 6に示す。年間で約1億4,000万円の費用が必要であることがわかった。また、項目別にみると原料調達費が6,400万と最も大きい、原料調達費のうち約6000万が原料調達費内の人件費によるところである。プラントにおける人件費3900万と合わせて、システム内での総人件費は約1億円であり、これはシステムの年間製造コストの約7割を占める。本研究ではシステムにおける発酵プロセスから販売に至るまでの担い手については、エネルギー生産に関わる企業もしくは販売に関わる企業、あるいはNGO的な団体を想定しているが、詳細な設定をしていないため、雇用形態や勤務状況等を想定することが難しい。したがって、プラントの運用に関する人件費等について、実際の運用を評価するものではない。これについては、将来システムに対する詳細なシナリオ設定を行う必要がある。しかしながら、以上の想定に基づいて1L当たりのバイオエタノール製造コストをみると、スイートソルガムを原料とする場合の製造コストは118.3円/Lであり、およそのガソリン販売価格である120円/Lを下回り、ある程度の価格競争力を持つことがわかった。

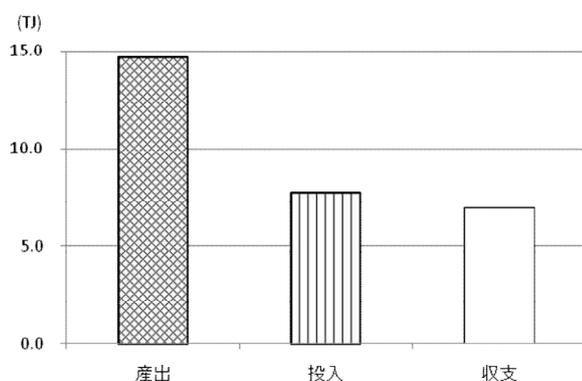


Figure. 4 エネルギー収支

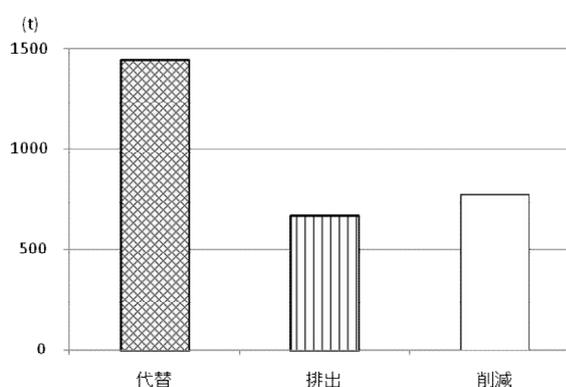


Figure. 5 CO2収支

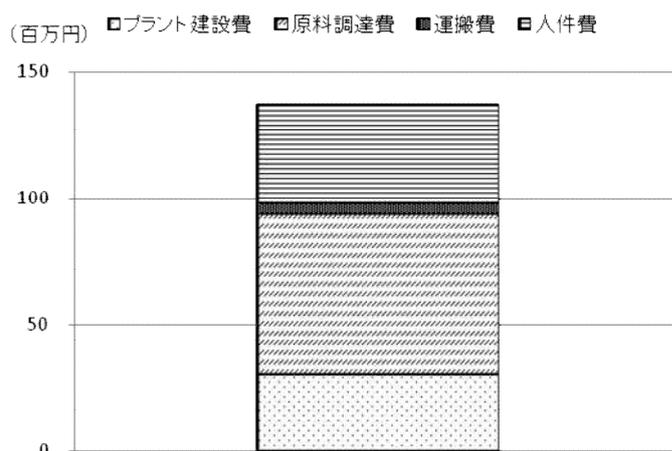


Figure. 6 エタノール年間製造コスト

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

栽培制御研究は、茎の構成要素である伸長節間の数と栽培条件、糖収量との関係を明らかにした。また、バイオアルコール生産のためのスイートソルガム最適品種を明らかにし、効率的生産のための耕種条件を構築した。高次倍数体の開発では、スイートソルガムにおいて人為的な倍数性操作が可能であることを初めて科学的に示し、さらにその獲得効率を改善し、混数体を獲得して開花まで育成し、自殖種子を得ることに成功した。今後、倍数性の操作が糖含量等の諸形質に及ぼす影響の解析が期待できる。共生菌を用いた安定生産技術の開発では低温耐性を付与する共生菌、*P. fortinii*および*V.*

*simplex*を冷涼環境下でもスイートソルガム根に内生的に定着し生育を促進するDSEとして選抜することに成功した。さらにスイートソルガムは、13°Cでは*P. fortinii*、23°C及び30°Cでは*V. simplex*と共生関係を結ぶことでより大きなバイオマス量を獲得することができることが明らかにし、これにより、北方から南方までの異なる気候条件下での栽培にエンドファイトの利用が可能となった。

エタノール生産研究により、スイートソルガム搾汁液がアルコール発酵において極めて良好な基質となりうることを明らかにした。本成果は食料作物であるサトウキビに次ぐものと考えられる。また、その残渣の有効利用法として家畜への飼料としても用途を可能とした。スイートソルガム搾汁液からブタノールを生産する菌株を分離した。

これまで不明であったバイオ燃料作物としてのスイートソルガムの栽培にかかわるインベントリが明らかになった。スイートソルガムは家畜の餌として利用される場合がこれまでは多く、栽培方法も糖含有量の蓄積には、それほど注意がはらわれてこなかった。そのため、ライフサイクルインベントリを明らかにしようという試みはされてこなかったが、本研究の成果としてバイオ燃料作物のデータベースに新たに付け加えることができた。

(2)環境政策への貢献

本研究では茨城県A町を対象として、耕作放棄地栽培のスイートソルガムを原料としたバイオエタノール生産システムにおいて、耕作放棄地の空間分布を考慮したエネルギー評価、経済評価を地域レベルで行った。その結果、システム全体での投入エネルギーは7.8TJであった。また、A町の耕作放棄地の分布が広く薄く存在するという特徴から、運搬におけるエネルギー投入が2.6TJで最も大きかった。CO₂削減効果は780tであった。システムにおけるエネルギー収支は6.9TJのプラス、780tのCO₂削減効果があることもわかった。しかし、算出エネルギー/投入エネルギーの値は1.9であり、エネルギー収支については原料の栽培方法について検討が必要である。経済評価では、コストとして年間で約1億4000万円の費用が必要である。また、1L当たりの製造コストをみると、スイートソルガムを原料とする本システムの場合は118.3円であり、近年の平均的なガソリン販売価格を下回ったが、詳細な経済評価については、実際の価格を見積もるにはシステムに対する詳細なシナリオ設定を行う必要があることが判明した。

6. 研究成果の主な発表状況(別添.作成要領参照)

(1)主な誌上発表

<査読付き論文>

- 1) Ousmane D., Takahashi T., Yonekura A., Nitta Y. and Narisawa K. (2010) A new fungal endophyte, *Helminthosporium velutinum*, promoting growth of bioalcohol plant, sweet sorghum. *Microbes and Environments* 25: 216-219.
- 2) Chohnan S., Nakane M., Habibur R., Nitta Y., Yoshiura T., Ohta H. and Kurusu Y., *Journal of Bioscience and Bioengineering* 111, 433-436 (2011) "Fuel ethanol production from sweet sorghum using repeated-batch fermentation"
- 3) Nitta Y., Ohta H. and Kato T., In Morioka, T., Hanaki, K. and Moriguchi, Y. eds *Establishing a resource-circulating society in Asia: Challenges and opportunities*, United Nations University Press, Tokyo. 218-234 (2011) "Regional sustainability-oriented agricultural technology and biomass circulation system development"
- 4) 吉田貢士、加藤亮、乃田啓吾、Krissandi Wijaya、黒田久雄。(2011) 播種日、施肥量の違いが燃料作物スイートソルガムの窒素吸収に及ぼす影響。応用水文No. 23、11-20。

<査読付論文に準ずる成果発表> (「持続可能な社会・政策研究分野」の課題のみ記載可)

特に記載すべき事項はない。

(2)主な口頭発表(学会等)

- 1) Hommaら(他10名): 日本作物学会第231回講演会(2011) "Effect of Fertilizer Application Rate on Sugar Yield and Above Ground Biomass of Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)"
- 2) Hommaら(他10名): 日本作物学会第232回講演会(2011) "Effect of Fertilizer Application Rate on Growth and Yielding Characters of Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)"
- 3) Hommaら(他9名): The 7th ASIAN CROP SCIENCE ASSOCIATION CONFERENCE, Bogor, Indonesia, 2011

- “Sweet Sorghum Cultivation for Bio-ethanol Production in the Southern Region of Ibaraki Prefecture, Japan”
- 4) Asagiら(他9名): 日本作物学会第231回講演会(2011) “Sweet Sorghum Growth and Soil Nitrogen Distribution Following Bagasse Application”
- 5) Asagiら(他9名): The 7th ASIAN CROP SCIENCE ASSOCIATION CONFERENCE, Bogor, Indonesia, 2011 “Plant Growth and Distribution of N Derived from Inorganic Fertilizer Following Sweet Sorghum Bagasse Application”
- 6) Asagiら(他4名): 日本作物学会関東支部第100回講演会(2011) “Effects of Sweet Sorghum Bagasse Application and Sowing Time on Growth of Sweet Sorghum and Weed”
- 7) Asagiら(他4名): 日本作物学会関東支部第100回講演会(2011) “Effect of Sowing Time and Density in Sweet Sorghum Cultivation on Growth of Sweet Sorghum and Weed”
- 8) Nittaら(他10名): 日本作物学会第231回講演会(2011) “Suitable Cultivars for Sweet Sorghum Cultivation as a Bio-fuel Crop for Alcohol Production in the Southern Region of Ibaraki Prefecture”
- 9) 米倉茜、成澤才彦: 成23年度日本植物病理学会大会(2011) 「亜熱帯起源の根部エンドファイト *Veronaeopsis simplex* によるトマト根腐萎凋病に対する抑制効果」
- 10) 河合由貴、成澤才彦: 日本微生物生態学会第27回大会(2011) 「根部エンドファイト3種を利用したスイートソルガムによるCd汚染土壌浄化について」
- 11) Khastini,ら(他3名): 日本微生物生態学会第27回大会(2011) “Change in the community of associated bacteria with *Veronaeopsis simplex* in the response of high temperature stress”
- 12) 橋本紗希、Krissanndi Wijaya、乃田啓吾、吉田貢士、加藤亮: 平成23年度農業農村工学会(2011) 「スイートソルガム栽培における圃場レベルの窒素・リン収支解析」
- 13) 吉田薫平、乃田啓吾、吉田貢士、加藤亮: 平成23年度農業農村工学会(2011) 「バイオ燃料作物スイートソルガムの耕作放棄地栽培におけるLCA評価」
- 14) Miho Kanemoto, M. Habibur Rahman, Yoshinori Sato, Shigeru Chonan, Youji Nitta, Yasuro Kurusu, and Hiroyuki Ohta 国際環境生物地球科学シンポジウム(ISEB)、2011
Biomass circulation system through the biobutanol production from a sugar-rich plant, sweet sorghum
- 15) 金本美穂、M. Habibur Raman、佐藤嘉則、長南茂、新田洋司、久留主泰朗、太田寛行、日本微生物生態学会、2011、スイートソルガム搾汁液からブタノールを高生産する細菌株の選抜 Selection of high butanol producing strain able to grow in sweet sorghumjuice
- 16) 新田ら(他3名): 日本作物学会第233回講演会(2012) 「スイートソルガムによる放射性物質の吸収効果」

7. 研究者略歴

課題代表者: 久留主泰朗

広島大学大学院農学研究科修了、農学博士、現在茨城大学農学部教授

(1) 新田洋司

1963年生まれ、東北大学大学院農学研究科博士課程前期修了、博士(農学)、
現在茨城大学農学部教授

(2) 久留主泰朗(同上)

(3) 吉田貢士

1974年生まれ、東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程修了、博士(農学)、
現在茨城大学農学部准教授

E-0905 バイオ燃料農業生産を基盤とした持続型地域社会モデルに関する研究**(1) 食料経済リスク低減型燃料作物の開発・栽培に関する研究**

茨城大学農学部 新田洋司・浅木直美・井上栄一・成澤才彦

<研究協力者>

茨城大学農学部 本間貴司

平成21(開始年度)～23年度累計予算額：31,678千円

(うち、平成23年度予算額：8,720千円) 予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

本サブテーマでは、バイオ燃料作物スイートソルガムの栽培管理方法を検討し、効率的安定生産技術を確立することを目的として研究を行なった。また、高次倍数体の作出により、糖含量が増大したスイートソルガムの開発、およびスイートソルガムに共生し栄養供給の働きを担う菌類を用いた生産性向上を図り、粗放的でも可能な栽培方法の確立を目指して研究を行なった。

栽培研究ではまず、スイートソルガムの糖収量に影響をおよぼす個体形質として、これまで研究報告が見られない茎の構成要素である伸長節間の数に注目して解析を行なった。その結果、伸長節間数は栽培条件の影響を強く受け、糖収量とも相関関係が認められることが明らかになった。つぎにバイオアルコールの原料として適した品種の選抜を行い、スーパーシュガー、クミアイソルガムハチミツ、甘味ソルゴの3品種が有望であり、これら3品種は類似した形質を有していることを明らかにした。さらに、省力・低コスト栽培を目標として、施肥量とスイートソルガムの生長・収量との関係および無除草栽培に向けた栽培条件の検討を行なった。その結果、最適な施肥量は栽培年次によって変動すること、無除草栽培には播種時期を遅くし栽植密度を高めることが有効であることを明らかにした。高次倍数体の作出では、倍加試薬としてコルヒチンが適していることや、倍加処理に適した生育ステージ、倍加処理の時間、倍加試薬の濃度、倍加試薬の処理方法などの基礎的な倍加技術を確立させ、実際に倍加個体の作出に成功した。共生菌に関する研究では、スイートソルガムの生育促進に効果が認められる根部エンドファイトを見いだすことに成功し、それらの環境耐性への影響についても明らかにした。

以上より、スイートソルガムを利用したバイオ燃料生産のためにもっとも基礎的で重要な原料作物の生産に関する知見を獲得することに成功し、本研究結果は今後のバイオ燃料生産の発展に寄与するものと考えられた。

[キーワード]

スイートソルガム、糖、高次倍数体、共生菌、栽培

1. はじめに

イネ科の1年生作物であるスイートソルガム(学名：*Sorghum bicolor* Moench)は、従来、飼料用あるいは土壌改良用作物として利用されてきた。しかし、茎に高濃度(17～22%)の糖を蓄積することから、近年、バイオ燃料作物としての利用が期待されている。日本を含むアジア諸国ではスイートソルガムの遺伝資源も豊富であり、栽培適用地域が広いのも利点である。

糖溶液から酵母による発酵によってアルコールを生産する技術は従前より確立されている。しかし、スイートソルガム茎搾汁液を用いて、バイオアルコール生産を目的としたスイートソルガムの効率的な栽培管理方法を明確にした研究事例はみあたらない。

本小課題では、昨年度までにスイートソルガムの栽培方法等のマニュアル（耕種概要）を作成した。スイートソルガム利用の有利性が明らかになり、CO₂削減、環境修復等に有効であることを明示した。また、茨城県、日立市、かすみがうら市、阿見町など地域社会との連携のもと、その実現に向けての基礎的知見を明らかにした。

本年度、本小課題では、耕種概要にしたがって栽培実験を行い、搾汁液量および糖収量を点検することを目的とした。そして、栽培管理方法が適切であるかどうかや、効率的安定生産技術策定の観点から評価することを目的として研究を行なった。また、高次倍数体の有効性を明らかにし、共生菌類の有効利用等の観点から、粗放的な栽培管理方法の確立を目指して研究を行なった。

2. 研究開発目的

本サブテーマ「食料経済リスク低減型燃料作物の開発・栽培に関する研究」では、バイオエタノール原料作物として高いポテンシャルを有している糖料作物であるスイートソルガムを対象作物として、以下（1）～（3）の3小課題を設定して研究を行なった。

（1）栽培制御研究

本小課題では、熱帯原産のC₄植物であるスイートソルガム（*Sorghum bicolor*）からの糖を採取し、バイオアルコールを生産すること目的としている。スイートソルガムは、種としてはソルガム類に分類される植物である。また、ソルガムはその生態的特徴や利用形態などによりいくつかに分類されるが、そのなかでスイートソルガムはソルゴー型に分類される糖料系ソルガム品種群のなかでも、とくに多量の糖を蓄積するソルガムを指す。スイートソルガムは現在わが国では、飼料作物や緑肥作物として利用されることがほとんどであり、乾物生産に着目した栽培方法の検討は行なわれているものの、糖を直接の収穫対象とした栽培条件の確立はいまだなされていない。そこで栽培制御研究ではスイートソルガムを利用したバイオアルコール生産の基本となる、原料作物の効率的栽培方法を確立することを目的として研究を行なった。栽培研究の具体的目標としては、まず糖収量に関連するスイートソルガム個体の形質を解析することとした。これまでは、地上部バイオマス等から糖収量に関連する形質が解析されてきたが、本研究ではより多角的に収量関連形質を見いだすことを目的として、これまで解析が行なわれていなかったスイートソルガムの茎の構成要素である伸長節間に焦点を当て、糖収量との関係性や栽培条件への反応を明らかにすることを目的とした。次に、実際栽培を行なう上で重要である、スイートソルガムからのアルコール生産に適した品種を選定するため、市販品種を中心とする品種群からの高糖量品種の選定を目的として栽培試験を行なった。さらに、本研究では耕作放棄地を対象とした栽培体系を確立すること想定しているが、スイートソルガムによる糖生産のための省力・低コスト栽培方法は未だ確立されていない。そこで、経済コストとして肥料の投入量、労働コストとして除草作業に着目し、省力・低コスト栽培による効率的栽培方法の確立のための研究蓄積を目的とした。

(2) 高次倍数体の開発

本小課題では、バイオエタノール原料である糖料作物スイートソルガムのさらなる高糖含量化を目指して検討を行った。代表的な糖料作物の倍数性をみると、テンサイ (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*) は主要栽培品種の多くが3倍体であり、サトウキビ (*Saccharum officinarum*) にいたっては複数ゲノム由来の8倍体 ($2n=8x=80$) または10倍体 ($2n=10x=80$) である。これらの高次倍数化が糖料作物の貯蔵器官の大型化や高糖含量化に寄与している可能性がある。一方、スイートソルガムは単一ゲノム由来の2倍体 ($2n=2x=20$) が中心であり、倍数性育種の報告もみあたらない。そこで本小課題では、スイートソルガムにおける染色体倍加による高次倍数化が、個体あたりの糖含量および大規模栽培に影響する草型や生育特性などの重要形質にどのような影響をおよぼすかを明らかにすることを目的とした。まずスイートソルガムの倍数性を操作するための基礎的な知見を得るため、染色体倍加剤としてコルヒチンまたはオリザリンを用いて、芽生え期と幼植物期のシュートを浸漬処理する方法を検討した。さらに、倍加剤への浸漬方法を改良することによって倍加効率を改善すると同時に、倍加植物体の自殖による増殖と世代の更新を行った。

(3) 共生菌を用いた安定生産技術の開発

本小課題では粗放的な環境下におけるスイートソルガムの安定生産を目的として、菌類エンドファイトに着目して研究を行った。菌類エンドファイトとは、生きている植物体の組織や細胞内で生活する菌類の総称である。とくに根部をおもな住みかとする根部エンドファイト (dark-septate endophytic fungus:DSE) は、宿主に定着することによって窒素やリン酸などの吸収促進や、*Fusarium*属菌や*Verticillium*属菌などによる萎凋病に対する耐病性を付与することが報告されている。本研究グループは2008年に、スイートソルガムに定着し生育促進効果を示すDSE、*Phialocephala fortinii*の選抜に成功している。スイートソルガムは、播種後の低温条件において初期生育が遅延し、収穫時のバイオマス量の減少を引き起こすため問題となっている。そこで本小課題では、まず貧栄養や低温条件での*P. fortinii*による生育促進効果の検討を目的とした。つぎに、実際の栽培条件下でスイートソルガムの生育促進効果を示すDSE選抜のため行なった土壌試験の結果、新たに選抜された*D. lagerstroemiae* 24L-4および*Veronaepsis simplex* Y34を供試して、ピートモスを使用した低温条件下での栽培を行い、接種による生育への影響を明らかにすることを目的とした。さらに、これまでのエンドファイトの研究は、冷涼環境下によるものが主であったが、最近の研究から、冷涼環境下とは異なる地域でのDSEの生態解明や新規DSEを得ることを目的とした調査が行われ、西南暖地より新規DSEとして前出の*V. simplex*が獲得された¹⁾。この*V. simplex*に関する研究は始まったばかりであり、生育促進効果に加えて、スイートソルガムやナタネに対してのCd耐性付与の効果が報告されている。また、茨城県内の森林土壌からは*Helminthosporium velutinum*が獲得され、スイートソルガムの生育を促進するエンドファイトとして報告されている²⁾。これまでの研究から、スイートソルガムおよびナタネの生育を促進するDSE、*V. simplex* Y34, *H. velutinum* 41-I, および*P. fortinii* BCaPC1という3菌株を選抜したが、これら3菌株は分離起源の気候帯がそれぞれ亜熱帯、温帯および亜寒帯気候と異なっている。そこで最後に、これら選抜菌株の温度に対する特徴及び植物-根部エンドファイト共生系栽培環境における温度の影響を明らかにすることを目的とした。

3. 研究開発方法

(1) 栽培制御研究

1) スイートソルガム茎の伸長節間と糖収量との関係

2009年までに蓄積された栽培データを用いて解析を行なった。栽培は茨城大学農学部附属フィールドサイエンス教育研究センター内の圃場で行った。供試品種は高糖分ソルゴー、ビッグシュガーソルゴー、スーパーシュガーを用いた。施肥量はN-P₂O₅-K₂Oそれぞれ緩効性肥料（エコロング424-100）で9.0-7.7-9.0g m⁻²、速効性肥料（クミアイ化成8-8-8）で3.0-3.0-3.0g m⁻²を施与した。施肥方法は全量基肥で施与する方法と、速効性肥料を追肥する方法の2種類を用いた。2008年に6月10日および6月30日に植栽密度は条間80 cm、株間15 cm（8.3 plant m⁻²）で播種した。播種方法は1箇所3粒播きの点播とし、苗立後に1株1個体となるように間引きした。追肥は節間の急速伸長開始期（播種後45～50日）に行なった。

処理区内の個体の半数以上が出穂した日を出穂日とし、出穂後15、30、45、60日に刈り取り調査を行った。調査項目は、草丈、稈長、葉枚数、伸長節間数（1cm以上の節間数）、各伸長節間における汁液のBrix値、各伸長節間中央部における茎の縦径と横径、葉身、葉鞘、伸長節間および穂の生体重と乾物重とした。これらの結果をもとに「茎水分含有量×Brix値/（100-Brix値）」の計算式で理論的茎糖含有量を求めた。得られた数値データはすべて分散分析およびTukey法による多重比較によって統計解析を行なった。

2) 高糖量品種の選定

2010年および2011年の2シーズン栽培試験を行なった。両栽培年とも茨城大学農学部附属フィールドサイエンス教育センター内圃場で栽培した。2010年は、スクリーニングと位置づけ、広い範囲からバイオ燃料作物として適した品種を選抜するため、ソルゴー型ソルガムに加えて、子実型ソルガム、スーダン型ソルガムおよびスーダングラスを含む計12品種を供試した（表(1)-1）。施肥はN-P₂O₅-K₂Oそれぞれ緩効性肥料（エコ

ロング424-100）で9.0-7.7-9.0 g m⁻²、速効性肥料（クミアイ化成8-8-8）で3.0-3.0-3.0 g m⁻²を全量基肥で施与した。圃場設計は1プロット4 m×4 mとし、各品種3反復を乱塊法で配置した。播種は2010年の6月1日に行なった。栽植密度は条間80 cm、株間15 cm（8.3 plant m⁻²）で1箇所3～5粒播種し、株立ち後に間引きして1株1個体とした。出芽後14、28、56、84日に生育調査として草丈、稈長、茎直径（基部の長径）、完全展開葉数を測定した。なお、出穂前の稈長は、最上

表(1)-1. 2010年の品種選抜試験に用いた品種

品種名	タイプ
ビッグシュガーソルゴー	ソルゴー型
風立	ソルゴー型
高糖分ソルゴー	ソルゴー型
スーパーシュガー	ソルゴー型
クミアイソルガムハチミツ	ソルゴー型
甘味ソルゴー	ソルゴー型
SIL-05	ソルゴー型
高消化ソルゴー	ソルゴー型
ゴールドソルゴーⅡ	ソルゴー型
ミニソルゴー	子実型
BMRスイート	スーダン型
シュガースリム	スーダングラス

位展開葉のカラーの位置とした。調査個体数は各プロット5個体、各品種計15個体とした。収穫調査は出穂日（各プロット内の半数以上の個体が出穂した日）を基準として、出穂日、出穂後30および60日の計3回行なった。調査項目は草丈、稈長、伸長節間数、茎直径（基部の長径と短径）、

茎生体重、葉生体重、穂生体重、茎乾物重、葉乾物重、穂乾物重、茎搾汁効率、茎搾汁液容積、茎搾汁液重量、茎搾汁液Brix値とした。搾汁にはサトウキビ用搾汁機をスイートソルガム用に改良した搾汁機（Model SA-L、奥原鉄工、沖縄）を用いた。搾汁液容積にBrix値を乗じて理論的糖収量とした。

2011年は2010年の結果と、本研究グループの以前の栽培研究結果から糖収量が優れると判断された4品種（表(1)-2）を用いた。播種は2011年5月16日、6月1日、6月15日の3回行なった。施肥量は2010年の栽培試験と同量とした。各品種6月1日播種区のみ、速効性肥料を追肥として施与した追肥区を設置した。追肥は節間急速伸長開始期と判断された播種後54日に行なった。生育調査は2010年の栽培試験と同様に行なった。収穫調査は、2010年の栽培試験と同様の項目について行なったが、収穫調査を行なった日を出穂後30、45、60日に変更した。この変更は2010年の結果を受けて、より糖蓄積量が高まる時期を詳細に検討するために行なった。また、5月16日播種区のビッグシュガーソルゴは台風による倒伏のため、一部の収量データが欠落した。

統計処理には分散分析およびTukeyの多重比較を行なった。年次間差異、播種日間差異の検定には2元配置分散分析を行なった。なお、本報告書では一部のデータを割愛して記載している。

3) 最適な施肥量の検討

2010年および2011年の2シーズン栽培試験を行なった。両栽培年とも茨城大学農学部附属フィールドサイエンス教育センター内圃場で栽培試験を行なった。品種はスーパーシュガーを用いて、4水準の施肥量で栽培研究を行なった（表(1)-3）。圃場設計は1プロット6 m×9 mとし、各処理区3

表(1)-3. 施肥量の検討に用いた各処理区の施肥量

処理区	緩効性肥料 (g m ⁻²)			速効性肥料 (g m ⁻²)			合計		
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
N0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
N6	4.5	3.9	4.5	1.5	1.5	1.5	6.0	5.4	6.0
N12	9.0	7.7	9.0	3.0	3.0	3.0	12.0	10.7	12.0
N24	18.0	15.4	18.0	6.0	6.0	6.0	24.0	21.4	24.0

緩効性肥料：エコロング424（100日溶出タイプ）

速効性肥料：クミアイ化成8-8-8

反復を乱塊法で配置した。2010年6月2日および2011年6月1日に条間80 cm、株間15 cm（8.3 plant m⁻²）で1個所3～5粒播種し、株立ち後に間引きして1株1個体とした。出芽後14、28、56、84日に生育調査として稈長、完全展開葉数、SPAD値（最上位展開葉の1枚下の葉を測定）、茎直径（基部の長径と短径）を測定した。出穂後30、45、60日に収穫調査として茎生体重、葉生体重、穂生体重、茎乾物重、葉乾物重、穂乾物重、茎搾汁液容積、茎搾汁液重量、茎搾汁液Brix値を測定した。統計処理には分散分析およびTukeyの多重比較を行なった。年次間差異の検定には2元配置分散分析を行なった。なお、本報告書では一部のデータを割愛して記載している。

4) 無除草栽培の検討

2010年に茨城大学農学部附属フィールドサイエンス教育センター内圃場で栽培試験を行なった。2010年6月2日および7月15日の2回播種した。供試品種はスーパーシュガーを用いた。栽植密度および除草の有無によって処理区を設けた

(表(1)-4)。播種は既出の播種方法と同様、1個所3~5粒播種し、株立ち後に間引きして1株1個体とした。生育期間中に雑草の発生量および雑草の被覆率を測定した。すべての処理区について出穂後30日に収穫調査を行ない、稈長、茎直径、茎生体重、茎乾物重、伸長節間数、搾汁液容積、搾汁液Brix値を測定した。得られた数値データはすべて分散分析およびTukey法による多重比較によって統計解析を行なった。

表(1)-4 無除草栽培の検討に用いた各処理区における除草の有無と栽植密度の違い

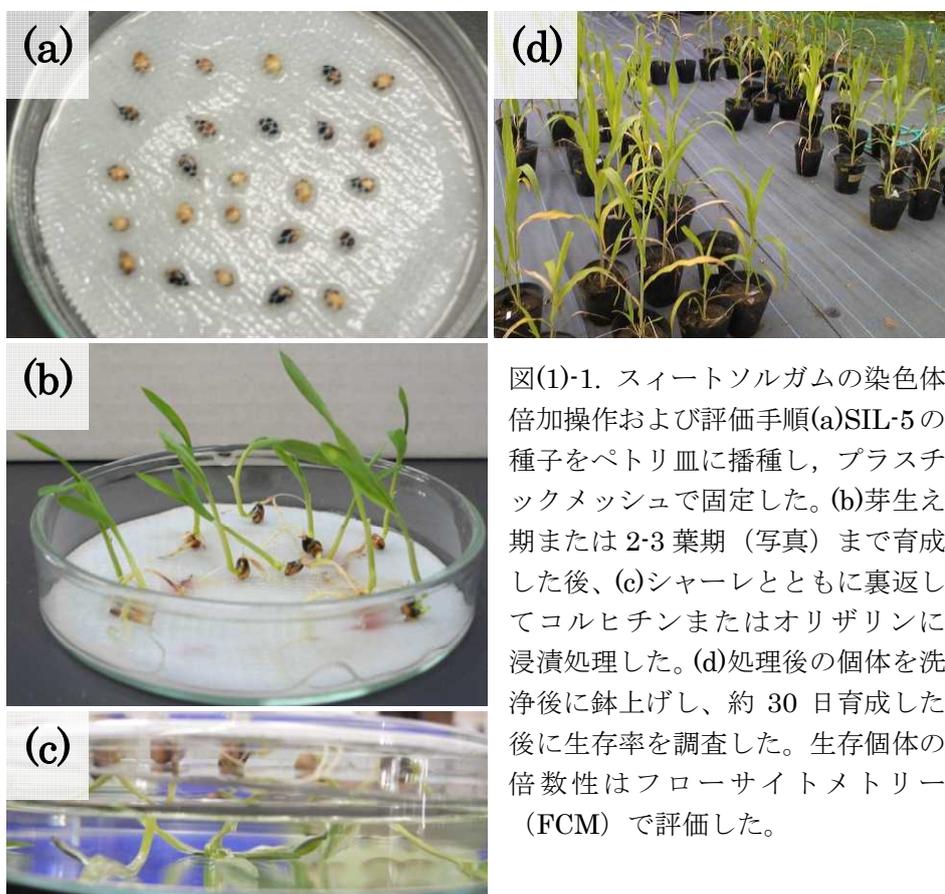
除草の有無		条間 (cm)	株間 (cm)	栽植密度 (本 m ⁻²)
慣行区	除草	80	15	8.3
80×15区		80	15	8.3
40×15区	無除草	40	15	16.7
80×7.5区		80	7.5	16.7

(2) 高次倍数体の開発

1) 染色体倍加剤と処理ステージの検討

材料として、スイートソルガムの高糖含量純系品種SIL-05を用いた。染色体倍加剤としては、0.01または0.1%濃度のコルヒチンおよび0.001または0.01%濃度のオリザリンを用いた。倍加処理は以下の手順で行った(図(1)-1)。ペトリ皿に敷いたろ紙上にSIL-05の種子をプラスチックメッシュで固定し、蒸留水に浸して発芽させた。発芽直後の芽生え期および2~3葉展開期に各濃度の薬剤に24または120時間浸漬し処理した

(表(1)-5)。倍加処理した個体を洗浄後、黒土を詰めたポットに移植して育成し、約30日後に生存率を調査した。生存個体については、葉を材料としてフローサイトメトリー(FCM)によって倍数性を評価した。



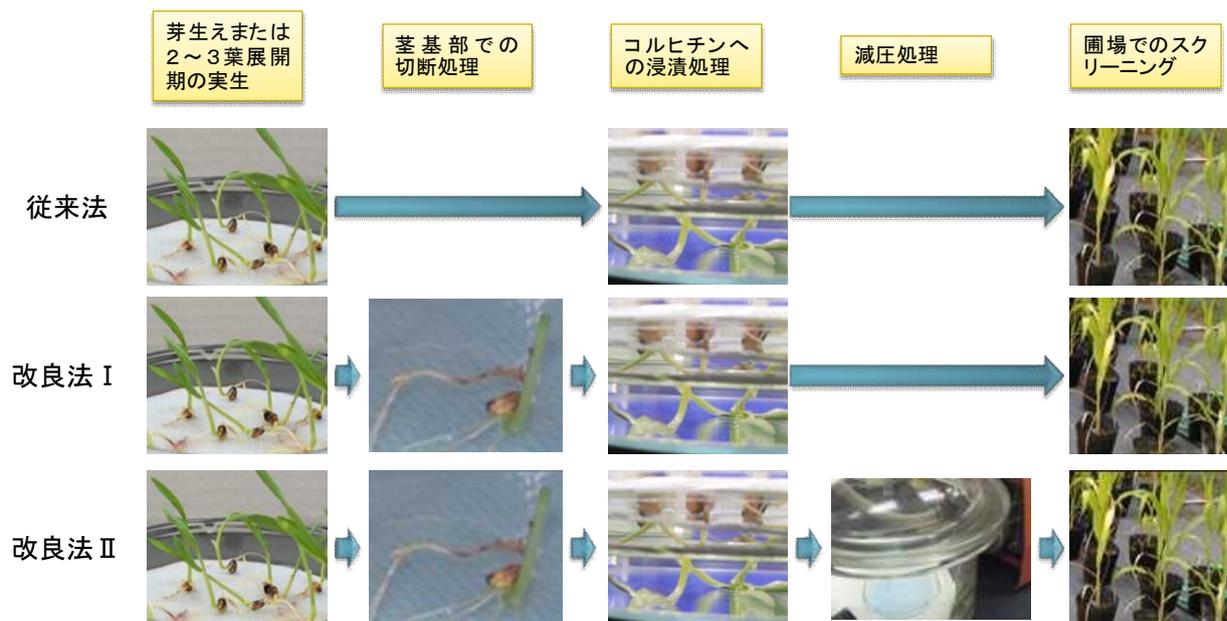
図(1)-1. スイートソルガムの染色体倍加操作および評価手順(a)SIL-5の種子をペトリ皿に播種し、プラスチックメッシュで固定した。(b)芽生え期または2-3葉期(写真)まで育成した後、(c)シャーレとともに裏返してコルヒチンまたはオリザリンに浸漬処理した。(d)処理後の個体を洗浄後に鉢上げし、約30日育成した後生存率を調査した。生存個体の倍数性はフローサイトメトリー(FCM)で評価した。

表(1)-5. 染色体倍加処理の処理時期、処理時間、
処理剤および処理濃度

倍加処理した生育段階	浸漬時間	倍加薬剤	処理濃度 (%)
芽生え期	24	コルヒチン	0.1
			0.01
		オリザリン	0.01
		0.001	
		蒸留水	
	120	コルヒチン	0.1
		0.01	
オリザリン		0.01	
	0.001		
	蒸留水		
2-3葉期	24	コルヒチン	0.1
			0.01
		オリザリン	0.01
		0.001	
		蒸留水	
	120	コルヒチン	0.1
		0.01	
オリザリン		0.01	
	0.001		
	蒸留水		

2) 染色体倍加剤への浸漬方法の改良

1)と同様にスイートソルガムの高糖含量純系品種SIL-05を用いた。染色体倍加薬剤としては、0.01または0.1%濃度のコルヒチンを用いた。1)において結果が良好であった発芽直後の芽生え期および2~3葉展開期に各濃度の薬剤に24時間浸漬処理する方法を対照とした(以降、従来法と記す)。従来法の欠点である茎基部の生長点へのコルヒチンの浸透を促進するため、葉を切り詰めた後に切断部を薬剤に浸漬する改良法(以降、改良法Ⅰと記す)、さらにこれに加えて減圧下で浸漬処理を行う改良法(以降、改良法Ⅱと記す)をそれぞれ検討した(図(1)-2)。薬液処理後の個体は、よく洗浄した後に黒土を詰めたポットに移植して育成し、約30日後に生存率を調査した。生存個体については、葉を材料としてフローサイトメトリー(FCM)により倍数性を評価した。



図(1)-2. スイートソルガムの染色体倍加方法の改良. 'SIL-5'の種子をペトリ皿に播種し、プラスチックメッシュで固定し、芽生え期または2-3葉期まで育成した。改良法 I および II では倍加処理前に葉液の浸透を促進するために葉を切りつめた後、シャーレとともに裏返してコルヒチンに浸漬処理した。さらに改良法 II では、浸漬時に減圧処理を行った。処理後の個体を洗浄後に鉢上げし、約30日育成した後に生存率を調査した。生存個体の倍数性はフローサイトメトリー (FCM) で評価した。

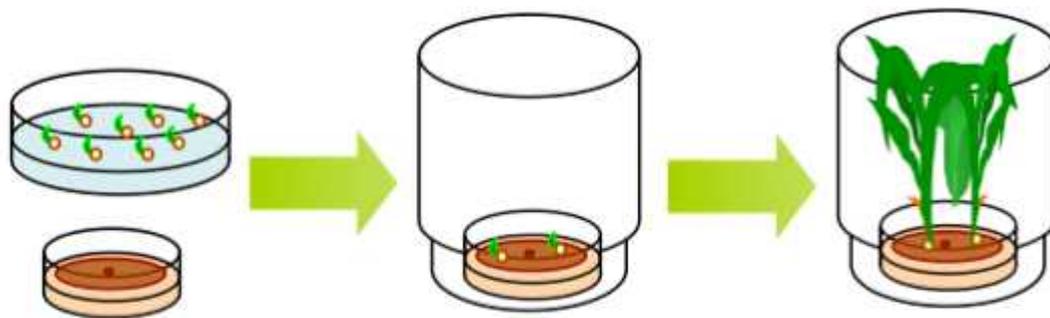
3) 倍加個体の自殖による増殖

高次倍数化が確認された個体を鉢上げし、自殖種子の採種を行った。さらに、採種後に切り戻しを行い、栄養体の維持を試みた。

(3) 共生菌を用いた安定生産技術の開発

1) 貧栄養、低温条件での生育促進効果

最適な栄養条件を検討するため、硝酸態窒素、バリン、およびNA: ネイチャーエイド (アミノ酸態窒素を含む有機の液肥) の3種の異なる窒素源を添加した寒天培地を作成し、それぞれ窒素濃度を10 mg/L、100 mg/Lに調整した。また、窒素を添加しない無窒素条件の寒天培地も作成した。低温条件の検討として、スイートソルガムを圃場栽培した際に低温による生育遅延が認められた月の平均気温が約13℃であったことから、今回は低温条件を13℃と設定した。*P. fortinii*を寒天培地上で培養した後、同コロニー上に表面殺菌したスイートソルガム種子を直接播種し、低温条件 (13℃) においてグロウスチャンバー内で3週間無菌的に植物の栽培を行った。栽培後、地上部の乾燥重量を求め、さらに葉緑素を測定し対照区と比較した (図(1)-3)。



図(1)-3. 貧栄養、低温条件下での生育効果促進における実験手順

1. 供試菌をOat Meal (OM) 寒天培地に接種し、菌を培地上にコロニー形成させる。
2. 表面殺菌したスイートソルガム種子（ビッグシュガーソルゴー）をあらかじめ供試菌を培養しておいたOM寒天培地に播種。
3. プラスチックポットを使用して無菌的に3週間23℃、16/8（Light/Dark）、 $60\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$ の条件にて栽培。
4. 栽培後、地上部の乾燥重量を測定し、対照区（菌非接種区）と比較。

2) 低温条件下における影響解析

a. エンドファイト接種用培養土の作成

スイートソルガム種子を水洗後、2時間吸水させた。121℃で15分間オートクレーブ滅菌を2回行った。この滅菌したソルガムに*D. lagerstroemiae*および*V. simplex*の菌糸片懸濁液を添加し、接種した。これを、室温にて2～3週間培養し、クリーンベンチ内で約1週間風乾させた。乾燥した菌体を、粉末化し、菌体粉末とした。プラントボックス内の滅菌ピートモスと菌体粉末を1:9=(v:v)の割合で混和し、これを室温にて5～7日間培養し、接種用培養土を作製した。N源として、100mg N/lに調整した有機の液肥・ネイチャーエイドを10mlずつ添加した。

b. スイートソルガムへのエンドファイトの接種

表面殺菌後、発根させたソルガム苗をプラントボックス内の培養土に静置し、13℃、16時間明期、 $60\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の育苗棚で育苗した。21日後にソルガムの地上部および地下部を回収し、地上部は植物バイオマス量を求め、地下部は定着様式の観察に用いた。各処理区4反復行った。

c. 宿主根の横断切片観察および植物バイオマスの測定

育苗したソルガムの根を回収し、クリオスタットマイクロームで約10～16μmの横断切片を作成した。0.05%コットンブルー（50%酢酸）で染色後、光学顕微鏡観察した。植物バイオマスは、回収した植物体を60℃で48時間以上乾燥させ、乾燥重量を測定した。

3) 植物一根部エンドファイト共生系栽培環境における温度の影響

a. 供試菌株至適温度の調査

それぞれの接種源を培地中央に静置し、6℃、13℃、23℃、30℃及び37℃にて14日間培養を行った。培養後、生育した菌叢をフィルターごと回収し60℃で72時間以上乾燥させ、乾燥重量をバイオマス量とした。

b. Cd含有条件における根部エンドファイト最適接種温度の調査

培地上で供試菌が室温にてコロニーが培地全体に広がるまで培養した。その後、表面殺菌し、素寒天培地上で発根させておいた供試植物苗を1ペトリディッシュあたり2苗ずつ静置し、滅菌したプラスチックポット(幅約7 cm、高さ約10 cm)内で13°C、23°C及び30°C、16時間明期、 $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の育苗棚で育苗した。なお、エンドファイトを接種していない処理区を対照区とした。21日後に供試植物の地上部を回収し、バイオマスの測定を行った。

c. 宿主根の横断切片観察および植物バイオマスの測定

育苗したソルガムの根を回収し、クリオスタットマイクロトームで約10~16 μm の横断切片を作成した。0.05%コットンブルー(50%酢酸)で染色後、光学顕微鏡観察した。植物バイオマスは、回収した植物体を60°Cで48時間以上乾燥させ、乾燥重量を測定した。

4. 結果及び考察

(1) 栽培制御研究

1) スイートソルガム茎の伸長節間と糖収量との関係

施肥区、収穫日を込みにして品種間で伸長節間数を比較すると、それぞれの播種日において品種間差異が認められた(表(1)-6)。両播種日ともビッグシュガーソルゴーがもっとも伸長節間数が多かった(表(1)-6)。

播種日間で伸長節間数を比較すると、6月10日播種区で比較的多い傾向を示し、とくにビッグシュガーソルゴーで顕著であった(表(1)-6、7)。施肥方法による一定の傾向は認められなかった(表(1)-7、8)。

表(1)-6. それぞれの品種における施肥区、収穫時期をこみにしたときの伸長節間数

品種	播種日	
	6月10日	6月30日
高糖分ソルゴー	14.1 c	13.4 c
ビッグシュガーソルゴー	18.0 a	14.8 a
スーパーシュガー	15.5 b	13.8 b

播種日間に於ける播種か

同一播種日内で同一じアルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない

ら出穂まで日数の変動は品種によって異なっていた(表(1)-9)。すなわち、ビッグシュガーソルゴーでは6月10日播種に比べて6月30日播種では14日間短かったのに対し、高糖分ソルゴーでは6日、スーパーシュガーでは8日短かった(表(1)-9)。この播種から出穂まで日数の変化は伸長節間数に大きく影響を与えていると考えられた。これらのことから伸長節間数の品種間差異と播種日に対する反応は、品種の早晩性に強く影響を受けていると考えられた。播種日と施肥区を込みにした場合、伸長節間数と茎糖含有量との間には相関係数は低いものの、有意な正の相関関係が認められた(表(1)-10)。ビッグシュガーソルゴーでは、6月30日播種では6月10日播種に比較して茎糖含有量、伸長節間数ともに低い値を示した。すなわち、伸長節間数の増加はシンク器官である茎のバイオマス量を増加させるため、茎糖含有量の向上に寄与すると考えられた。以上の結果、播種日が伸長節間数におよぼす影響は品種によって異なり、晩生の品種ほど播種日の影響を強く受け、糖含有量の増減にも強い影響をおよぼすものと考えられた。これらの結果から、安定多収栽培条件を得るためには、品種の早晩を考慮した播種日の設定が重要であることが示唆された。

表(1)-7. 各処理区における伸長節間数

播種日	収穫日 (出穂後日数)	施肥区	品種			
			高糖分	ビッグ	スーパー	
6月10日	15	基肥	13.5 cd	18.1 b	16.1 a	
		追肥	14.6 b	17.1 c	15.5 b	
	30	基肥	14.4 bc	17.7 b	15.1 b	
		追肥	14.0 bc	17.8 d	15.2 b	
	45	基肥	13.9 c	18.8 a	16.2 a	
		追肥	14.6 b	18.3 ab	14.5 c	
	60	基肥	14.0 c	19.2 a	16.1 a	
		追肥	14.3 bc	17.0 c	15.1 b	
	6月30日	15	基肥	13.4 cd	14.4 e	13.3 de
			追肥	11.9 e	14.7 e	13.0 e
30		基肥	13.4 cd	14.7 e	14.3 c	
		追肥	13.5 cd	14.7 e	13.2 de	
45		基肥	13.0 d	14.5 e	13.7 d	
		追肥	15.4 a	14.4 e	13.8 cd	
60		基肥	13.3 cd	14.9 e	14.6 bc	
		追肥	13.6 cd	15.8 d	14.5 c	

同一品種内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない

表(1)-8. それぞれの処理区における伸長節間数の播種日間での比較

収穫日 (出穂後日数)	施肥区	播種日	品種					
			高糖分	ビッグ	スーパー			
15	基肥	6月10日	13.5	ns	18.1	***	16.1	***
		6月30日	13.4		14.4		13.3	
	追肥	6月10日	14.6	***	17.1	***	15.5	***
		6月30日	11.9		14.7		13.0	
30	基肥	6月10日	14.4	**	17.7	***	15.1	*
		6月30日	13.4		14.7		14.3	
	追肥	6月10日	14.0	ns	17.8	***	15.2	***
		6月30日	13.5		14.7		13.2	
45	基肥	6月10日	13.9	**	18.8	***	16.2	***
		6月30日	13.0		14.5		13.7	
	追肥	6月10日	14.6	*	18.3	***	14.5	*
		6月30日	15.4		14.4		13.8	
60	基肥	6月10日	14.0	*	19.2	***	16.1	***
		6月30日	13.3		14.9		14.6	
	追肥	6月10日	14.3	*	17.0	**	15.1	*
		6月30日	13.6		15.8		14.5	

*, **, ***, それぞれ5%, 1%および0.1%水準でt検定による有意あり
ns, 有意差なし

表(1)-9. それぞれの品種における出穂日および播種から出穂まで日数

播種日	品種	出穂日	播種から出穂まで日数
6月10日	高糖分	9月10日	92
	ビッグ	10月6日	118
	スーパー	9月15日	97
6月30日	高糖分	9月25日	86
	ビッグ	10月12日	104
	スーパー	9月28日	89

表(1)-10. 伸長節間数と茎糖含有量との間の相関係数

品種	6月10日播種			6月30日播種		
	NEI	SSC	相関係数	NEI	SSC	相関係数
高糖分	14.1	63.6	0.4437**	13.4	65.9	0.7181**
ビッグ	18.0	91.2	0.5781**	14.8	65.1	0.4896**
スーパー	15.5	64.9	0.3530**	13.8	75.3	0.6045**

**、1%水準で有意；NEI，伸長節間数；SSC，茎糖含有量（g plant⁻¹）。

2) 高糖量品種の選定

2010年の栽培試験における各品種の生育を比較すると、草丈はビッグシュガーソルゴーが最も高く、次に甘味ソルゴー、クミアイソルガムハチミツの順であった（表(1)-11）。稈長も同

表(1)-11. 2010の品種選抜試験に用いた品種における草丈（cm）の推移

品種	出芽後日数							
	14		28		56		84	
ビッグシュガーソルゴー	27.2 ± 2.6	abc	82.5 ± 4.1	abc	247.8 ± 9.0	a	379.2 ± 9.0	a
風立	31.1 ± 2.2	ab	75.5 ± 3.4	abcd	144.5 ± 4.4	f	253.1 ± 8.1	d
高糖分ソルゴー	20.8 ± 1.8	c	65.8 ± 4.0	cd	192.9 ± 3.9	e	293.8 ± 9.7	c
スーパーシュガー	22.9 ± 1.4	bc	73.1 ± 3.1	bcd	206.6 ± 5.3	de	316.2 ± 9.9	bc
ミニソルゴー	31.3 ± 2.5	ab	80.0 ± 3.6	abc	140.4 ± 2.6	f	142.8 ± 1.2	f
クミアイソルガムハチミツ	27.9 ± 1.3	abc	82.2 ± 2.4	abc	237.7 ± 5.1	abc	342.5 ± 7.0	b
シュガースリム	32.0 ± 2.9	ab	84.8 ± 6.0	ab	229.0 ± 7.6	abcd	-	-
高消化ソルゴー	33.4 ± 1.1	a	93.5 ± 3.0	a	237.9 ± 4.3	ab	244.5 ± 3.3	de
甘味ソルゴー	24.5 ± 1.3	abc	75.2 ± 2.7	bcd	208.6 ± 3.7	bcde	346.9 ± 5.1	ab
ゴールドソルゴー II	29.6 ± 2.4	abc	77.8 ± 4.2	abc	207.3 ± 10.9	cde	210.7 ± 11.7	e
SIL-05	23.4 ± 2.0	abc	59.2 ± 3.7	d	180.4 ± 5.9	e	328.7 ± 8.4	bc
BMRスイート	33.3 ± 3.1	a	78.8 ± 4.8	abc	223.6 ± 9.4	abcd	-	-

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない；-，データ無し；±標準誤差

様にビッグシュガーソルゴー、甘味ソルゴー、クミアイソルガムハチミツの3品種が高かったが、その序列は草丈とは異なり、甘味ソルゴー、クミアイソルガムハチミツ、ビッグシュガーソルゴーの順であった（表(1)-12）。草丈の高くなる品種はいずれもソルゴータイプに分類される品種であり、最終生育調査日である出芽後84日ではグレインタイプであるミニソルゴーは草丈、稈長とも最も高い品種の半分にも満たなかった（表(1)-1、11、12）。また、草丈、稈長の品種間差異は生育初期には小さく、生育が進むにつれて拡大する事が明らかになった（表(1)-11、12）。茎直径は出芽後14日では品種間差異は認められなかったが、出芽後28日以降は大きくなる傾向が認められた（表(1)-13）。出芽後84日の茎直径は風立のみ極めて太く、35mm程度であり、他品種

表(1)-12. 2010の品種選抜試験に用いた品種における稈長 (cm) の推移

品種	出芽後日数			
	14	28	56	84
ビッグシュガーソルゴー	6.5 ± 0.6 abcd	24.2 ± 1.4 abc	145.1 ± 8.9 bc	302.6 ± 11.0 a
風立	6.8 ± 0.5 abcd	18.4 ± 0.9 cde	65.5 ± 4.0 f	155.4 ± 10.3 d
高糖分ソルゴー	4.5 ± 0.3 d	17.3 ± 1.2 de	98.2 ± 4.4 e	257.5 ± 10.8 b
スーパーシュガー	5.3 ± 0.3 bcd	20.8 ± 1.0 bcde	109.7 ± 5.3 de	279.4 ± 10.7 ab
ミニソルゴー	7.7 ± 0.6 ab	21.9 ± 1.1 abcde	105.0 ± 3.4 e	113.4 ± 1.2 e
クミアイソルガムハチミツ	5.9 ± 0.3 abcd	23.4 ± 0.9 abcd	137.5 ± 4.8 bcd	312.3 ± 7.4 a
シュガースリム	8.2 ± 0.9 a	27.7 ± 2.6 a	162.0 ± 7.1 ab	-
高消化ソルゴー	8.1 ± 0.4 a	26.8 ± 1.2 ab	181.2 ± 7.1 a	211.5 ± 3.6 c
甘味ソルゴー	5.1 ± 0.3 cd	20.7 ± 1.0 bcde	117.5 ± 3.2 cde	315.3 ± 6.2 a
ゴールドソルゴー II	7.5 ± 0.7 abc	23.1 ± 1.5 abcd	152.3 ± 10.9 ab	183.9 ± 11.3 cd
SIL-05	6.1 ± 0.6 abcd	16.3 ± 1.1 e	97.6 ± 5.9 e	303.6 ± 7.6 a
BMRスイート	7.9 ± 0.6 a	20.7 ± 1.6 bcde	143.4 ± 8.7 bc	-

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない；-, データ無し；±標準誤差

表(1)-13. 2010の品種選抜試験に用いた品種における茎直径 (mm) の推移

品種	出芽後日数			
	14	28	56	84
ビッグシュガーソルゴー	4.9 ± 0.5	15.6 ± 1.2 ab	28.0 ± 1.2 bc	25.7 ± 1.2 bcd
風立	5.7 ± 0.5	15.3 ± 1.0 ab	38.3 ± 1.5 a	35.5 ± 1.3 a
高糖分ソルゴー	4.3 ± 0.4	12.7 ± 1.0 abc	29.9 ± 1.3 b	26.5 ± 1.2 bc
スーパーシュガー	4.7 ± 0.3	14.2 ± 0.8 abc	29.5 ± 1.1 b	25.9 ± 1.1 bcd
ミニソルゴー	5.3 ± 0.5	14.9 ± 1.0 abc	23.4 ± 0.8 cd	21.8 ± 0.8 de
クミアイソルガムハチミツ	5.4 ± 0.4	16.9 ± 1.1 a	31.4 ± 1.3 b	26.9 ± 0.9 bc
シュガースリム	4.0 ± 0.5	10.3 ± 0.9 c	-	-
高消化ソルゴー	5.6 ± 0.3	16.0 ± 0.8 ab	19.8 ± 0.8 d	19.4 ± 0.8 e
甘味ソルゴー	5.0 ± 0.3	14.5 ± 0.7 abc	31.6 ± 1.1 b	27.2 ± 0.7 b
ゴールドソルゴー II	4.7 ± 0.5	14.3 ± 1.2 abc	24.1 ± 0.7 cd	22.5 ± 0.8 cde
SIL-05	4.2 ± 0.4	11.7 ± 1.0 bc	29.7 ± 1.4 b	25.8 ± 1.1 bcd
BMRスイート	4.8 ± 0.4 ns	11.7 ± 0.7 bc	20.8 ± 0.9 d	-

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない；-, データ無し；±標準誤差 ns, 分散分析による有意差はない

は25mm程度が多かったが、細い品種では20mm程度であった（表(1)-13）。完全展開葉数は出芽後14、28日では品種間差異は小さい、もしくは認められなかったが、出芽後84日ではもっとも多い品種と少ない品種では10枚程度の差異が生じた（表(1)-14）。品種の早晚性を示す、播種から出穂まで日数をみると、完全展開葉数の品種間差異は品種の早晚性による影響が大きく、晩生品種ほど最終的な完全展開葉数が多いことが明らかになった（表(1)-14、15）。

表(1)-14. 2010の品種選抜試験に用いた品種における完全展開葉数の推移

品種	出芽後日数			
	14	28	56	84
ビッグシュガーソルゴー	5.0 ± 0.2 ab	9.1 ± 0.2	16.9 ± 0.4 bc	24.1 ± 0.7 c
風立	5.3 ± 0.2 ab	8.8 ± 0.2	18.1 ± 0.3 abc	25.1 ± 0.5 bc
高糖分ソルゴー	5.1 ± 0.3 ab	8.6 ± 0.4	16.8 ± 0.4 bc	26.2 ± 0.7 abc
スーパーシュガー	5.6 ± 0.3 a	9.3 ± 0.3	17.3 ± 0.4 bc	27.4 ± 0.7 ab
ミニソルゴー	4.9 ± 0.3 ab	8.4 ± 0.3	16.6 ± 0.2 c	16.6 ± 0.2 e
クミアイソルガムハチミツ	5.9 ± 0.1 a	9.6 ± 0.2	18.1 ± 0.3 abc	26.5 ± 0.5 ab
シュガースリム	4.4 ± 0.3 b	8.7 ± 0.2	16.3 ± 0.5 c	-
高消化ソルゴー	5.5 ± 0.2 ab	9.2 ± 0.2	18.6 ± 0.4 ab	18.9 ± 0.3 de
甘味ソルゴー	5.1 ± 0.2 ab	8.8 ± 0.2	17.2 ± 0.3 bc	27.9 ± 0.3 a
ゴールドソルゴー II	5.3 ± 0.3 ab	9.0 ± 0.3	19.4 ± 0.3 a	19.7 ± 0.4 d
SIL-05	5.3 ± 0.4 ab	8.6 ± 0.3	17.1 ± 0.4 bc	25.8 ± 0.5 abc
BMRスイート	5.1 ± 0.3 ab	8.5 ± 0.4 ns	17.3 ± 0.6 bc	-

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない；-, データ無し；±標準誤差 ns, 分散分析による有意差はない

各品種の糖収量を比較した結果、もっとも高い糖収量を示したのは、クミアイソルガムハチミツと甘味ソルゴーの出穂後60日で、61.7 g plant⁻¹であった（表(1)-16）。次いで糖収量が高かつ

たのはスーパーシュガーの出穂後60日で60.2 g plant⁻¹であり、供試品種中これら上位3品種がとくに収量が高かった（表(1)-16）。これら上位3品種は、いずれも播種から出穂まで日数が100日程度（表(1)-15）、播種から収穫まで日数（出穂後60までの日数）が160日程度であり、晩生に分類されると考えられた。また、風立においても出穂後30日で高い糖収量が得られたが、本品種は極めて晩生であり（表

表(1)-15. 2010年の品種選抜試験に用いた品種の出穂日および播種から出穂まで日数

品種	出穂日	播種から出穂まで日数
ビッグシュガーソルゴー	9月28日	119
風立	11月2日	154
高糖分ソルゴー	9月8日	99
スーパーシュガー	9月9日	100
ミニソルゴー	8月5日	65
クミアイソルガムハチミ	9月7日	98
シュガースリム	8月9日	69
高消化ソルゴー	8月16日	76
甘味ソルゴー	9月8日	99
ゴールドソルゴー II	8月12日	72
SIL-05	9月4日	95
BMRスイート	8月19日	79

(1)-15)、調査時に搾汁液の変色が著しく、バイオアルコール原料としては不適であると考えられた。なお、スーダン型ソルガムであるBMRスイートとスーダングラスであるシュガースリムは分けつが著しく多い、茎直径が著しく小さいなど他の品種と草型が大きく異なったため、他品種と同様の糖収量調査を行えなかった。出穂まで日数をもっとも短い品種はミニソルゴーの65日であったが（表(1)-15）、糖収量は最大でも3.0 g plant⁻¹と著しく低かった（表(1)-16）。スイートソルガムの収穫対象器官である茎の生体重および乾物重は、概ね糖収量の多少と一致していたが、収量の高かった上位3品種のなかでも、クミアイソルガムハチミツがもっとも乾物収量が高かった（表(1)-17、18）。Brix値はスーパーシュガーの出穂後60日が15.4%ともっとも高く、ほとんどの品種で出穂後60日にピークが認められた（表(1)-19）。本研究の結果、多収品種では6月上旬に播種した際、11月上旬に収穫するのが適当であると考えられた。

表(1)-16. 2010の品種選抜試験に用いた品種における各収穫日の糖収量 (g plant⁻¹)

品種	収穫日		
	出穂0日後	出穂30日後	出穂60日後
ビッグシュガーソルゴー	23.5 ± 1.6 cd	37.0 ± 3.0 bc	34.6 ± 3.0 cd
風立	28.1 ± 2.4 bc	57.8 ± 3.9 a	34.8 ± 2.2 bcd
高糖分ソルゴー	35.4 ± 1.3 ab	39.5 ± 1.5 bc	50.8 ± 4.1 ab
スーパーシュガー	32.3 ± 1.6 abc	48.7 ± 2.9 ab	60.2 ± 3.0 a
ミニソルゴー	2.7 ± 0.3 e	2.7 ± 0.2 d	3.0 ± 0.3 f
クミアイソルガムハチミツ	40.5 ± 2.6 a	46.5 ± 2.7 abc	61.7 ± 1.8 a
高消化ソルゴー	12.9 ± 1.3 de	34.7 ± 1.6 bc	26.0 ± 2.0 de
甘味ソルゴー	38.0 ± 2.9 ab	41.0 ± 2.3 bc	61.7 ± 3.2 a
ゴールドソルゴー II	9.9 ± 0.6 e	8.5 ± 0.9 d	12.2 ± 1.9 ef
SIL-05	27.0 ± 2.4 bc	33.5 ± 3.7 c	46.6 ± 3.4 abc

同一収穫日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない；±標準誤差

表(1)-17. 2010の品種選抜試験に用いた品種における各収穫日の生体重量 (g plant⁻¹)

品種	収穫日		
	出穂0日後	出穂30日後	出穂60日後
ビッグシュガーソルゴー	1175.2 ± 66.2 a	850.1 ± 60.5 ab	1065.9 ± 90.7 a
風立	987.7 ± 64.6 ab	1036.3 ± 50.7 a	779.8 ± 49.9 bc
高糖分ソルゴー	789.6 ± 33.3 bcd	817.6 ± 55.6 ab	919.6 ± 43.4 ab
スーパーシュガー	829.4 ± 52.2 bc	830.6 ± 59.9 ab	1015.6 ± 61.5 ab
ミニソルゴー	195.6 ± 4.8 g	175.5 ± 9.2 d	171.5 ± 12.6 e
クミアイソルガムハチミツ	971.9 ± 62.7 abc	1036.1 ± 70.1 a	1122.2 ± 54.7 a
高消化ソルゴー	437.7 ± 32.8 fg	439.3 ± 27.0 cd	443.5 ± 44.7 de
甘味ソルゴー	885.3 ± 70.0 bc	849.4 ± 56.0 ab	1102.1 ± 49.7 a
ゴールドソルゴー II	552.7 ± 23.0 def	463.6 ± 31.7 cd	397.1 ± 38.2 de
SIL-05	717.7 ± 60.8 cde	786.0 ± 82.3 ab	915.5 ± 89.3 ab
BMRスイート	517.3 ± 89.3 ef	640.3 ± 146.3 bc	538.5 ± 84.7 cd

同一収穫日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない；±標準誤差

表(1)-18. 2010の品種選抜試験に用いた品種における各収穫日の乾物重量 (g plant⁻¹)

品種	収穫日								
	出穂0日後		出穂30日後		出穂60日後				
ビッグシュガーソルゴー	211.5	± 8.4	a	212.9	± 15.3	ab	250.0	± 20.2	b
風立	189.3	± 12.7	ab	228.1	± 13.8	a	159.7	± 11.6	cd
高糖分ソルゴー	143.6	± 7.9	cd	156.7	± 8.6	bcde	207.5	± 8.4	bc
スーパーシュガー	154.9	± 11.4	bc	162.9	± 12.4	bcde	239.5	± 14.0	b
ミニソルゴー	26.2	± 0.8	g	26.1	± 1.6	g	26.6	± 1.4	f
クミアイソルガムハチミツ	172.3	± 9.7	abc	188.8	± 13.2	abc	352.7	± 25.4	a
高消化ソルゴー	69.2	± 5.8	ef	119.9	± 6.8	def	112.5	± 9.4	de
甘味ソルゴー	138.2	± 12.2	cd	173.1	± 11.1	abcd	269.4	± 9.5	b
ゴールドソルゴー II	60.4	± 2.4	fg	57.8	± 2.9	fg	56.0	± 4.5	ef
SIL-05	109.9	± 10.1	de	137.8	± 16.2	cde	206.7	± 23.4	bc
BMRスイート	68.1	± 9.9	efg	108.8	± 27.5	ef	100.2	± 15.3	de

同一収穫日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない； ±標準誤差

表(1)-19. 2010の品種選抜試験に用いた品種における各収穫日のBrix値

品種	収穫日								
	出穂0日後		出穂30日後		出穂60日後				
ビッグシュガーソルゴー	4.8	± 0.2	e	11.2	± 0.5	bc	11.4	± 0.4	bc
風立	8.4	± 0.2	bc	12.7	± 0.4	ab	10.2	± 0.3	c
高糖分ソルゴー	9.5	± 0.3	ab	11.4	± 0.5	bc	12.8	± 1.0	abc
スーパーシュガー	10.0	± 0.4	a	11.1	± 0.4	bc	15.4	± 0.4	a
ミニソルゴー	5.9	± 0.1	de	3.5	± 0.3	e	4.2	± 0.2	d
クミアイソルガムハチミツ	8.2	± 0.4	bc	9.8	± 0.3	cd	11.6	± 0.6	bc
高消化ソルゴー	7.3	± 0.2	cd	15.2	± 0.4	a	15.1	± 0.3	a
甘味ソルゴー	7.9	± 0.3	c	9.6	± 0.4	cd	13.6	± 0.4	ab
ゴールドソルゴー II	4.9	± 0.2	e	3.5	± 0.2	e	6.2	± 0.7	d
SIL-05	7.6	± 0.2	c	8.9	± 0.7	cd	10.8	± 0.5	bc
BMRスイート	5.3	± 0.3	e	3.3	± 0.3	e	3.5	± 0.5	d
シュガースリム	3.2	± 0.2	f	7.3	± 0.7	d	6.0	± 1.0	d

同一収穫日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない； ±標準誤差

2011年の栽培試験では多収品種に絞って播種日と施肥方法を変えて栽培したが（表(1)-2）、生育調査の結果、草丈は生育初期では播種日間差が著しく、もっとも遅く播いた6月15日播種の伸長速度が速かった（表(1)-20）。この傾向は出芽後56日まで続いたが、出芽後84日では播種日間差異は縮小した（表(1)-20）。しかし大まかな傾向をみると6月15日播種がもっとも生育が良いと考

表(1)-20. 2011年の品種選抜試験に用いた品種における草丈 (cm) の推移

播種日	品種	出芽後日数											
		14		28		56		84					
5月16日	ビッグ	10.3	± 0.4	def	28.9	± 2.0	cde	150.9	± 14.5	cd	368.6	± 17.5	a
	スーパー	9.4	± 0.3	ef	19.4	± 1.5	ef	124.3	± 4.7	def	307.0	± 6.3	cd
	甘味	9.0	± 0.5	f	16.5	± 0.7	f	100.1	± 3.4	f	287.3	± 6.8	d
	ハチミツ	8.9	± 0.5	f	20.3	± 2.3	ef	105.2	± 9.4	ef	275.8	± 11.2	de
6月1日	ビッグ	14.2	± 0.8	c	44.2	± 3.3	b	189.5	± 10.7	b	357.9	± 10.9	ab
	スーパー	13.0	± 0.6	cde	35.3	± 1.1	bc	167.5	± 2.7	bc	295.4	± 6.3	cd
	甘味	13.0	± 0.5	cde	33.2	± 2.1	bcd	159.5	± 5.0	bcd	297.7	± 12.3	cd
	ハチミツ	13.7	± 0.8	cd	36.7	± 1.9	bc	163.6	± 4.9	bc	303.2	± 9.7	cd
6月1日 追肥	ビッグ	12.2	± 0.7	cdef	36.4	± 2.0	bc	161.5	± 7.6	bcd	311.0	± 11.8	bcd
	スーパー	11.3	± 0.7	cdef	31.9	± 2.3	cd	140.1	± 9.4	cde	262.5	± 14.2	de
	甘味	11.6	± 0.4	cdef	22.9	± 1.8	def	107.5	± 5.3	ef	232.2	± 8.5	e
	ハチミツ	10.7	± 0.5	cdef	36.2	± 2.1	bc	157.0	± 5.0	bcd	286.1	± 7.9	d
6月15日	ビッグ	22.1	± 1.2	b	58.0	± 3.1	a	255.2	± 5.3	a	399.5	± 6.1	a
	スーパー	21.8	± 1.4	b	62.9	± 4.5	a	251.8	± 9.9	a	360.2	± 7.6	ab
	甘味	27.1	± 0.8	a	67.6	± 3.3	a	265.2	± 7.2	a	353.2	± 9.7	ab
	ハチミツ	21.0	± 1.3	b	62.7	± 3.1	a	232.9	± 7.8	a	342.1	± 7.1	abc
播種日		**		**		**		**		**		**	
品種		*		ns		**		**		**		**	
播種日×品種		**		**		*		*		ns		ns	

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない

*, **はそれぞれ5、1%水準で有意； ns, 有意性なし； ±標準誤差

2元配置分散分析の結果には6月1日播種の追肥区は含まれていない

えられた（表(1)-20）。稈長も草丈と概ね同様用の傾向を示し、6月15日播種で伸長が速く、最終的な成長量も大きかった（表(1)-21）。茎直径は生育初期では草丈、稈長と同様に6月15日播種で大きい傾向が認められたが、出芽後84日では5月16日播種が最も太かった（表(1)-22）。この結果

表(1)-21. 2011年の品種選抜試験に用いた品種における稈長 (cm) の推移

播種日	品種	出芽後日数			
		14	28	56	84
5月16日	ビッグ	1.6 ± 0.1 de	5.7 ± 0.4 fg	63.5 ± 8.7 cd	264.4 ± 18.2 bcd
	スーパー	0.7 ± 0.1 e	3.2 ± 0.3 g	36.2 ± 2.3 ef	229.2 ± 9.0 def
	甘味	1.0 ± 0.1 e	2.8 ± 0.2 g	25.9 ± 1.0 f	198.1 ± 8.0 fg
	ハチミツ	1.1 ± 0.1 e	3.7 ± 0.5 g	33.1 ± 4.1 ef	193.7 ± 14.5 fg
6月1日	ビッグ	3.1 ± 0.2 c	11.5 ± 1.0 cd	88.6 ± 7.6 c	253.3 ± 10.9 cde
	スーパー	3.1 ± 0.1 c	9.6 ± 0.4 de	70.4 ± 1.6 cd	232.7 ± 9.3 def
	甘味	3.1 ± 0.1 c	8.5 ± 0.6 def	68.8 ± 3.4 cd	221.8 ± 12.3 def
	ハチミツ	3.1 ± 0.2 c	9.4 ± 0.5 de	69.8 ± 3.1 cd	233.7 ± 8.8 def
6月1日 追肥	ビッグ	3.1 ± 0.2 c	9.0 ± 0.5 def	70.7 ± 4.0 cd	209.3 ± 11.4 ef
	スーパー	2.7 ± 0.2 c	8.0 ± 0.6 ef	55.5 ± 5.1 de	184.1 ± 16.4 fg
	甘味	2.8 ± 0.1 c	5.7 ± 0.4 fg	36.1 ± 2.3 ef	146.2 ± 8.8 g
	ハチミツ	2.7 ± 0.2 cd	9.3 ± 0.6 de	65.4 ± 2.8 cd	213.7 ± 8.0 def
6月15日	ビッグ	5.5 ± 0.4 b	14.1 ± 0.8 bc	141.3 ± 4.4 ab	315.5 ± 6.5 ab
	スーパー	5.5 ± 0.3 b	17.1 ± 1.3 ab	148.8 ± 10.9 ab	302.2 ± 9.7 abc
	甘味	7.0 ± 0.2 a	18.0 ± 0.9 a	164.2 ± 7.0 a	320.2 ± 9.2 a
	ハチミツ	5.8 ± 0.4 b	16.2 ± 1.0 ab	130.2 ± 8.6 b	293.3 ± 8.0 abc
播種日	**	**	**	**	
品種	*	ns	**	**	
播種日×品種	**	**	**	*	

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない

*, **はそれぞれ5、1%水準で有意; ns, 有意性なし; ±標準誤差

2元配置分散分析の結果には6月1日播種の追肥区は含まれていない

表(1)-22. 2011年の品種選抜試験に用いた品種における茎直径 (mm) の推移

播種日	品種	出芽後日数			
		14	28	56	84
5月16日	ビッグ	1.7 ± 0.1 ef	5.5 ± 0.4 cdefg	22.1 ± 1.9 abc	24.0 ± 1.4 ab
	スーパー	1.8 ± 0.1 ef	4.0 ± 0.4 fg	23.8 ± 1.2 ab	25.1 ± 1.4 a
	甘味	1.4 ± 0.1 f	3.0 ± 0.2 g	18.4 ± 0.9 bcd	23.3 ± 0.7 ab
	ハチミツ	1.8 ± 0.1 ef	4.3 ± 0.5 efg	19.5 ± 1.6 abcd	22.0 ± 1.5 abc
6月1日	ビッグ	2.2 ± 0.1 cde	8.0 ± 0.6 c	21.9 ± 0.9 abc	19.2 ± 0.6 bcde
	スーパー	2.3 ± 0.1 bcde	6.8 ± 0.2 cdef	19.6 ± 1.0 abcd	17.8 ± 0.9 cde
	甘味	2.4 ± 0.1 bcd	6.8 ± 0.5 cdef	20.1 ± 1.5 abc	18.9 ± 1.3 cde
	ハチミツ	2.7 ± 0.2 bc	7.4 ± 0.5 cd	20.9 ± 1.2 abc	18.9 ± 1.0 cde
6月1日 追肥	ビッグ	1.9 ± 0.1 ef	6.4 ± 0.5 cdef	18.8 ± 1.3 bcd	16.8 ± 1.0 de
	スーパー	2.2 ± 0.1 cde	5.9 ± 0.6 cdefg	16.8 ± 1.3 cd	16.5 ± 1.0 e
	甘味	2.3 ± 0.1 bcde	4.6 ± 0.4 defg	14.0 ± 1.3 d	16.2 ± 1.1 e
	ハチミツ	2.0 ± 0.1 def	7.2 ± 0.4 cde	21.5 ± 1.1 abc	19.2 ± 0.7 bcde
6月15日	ビッグ	2.8 ± 0.2 abc	11.9 ± 0.9 b	25.3 ± 1.4 a	21.5 ± 0.9 abcd
	スーパー	3.4 ± 0.2 a	14.2 ± 1.1 ab	23.4 ± 0.6 ab	20.1 ± 0.7 bcde
	甘味	3.4 ± 0.2 a	15.5 ± 0.9 a	22.8 ± 1.0 abc	20.2 ± 0.8 abcde
	ハチミツ	2.9 ± 0.2 ab	13.9 ± 0.9 ab	23.8 ± 0.7 ab	19.9 ± 0.6 bcde
播種日	**	**	**	**	
品種	ns	ns	*	ns	
播種日×品種	**	**	ns	ns	

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない

*, **はそれぞれ5、1%水準で有意; ns, 有意性なし; ±標準誤差

2元配置分散分析の結果には6月1日播種の追肥区は含まれていない

が生じた原因として、本研究では茎直径を葉鞘を込みにして測定しているため、生育の早い6月15日播種では生育の促進によって起きる下位葉の枯れ上がりが他の播種日に比べて早く、葉鞘分の厚みが減少したためと考えられた。完全展開葉数は他の生長形質ほど顕著ではなかったが、6月15日が多い傾向が認められ、ついで5月16日播種、6月1日播種の順となる傾向であった（表(1)-23）。追肥区を除く処理区間における2元配置分散分析の結果から、すべての生長形質に播種日が影響していることが明らかになった（表(1)-20、21、22、23）。品種の影響は草丈、稈長で大きかった

(表(1)-20、21)。

表(1)-23. 2011年の品種選抜試験に用いた品種における完全展開葉数の推移

播種日	品種	出芽後日数			
		14	28	56	84
5月16日	ビッグ	2.0 ± 0.0 d	4.6 ± 0.2 cde	11.5 ± 0.5 cde	18.5 ± 0.7 cd
	スーパー	2.0 ± 0.0 d	4.5 ± 0.2 cde	11.5 ± 0.2 cde	20.3 ± 0.5 abc
	甘味	2.0 ± 0.0 d	4.1 ± 0.2 e	10.5 ± 0.2 e	16.9 ± 1.1 d
	ハチミツ	1.9 ± 0.1 d	4.5 ± 0.3 de	11.1 ± 0.4 cde	19.0 ± 0.9 bcd
6月1日	ビッグ	2.1 ± 0.2 cd	5.5 ± 0.2 bc	12.6 ± 0.2 bcd	18.5 ± 0.3 cd
	スーパー	2.3 ± 0.2 cd	5.7 ± 0.1 b	12.3 ± 0.2 bcd	20.1 ± 0.5 abc
	甘味	2.3 ± 0.1 cd	5.6 ± 0.1 b	12.5 ± 0.4 bcd	20.1 ± 0.8 abc
	ハチミツ	2.6 ± 0.1 bc	5.9 ± 0.2 b	13.3 ± 0.3 b	22.0 ± 0.5 ab
6月1日 追肥	ビッグ	1.9 ± 0.2 d	5.3 ± 0.2 bcd	11.9 ± 0.3 bcde	17.6 ± 0.5 cd
	スーパー	2.3 ± 0.1 cd	5.3 ± 0.2 bcd	11.6 ± 0.3 cde	18.3 ± 0.8 cd
	甘味	2.3 ± 0.1 cd	5.0 ± 0.2 bcde	11.0 ± 0.3 de	16.9 ± 0.7 d
	ハチミツ	1.9 ± 0.1 d	5.7 ± 0.2 b	12.7 ± 0.3 bc	20.3 ± 0.6 abc
6月15日	ビッグ	3.0 ± 0.1 ab	7.3 ± 0.2 a	15.3 ± 0.3 a	22.4 ± 0.7 a
	スーパー	3.2 ± 0.1 a	7.9 ± 0.2 a	15.7 ± 0.4 a	21.9 ± 0.2 ab
	甘味	3.5 ± 0.1 a	8.2 ± 0.2 a	16.2 ± 0.4 a	22.0 ± 0.3 ab
	ハチミツ	2.9 ± 0.1 ab	8.0 ± 0.1 a	15.4 ± 0.3 a	22.0 ± 0.3 ab
播種日	**	**	**	**	
品種	ns	ns	ns	*	
播種日×品種	*	*	*	**	

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない

*, **はそれぞれ5, 1%水準で有意; ns, 有意性なし; ±標準誤差

2元配置分散分析の結果には6月1日播種の追肥区は含まれていない

次に、収量形質を播種日間で比較すると、糖収量は明確ではないが、5月16日と6月15日播種で高く、6月1日播種のみ低い傾向が見られた(表(1)-24)。収穫日間で比較すると、いずれの品種

表(1)-24. 2011年の品種選抜試験に用いた品種の各収穫日における糖収量 (g plant⁻¹)

播種日	品種	出穂後日数		
		30	45	60
5月16日	ビッグ	40.0 ± 3.0	-	-
	スーパー	40.4 ± 4.2	55.4 ± 9.9	54.3 ± 2.7 ab
	甘味	43.7 ± 4.1	51.0 ± 2.5	51.4 ± 4.7 ab
	ハチミツ	43.4 ± 4.2	53.4 ± 3.7	55.0 ± 3.3 a
6月1日	ビッグ	34.3 ± 3.1	31.7 ± 2.7	40.3 ± 4.2 ab
	スーパー	42.2 ± 1.5	49.8 ± 5.5	52.2 ± 4.3 ab
	甘味	47.1 ± 3.4	50.9 ± 3.9	41.9 ± 4.1 ab
	ハチミツ	47.6 ± 4.5	53.5 ± 3.0	46.5 ± 2.3 ab
6月15日	ビッグ	50.6 ± 3.4	35.9 ± 2.5	33.5 ± 2.1 b
	スーパー	39.8 ± 2.3	56.8 ± 3.0	50.8 ± 2.8 ab
	甘味	40.9 ± 2.4	49.2 ± 2.8	54.6 ± 3.1 ab
	ハチミツ	37.1 ± 2.8 ns	53.9 ± 3.3 ns	46.0 ± 4.2 ab
播種日	ns	**	ns	
品種	ns	**	ns	
播種日×品種	ns	**	ns	

同一収穫日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない

**は1%水準で有意; ns, 有意性なし; -, データ無し; ±標準誤差

も出穂後45または60日で高い値を示し、これら2収穫日間にはほぼ差異は認められなかった(表(1)-24)。2011年の栽培試験は2010年と異なり出穂後30日以降に焦点を当てて収量を比較したが、2010年の栽培試験で得られた収穫適期の出穂後60日という結果と概ね一致した(表(1)-16、24)。Brix値は播種日間および品種間で統計的な差異は認められるものの、その差は小さく、おもに出穂後日数に左右されている傾向が見られた(表(1)-25)。収穫日間における変動の傾向は糖収量と同様に出穂後45および60日で高まる結果となった(表(1)-25)。収穫対象器官である茎の生体重および乾物重をみると、播種日間では6月15日が高い傾向が見られたが、その差異や変動は一定ではなく、明確な傾向は認められなかった(表(1)-26、27)。

表(1)-25. 2011年の品種選抜試験に用いた品種の各収穫日におけるBrix値

播種日	品種	出穂後日数								
		30			45			60		
5月16日	ビッグ	13.0	± 0.8	abcde	-			-		
	スーパー	13.6	± 0.5	abcde	15.0	± 0.8	ab	17.2	± 0.3	ab
	甘味	13.8	± 0.4	abcd	16.0	± 0.3	a	17.1	± 0.3	ab
	ハチミツ	14.8	± 0.3	abc	15.4	± 0.5	ab	17.3	± 0.2	ab
6月1日	ビッグ	12.3	± 0.2	bcde	10.7	± 0.5	c	12.8	± 0.6	d
	スーパー	14.9	± 0.3	ab	17.6	± 0.3	a	17.6	± 0.3	ab
	甘味	14.6	± 0.1	abc	16.8	± 0.3	a	17.7	± 0.6	ab
	ハチミツ	15.3	± 0.4	a	16.8	± 0.5	a	18.2	± 0.3	a
6月15日	ビッグ	11.0	± 0.3	e	13.2	± 0.4	bc	13.2	± 0.5	cd
	スーパー	11.3	± 0.4	de	16.2	± 0.4	a	16.0	± 0.4	ab
	甘味	12.1	± 0.6	cde	15.6	± 0.5	ab	15.5	± 0.7	bc
	ハチミツ	12.7	± 0.6	abcde	14.9	± 0.5	ab	17.5	± 0.2	ab
播種日		**		**			**			
品種		**		ns			ns			
播種日×品種		ns		ns			ns			

同一収穫日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない
**は1%水準で有意; ns, 有意性なし; -, データ無し; ±標準誤差

表(1)-26. 2011年の品種選抜試験に用いた品種の各収穫日における茎生体重量 (g plant⁻¹)

播種日	品種	出穂後日数								
		30			45			60		
5月16日	ビッグ	740.6	± 65.7		-			-		
	スーパー	734.1	± 50.7		848.7	± 49.3	a	588.4	± 53.1	b
	甘味	735.5	± 41.7		750.6	± 58.3	abc	717.5	± 61.0	ab
	ハチミツ	778.3	± 74.4		708.5	± 59.2	abc	577.2	± 57.3	b
6月1日	ビッグ	799.9	± 43.7		790.1	± 58.8	abc	764.9	± 46.5	ab
	スーパー	558.9	± 52.6		549.7	± 39.4	c	586.8	± 41.7	b
	甘味	607.9	± 69.2		592.3	± 48.8	bc	640.5	± 59.9	b
	ハチミツ	600.9	± 39.2		618.8	± 59.8	abc	604.7	± 53.4	b
6月15日	ビッグ	776.6	± 83.4		815.5	± 56.2	ab	907.8	± 51.4	a
	スーパー	628.1	± 37.1		570.7	± 49.7	bc	715.7	± 41.2	ab
	甘味	717.9	± 59.8		653.2	± 61.2	abc	733.9	± 39.8	ab
	ハチミツ	583.3	± 50.2	ns	658.5	± 47.2	abc	640.9	± 60.6	b
播種日		*		**			ns			
品種		*		ns			ns			
播種日×品種		ns		ns			ns			

同一収穫日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない
*, **はそれぞれ5、1%水準で有意; ns, 有意性なし; -, データ無し; ±標準誤差

表(1)-27. 2011年の品種選抜試験に用いた品種の各収穫日における茎乾物重量 (g plant⁻¹)

播種日	品種	出穂後日数								
		30			45			60		
5月16日	ビッグ	199.8	± 16.2	ab	-			-		
	スーパー	183.3	± 13.0	abc	207.9	± 12.8	ab	158.9	± 13.9	bc
	甘味	202.5	± 15.9	ab	195.7	± 14.0	abc	177.4	± 18.8	bc
	ハチミツ	202.2	± 18.6	ab	181.9	± 14.5	abc	155.8	± 13.9	c
6月1日	ビッグ	225.7	± 8.8	a	218.9	± 13.9	ab	217.9	± 12.0	ab
	スーパー	139.5	± 13.2	bc	156.1	± 11.3	bc	170.4	± 11.0	bc
	甘味	148.7	± 16.0	bc	168.9	± 13.7	abc	191.0	± 12.0	bc
	ハチミツ	163.2	± 13.0	abc	165.7	± 14.4	abc	174.7	± 14.7	bc
6月15日	ビッグ	200.4	± 16.8	ab	224.0	± 15.3	a	256.6	± 11.7	a
	スーパー	137.3	± 11.5	bc	132.1	± 13.8	c	184.6	± 9.5	bc
	甘味	162.3	± 13.8	abc	164.3	± 16.7	abc	193.5	± 11.5	bc
	ハチミツ	131.7	± 12.3	c	170.6	± 11.6	abc	171.0	± 14.0	bc
播種日		**		**			ns			
品種		**		ns			ns			
播種日×品種		ns		ns			ns			

同一収穫日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない
**は1%水準で有意; ns, 有意性なし; -, データ無し; ±標準誤差

次に基肥と追肥で収量形質を比較すると、糖収量は出穂後30日では基肥で高い傾向が認められたが、出穂後45、60日では施肥方法の影響は有意ではなかった（図(1)-28）。Brix値はすべての収穫日で施肥方法の影響が認められなかった（表(1)-29）。同様に茎生体重量、茎乾物重量においても施肥方法の影響は有意ではなかった（表(1)-30、31）。

図(1)-28. 2011年の品種選抜試験の糖収量 (g plant⁻¹) における施肥方法間の比較

施肥方法	品種	出穂後日数								
		30			45			60		
基肥	ビッグ	34.3	± 3.1	ab	31.7	± 2.7	b	40.3	± 4.2	
	スーパー	42.2	± 1.5	ab	49.8	± 5.5	ab	52.2	± 4.3	
	甘味	47.1	± 3.4	a	50.9	± 3.9	ab	41.9	± 4.1	
	ハチミツ	47.6	± 4.5	a	53.5	± 3.0	a	46.5	± 2.3	
追肥	ビッグ	28.7	± 2.0	b	33.7	± 2.8	ab	37.2	± 3.4	
	スーパー	40.1	± 1.7	ab	41.3	± 3.9	ab	42.2	± 2.8	
	甘味	39.9	± 1.6	ab	48.9	± 3.4	ab	51.1	± 4.3	
	ハチミツ	34.6	± 4.2	ab	49.1	± 4.4	ab	39.7	± 4.0	ns
施肥方法		*			ns			ns		
品種		*			**			ns		
施肥方法×品種		ns			ns			ns		

同一収穫日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない*、**はそれぞれ5、1%水準で有意；ns，有意性なし；±標準誤差

表(1)-29. 2011年の品種選抜試験のBrix値における施肥方法間の比較

施肥方法	品種	出穂後日数								
		30			45			60		
基肥	ビッグ	12.3	± 0.2	bc	10.7	± 0.5	b	12.8	± 0.6	b
	スーパー	14.9	± 0.3	a	17.6	± 0.3	a	17.6	± 0.3	a
	甘味	14.6	± 0.1	ab	16.8	± 0.3	a	17.7	± 0.6	a
	ハチミツ	15.3	± 0.4	a	16.8	± 0.5	a	18.2	± 0.3	a
追肥	ビッグ	11.1	± 0.5	c	13.0	± 0.5	b	12.0	± 0.4	b
	スーパー	14.6	± 0.5	ab	17.3	± 0.2	a	17.3	± 0.3	a
	甘味	15.3	± 0.5	a	17.5	± 0.6	a	17.1	± 0.4	a
	ハチミツ	13.3	± 0.7	abc	16.2	± 0.5	a	17.5	± 0.4	a
施肥方法		ns			ns			ns		
品種		**			**			**		
施肥方法×品種		ns			*			ns		

同一収穫日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない*、**はそれぞれ5、1%水準で有意；ns，有意性なし；±標準誤差

表(1)-30. 2011年の品種選抜試験の茎生体重量 (g plant⁻¹) における施肥方法間の比較

施肥方法	品種	出穂後日数								
		30			45			60		
基肥	ビッグ	799.9	± 43.7	a	790.1	± 58.8	a	764.9	± 46.5	a
	スーパー	558.9	± 52.6	b	549.7	± 39.4	b	586.8	± 41.7	ab
	甘味	607.9	± 69.2	ab	592.3	± 48.8	ab	640.5	± 59.9	ab
	ハチミツ	600.9	± 39.2	ab	618.8	± 59.8	ab	604.7	± 53.4	ab
追肥	ビッグ	749.9	± 52.0	ab	637.2	± 52.0	ab	673.7	± 52.5	ab
	スーパー	657.3	± 56.4	ab	585.5	± 60.3	ab	618.3	± 42.9	ab
	甘味	662.8	± 58.4	ab	630.0	± 49.0	ab	473.3	± 61.4	b
	ハチミツ	644.0	± 51.5	ab	604.5	± 55.7	ab	652.6	± 51.9	ab
施肥方法		ns			ns			ns		
品種		**			*			*		
施肥方法×品種		ns			ns			ns		

同一収穫日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない*、**はそれぞれ5、1%水準で有意；ns，有意性なし；±標準誤差

表(1)-31. 2011年の品種選抜試験の乾物体重量 (g plant⁻¹) における施肥方法間の比較

施肥方法	品種	出穂後日数							
		30		45		60			
基肥	ビッグ	225.7	± 8.8	218.9	± 13.9	a	217.9	± 12.0	a
	スーパー	139.5	± 13.2	156.1	± 11.3	b	170.4	± 11.0	ab
	甘味	148.7	± 16.0	168.9	± 13.7	ab	191.0	± 12.0	a
	ハチミツ	163.2	± 13.0	165.7	± 14.4	ab	174.7	± 14.7	ab
追肥	ビッグ	203.9	± 12.6	185.7	± 13.0	ab	205.1	± 12.6	a
	スーパー	161.6	± 11.0	164.0	± 17.4	ab	168.6	± 10.2	ab
	甘味	262.7	± 103.2	171.1	± 12.4	ab	133.0	± 16.1	b
	ハチミツ	163.9	± 13.0	168.8	± 16.5	ab	181.6	± 12.1	ab
施肥方法		ns		ns		ns		ns	
品種		ns		*		**		**	
施肥方法×品種		ns		ns		ns		ns	

同一収穫日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない
*、**はそれぞれ5、1%水準で有意；ns，有意性なし；±標準誤差

最後に2010年および2011年で6月1日播種、基肥栽培区の出穂後60日における糖収量の年次間差異を比較すると、ビッグシュガーソルゴーのみ2011年で高く、その他の品種は2010年で高かった（表(1)-32）。Brix値は逆に全品種で2011年が高かった（表(1)-32）。このことは、生育の程度によってソースシンクバランスが変化しBrix値に変動が起きるためではないかと考えられたが、判然とはしなかった。

以上の結果をまとめると、高糖量品種としてスーパーシュガー、甘味ソルゴー、クミアイソルガムハチミツの3品種が有望であると考えられ、これら3品種間には明確な優劣は認められず、類似した形質を有する晩生品種であることが明らかになった。最適な播種日はやや不明瞭であったが、6月中旬の播種で初期生育が良好であると考えられた。収穫適期は出穂後45～60日であった。

表(1)-32. 品種選抜試験における糖収量とBrix値の年次間差異

栽培年	品種	糖収量			Brix値		
2010	ビッグ	34.6	± 3.0	c	11.4	± 0.4	d
	スーパー	60.2	± 3.0	ab	15.4	± 0.4	bc
	甘味	61.7	± 3.2	a	13.6	± 0.4	cd
	ハチミツ	61.7	± 1.8	a	11.6	± 0.6	d
2011	ビッグ	40.3	± 4.2	c	12.8	± 0.6	cd
	スーパー	52.2	± 4.3	abc	17.6	± 0.3	ab
	甘味	41.9	± 4.1	bc	17.7	± 0.6	ab
	ハチミツ	46.5	± 2.3	abc	18.2	± 0.3	a
栽培年		**		**		**	
品種		**		**		**	
栽培年×品種		*		**		**	

同一調査項目内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない

*、**はそれぞれ5、1%水準で有意；±標準誤差

3) 最適な施肥量の検討

生育への影響をみると、稈長は出芽後14日では処理区間差異は認められなかったが、栽培年次間の差異は顕著であった（表(1)-33）。出芽後28日では2010はN12、N24で大きく伸長し、N6では伸長量がやや少なく、N0では小さく、2011では処理区間差異は認められなかったが、年次間差異は顕著であった（表(1)-33）。出芽後56日では両栽培年共に施肥量の多い処理区ほど稈長の伸長量が増加していたが、年次間差異は引き続き顕著であった（表(1)-33）。出芽後84日では両栽培年ともN6とN12を境界に二極化し、施肥量が多いほど大きく、少ないほど小さかった（表(1)-33）。また、この時点では年次間差異は認められなくなった（表(1)-33）。2010年の茎直径は出芽後14

日ではN6とN12を境界に二極化し、多肥によって太くなった（表(1)-34）。2011は処理区間差異が

表(1)-33. 施肥量試験区の生育期間中における稈長 (cm) の推移

栽培年	処理区	出芽後14日			出芽後28日			出芽後56日			出芽後84日		
2010	N0	6.9	± 0.2	a	17.7	± 0.7	c	73.8	± 8.1	bc	133.0	± 15.6	b
	N6	5.8	± 0.3	a	21.0	± 0.7	b	85.2	± 6.9	b	154.5	± 19.6	b
	N12	6.9	± 0.4	a	30.8	± 1.0	a	141.5	± 5.9	a	266.6	± 8.9	a
	N24	6.0	± 0.4	a	28.6	± 0.8	a	161.2	± 6.7	a	282.0	± 15.2	a
2011	N0	2.2	± 0.6	b	9.4	± 2.2	d	45.3	± 4.9	d	126.3	± 10.3	b
	N6	2.5	± 0.5	b	8.3	± 2.3	d	52.4	± 7.5	cd	174.6	± 11.6	b
	N12	2.4	± 0.6	b	11.0	± 1.9	d	70.4	± 4.9	bc	237.5	± 10.3	a
	N24	2.4	± 0.6	b	10.4	± 2.0	d	76.8	± 3.1	b	265.5	± 8.0	a
施肥量		ns			**			**			**		
栽培年		**			**			**			ns		
施肥量×栽培年		*			**			**			ns		

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない
*、**はそれぞれ5、1%水準で有意；ns，有意性なし；±標準誤差

表(1)-34. 施肥量試験区の生育期間中における茎直径 (mm) の推移

栽培年	処理区	出芽後14日			出芽後28日			出芽後56日			出芽後84日		
2010	N0	3.7	± 0.2	b	12.6	± 0.5	b	20.9	± 1.2	ab	20.6	± 1.1	a
	N6	3.4	± 0.3	b	14.8	± 0.6	ab	24.0	± 1.3	a	21.5	± 1.1	a
	N12	5.8	± 0.4	a	16.7	± 0.9	a	21.9	± 1.2	ab	20.1	± 0.9	ab
	N24	4.9	± 0.5	a	17.2	± 1.0	a	24.8	± 2.2	a	21.4	± 1.0	a
2011	N0	1.8	± 0.1	c	5.9	± 0.6	c	17.7	± 2.4	b	16.3	± 0.9	b
	N6	1.7	± 0.2	c	5.3	± 0.8	c	18.9	± 3.9	ab	17.5	± 0.5	ab
	N12	1.9	± 0.1	c	7.2	± 0.5	c	22.4	± 3.2	ab	18.5	± 0.9	ab
	N24	1.9	± 0.2	c	6.6	± 0.5	c	22.8	± 1.9	ab	19.4	± 0.7	ab
施肥量		**			**			*			**		
栽培年		**			**			*			**		
施肥量×栽培年		**			*			ns			ns		

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない
*、**はそれぞれ5、1%水準で有意；ns，有意性なし；±標準誤差

認められなかった（表(1)-34）。また、稈長と同様年次間差異は顕著であった（表(1)-34）。出芽後28日では2010はN6とN12を境界に概ね二極化し、2011は処理区間差異が認められず、出芽後14日と同様年次間差異は顕著であった（表(1)-34）。出芽後56日では2010は処理区間差異が縮小し、2011はN6とN12を境界に二極化傾向が認められ、年次間差異は縮小した（表(1)-34）。出芽後84日では両栽培年共に処理区間差異が減少し、年次間差異も小さかった（表(1)-34）。2元配置分散分析の結果から、施肥量、栽培年ともに茎直径に有意に影響を及していると判断された（表(1)-34）。完全展開葉数は出芽後14日では両栽培年とも処理区間差異は認められなかったが、稈長、茎直径と同様年次間差異は顕著であった（表(1)-35）。出芽後28日では2010年はN6とN12を境界に二極化

表(1)-35. 施肥量試験区の生育期間中における完全展開葉数の推移

栽培年	処理区	出芽後14日			出芽後28日			出芽後56日			出芽後84日		
2010	N0	5.5	± 0.1	a	7.9	± 0.3	b	13.9	± 0.4	cd	18.9	± 1.0	bc
	N6	5.3	± 0.2	a	8.7	± 0.3	b	15.2	± 0.5	bc	19.9	± 1.3	ab
	N12	5.5	± 0.2	a	9.9	± 0.3	a	16.5	± 0.4	ab	23.2	± 0.5	a
	N24	5.5	± 0.2	a	9.7	± 0.3	a	17.1	± 0.4	a	23.0	± 0.7	a
2011	N0	2.1	± 0.1	b	5.7	± 0.3	c	11.8	± 1.3	e	16.5	± 0.5	c
	N6	2.0	± 0.1	b	5.3	± 0.4	c	11.9	± 1.0	e	18.3	± 0.5	bc
	N12	2.1	± 0.1	b	5.6	± 0.5	c	12.9	± 1.1	de	21.0	± 0.6	ab
	N24	2.1	± 0.1	b	5.6	± 0.5	c	12.7	± 1.1	de	21.4	± 0.4	ab
施肥量		ns			**			**			**		
栽培年		**			**			**			**		
施肥量×栽培年		ns			**			*			ns		

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない
*、**はそれぞれ5、1%水準で有意；ns，有意性なし；±標準誤差

傾向を示し、多肥によって葉数が増加していたのに対し、2011年では処理区間差異は認められず、出芽後14日と同様、顕著な年次間差異が認められた（表(1)-35）。出芽後56日では2010年は二極化傾向が縮小し、2011年は出芽後28日と同様処理区間差異が認められず、年次間差異は引き続き大きかった（表(1)-35）。出芽後84日では、2010年はやや二極化傾向を示し、2011年もN6以下の施肥量で葉数の減少傾向が認められた（表(1)-35）。また、この時点では年次間差異は減少していた（表(1)-35）。SPAD値は出芽後14日では2010年は施肥量の影響が認められたのに対し、2011年では処理区間差異は認められず、年次間差異は大きかった（表(1)-36）。出芽後28日では両栽培年とも施肥量の影響が明確に現れ、多肥によってSPAD値が増加し、出芽後14日と同様年次間差異は明確だった（表(1)-36）。出芽後56日では両栽培年とも施肥量の影響が強く現れ、多肥によって増加する傾向が認められ、年次間差異は認められなかった（表(1)-36）。出芽後84日では、施肥量の影響がより強く表れており、年次間差異は認められなかった（表(1)-36）。

表(1)-36. 施肥量試験区の生育期間中におけるSPAD値の推移

栽培年	処理区	出芽後14日	出芽後28日	出芽後56日	出芽後84日
2010	N0	33.8 ± 0.5 ab	36.3 ± 0.9 cd	33.6 ± 2.4 d	28.2 ± 1.6 e
	N6	32.4 ± 1.4 b	38.7 ± 0.9 bc	38.9 ± 1.5 bcd	30.5 ± 1.3 de
	N12	35.8 ± 1.2 ab	40.6 ± 0.8 ab	43.5 ± 1.3 ab	40.3 ± 1.5 bc
	N24	36.9 ± 0.8 a	42.2 ± 0.6 a	45.8 ± 0.7 a	47.4 ± 1.2 a
2011	N0	21.2 ± 0.1 c	29.3 ± 0.2 f	34.7 ± 0.2 cd	29.1 ± 2.3 e
	N6	20.1 ± 0.0 c	29.5 ± 0.2 f	39.4 ± 0.2 bc	36.7 ± 1.2 cd
	N12	21.7 ± 0.1 c	32.8 ± 0.2 ef	42.1 ± 0.2 ab	39.5 ± 1.1 bc
	N24	22.0 ± 0.1 c	33.0 ± 0.2 de	43.7 ± 0.3 ab	43.3 ± 1.1 ab
施肥量	**	**	**	**	
栽培年	**	**	ns	ns	
施肥量×栽培年	ns	ns	ns	**	

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない

**は1%水準で有意; ns, 有意性なし; ±標準誤差

次に収量形質への影響をみると、糖収量はすべての収穫日で2010年はN12区、2011年はN24区が最大であり、年次によって施肥量の影響が異なった（表(1)-37）。また、収穫日間における増減傾向も栽培年次で異なり、特定の傾向は確認できなかった（表(1)-37）。Brix値は出穂後30日では2010年はN24区のみ極めて低い値であった。2011年では処理区間差異はほぼ認められず、反復間のばらつきが大きかった（表(1)-38）。出穂後45日では2010年は

表(1)-37. 施肥量試験区のそれぞれの収穫日における糖収量 (t ha⁻¹)

栽培年	処理区	出穂後30日	出穂後45日	出穂後60日
2010	N0	1.8 ± 0.5 b	1.8 ± 0.9 c	1.6 ± 0.6 bc
	N6	2.5 ± 0.7 ab	2.2 ± 0.3 bc	2.0 ± 0.5 abc
	N12	3.0 ± 0.1 ab	4.6 ± 0.1 a	4.0 ± 0.4 a
	N24	2.0 ± 0.3 ab	2.4 ± 0.2 bc	3.4 ± 0.5 ab
2011	N0	1.5 ± 0.6 b	1.4 ± 0.7 c	1.0 ± 0.3 c
	N6	1.8 ± 0.7 b	2.2 ± 0.3 bc	2.5 ± 0.4 abc
	N12	2.9 ± 0.0 ab	3.0 ± 0.9 abc	3.2 ± 0.9 ab
	N24	3.8 ± 0.4 a	4.0 ± 0.6 ab	3.3 ± 0.2 ab
施肥量	*	**	**	
栽培年	ns	ns	ns	
施肥量×栽培年	*	*	ns	

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない

*, **はそれぞれ5、1%水準で有意; ns, 有意性なし; ±標準誤差

N12区とN24区で出穂後30日に比較して増加し、2011はN6区、N12区、N24区で微増した（表(1)-38）。出穂後60日では2010年はN24区が増加していたが、2011年ではほぼ変化しなかった（表(1)-38）。生体重は出穂後30日では2010はN12区で最大、2011年はN24で最大であった（表(1)-39）。出穂後45日では処理区間に有意差は認められなかったが、反復間のばらつきが大きく、この傾向は出穂後60日においても同様であった（表(1)-39）。乾物重は生体重と同様、出穂後30日では2010年は

N12区が最大、2011年はN24が最大であった（表(1)-40）。出穂後45日では有意差は認められなかったが、傾向は出穂後30日と同様であった（表(1)-40）。出穂後60日もほぼ同様の傾向であった（表(1)-40）。

以上の結果をまとめると、施肥量試験の結果、生育、収量共に年次間差異が大きく、とくに初期生育は栽培年次によって大きく異なることが明らかになった。2010年の栽培ではいずれの収穫日においてもN12区が

もっとも高い糖収量を示したが、2011年の栽培では再現されず、多肥により収量が増加する傾向が認められた。出穂後（収穫日間）における糖収量、Brix値の増減傾向も2010年と2011年では異なる結果が示され、

特定の傾向をつかむことはできなかった。これらのことから、スイートソルガムの施肥量に対する反応は栽培年次によって変化する事が示唆され、本研究結果のみでは最適な施肥量を定めることはできなかった。このことは、スイートソルガムから安定的に糖生産することの困難さを示しており、さらなる栽培研究を蓄積する必要がある。

4) 無除草栽培の検討

雑草の被度は7月播種で6月播種に比べ低く推移した（図(1)-4）。また、スイートソルガム収穫期の雑草の地上部乾物重は7月播種で少なく、6月播種と7月播種の間で雑草の発生量が異なった

表(1)-38. 施肥量試験区のそれぞれの収穫日におけるBrix値

栽培年	処理区	出穂後30日		出穂後45日		出穂後60日				
2010	N0	13.2	± 2.4	ab	13.6	± 1.9	abc	12.6	± 1.4	ab
	N6	12.4	± 1.9	ab	11.0	± 2.5	bc	11.8	± 2.0	ab
	N12	12.8	± 1.2	ab	16.5	± 1.0	ab	15.3	± 0.3	ab
	N24	6.9	± 1.2	b	8.3	± 0.1	c	10.9	± 2.6	b
2011	N0	15.6	± 0.3	a	15.5	± 0.9	ab	14.6	± 1.5	ab
	N6	16.2	± 1.1	a	17.1	± 2.4	ab	17.2	± 1.2	ab
	N12	15.6	± 0.9	a	17.6	± 0.9	a	18.1	± 0.9	a
	N24	15.3	± 1.2	a	17.5	± 0.8	a	17.5	± 0.5	a
施肥量		ns		*		ns				
栽培年		**		**		**				
施肥量×栽培年		ns		*		ns				

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない

*, **はそれぞれ5、1%水準で有意; ns, 有意性なし; ±標準誤差

表(1)-39. 施肥量試験区のそれぞれの収穫日における地上部生体重量 (t ha⁻¹)

栽培年	処理区	出穂後30日		出穂後45日		出穂後60日			
2010	N0	51.7	± 9.4	ab	44.6	± 13.9	43.9	± 12.7	ab
	N6	69.6	± 15.1	ab	62.2	± 19.1	52.1	± 16.6	ab
	N12	85.3	± 0.5	a	72.0	± 3.3	74.4	± 3.8	a
	N24	74.1	± 3.2	a	73.6	± 4.6	65.2	± 3.4	a
2011	N0	32.9	± 11.1	b	30.6	± 9.1	24.1	± 8.9	b
	N6	49.9	± 13.3	ab	53.3	± 18.1	46.0	± 6.9	ab
	N12	57.6	± 8.8	ab	52.1	± 7.3	51.6	± 6.7	ab
	N24	64.1	± 10.6	ab	58.0	± 9.0	ns	56.2	± 9.6
施肥量		**		*		*			
栽培年		**		ns		*			
施肥量×栽培年		ns		ns		ns			

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない

*, **はそれぞれ5、1%水準で有意; ns, 有意性なし; ±標準誤差

表(1)-40. 施肥量試験区のそれぞれの収穫日における地上部乾物重量 (t ha⁻¹)

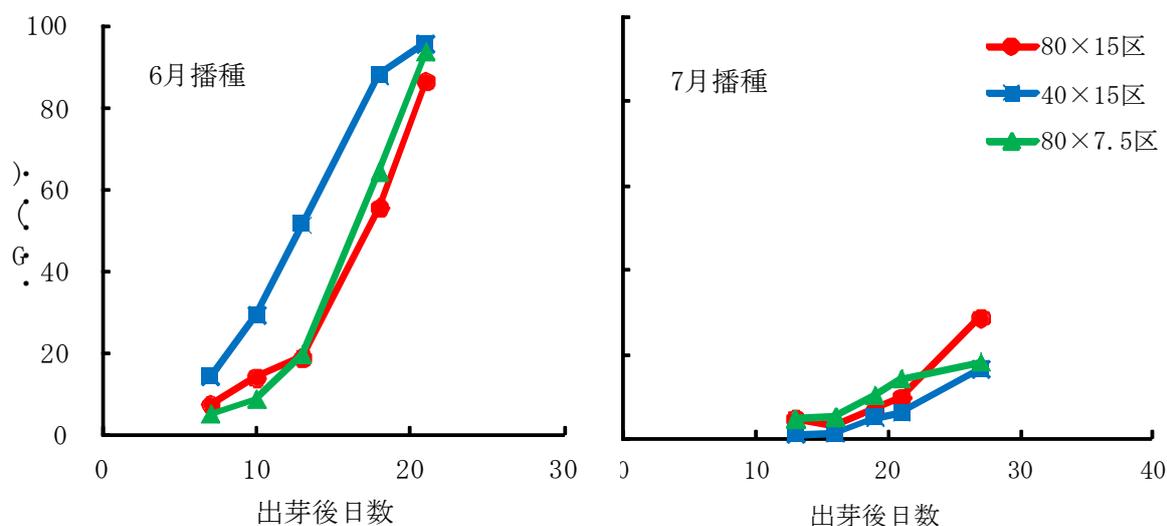
栽培年	処理区	出穂後30日		出穂後45日		出穂後60日			
2010	N0	12.1	± 1.4	b	9.9	± 1.2	11.2	± 2.8	b
	N6	14.0	± 2.8	ab	16.3	± 5.8	11.5	± 2.5	b
	N12	21.2	± 0.3	a	20.3	± 0.8	20.0	± 1.9	a
	N24	14.9	± 1.2	ab	14.7	± 0.7	14.1	± 0.6	ab
2011	N0	10.2	± 3.3	b	9.8	± 3.0	8.3	± 3.2	b
	N6	15.1	± 4.0	ab	16.6	± 5.6	14.6	± 1.4	ab
	N12	16.4	± 2.1	ab	15.9	± 1.9	15.7	± 1.6	ab
	N24	18.1	± 3.1	ab	17.0	± 2.5	ns	16.3	± 1.7
施肥量		**		*		**			
栽培年		ns		ns		ns			
施肥量×栽培年		ns		ns		ns			

同一調査日内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない

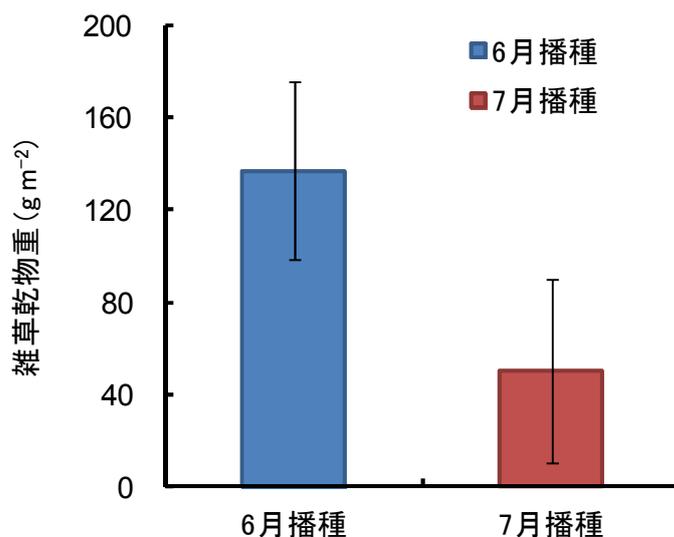
*, **はそれぞれ5、1%水準で有意; ns, 有意性なし; ±標準誤差

(図(1)-5)。スイートソルガムの糖収量は7月播種で6月播種より多かった(表(1)-41)。6月播種の場合、無除草処理区の1個体あたり糖収量は慣行区の0.2から0.7倍、単位面積あたりでも慣行区の0.6から0.8倍であった(表(1)-41)。一方、7月播種では無除草処理区の40×15区と80×7.5区の1個体あたり糖収量は慣行区の0.7倍であったが、単位面積あたりでは慣行区の1.3倍と慣行区に比べ増加した(表(1)-41)。6月播種では、雑草発生量が多かったことがスイートソルガムの糖収量に影響したが、7月播種では雑草の発生量が少なく、糖収量への影響も小さかったと考えられた。

以上の結果より、無除草条件下でも、栽植密度を高めることで高い糖収量を得られる場合があることが明らかとなった。



図(1)-4. 無除草栽培試験区における雑草被覆率の推移



図(1)-5. スイートソルガム収穫後における雑草の地上部乾物重量、誤差範囲は標準誤差を示す

表(1)-41. 除草の有無および播種密度でのスイートソルガムの諸形質および糖収量の比較

播種日	処理区	稈長 (cm)	茎					含水率 (%)
			茎径 (mm)	新鮮重 (g 本 ⁻¹)	乾物重 (g 本 ⁻¹)	乾物重 (g m ⁻²)		
6月2日	慣行区	272 (100)	21.1 (100) a	604 (100) a	140 (100) a	1165 (100)	78.2 (100) a	
	80×15区	260 (96)	14.0 (66) b	382 (63) ab	109 (78) ab	909 (78)	71.1 (91) b	
	40×15区	218 (80)	10.5 (50) bc	163 (27) b	44 (32) bc	735 (63)	70.2 (90) b	
	80×7.5区	217 (80) ns	8.2 (39) c	147 (24) b	41 (29) c	686 (59) ns	70.2 (90) b	
7月15日	慣行区	303 (100)	22.6 (100) a	651 (100) a	118 (100)	987 (100)	80.3 (100) a	
	80×15区	303 (100)	19.9 (88) b	600 (92) ab	117 (99)	977 (101)	77.5 (97) b	
	40×15区	281 (93)	17.9 (79) bc	422 (65) b	91 (77)	1513 (102)	78.3 (98) ab	
	80×7.5区	288 (95) ns	16.4 (73) c	410 (63) b	84 (71) ns	1392 (103) ns	78.8 (98) ab	

播種日	処理区	伸長節間数	搾汁液			糖収量	
			搾汁量 (mL 本 ⁻¹)	Brix値 (%)	搾汁効率 (%)	(g 本 ⁻¹)	(g m ⁻²)
6月播種区	慣行区	17 (100) a	283 (100) a	12.4 (100)	47.0 (100) a	34.1 (100) a	254 (100)
	80×15区	15 (85) b	169 (60) ab	16.7 (134)	43.8 (93) a	26.4 (77) ab	220 (87)
	40×15区	12 (72) bc	69 (24) b	18.3 (148)	36.9 (79) a	12.7 (37) bc	211 (83)
	80×7.5区	11 (66) c	55 (19) b	18.1 (146) ns	21.7 (46) b	9.3 (27) c	155 (61) ns
7月播種区	慣行区	18 (100) a	359 (100) a	13.1 (100)	53.1 (100)	46.5 (100) ab	387 (100)
	80×15区	17 (95) ab	348 (97) a	13.8 (105)	52.7 (99)	47.7 (103) a	397 (103)
	40×15区	16 (91) b	221 (62) b	14.0 (107)	51.6 (97)	31.0 (67) bc	517 (134)
	80×7.5区	16 (87) b	218 (61) b	13.6 (104) ns	50.9 (96) ns	29.4 (63) b	489 (126) ns

同一播種日、同一項目内で同一アルファベットを含む数値間には5%水準におけるTukey法による有意差はない
 ns, 有意差なし
 括弧内の数値は慣行区を100としたときの相対値を示す

(2) 高次倍数体の開発

1) 染色体倍加剤と処理ステージの検討

倍加薬剤への浸漬処理がスイートソルガム幼植物体の生存に及ぼす影響を表(1)-42に示した。芽生え期の処理においては、コルヒチン0.1%、24時間処理区および0.01%、120時間処理区で半数致死が得られた。同期のオリザリン処理においては、0.01%、24時間処理区で約8割の個体、0.01%、120時間処理区で9割以上の個体が枯死した。一方、2~3葉展開期の処理においては、コルヒチン0.1%、120時間処理区で約8割の生存率、コルヒチン0.01%、120時間処理区では、全ての個体が生存していた。同ステージのオリザリン0.01%、24時間処理区では約7割の個体が生存していた。同ステージでは、オリザリン0.001%、120時間処理区において半数致死が得られた。

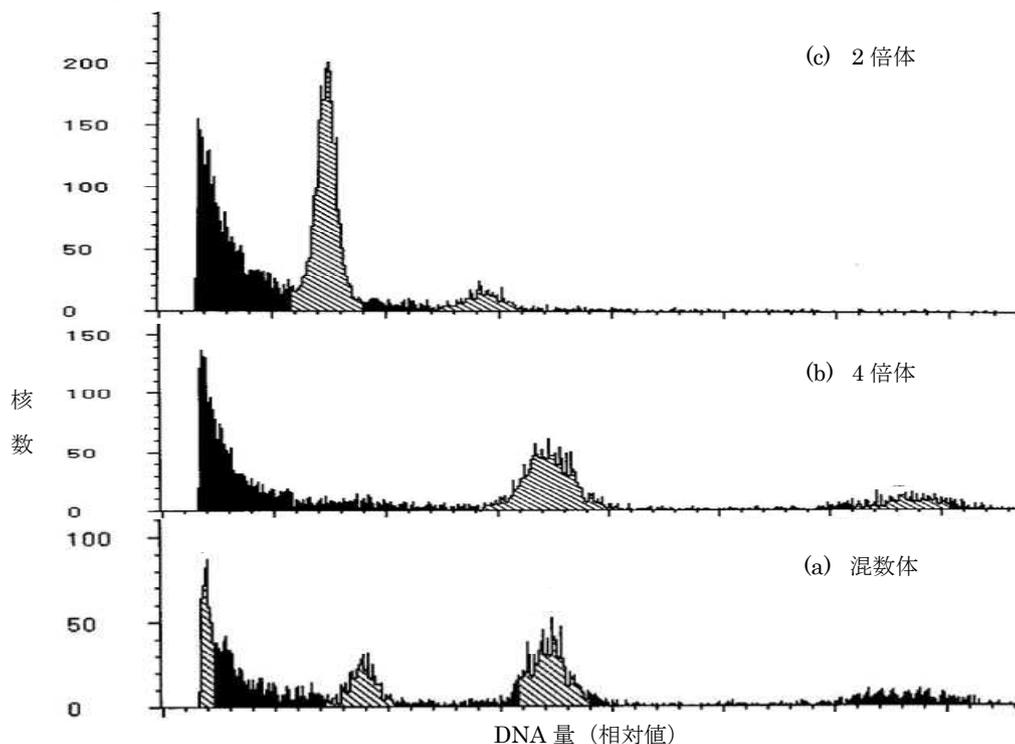
表(1)-42. 染色体倍加処理がスイートソルガムの生存率に及ぼす影響

倍加処理した生育段階	染色体倍加処理条件			処理個体数	生存個体数	生存率 (%)
	浸漬時間	倍加薬剤	処理濃度 (%)			
芽生え期	24	コルヒチン	0.1	16	8	50
			0.01	18	18	100
		オリザリン	0.01	15	2	13.3
			0.001	16	9	56.3
	120	蒸留水		17	17	100
			コルヒチン	0.1	17	0
		オリザリン	0.01	16	7	43.8
			0.001	17	1	5.9
2-3葉期	24	蒸留水		16	3	18.8
			コルヒチン	0.1	14	11
		オリザリン	0.01	10	10	100
			0.001	17	12	70.6
	120	蒸留水		16	12	75
			蒸留水		8	8
		コルヒチン	0.1	12	2	16.7
			0.01	12	9	75
オリザリン	0.01	15	5	33.3		
	0.001	15	8	53.3		
蒸留水		8	8	100		

倍加処理後、屋外のプラスチックポットで生存するすべての個体についてFCMによって倍数性の評価を行ったところ、蒸留水で処理した対照区を含むほとんどの個体において細胞周期における2Cの単独ピーク、または2Cおよび4Cの2ピークが観察された。さらに倍加処理区において、6Cのピークを持つものが2個体得られた。そのうちの1個体は4Cおよび6Cからなる倍数体のピークを示し、

もう1個体は2C、4Cおよび6Cからなる混数体のピークを示した（図(1)-6）。

以上の結果より、本研究によって、スイートソルガムにおいて染色体倍加個体を作成できる可能性が示された。また、これまでに他の単子葉植物でも報告されているように、オリザリンのほうがコルヒチンよりも低濃度、短時間の処理において、致命的な薬害を及ぼすと推察された。2)では染色体倍加効率との関連も含めて最適な染色体倍加条件を決定し、さらなる染色体倍加個体の獲得を目指した。



図(1)-6. フローサイトメトリー (FCM) によるスイートソルガムの核DNA量の推定と倍数性の評価
a, 2倍体 ; b, 4倍体 ; c, 混数体の違いを相対的DNA量のピークパターンで判別した

2) 染色体倍加剤への浸漬方法の改良

倍加剤への浸漬方法の改良がスイートソルガム幼植物体の生存および倍加個体の作出におよぼす影響を表(1)-43に示す。1)と同様に処理ステージにかかわらず、コルヒチン濃度の上昇に伴って生存率は低下した。手法別では、従来法に比べ葉を切り詰めることで植物体に傷を与えた改良法ⅠおよびⅡで顕著に生存率が低くなった。しかし、改良法Ⅰで芽生え期に0.01%コルヒチンを処理した区、および改良法Ⅱで2~3葉展開期に0.01%コルヒチンを処理した区でそれぞれ1個体ずつ混数体を得られた（表(1)-43）。倍加効率を1)の結果と比較すると、倍加個体を得られた処理区において生存個体に占める倍加個体の割合が1)では約6%だったのに対して、本改良法では20~33%と大幅に改善された（表(1)-44）。したがって、本改良法の生存率を改善することによって、より多くの倍加個体を効率的に作出できると展望される。

表(1)-43 コルヒチン水溶液への浸漬処理方法がスイートソルガムの生存率と染色体倍加に及ぼす影響

処理ステージ	コルヒチン濃度(%)	処理方法*	処理個体数	生存個体数	生存率(%)	倍加個体数
芽生え期	0.10%	従来法	30	0	0	0
		改良法 I	30	0	0	0
		改良法 II	30	0	0	0
	0.01%	従来法	30	17	57	0
		改良法 I	30	4	13	1
		改良法 II	30	6	20	0
2～3葉	0.10%	従来法	20	1	5	0
		改良法 I	20	0	0	0
		改良法 II	20	1	5	0
	0.01%	従来法	20	18	90	0
		改良法 I	20	9	45	0
		改良法 II	20	5	25	1

表(1)-44 スイートソルガムの染色体倍加における従来法と改良法の生存率と染色体倍加効率の比較

試験年度	処理時期	処理時間	コルヒチン濃度(%)	処理方法	処理個体数	生存個体数	生存率(%)	測定個体数	倍加個体数	倍加効率(%)
2009	芽生え期	24時間	0.1	従来法	26	16	62	16	1	6.3
	2～3葉展開期	120時間	0.01	従来法	22	17	77.3	17	1	5.9
2010	芽生え期	24時間	0.01	改良法 I	30	4	13.3	3	1	33.3
	2～3葉展開期	24時間	0.01	改良法 II	20	5	25	5	1	20

* 従来法, 地上部を薬液に浸漬 (昨年度の方法) ; 改良法 I, 地上部の葉を切断後に浸漬 ; 改良法 II, 地上部の葉を切断後に減圧下で浸漬する方法

3) 倍加個体の自殖による増殖

2) で獲得された2個体の混数体のうち1個体は開花まで成長し、自殖種子を得ることに成功した(図(1)-7)。混数体はヒコバエによる栄養繁殖を行うことによって維持が可能であった。さらに、栄養繁殖世代が開花結実することによって、多くの自殖種子を獲得した。今後、自殖個体を播種の倍数性および諸形質の評価を計画している。



図(1)-7. 混数体の開花によって得られた自殖種子

(3) 共生菌を用いた安定生産技術の開発

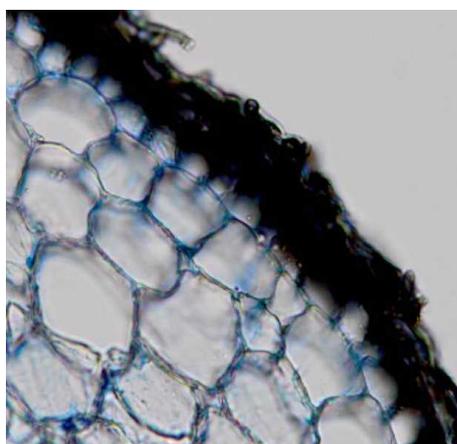
1) 貧栄養、低温条件下での生育促進効果

低温条件下においてDSE処理区の地上部バイオマス量は、窒素濃度がN100 mg/Lの処理区および無

窒素処理区で増加した。とくに、NA処理区は10 mg/Lおよび100 mg/L両濃度でバイオマス量が増加した。同様に葉緑素量もすべての処理区において増加した。対照区ではスイートソルガムの葉が展開していないのに対して、*P. fortinii*処理区では第2葉まで展開し、肉眼でも明らかな葉緑素の蓄積が確認できた（図(1)-8、左が対照区、右が*P. fortinii*処理区）。また、根部における*P. fortinii*の定着様式を観察したところ、おもに根の表面を菌糸が覆っていた（図(1)-9、黒色部）。以上をまとめると、低温条件における試験の結果、*P. fortinii*を処理したスイートソルガムのバイオマス量は対照区に比べて増加した。さらに、葉緑素量も対照区に比べ明らかに増加した。窒素源は、有機態窒素がバイオマス増加に有効であった。その中でも、NAは通常の作物栽培において実際に使用されており有効であると考えられる。



図(1)-8. 対照区（左）および*P. fortinii*処理個体（右）の外観



図(1)-9. 根部に*P. fortinii*が定着している様相（黒色部）

2) 低温条件下における影響解析

土壌を用いた低温条件下の試験で、*V. simplex*はスイートソルガムのバイオマス量を58.7%増加させた ($P < 0.05$)（図(1)-10）。一方で、*D. lagerstroemiae*はスイートソルガムのバイオマス量を8.8%増加させたが、対照区と比較して有意な差は認められなかった。接種25日後のスイートソルガム根部の横断切片を作製して観察したところ、*V. simplex*は表皮細胞および皮層細胞内にまで菌糸の侵入が確認できたが、*D. lagerstroemiae*は表皮細胞のみに留まっていた。また、栽培25



図(1)-10. 栽培25日後の *Veronaeopsis simplex* 処理による宿主植物(スイートソルガム)の外観
左：対照区，右：*V. simplex* 処理区. 13℃, 25日間, 16/8(L/D)の条件で栽培

日後のスイートソルガムにおいて、*V. simplex*処理は地上部の生育の促進だけでなく、根の分枝など、対照区と比較し明らかな形態的な違いが認められた。一方、*D. lagerstroemiae*処理は、地上部の生育に差は確認できなかったが、根の分枝が認められた。Tibbett(1998)は、外生菌根菌である *Hebeloma* spp. が12℃以下の低温条件においてフォスファターゼの生産を増加していることを明らかにし、0℃付近における温度での細胞外フォスファターゼの生産の増加は、低温による酵素活性の損失を補い、冬季の凍土での有機態リンの分解に役立っているかもしれないとしている³⁾。また、菌根菌は冷涼な土壤中、栄養獲得に順応しており、積極的に無機態窒素の吸収や、酵素の分泌によって活発に栄養を集め、有機態窒素の吸収する能力を持っている⁴⁾。このように、低温環境下での植物の栄養獲得に菌類が関係していることが考えられ、DSEにおいても同様にリンや窒素の栄養獲得に関わっていることが推測される。本試験結果からでは、*V. simplex*がリンや窒素などの栄養吸収に作用していたかどうかは明らかにできなかったが、少なくともバイオマスの増加をもたらす何らかの作用が働いたと推測される。

3) 植物—根部エンドファイト共生系栽培環境における温度の影響

亜熱帯地域の鹿児島県屋久島の森林土壌より分離された *V. simplex* Y34は13-37℃において生長が認められ、特に30℃付近の生育が最も良好であった。温帯地域の茨城県阿見町の森林土壌より分離された *H. velutinum* 41-I は13- 30℃において生長が認められ、特に30℃付近で最も生育が良好であった。亜寒帯地域のカナダアルバータ州の森林土壌より分離された *P. fortinii* BCaPC1 は6-23℃において生長が認められ、特に23℃で最も生育が良好であった。次にCd存在下での植物への接種試験結果であるが、13℃ではCd濃度10 ppm及び20 ppmともに *P. fortinii*接種区において最も高い地上部乾燥重量指数を示し対照区と比較して地上部バイオマスの有意な増加を示した(図(1)-11)。一方、23℃及び30℃では、Cd濃度10 ppm及び20 ppmともに *V. simplex*接種区において最も高い地上部乾燥重量指数を示し、対照区と比較して地上部バイオマスの有意な増加を示した(図(1)-12)。上述のように *P. fortinii*の生育最適温度は23℃であり、*H. velutinum*及び *V. simplex*の生育最適温度は30℃であるところが明らかになっている。よって、スイートソルガムではDSEの最適接種温度は供試菌株の生育最適温度に対応することが示唆された。対照区とDSE接種区

の宿主植物の生育を比較したとき、乾燥重量だけでなく、草丈、葉の大きさ及び葉数にも顕著な差が観察できた。これは、DSEの接種がリン酸吸収や、有機態窒素吸収に関与していること⁵⁾、特に宿主植物の初期生育時の窒素吸収に関与していると報告されていることから利用できる栄養素が対照区に比べ多いことが考えられる。また、*V. simplex*はIAAを生産することが報告されていることからDSEの接種による生育促進効果は植物ホルモンも関与していることが考えられる。



図(1)-11. 栽培温度13℃での*P. fortinii*接種による宿主植物(スイートソルガム)の外観
左：対照区, 右：*P. fortinii* 接種区 , 栽培条件：Cd濃度10 ppm, 21日間, 13℃, 16/8 (L/D)



図(1)-12. 栽培温度23℃での*V. simplex*接種による宿主植物(スイートソルガム)の外観
左：対照区, 右：*V. simplex* 接種区 , 栽培条件：Cd濃度10 ppm, 21日間, 23℃, 16/8 (L/D)

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本研究で行なった栽培制御研究は、これまで不明確であった茎の構成要素である伸長節間の数と栽培条件、糖収量との関係を明らかにした。また、バイオアルコール生産のためのスイートソ

ルガム最適品種を明らかにし、効率的生産のための耕種条件を一定程度明らかにした。加えて、省力・低コスト栽培条件確立に向けた、施肥体系、無除草栽培条件についての知見を獲得した。

高次倍数体の開発では、これまで報告のない、スイートソルガムにおける人為的な倍数性操作が可能であることを科学的に実証した。さらにその獲得効率を改善し、混数体を獲得して開花まで育成し、自殖種子を得ることに成功した。したがって、本研究結果は、スイートソルガムで人為的な倍数性操作が可能であることを科学的に立証し、その方法を確立した初めての報告であると考えられる。今後、本研究で開発した染色体倍加手法を活用して、倍数性の操作が糖含量を含むスイートソルガムの諸形質にどのような影響を及ぼすのかを解析することが可能となるなど、科学的な波及効果は大きい。

共生菌を用いた安定生産技術の開発では対象作物であるスイートソルガムに低温耐性を付与する目的で、冷涼環境の亜高山森林で土壌を採取し、DSEを分離し、最適な菌株をスクリーニングすることを試みた。その結果、*P. fortinii*が冷涼環境下でもスイートソルガム根に内生的に定着し生育を促進するDSEとして選抜された。さらに選抜試験をすすめることにより、低温条件でスイートソルガムの生育を促進するエンドファイトが*V. simplex*選抜された。さらにこれらDSEの環境に対する反応を解析した結果、スイートソルガムは、13℃では*P. fortinii*、23℃及び30℃では*V. simplex*と共生関係を結ぶことでより大きなバイオマス量を獲得することができることが明らかとなった。これにより、北方から南方までの異なる気候条件下での栽培にエンドファイトの利用が可能となった。

(2) 環境政策への貢献

第3サブテーマおよび第2サブテーマの結果と連携して解析した結果、スイートソルガムの多面機能を活用した栽培パッケージモデルの開発が必要であることが明らかになり、地域連携シンポジウム（平成24年3月13日、茨城大学で開催）などで社会的議論を深めた。尚、新聞（たとえば平成23年9月23日 日本経済新聞北関東面）、テレビ放映（たとえば平成23年10月21日 NHK総合テレビ（全国放送）の「おはよう日本」）などでの報道もあり環境政策に対する市民の理解を深めた。

かすみがうら市では、茨城県の協力のもと、「バイオ燃料の生産・利用の特区」申請の準備を進めている。同市では、バイオ燃料の生産・利用上、最大の課題は種々の法律（アルコール事業法、揮発油等の品質の確保等に関する法律、道路運送車両法、揮発油税法など）であると認識し、これらを特区によってフリーとし、「エネルギーの地産・地消社会」を形成することを目指している。

本研究課題でかねてより指摘していたE3以上のエタノール混入ガソリンの実現は、平成23年度末までにE10まで法律改正される見込みである（各種の環境省資料に記載あり）。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況 ※【別添】H23研究等報告書作成要領 参照

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) Ousmane D., Takahashi T., Yonekura A., Nitta Y. and Narisawa K., *Microbes and Environments* 25, 216-219 (2010)
 “A new fungal endophyte, *Helminthosporium velutinum*, promoting growth of bioalcohol plant, sweet sorghum.”
- 2) Chohnan S., Nakane M., Habibur R., Nitta Y., Yoshiura T., Ohta H. and Kurusu Y., *Journal of Bioscience and Bioengineering* 111, 433-436 (2011)
 “Fuel ethanol production from sweet sorghum using repeated-batch fermentation”
- 3) Nitta Y., Ohta H. and Kato T., In Morioka, T., Hanaki, K. and Moriguchi, Y. eds *Establishing a resource-circulating society in Asia: Challenges and opportunities*, United Nations University Press, Tokyo. 218-234 (2011)
 “Regional sustainability-oriented agricultural technology and biomass circulation system development”

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) Kamiyama, A., Nitta, Y., Homma, T., Umehara, R., Kobayashi, R., Matsuda, T., Nakamura, S., Goto, Y., Inoue, E., Narisawa, K., Kurusu, Y., Ohta, H., Chohnan, S., Miyaguchi, Y., Toyoda, A., Kato, T., Kobayashi, H., Komatsuzaki, M., Sato, T. and Yoshida, K., *Tohoku Journal of Crop Science* 52, 41-42 (2009)
 “Annual Differences of Sugar Production in Effect of Weather Condition on Sugar Yield in Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Stem”
- 2) Kamiyama, A., Nitta, Y., Homma, T., Umehara, R., Kobayashi, R., Matsuda, T., Nakamura, S., Goto, Y., Inoue, E., Narisawa, K., Kurusu, Y., Ohta, H., Chohnan, S., Miyaguchi, Y., Toyoda, A., Kato, T., Kobayashi, H., Komatsuzaki, M., Sato, T. and Yoshida, K., *Tohoku Journal of Crop Science* 52, 39-40 (2009)
 “Annual Differences of Sugar Production in Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Stem”
- 3) 本間貴司・塩津文隆・乃田啓吾・浅木直美・吉田貢士・加藤亮・加藤明・新田洋司：農業および園芸， 87， 275-284（2012）
 「地域の耕作放棄地を利活用した環境保全型バイオ燃料生産」

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) Hommaら（他19名）：日本作物学会第228回講演会（2009）
 “Effect of Sowing Date and Fertilizer Application on the Elongated Internodes Number and Stem Sugar Content in Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)”
- 2) 本間ら（他19名）：日本育種学会第116回講演会（2009）
 「糖生産に着目したスイートソルガムにおける生長過程の年次間差異」
- 3) Kamiyamaら（他19名）：日本作物学会第228回講演会（2009）

- “Effect of Sowing Date and Fertilizer Application on Sugar Concentration of Elongated Internodes in Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)”
- 4) 井上ら (他15名) : 日本育種学会第116回講演会 (2009)
「スイートソルガムにおける染色体倍加条件の検討」
- 5) 米倉茜・成澤才彦 : 日本微生物生態学会第25回大会 (2009)
「根部エンドファイト *Phialocephara fortinii* を利用したスイートソルガムの最適な栽培条件の検討」
- 6) 河合由貴・高橋拓也・成澤才彦 : 日本微生物生態学会第25回大会 (2009)
「根部エンドファイト *Veronaepsis simplex* を利用した燃料作物によるCd汚染土壌浄化の試み」
- 7) Hommaら (他15名) : 日本作物学会第229回講演会 (2010)
“The Damage by the Typhoon No.18 on Above Ground Biomass and Stem Sugar Yield of Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in 2009”
- 8) Hommaら (他12名) : 27th International Horticultural Congress, Lisbon, Portugal, 2010
“Growth Characteristic and Availability of Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) under Non-irrigated Field Conditions in Ibaraki Prefecture, Japan”
- 9) Hommaら (他13名) : 日本作物学会第230回講演会 (2010)
“Variety Choice of Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.)) as a View of Bio-fuel Crop”
- 10) Hommaら (他9名) : ASA-CSSA-SSSA 2010 International Annual Meetings, Long Beach, CA, U.S.A., 2010
“Growth Characters of Sweet Sorghum Cultivation for Bio-Ethanol Production in the Southern Region of Ibaraki Prefecture, Japan”
- 11) 本間ら (他8名) : 園芸学会平成22年度秋季大会 (2010)
「スイートソルガム搾汁残渣の土壌への施用がコマツナの生育におよぼす影響」
- 12) 井上ら (他3名) : 日本育種学会第118回講演会 (2010)
「スイートソルガムにおける染色体倍加とフローサイトメトリー」
- 13) Asagiら (他8名) : ASA-CSSA-SSSA 2010 International Annual Meetings, Long Beach, CA, U.S.A., 2010
“Application Effects of Sweet Sorghum Bagasse on Growth, Yield and N Uptake in Komatsuna”
- 14) Asagiら (他3名) : 日本作物学会関東支部第99回講演会 (2010)
“Effects of Differences of Sowing time and Density on Growth of Sweet Sorghum and Weed”
- 15) Asagiら (他3名) : 日本作物学会関東支部第99回講演会 (2010)
“Application Effects of Sweet Sorghum Bagasse on Growth and Yield of Sweet Sorghum”
- 16) Yonekuraら (他3名) : 日本微生物生態学会第26回大会 (2010)
“Selection and determination of the best system for applying of a root endophyte which promote sweet sorghum growth under low temperature condition”
- 17) Hommaら (他10名) : 日本作物学会第231回講演会 (2011)
“Effect of Fertilizer Application Rate on Sugar Yield and Above Ground Biomass of Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)”
- 18) Hommaら (他10名) : 日本作物学会第232回講演会 (2011)

“Effect of Fertilizer Application Rate on Growth and Yielding Characters of Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)”

19) Hommaら（他9名）：The 7th ASIAN CROP SCIENCE ASSOCIATION CONFERENCE, Bogor, Indonesia, 2011

“Sweet Sorghum Cultivation for Bio-ethanol Production in the Southern Region of Ibaraki Prefecture, Japan”

20) Asagiら（他9名）：日本作物学会第231回講演会（2011）

“Sweet Sorghum Growth and Soil Nitrogen Distribution Following Bagasse Application”

21) Asagiら（他9名）：The 7th ASIAN CROP SCIENCE ASSOCIATION CONFERENCE, Bogor, Indonesia, 2011

“Plant Growth and Distribution of N Derived from Inorganic Fertilizer Following Sweet Sorghum Bagasse Application”

22) Asagiら（他4名）：日本作物学会関東支部第100回講演会（2011）

“Effects of Sweet Sorghum Bagasse Application and Sowing Time on Growth of Sweet Sorghum and Weed”

23) Asagiら（他4名）：日本作物学会関東支部第100回講演会（2011）

“Effect of Sowing Time and Density in Sweet Sorghum Cultivation on Growth of Sweet Sorghum and Weed”

24) Nittaら（他10名）：日本作物学会第231回講演会（2011）

“Suitable Cultivars for Sweet Sorghum Cultivation as a Bio-fuel Crop for Alcohol Production in the Southern Region of Ibaraki Prefecture”

25) 米倉茜、成澤才彦：成23年度日本植物病理学会大会（2011）

「亜熱帯起源の根部エンドファイト *Veroneopsis simplex* によるトマト根腐萎凋病に対する抑制効果」

26) 河合由貴、成澤才彦：日本微生物生態学会第27回大会（2011）

「根部エンドファイト3種を利用したスイートソルガムによるCd汚染土壌浄化について」

27) Khastiniら（他3名）：日本微生物生態学会第27回大会（2011）

“Change in the community of associated bacteria with *Veroneopsis simplex* in the response of high temperature stress”

28) 新田ら（他3名）：日本作物学会第233回講演会（2012）

「スイートソルガムによる放射性物質の吸収効果」

（3）出願特許

特に記載すべき事項はない

（4）シンポジウム、セミナーの開催（主催のもの）

1) 一般公開ワークショップ「首都圏近郊におけるバイオ燃料社会の構築と地域農業イノベーションを目指して－茨城大学バイオ燃料社会プロジェクト（IBOS）の展開－」（2009年4月24日、

- 茨城大学インフォメーションセンター、参加者数約100名)
- 2) バイオ燃料国際シンポジウム「農業イノベーションによるバイオ燃料社会の構築」(2009年12月11日、茨城県立図書館視聴覚ホール、参加者数235名)
 - 3) 地域連携シンポジウム「地域と連携したバイオ燃料生産の展望」(2012年3月13日、茨城大学農学部、参加者数約100名)

(5) マスコミ等への公表・報道等

- 1) NHK総合テレビ 茨城地域放送「ニュースワイド茨城」で、スイートソルガムの播種風景が放送される。(2009年7月1日)
- 2) 茨城放送「土曜の午後ワイド 恭ノ介のココで語れば」で、茨城大学バイオ燃料社会プロジェクト (IBOS) および茨城大学地球変動適応科学研究機関 (ICAS) の紹介。(2009年11月14日)
- 3) NHK総合テレビ 茨城地域放送「とれたてワイドいばらき」で、バイオ燃料国際シンポジウム (2009年12月11日開催) の案内が生放送される。(2009年12月3日)
- 4) 産経新聞茨城版で、「耕作放棄地からバイオ燃料」記事および国際シンポジウム案内が掲載される。(2009年12月4日)
- 5) 茨城放送「夕刊ほっと」の「ほっとボイス」で、茨城大学バイオ燃料社会プロジェクトおよびバイオ燃料国際シンポジウム (2009年12月11日開催) の案内が生放送される。(2009年12月9日)
- 6) NHK総合テレビ 茨城地域放送「ニュースワイド茨城」の「インタビューいばらき人」で18時35分から約10分間インタビューされ、生放送される。(2009年12月22日)
- 7) 読売新聞茨城版で、「バイオ燃料 (E10・E3) の走行実証 (3月26日)」の記事が紹介される。(2010年3月25日)
- 8) NHK総合テレビ茨城地域放送の18時台と21時前のニュースで、「バイオ燃料 (E10・E3) の走行実証 (3月26日)」が放映される。(2010年3月26日)
- 9) 茨城放送「夕刊ほっと」のニュースで、「バイオ燃料 (E10・E3) の走行実証 (3月26日)」が放送される。(2010年3月26日)
- 10) 水戸経済新聞で、「バイオ燃料 (E10・E3) の走行実証 (3月26日)」が紹介される。(2010年3月26日)
- 11) Yahooニュースで、「バイオ燃料 (E10・E3) の走行実証 (3月26日)」が紹介される。(2010年3月26日)
- 12) 読売新聞茨城版で、「バイオ燃料 (E10・E3) の走行実証 (3月26日)」が紹介される。(2010年3月27日)
- 13) 日本経済新聞茨城版で、「バイオ燃料 (E10・E3) の走行実証 (3月26日)」が紹介される。(2010年3月27日)
- 14) 茨城新聞で、「バイオ燃料 (E10・E3) の走行実証 (3月26日)」が紹介される。(2010年3月27日)
- 15) 東京新聞茨城版で、「バイオ燃料 (E10・E3) の走行実証 (3月26日)」が紹介される。(2010年4月7日)

- 16) 日本経済新聞茨城版「利根往来」欄で、「茨城大学教授新田洋司氏：製造バイオ燃料、地域で使いたい」が紹介される。(2010年4月9日)
- 17) NHK総合テレビ(首都圏)「こんにちはいっと6けん」の「わたしの街のイチオンさん」で、バイオ燃料社会プロジェクトが紹介される。(2010年4月15日)
- 18) NHKサイエンスZERO「つながる生物の謎 土の中の小宇宙」(2010年4月17日)
- 19) NHK総合テレビ(茨城地域放送)の番組「ニュースワイド茨城」の「フォーカスいばらき」で、バイオ燃料社会プロジェクトが紹介される。(2010年4月22日)
- 20) 日本経済新聞茨城版で、「茨城大 バイオ燃料の小型生産装置」が紹介される。(2010年5月7日)
- 21) 日刊工業新聞で、「連携協定—成果はいかに—茨城県・県などバイオ燃料実用間際混合ガソリンの試走成功」欄で紹介される。(2010年6月1日)
- 22) 毎日新聞「地球と暮らす『地産地消に解答求め』」欄で紹介される。(2010年7月5日)
- 23) MAINICHI RTで、「地球と暮らす『地産地消に解答求め』」で紹介される。(2010年7月8日)
- 24) 日本経済新聞北関東版の「多士彩々」で、「バイオ燃料『地産地消』目標 スイートソルガム研究先導」が掲載される。(2010年8月13日)
- 25) NHK総合テレビ(茨城地域放送)の番組「ニュースワイド茨城」の「フォーカスいばらき」で、茨城大学バイオ燃料社会プロジェクトが放送される。(2010年11月4日)
- 26) NHK総合テレビ(首都圏)「こんにちはいっと6けん」で、茨城大学バイオ燃料社会プロジェクトが紹介される。(2010年11月11日)
- 27) 茨城新聞で、「地域円卓会議in茨城2011」(新田が学識経験者として参加)が紹介される。(2011年2月19日)
- 28) 日本経済新聞全国面で、茨城大学バイオ燃料社会プロジェクトの活動が紹介される。(2011年3月8日)
- 29) 日本経済新聞北関東面で、「茨城大 小中高生に環境教育 バイオ燃料、成果を紹介」が掲載される。(2011年9月23日)
- 30) NHK総合テレビ(茨城地域放送)の番組「ニュースワイド茨城」、「茨城県内のニュース」で、茨城大学バイオ燃料社会プロジェクトがスイートソルガムからパルプ化・製紙化が成功した話題が紹介される。(2011年10月14日)
- 31) NHK総合テレビ(首都圏放送)の番組「首都圏ネットワーク」で、茨城大学バイオ燃料社会プロジェクトがスイートソルガムからパルプ化・製紙化が成功した話題が紹介される。(2011年10月17日)
- 32) NHK総合テレビ(東北地方放送)の夜のニュース番組で、茨城大学バイオ燃料社会プロジェクトがスイートソルガムからパルプ化・製紙化が成功した話題が紹介される。(2011年10月18日)
- 33) NHKラジオ第一放送(全国放送)の番組「NHKジャーナル」で、茨城大学バイオ燃料社会プロジェクトがスイートソルガムからパルプ化・製紙化が成功した話題が紹介される。(2011年10月20日)
- 34) NHK総合テレビ(全国放送)の「おはよう日本」で、茨城大学バイオ燃料社会プロジェクト

- がスイートソルガムからパルプ化・製紙化が成功した話題が紹介される。(2011年10月21日)
- 35) 日本経済新聞北関東面で、「イネ科植物から紙開発 茨城大など、数年内に実用化」が掲載される。(2011年11月2日)
- 36) 茨城新聞で、「バイオ燃料の利活用考える 阿見でシンポ」が掲載される。(2012年3月14日)
- 37) 常陽新聞で、「バイオ燃料の展望を議論 阿見 茨城大がシンポジウム」が掲載される。(2012年3月14日)

(6) その他

特に記載すべき事項はない

8. 引用文献

- 1) 成澤才彦 (2008) 西南暖地におけるDark-septate endophytic fungi (DSE) の採集とその生態解明. 微探収報21:1-6
- 2) Ousmane D, Takahashi T, Yonekura A, Nitta Y and Narisawa K. (2010) A New Fungal Endophyte, *Helminthosporium veltinum*, Plant Growth of a Bioalcohol Plant, Sweet Sorghum. Microbes Environ 25:216-219
- 3) Tibbett M. Sanders F. E. and Cairney J. W. G. (1998) The effect of temperature and inorganic phosphorus supply on growth and acid phosphatase production in arctic and temperate strains of ectmycorrhizal *Hebeloma* spp. in axenic culture. Mycol. Res 102:129-135
- 4) Tibbett M. and Cairney W. G. (2007) The cooler side of mycorrhizas: their occurrence and functioning at low temperatures. Can. J. Bot. 85:51-62
- 5) Jumpponen, A. and J.M. Trappe. (1998) Dark-septate root endophytes: a review with special reference to facultative biotrophic symbiosis. New Phytol 140: 295-310.

(2) 農地オンサイト型バイオ燃料生産系システムの開発に関する研究

茨城大学農学部 久留主泰朗・長南 茂・豊田 淳
宮口右二・太田 寛行

<研究協力者>

茨城大学農学部 Habibur Raman

平成21～23年度累計予算額：31,817千円（うち、平成23年度予算額：9,751千円）

予算額は、間接経費を含む。

【要旨】

スイートソルガム（糖含量およそ10%）3品種を原料とし、アルコール発酵に適した酵母の選抜および発酵条件の検討を行った結果、3品種の中でFS902品種のみで良好な酵母の生育が確認され、アルコール変換効率は3日間の発酵で糖に対して80%以上であったことから、酵母とスイートソルガムの組合せとしてHitachi株（酵母）およびFS902品種（スイートソルガム）、発酵時間は3日間で発酵温度は30℃が最適発酵条件という結果を得た。さらに、スイートソルガム搾汁液を用いて繰り返し回分発酵（Repeated-batch fermentation）について検討した結果、FS902株の搾汁液を用いて1～10サイクル使用においてHitachi株は10.1%の糖から5.59%～6.13%(v/v)のエタノールを生産し、83.3%～91.4%と極めて高い変換効率を示した。

スイートソルガムの搾りかすの飼料化について検討し、スイートソルガム残渣の繊維を蒸煮・爆砕処理したところ、繊維部分が分解され、粉状のソルガム残渣が回収（収量約60%）可能であった。また、繊維成分を構成しているセルロースやヘミセルロース、リグニン等の定量及び蒸煮条件の検討を行い、反芻家畜の飼料としての利用性を検討した結果、蒸煮時間をなるべく最低限にすることで、リグニンの増加を抑制し粗飼料として有効なセルロース量を増加させる効果があることを明らかにした。また、乳酸菌およびセルラーゼを用いて、サイレージが調製可能であることが判明した。

ブタノールの生産システムの開発を目的とし、スイートソルガム搾汁液を発酵基質としてブタノールを生産する菌株を土壌から2株分離した。両分離株を同定するために、種々の性状鑑別試験を行った結果、グラム陽性の芽胞形成嫌気性細菌のグループに属する*Clostridium beijerinckii*であった。スイートソルガム搾汁液中で生育してブタノールを生産する細菌SBP1株とSBP2株から、ブタノール馴化培養によるブタノール高生産株の選抜と生産条件の最適化を検討した結果、SBP2株のブタノール馴化培養により2.4%(v/v)のブタノールに耐性を持つ株（SBP2-HB株）を、SBP1株からはブタノール耐性限界濃度2.2%(v/v)の菌株を選抜した。SBP2株の糖からブタノールへの転換率は、0.27であったが、SBP2-HB株では0.78にまで上昇した。また、ブタノール生産条件の最適化を目的としスイートソルガム（FS902）搾汁液濃度の最適化を行った結果、搾汁液を約13倍に希釈して発酵に用いることで、糖から効率的にブタノールを生産できることを見出した。

【キーワード】 原料転換効率、発酵生産技術、残渣処理技術、残渣飼料化技術、ブタノール菌

1. はじめに

スイートソルガムは、アフリカ原産のイネ科の作物で、茎にスクロース、グルコース、およびフラクトースを多量に蓄積する。したがって、炭素の供給源としてバイオエタノール生産の候補作物となっている。スイートソルガムの利点は、①生育期間が4~5ヶ月と短いこと、②熱帯だけでなく、より寒冷な地域でも生育可能ということ、そして③食料として利用されていないということである。それゆえ、スイートソルガムから生産されるエタノールは、食料作物の生産や経済に悪影響を及ぼすことなく、再生可能なエネルギーになり得ることが期待される。

スイートソルガムの搾りかすは、糖汁のエタノール発酵原料として利用された後に生じる副産物である。一般的な搾汁装置を用いた場合、スイートソルガムの搾汁率は30~40%とされており、60~70%の搾りかすが排出されることになる¹⁾。残渣であるソルガム搾りかすは、可溶性の成分が減少しているが、反芻家畜のエネルギー源となり得る繊維成分を豊富に含んでいる²⁾。そこで、この搾りかすを飼料として活用できれば、バイオマスと飼料とが密接につながり、畜産業においても有益と考えられる。

バイオ燃料生産を基盤とした持続型地域社会のモデルでは、将来的なバイオ燃料選択における柔軟性や適応性も重要になると考えられる。すなわち、主流となるバイオ燃料が現状のエタノールから次世代のブタノールへ移行することも考慮したモデルの開発である。ブタノールのバイオ燃料としての利点は、エタノールと比べた場合、①水との親和性が低い、②発熱量はエタノールより30%高く、ガソリンとほぼ同じである、③ガソリンやエタノールよりも揮発性が低い、などである。ブタノールの発酵生産はパストールの時代から知られており、嫌気性芽胞形成細菌である*Clostridium acetobutylicum*を用いて、広範なブタノール発酵生産の研究が20世紀前半までなされてきた³⁾。その後、石油化学的プロセスによるブタノール生産が発展し、価格競争の結果、1960年代には発酵生産は劣勢になった。しかし、石油危機以降、バイオ燃料の見直しとともに、また未利用バイオマスの活用という観点も加わりブタノール発酵生産の効率化の研究が進展している。例えば、2000年には、トウモロコシを原料とした場合、高ブタノール生産性株 (*Clostridium beijerinckii* BA101株) の発酵効率データを用いてトウモロコシ価格を\$71/tonとした場合、ブタノール価格は\$0.55/kgと試算されており⁴⁾、発酵効率の向上とトウモロコシ価格の変動との関係が議論されている。本研究では、スイートソルガムを用いた分散型バイオ燃料生産システムのなかで、将来的に考えられるバイオブタノールへのシフトに対応できる経済的に良好なサブシステムを構築することをめざす。

2. 研究開発目的

(1) 本研究では酵母を利用したスイートソルガムからの効率的で簡便なバイオエタノール生産技術の開発を目的とし、バイオエタノール生産に適した酵母およびスイートソルガムの選抜を検討した。さらに、繰り返し回分発酵 (Repeated-batch fermentation) を用いたスイートソルガム搾汁液からの効率的なエタノール生産法を検討した。

(2) 搾汁可能となる登熟期を迎えたスイートソルガムの繊維成分はセルロースやヘミセルロースが大部分であるが、さらに固い構造を示し、反芻家畜が分解できないリグニンも多いと考えられる。そこで、本研究では、予めリグニンの構造を脆弱化する必要があると考え、物理的処理の

蒸煮・爆砕法を検討した。さらに、蒸煮条件と繊維成分を構成しているセルロースやヘミセルロース、リグニン等の定量を行い、反芻家畜の飼料としての利用性およびサイレージ法を検討した。

(3) これまでに知られているブタノール生産微生物は、すべて嫌気性、芽胞形成性の*Clostridium*属に分類される細菌であり、*C. acetobutylicum*以外では、*C. aurantibutylicum*、*C. beijerinckii*、*C. tetanomorphum*がある⁵⁻⁷⁾。本研究では、スィートソルガム搾汁液中で生育してブタノールを生産する細菌を土壌から分離し、ブタノール馴化培養によるブタノール高生産株の選抜と生産条件の最適化を検討した。

3. 研究開発方法

(1) エタノール生産技術の開発

1) スィートソルガムと酵母

エタノール発酵にはスィートソルガムの3品種、FS902、FS501、およびKCS105の搾汁液を使用した。前記3品種は茨城大学農学部附属フィールドサイエンス教育研究センターで2009年6月に播種し、2009年12月に収穫し、速やかに搾汁した。搾汁液は使用するまで-20℃で保管し、融解後、遠心(10,000xg)で沈殿物を取り除き、その上清をエタノール発酵に使用した。酵母は、独立行政法人製品評価技術基盤機構から購入した*Saccharomyces cerevisiae* NBRC 0216および茨城県工業技術センターから分与されたHitachi株の2株を使用した。酵母はYM培地(0.5%ペプトン [Difco]、0.3%酵母エキス [Difco]、1%グルコース [和光純薬工業]、pH7.0)で、30℃、2日間、静置培養し、滅菌した50%グリセロール溶液と等量混合後、使用するまで-80℃で保存した。

2) 酵母によるエタノール発酵

-80℃に保存した*S. cerevisiae*溶液10μlは1mLのYM培地に植菌し、30℃で2日間、静置培養した。この培養液はFS902、FS501、およびKCS105の搾汁液に植菌し、30℃で静置培養した。培養中、エタノール生成、糖消費、pH変化、および酵母の生育をモニターした。各試験は3連で行った。酵母の生育はA660nmの濁度によって測定した。エタノール生成と糖の消費は以下の条件でHPLCによって分析した：カラム、Shodex Sugar SH1011 (8.0x300mm)；溶離液、5mM H₂SO₄；流速、0.6mL/min；カラム温度、25℃；検出、示差屈折計 (RI)。HPLCの試料は、培養液を3,600 rpmで4℃、5分間遠心し、得られた上清を5mM H₂SO₄で10倍希釈した後、0.45μmのフィルターで濾過し、調製した。

3) エタノール収率および糖消費率

エタノール収率 (%) は、酵母によるスィートソルガムからのエタノール生産量 (% [v/v]) を理論的エタノール生産量 (% [v/v]) で除して100を乗算することによって算出した。酵母によるスィートソルガムからのエタノール生産量 (% [v/v]) はHPLC分析で得られた数値 (% [v/v]) に分析時の希釈倍率を掛け、また理論的エタノール生産量 (% [v/v]) は次式から計算した。

理論的エタノール生産量 (% [v/v]) = {[スクロース含量 (% [w/v])x360/342]+[グルコース含量 (%)]+[フルクトース含量 (%)]}x[92/180]x[1/0.789]

また、糖消費率は、以下の式で計算した。

糖消費率 (%) = {発酵後の[スクロース含量 (% [w/v])]+[グルコース含量 (%)]+[フルクトース含量 (%)]}/[発酵前の[スクロース含量 (%)]+[グルコース含量 (%)]+[フルクトース含量 (%)]} x100

(2) スイートソルガム搾りかすの有効利用に関する検討

1) スイートソルガム搾りかすの調製方法

スイートソルガム搾りかすは、平成21年11月6日に収穫したスイートソルガム（品種、KCS05）を材料とし、これを刈取り後、穂と葉部を取り除いて茎部だけをロールプレス搾汁機で処理した残渣を用いた。なお、サイレージの調製時には、取り除いた穂および葉を再び加えたものを使用した。サイレージ用添加剤に用いた乳酸菌は、雪印種苗(株)製の乳酸菌 (*Lactobacillus rhamnosus*) パウダーである。また、セルラーゼには、雪印種苗(株)製のセルラーゼ (*Acetomonium cellulolyticus* および *Trichoderma viride*由来) のパウダーを使用した。

2) スイートソルガム搾りかすの処理方法

蒸煮・爆砕処理は、バッチ式蒸気爆砕装置（日東高圧(株)、茨城県つくば市）を用いて、スイートソルガム搾りかすを爆砕した。搾りかすを15mm程度に切断し、そのうち300gを水2Lとともに蒸煮器内に入れ、220℃まで加熱した。所定の温度と時間に達した後、すぐにバルブを開放し、爆砕した。爆砕後の搾りかすを回収し、オーブンで乾燥処理した。サイレージ処理は、市販のポリエチレン製の袋（0.1mm厚さ、30×46cm）を2枚重ねにし、実験用簡易小型プラスチック製バックサイロとして用いた。処理前および処理後の搾りかすは十分に乾燥器(105℃)で乾燥させた後、一般分析を行った。すなわち、水分量は、恒量が得られたアルミ秤量皿に試料を入れ、105℃で2時間処理する加熱減量法で求めた。粗タンパク質はケルダール法により求めた。粗脂肪量は、ジエチルエーテルを用いて連続蒸留させるソクスレー抽出法で求めた。粗繊維は、試料を破碎後、酸およびアルカリによる煮沸・洗浄を行い、水洗い、エタノールおよびジエチルエーテル洗浄した後の風乾物を定量する濾過法で求めた。灰分は、爆砕処理した搾りかすを恒量用るつぼに入れた後、電熱器上で灰化し、600℃のマッフル炉で灰化させる直接灰化法で実施した。可溶性無窒素物（糖質）は、100%から上記の測定項目（%）の和を差し引いた値で求めた。サイレージ抽出液の調製は、細切(5～10mm)試料を適量（乾燥重量として15g）量り取り、これを家庭用電動ミキサー（ファイバーミキサーMX-X58、パナソニック(株)）のボトル部に移し、水280mlを加えて破碎し、破碎物をNo.5Aの濾紙（ADVANTEC）で濾過して抽出液を得た。サイレージのpHは、得られた抽出液をpHメーター（HM-5ES、東亜電波工業(株)）で測定した。サイロ開封後のサイレージ製品について、pH-官能法⁸⁾によってその品質評価を行った。さらに繊維成分を詳細に調べるため、酸性デタージェント繊維(ADF)および中性デタージェント繊維(NDF)をデタージェント法で求め、セルロースおよびヘミセルロース含量を求めた。

(3) ブタノール生産法の開発

1) ブタノール生産菌株の分離

分離源は、スイートソルガム栽培畑地土壌とし、採取土壌の7.5g（生重）を少量の滅菌水とともに121 ml容バイアル瓶に入れ、80℃、15分間の加熱処理で土壌中の細菌栄養細胞を死滅させた。次に75 mlのスイートソルガム搾汁液をバイアル瓶に加えてブチルゴム栓で封じた後、気相を酸素除去した窒素ガスで置換して35℃で培養した（1次培養）。増殖確認後、10倍希釈5連のスイートソルガム搾汁液を含む試験管に接種して嫌気培養し、高次希釈液接種で増殖した培養を選抜した（2次培養）。2次培養から200μlの培養液を採取し、ペプトン-酵母エキス-グルコース平板培地に塗抹接種して35℃で嫌気培養した（BBL社のガスパック法）。生じたコロニーから細菌を分離後、

スイートソルガム搾汁液で嫌気培養して、ブタノール生産性を確認して分離株とした。

2) 分離株の同定とブタノール生産性の分析

分離株の培養液を採取してグラム染色を行って細胞形態を光学顕微鏡で観察した。さらに、標準的なプロトコール⁹⁾によって16SリボソームRNA遺伝子を解析して系統学的位置を調べた。スイートソルガム搾汁液で培養した際の発酵産物の分析は、スイートソルガム(FS902)搾汁液を蒸留水で1/2、1/3、1/5、1/6、1/10に希釈し、各希釈培養での糖消費量とブタノール生産量をHPLC法で測定した。HPLC法で行った。

3) ブタノール高生産菌株の選抜方法と生産条件

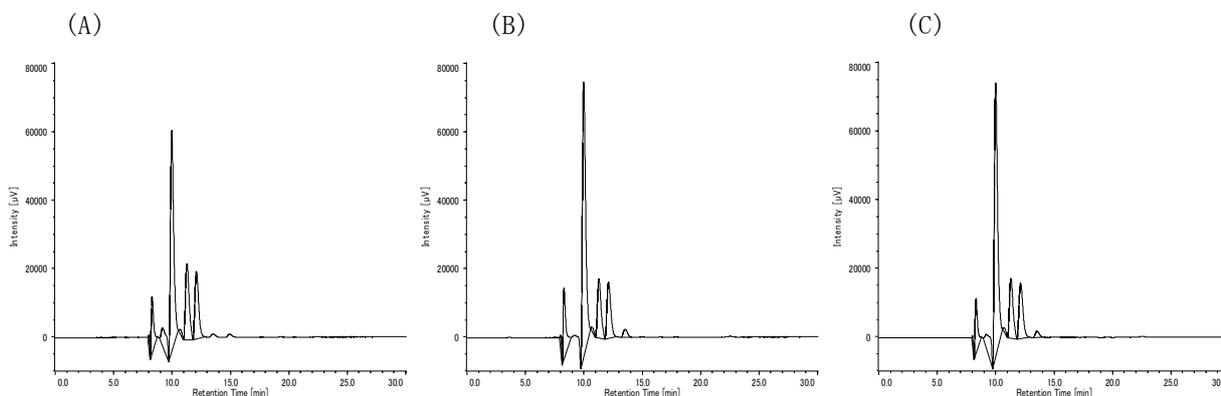
選抜方法は、種々濃度のブタノールを加えたペプトン-酵母エキス-グルコース(PYG)平板培地に、菌株を塗抹接種して35℃で嫌気培養した(BBL社のガスパック法)。培地に生じたコロニーを懸濁して、さらに高段階濃度(0.2%ステップの濃度上昇)のブタノールを含むPYG寒天培地に接種・培養しコロニーを選別する操作を繰り返した。

4. 結果・考察

(1) エタノール生産技術の開発

1) スイートソルガム3品種の糖組成および含量

今回使用したスイートソルガム3品種の糖組成および含量を測定し(図(2)-1)、結果を表(2)-1に示した。



図(2)-1. FS901 (A)、FS501 (B)、およびKCS105 (C)の糖組成および含量。

スイートソルガムの糖組成および含量はHPLCを用いて以下の条件で測定された：カラム、Shodex SUGAR SH1011 (8.0x300mm)；溶離液、5mM H₂SO₄；流速、0.6ml/min；カラム温度、25℃；検出、示差屈折計(RI)。I、sucrose；II、glucose；III、fructose。

表(2)-1 スイートソルガムFS902、FS501、およびKCS105の糖含量

Sweet sorghums	pH	Sucrose	Glucose	Fructose	Total sugar	Theoretical ethanol yield
		% ^a	% ^a	% ^a	% ^a	% ^b
FS902	5.47	4.94	2.55	2.61	10.1	6.71
FS501	5.86	4.79	2.10	2.05	8.94	5.95
KCS105	5.59	5.94	1.64	1.79	9.37	6.27

^a, % (w/v). ^b, % (v/v).

2) スイートソルガム搾汁液での酵母の生育およびエタノール生成

表(2)-1のように、スイートソルガムの搾汁液中にはスクロース、グルコース、およびフルクトースの3種の糖が含まれている。3品種とも主たる構成成分はスクロースで全糖の約50%を占め、残りをグルコースとフルクトースが半分ずつ分け合っている。全糖としては、FS902が10.1% (w/v)、FS501が8.94%、およびKCS105が9.37%であり、これらがすべてエタノール変換されると理論的にそれぞれ6.71% (v/v)、5.95%、および6.27%が生成される。そこで、まず酵母はこれら3品種の搾汁液で生育可能か、そして搾汁液中の糖は酵母によって効率良くエタノールに変換されるかを試験した。

S. cerevisiae NBRC0216およびHitachi株の前培養液を10mlのスイートソルガムFS902、FS501、およびKCS105の搾汁液に0.1%-植菌 (10 μ l-前培養液) し、30°Cで静置培養した。5日後、培養液中の残糖、エタノール生成、酵母の生育、およびpHを解析した結果を表(2)-2に示す。

表(2)-2 スイートソルガム搾汁液での酵母生育およびエタノール生成

Sweet sorghums	Residual sugar content:				Sugar consumption	Ethanol	Ethanol yield	Growth	pH
	Sucrose	Glucose	Fructose	Total					
	% ^a	% ^a	% ^a	% ^a	%	% ^b	%	<i>A</i> ₆₆₀	
FS902	4.94	2.55	2.61	10.1	-	-	-	-	5.47
NBRC0216	ND ^c	ND ^c	0.23±0.05	0.23±0.05	97.7±0.5	5.70±0.14	85.0±2.0	3.64±0.58	4.95±0.07
Hitachi	ND ^c	ND ^c	0.19±0.13	0.19±0.13	98.1±1.3	5.83±0.05	86.9±0.8	4.58±0.22	5.17±0.19
FS501	4.79	2.10	2.05	8.94	-	-	-	-	5.86
NBRC0216	1.01±0.06	2.69±0.03	3.59±0.05	7.29±0.13	18.4±1.4	1.09±0.08	18.3±1.4	1.21±0.14	5.27±0.00
Hitachi	0.88±0.08	3.03±0.08	3.63±0.12	7.54±0.13	15.7±1.5	0.84±0.06	14.0±1.1	1.03±0.18	5.42±0.02
KCS105	5.94	1.64	1.79	9.37	-	-	-	-	5.59
NBRC0216	0.18±0.01	2.36±0.05	3.56±0.09	6.10±0.10	34.9±1.1	1.92±0.19	30.6±3.1	1.38±0.10	5.16±0.04
Hitachi	0.13±0.03	3.45±0.36	4.11±0.32	7.68±0.14	17.9±1.5	0.97±0.15	15.5±2.4	1.19±0.05	5.30±0.04

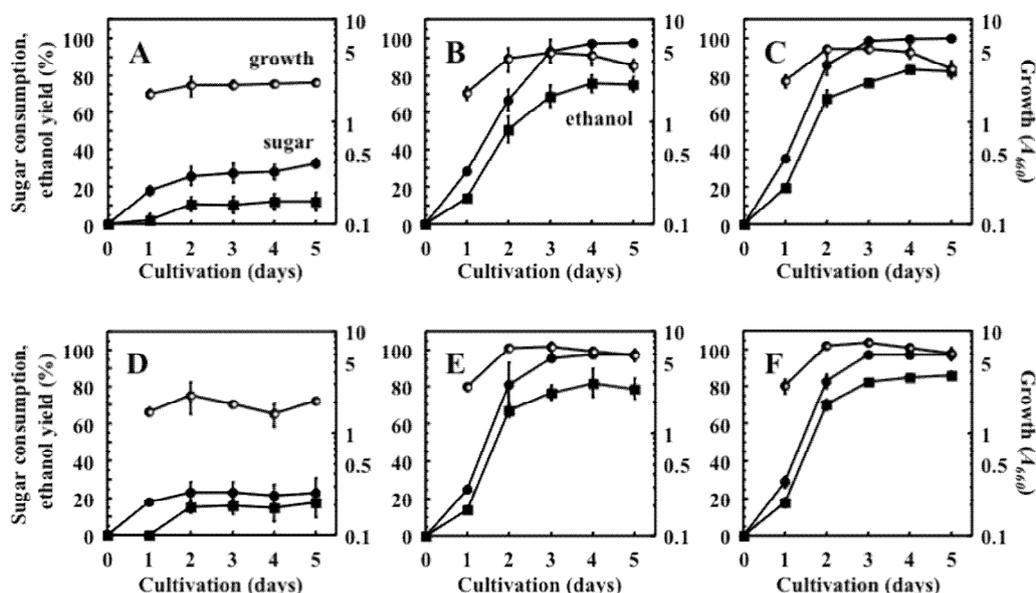
^a, % (w/v). ^b, % (v/v). ^c, not detected.

FS902では両酵母とも良好な生育を示し、NBRC0216では5.70±0.14ml、Hitachiでは5.83±0.05mlのエタノールが生成した。これらのエタノール収率はそれぞれ85.0±2.0%、86.9±0.8%と共に85%を超え、糖消費率も97.7±0.5%、98.1±1.3%と高く、効率良くエタノールに変換されているのが分かる。一方、FS501およびKCS105では酵母の生育および糖消費も悪く、エタノール収率も15%前後に留まった。この中で最も良かったNBRC0216とKCS105の組合せですら、糖消費率が34.9±1.1%、エタノール収率が30.6±3.1%であり、FS902と比較するとかなり低い値となった。

以上の結果より、エタノール発酵の原料としてはFS902が最適であり、その時の酵母は今回使用したNBRC0216およびHitachiとも十分使用できることが分かった。FS501およびKCS105で酵母の生育が抑えられる原因は明言できないが、搾汁液中に炭素源として糖は十分にあるので、生育阻害物質の存在によるものと考えられる。

3) 繰り返し回分発酵を用いた酵母によるエタノール発酵

次に上記搾汁液を用いて繰り返し回分発酵によるエタノール生産を検討した。採用した繰り返し回分発酵は、酵母を再利用するため、発酵時間が短くても十分なエタノール生産が期待でき、また、基本的に酵母の生育が伴わないので、前年度に試験して酵母の生育が観察されずにエタノール生産が伴わなかったFS501およびKCS105の搾汁液でも糖からエタノールへの変換が期待できる。そこで、まず酵母の生育を伴いながらエタノール生産が起こるサイクル1の条件を検討した。ここでは *S. cerevisiae* NBRC 0216株およびHitachi株の両株が生育可能なFS902の搾汁液を用い、前培養液から0.01%-、0.05%-、および0.1%-植菌し、30°Cで5日間静置培養して、この間のエタノール生成を解析した。その結果を下記図(2)-2に示す。



図(2)-2. 酵母の植菌量がエタノール生産に及ぼす影響.

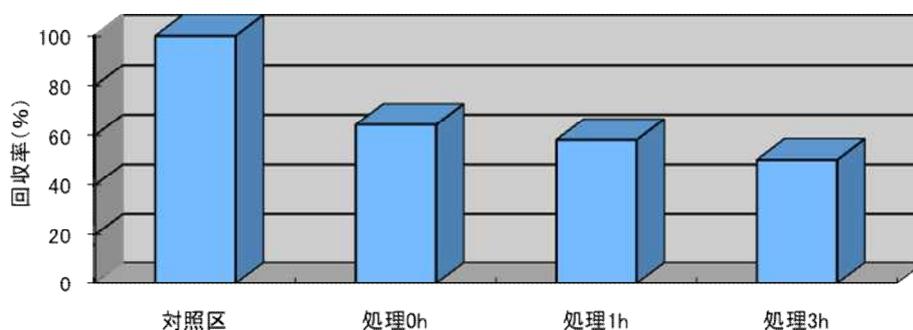
酵母 *S. cerevisiae* NBRC 0216株 (A - C) およびHitachi株 (D - F) の前培養液をスウィートソルガム FS902の搾汁液に0.01%- (A and D) , 0.05%- (B and E) , および 0.1%-植菌 (C and F) し、30°Cで5日間静置培養した. 1日毎に培養液を採取し、エタノール収率 (■) , 糖消費率 (●) , および生育 (○) を解析した (平均 ± 標準偏差, n = 3) .

0.01%-植菌では両株とも生育および糖消費が良くなく、エタノール収率は20%以下であった (A and D) . 0.05%-植菌では、両株の生育はかなり改善され、培養3日後NBRC 0216株で濁度が4.82、Hitachi株で7.04に達した (B and E) . これに伴い培養4日後、糖は97%以上消費され、エタノールはそれぞれ5.08(v/v)および5.49(v/v)生産された。0.1%-植菌では生育は0.05%-植菌と比べてわずかに良く、エタノール収率はおよそ85%に達した (C and F) . これらの結果から、0.1%-植菌が酵母の生育を伴う繰り返し回分発酵の最初のサイクルには最も適しており、生育およびエタノール生産の観点からはHitachi株の方がわずかに優れているが、両酵母ともエタノール生産に十分適合していることが確認された。加えて、サイクル1で75%以上のエタノール収率を得るには、少なくとも3日の発酵時間が必要であることも分かった。

(2) スイートソルガム搾りかすの有効利用に関する検討

1) スイートソルガム搾りかすの性状に及ぼす爆砕処理の影響

爆砕処理したスイートソルガム搾りかすの回収率を図(2)-3に示す。爆砕保持0時間で、乾物重量当たりの回収率が、約64%となった。また、保持1時間では、58%、保持3時間では50%の1/2に減少した。爆砕処理において、高温、高圧の飽和蒸気で蒸煮処理すると、水蒸気により植物の細胞壁（ヘミセルロースおよびリグニン）が加水分解され、低分子化する。さらに、圧力を瞬時に開放するとソルガム搾りかす中から水が気化して、繊維状になり、爆砕物として回収することができる。なお、保持1時間以上保持すると、試料中より焦げ臭いが確認された。この官能評価並び回収率を考えると、蒸煮時間としては、220℃に達するまでの時間のみとし、蒸煮を保持しないことが有用と思われた。



図(2)-3 爆砕処理したスイートソルガム搾りかすの回収率

また、爆砕処理したスイートソルガム搾りかすの粗繊維および灰分を測定した。粗繊維は、未処理の対照区と処理0時間はほぼ同程度であった。一方、保持時間が進むと、保持1時間では、28%、保持3時間では21%となり、減少した。また、灰分については、同じく未処理の対照区と保持0時間はほぼ同程度であった。ただし、保持時間が進むにつれて、保持1時間では、8.3%、保持3時間では8.5%となり、増加していくことが確認された。保持0時間は、回収率は減少したにもかかわらず、粗繊維並びに灰分量に大きな違いがみられなかった。

蒸煮処理時間がスイートソルガム搾りかすの繊維成分に及ぼす影響を表(2)-3に示す。下表に示すとおり、ADF（酸性デタージェント繊維）およびセルロースは処理0時間で最も高い値を示した。一方、NDF（中性デタージェント繊維）およびヘミセルロース含量は蒸煮の処理時間が延長されるにつれて減少していくことが確認された。また、リグニン量は、処理時間が進むにつれて減少は確認されず、むしろ増加傾向を示した。なお、搾りかすの蒸煮・爆砕処理物の繊維成分を従来から粗飼料として利用されている稲わらおよびコーンサイレージの値と比較したところ、ADFおよびNDF量は搾りかすの処理0時間でいずれも高いことが明らかとなった。さらに、同搾りかすのセルロース量は、稲わらの値に匹敵することが示された。また、処理1時間以上とすると、試料中より焦げ臭いが確認され、官能評価並び回収率を考えると、蒸煮時間としては、220℃に達するまでの時間のみとし、蒸煮を保持しないことが有用であることを示唆したが、それを裏付ける結果とな

った。以上のことから、蒸煮時間をなるべく最低限にすることで、リグニンの増加を抑制し、粗飼料として有効なセルロース量を増加させる効果のあることが明らかとなった。

表(2)-3. 蒸煮処理時間がスイートソルガム搾りかすの繊維成分に及ぼす影響

試料	ADF	NDF	リグニン	ヘミセルロース	セルロース	
未処理	61.5	85.7	17.2	24.1	44.3	
処理	0 h	73.6	25.9	3.1	47.7	
	1 h	59.4	61.5	29.7	2.1	29.6
	3 h	55.0	54.8	36.6	n.d.	18.3
稲わら	64.3	69.2	14.0	4.8	50.4	
コーンS	54.8	67.2	14.4	12.4	40.4	

コーンS=コーンサイレージ

n.d.= 検出されず

ADF: 酸性デタージェント繊維

NDF: 中性デタージェント繊維

次に、蒸煮・爆砕処理したスイートソルガム残渣のFT-IRスペクトルについて解析したところ、スイートソルガム残渣を蒸煮・爆砕処理することでヘミセルロースとセルロースの分解が確認されたが、リグニンは影響を受けていないことが示された。さらに、蒸煮・爆砕処理したスイートソルガム残渣の *in vitro* 消化試験を行った。

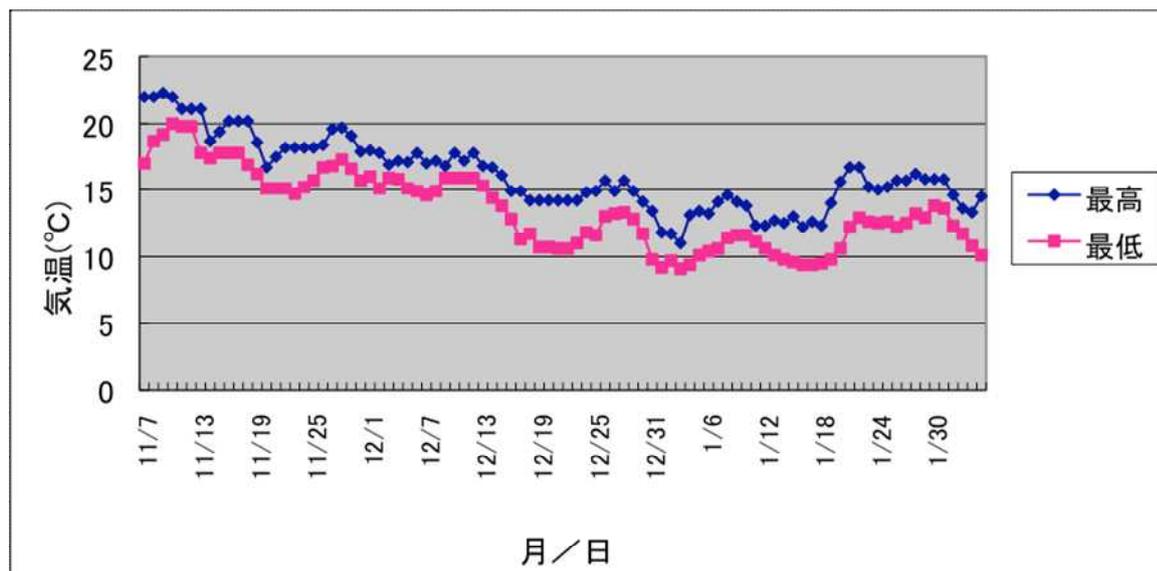
表(2)-4 蒸煮・爆砕処理したスイートソルガム残渣の *in vitro* 消化試験

試料	消化率 (%)
未処理	13.2
0h	17.0
処理 1h	14.2
3h	6.5
稲わら	5.6
コーンS	17.9

その結果、未処理のものに比べて処理0時間で高い値の消化率を示し、次に示すコーンサイレージに近い消化率が得られたことから、処理時間を制御することで、コーンサイレージと同様の飼料を得られることが示唆された（表(2)-4）。

2) スイートソルガム搾りかすの性状に及ぼすサイレージ処理の影響

サイレージ処理条件：サイレージの詰込み区分は、対照区（ソルガム搾り粕）、乳酸菌添加区（ソルガム搾り粕+乳酸菌パウダー）および乳酸菌+セルラーゼ添加区（ソルガム搾り粕+乳酸菌パウダー+セルラーゼパウダー）であり、これらを平成21年11月6日に詰込み、45日、または90日間埋蔵した。本実験条件におけるサイレージ埋蔵室の温度（日最高、最低温度）の推移を図(2)-4に示す。



図(2)-4. ソルガム搾り粕サイレージ埋蔵中の室内温度の推移

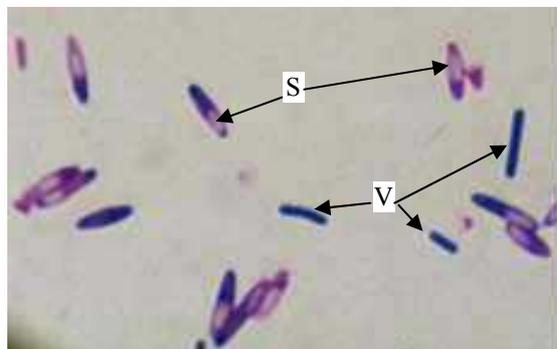
上図のとおり、埋蔵前期（11/7～12/6）、中期（12/7～1/5）および後期（1/6～2/4）における最高、最低温度は、それぞれ17.0～22.0℃、14.9～20.0℃；11.0～17.8℃、9.1～15.9℃；および12.2～16.7℃、9.4～14.6℃；の範囲内であったが、サイレージ発酵にとっては好適な条件ではなく、むしろ低い温度条件であったとみなされた。

以上の結果、スイートソルガム残渣は繊維成分の測定及びFT-IRの測定から、蒸煮・爆砕処理でヘミセルロースが分解されたことが確認され、またヘミセルロース由来の単糖であるキシロースが蒸煮・爆砕処理によって増加することが確認された。これらはスイートソルガム残渣の植物繊維が解繊され、セルロースが消化されやすい状態になったと推定され、処理0時間において未処理のものより高い消化率の値がみられたことから、スイートソルガム残渣は蒸煮・爆砕処理によって飼料価値が改善されることが示唆された。

(3) ブタノール生産法の開発

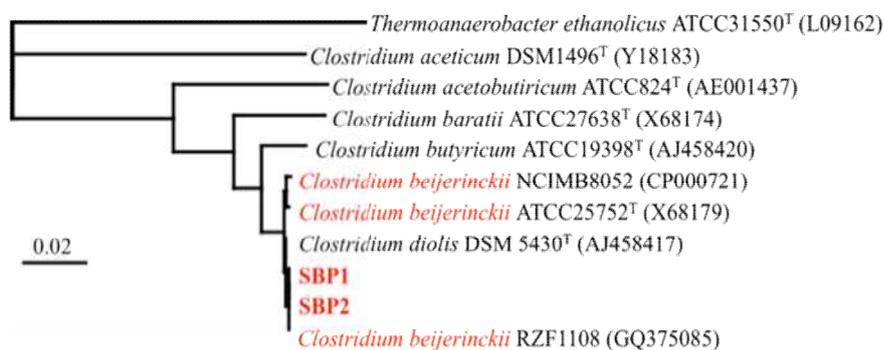
1) ブタノール生産分離株の同定

スイートソルガム搾汁液中で増殖してブタノールを生産する菌株を2株分離した。両株ともグラム陽性の芽胞形成菌であり、芽胞が細胞端に形成される特徴から*Clostridium*属と推定された。顕微鏡写真を図(2)-5に示す。さらに、16SリボソームRNA遺伝子の塩基配列を決定して（決定した塩基長、SBP1株で1419；SBP2株で1343）、塩基配列のホモロジー解析を行った結果、両株とも*C. beijerinckii* NCIMB8052株の配列と最も近縁であった（SBP1およびSBP2株との相同性はそれぞれ99.7%と99.9%）。ブタノール生産系の近縁株の配列をもとに近隣



図(2)-5. SBP1株のグラム染色像
S, 芽胞；V, 栄養細胞

結合法で作成した系統樹を下図(2)-6に示した。



図(2)-6. ブタノール生産分離株(SBP1, SBP2)と*Clostridium*属細菌との関係を示した系統樹。
バーは1塩基あたりの置換率を示す。

さらに、分離株と基準株のさまざまな基質代謝の比較を行った。その結果を、表(2)-5と表(2)-6に示す。

表(2)-5. *Clostridium beijerinckii*基準株と分離株の基質代謝の比較

基質	菌株			
	SBP1	SBP2	JCM 1390	JCM 7828
L-tryptophan	—	—	—	—
Urea	—	—	—	—
Glucose	+	+	+	+
D-Mannitol	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+
Salicin	+	+	+	+
D-Xylose	+	+	+	+
L-Arabinose	+	+	+	+
Gelatin	—	—	—	—
Esuclin	+	+	+	+
Glycerin	+	+	+	+

表(2)-6 *Clostridium beijerinckii*基準株と分離株のD-型基質代謝の比較

基質	菌株			
	SBP1	SBP2	JCM 1390	JCM 7828
D-Cellobiose	+	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	+
D-Melicitose	+	+	+	+
D-Raffinose	+	+	+	+
D-Sorbitol	+	+	+	+
L-Rhamnose	+	+	+	+
D-Trehalose	+	+	+	+

+, 活性あり ; —, 活性なし

API 20Aによる基質代謝の判定では、4株ともすべての糖類を代謝した。この基質代謝の傾向は *Clostridium beijerinckii*種のと一致した。

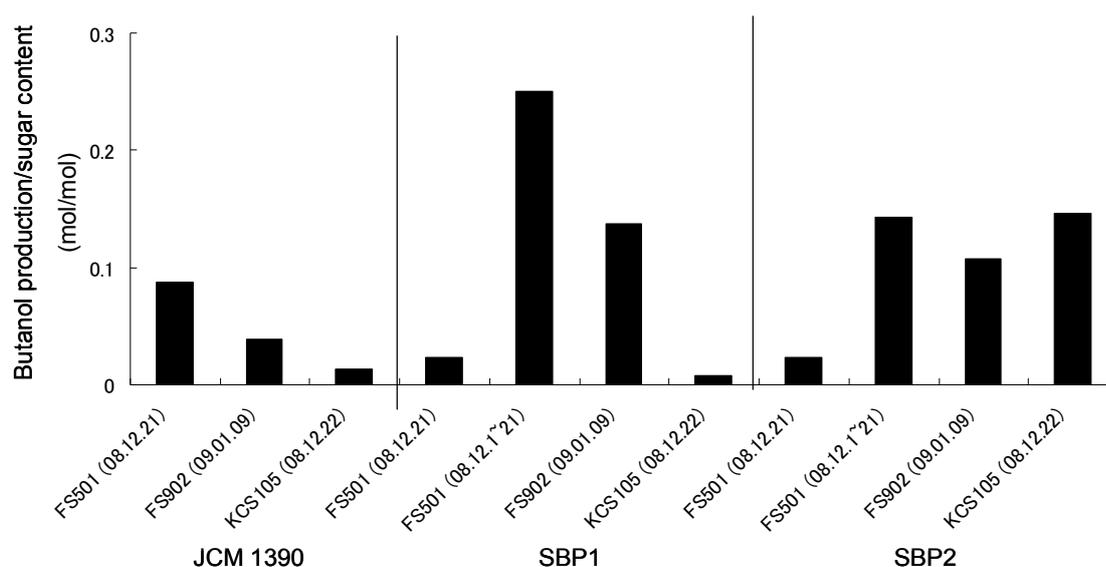
次に、スイートソルガム搾汁液でのブタノール生成について検討した。SBP1 とSBP2は栽培種や収穫時期が異なる複数種類のスイートソルガム搾汁液すべてで増殖し、ブタノールを生産した。ブタノール生産量に関してはスイートソルガム搾汁液の種類によりばらつきがあった。SBP1株はFS501で9.2 mM、KCS105で4.8 mM、SBP2株はFS501で8.9 mMと少ないブタノール生成量であった。FS501ではJCM 1390株のブタノール生産量が37.7 mMとSBP1、2株より多かった。KCS105は搾汁液の粘度が高かったためHPLCによる測定が行えなかった（表(2)-7）。

同じ標品でも糖含量にばらつきがあった。糖含量とブタノール生成量の関係をみると、SBP1株は糖含量の上昇に対してブタノール生成量は減少した。一方、SBP2株は糖含量の上昇とともにブタノール生成量が増大した。この関係が見られたのは搾汁液FS501、FS902、KCS105を用いたときである。この3種類のスイートソルガム搾汁液はSBP2株において糖含量あたりのブタノール生成効率が同程度であった（図(2)-7）。JCM 1390株は搾汁液FS501で高いブタノール生成量であったが、ブタノール収率は0.08と低い値でスイートソルガム搾汁液でのブタノール生成には向かないと考えられる。

表(2)-7 種々のスイートソルガム搾汁液標品での細菌の増殖とブタノール生成

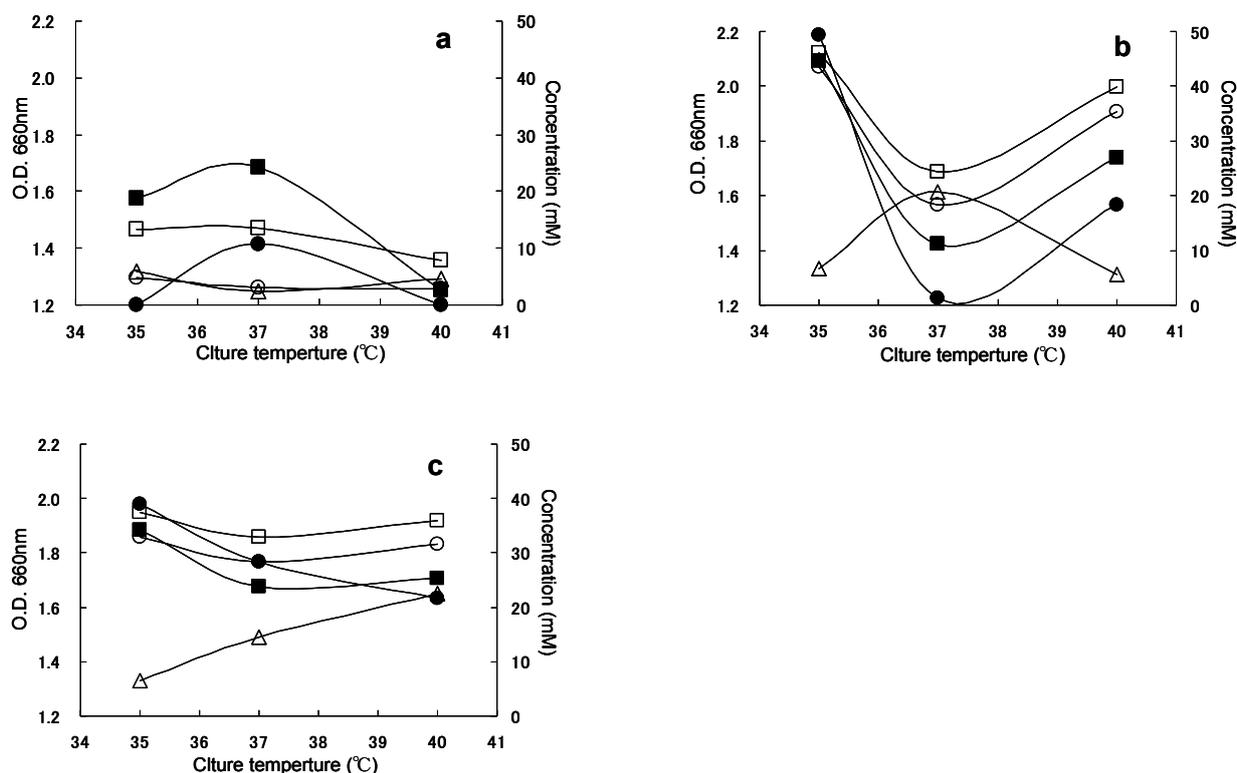
スイートソルガム搾汁液標品 品種名（搾汁日）	増殖（ブタノール生成量 mM）		
	SBP1	SBP2	JCM 1390
FS501（2008.12.1~21）	+（68.8）	+（73.5）	-
FS501（2008.12.21）	+（9.2）	+（8.9）	+（37.7）
FS902（2009.01.09）	+（51.6）	+（42.2）	+（10.7）
KCS105（2008.12.22）	+（4.8）	+（89.1）	+（4.8）
KCS105（2008.12.21,22）	+（N.T.）	+（N.T.）	-

+, 増殖あり；-, 増殖なし；N.T., not tested



図(2)-7. 種々のスイートソルガム搾汁液標品での糖含量に対するブタノール収率

次に、分離株の増殖至適温度を決定した。各温度での培養（図(2)-8）において、菌体密度とブタノール生成量はSBP1株とSBP2株では35°Cで、JCM 1390株では37°Cで最大であった。これより、SBP1、2株の至適温度は35°Cとした。JCM 1390株は37°Cであった。至適温度でのブタノール生産量はJCM 1390株では10.7 mM、SBP1株では49.3 mM、SBP2株では42.2 mMであった。SBP1、2株はJCM 1390株と比較して約4~5倍のブタノールを生産した。また、OD₆₆₀値も至適温度においてJCM 1390株は1.68、SBP1株は2.09、SBP2株は1.88と、SBP1、2株はJCM 1390株より菌体密度は高かった。糖消費においても、単糖換算糖あたりでJCM 1390株は21.4 mM、SBP1株は103.3 mM、SBP2株は76.9 mMと、SBP1、2株はJCM 1390株の3.5~5倍の糖消費量であった。スクロースの消費はSBP1株では37°C、SBP2株では40°Cで最大となり、ブタノール生産の至適温度とは異なる結果となった。



図(2)-8. 温度変化による菌体密度、糖消費、ブタノール生成の変化

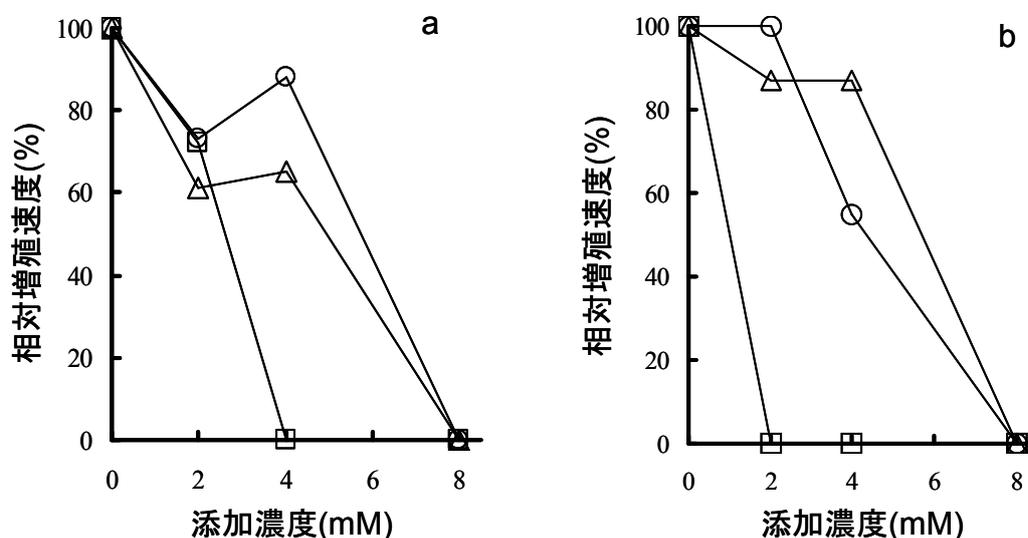
a : *Clostridium beijerinckii* JCM 1390株、b : SBP1株、c : SBP2株、

記号 : ■、OD₆₆₀ ; ●、ブタノール ; □, グルコース ; △, スクロース ; ○, フルクトース

次に、フェノール性有機酸添加培養において、増殖速度を、フェノール性有機酸を添加していないときと相対的に比較した(図(2)-9)。JCM1390株は*p*-クマル酸2 mM添加で72%に減少し、4 mM添加では増殖が起こらなかった。フェルラ酸添加では2 mM添加で増殖がみられなかった。SBP1株では*p*-クマル酸2 mM添加では増殖に影響はなく、4 mM添加で増殖速度は対照の55%となり、8 mM添加では増殖がみられなかった。フェルラ酸では2、4mM添加では増殖速度は対照の73~88%に低下し、8 mM添加で著しい増殖阻害がみられた。SBP2株では*p*-クマル酸2 mM、4 mM添加で増殖速度は対照の87%に低下し、8 mM添加では増殖が起きなかった。フェルラ酸の場合では、2、4 mM添加で増殖速度は、それぞれ対照の61%、65%に低下し、8 mM添加で増殖は観察出来なかった。以上の結果よ

り、分離株SBP1株とSBP2株は既知株JCM 1390株と比較して高いフェノール酸耐性を有していることが示唆された。

フェノール酸などのリグニン分解物は細菌の細胞膜、酵素、遺伝子に係わる物質の疎水性部位にダメージを与えることから、DNAの損傷、膜の破壊、細胞質のpHの低下などがおこる。また、細胞膜の流動性を増大させる。細胞膜の流動性は細胞質の漏出の原因である膜透水性への影響が知られている。細菌はフェノール酸存在下で脂質の脂肪酸の構成を変化させ、脂質の飽和度の増加によって、フェノールによって引き起こされる膜流動性の増加を抑制する。分離株SBP1株、SBP2株はスイートソルガム搾汁液で継代し分離した。このため、フェノール酸に対して馴化適応能力に優れたものが残ったと考えられる。SBP1株、SBP2株は細胞膜の流動性が低い、つまり、飽和脂肪酸の割合が高い状態になっていることが推測される。また、細胞内の恒常性を保つ能力が高いと考えられる。



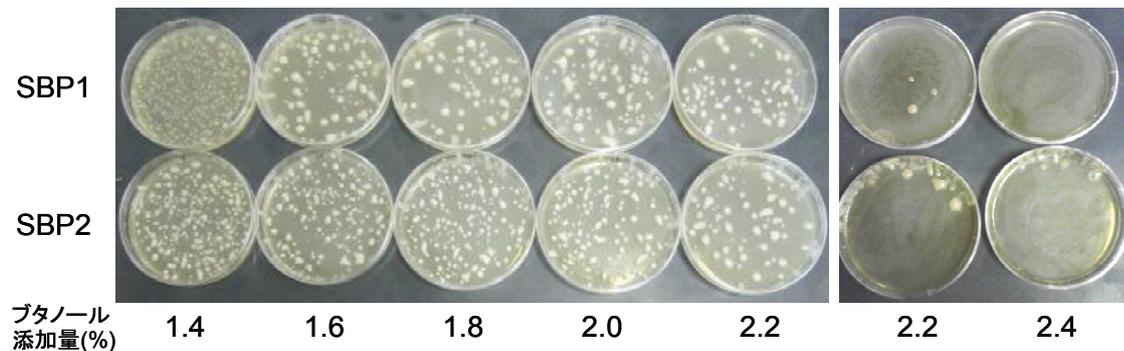
図(2)-9. *p*-クマル酸とフェルラ酸に対するSBP1株、SBP2株、JCM 1390株の耐性

a: *p*-クマル酸、b: フェルラ酸、記号: ○, SBP1株; △, SBP2株; □, JCM 1390株

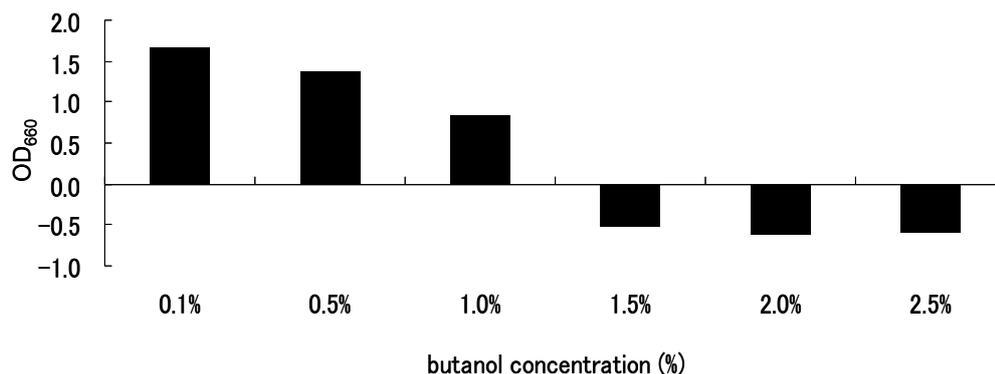
2) ブタノール高生産分離株の選別と生産条件

ブタノール発酵生産の課題はブタノール生産量が最大でも2% (v/v) 低いことにある。菌株間で違いはあるが、ブタノール生成量は5 mMから200 mM程度の広い範囲の値が報告されており、スイートソルガム搾汁液からのエタノール製造に関する本プロジェクト研究で、5.83% (v/v) のエタノールが生産できるという結果が出ている。これは1000 mMに相当し、ブタノール生成量の5~10倍の効率である。しかし、単糖換算糖あたりのエタノール転換効率は0.87、ブタノール転換効率は高いもので0.78であり転換効率は大きく違いはない。ブタノール生産を抑えている要因は、ブタノールの毒性による生育阻害であることから、ブタノール生産菌へのブタノール耐性の付与が有効と考えられ、変異株の作出など様々な研究が行われている。本研究では、培地への添加ブタノール濃度を徐々に上げて分離株を馴化し、ブタノール耐性株を選抜してブタノール生産性の向上を試みた。

SBP1株は2.2%ブタノール添加PYG寒天培地にコロニーを形成し、2.4%ブタノール添加PYG寒天培地ではコロニーが出現しなかった。一方、SBP2株は2.4%ブタノール添加PYG寒天培地にコロニーを形成した(図(2)-10)。2.4%ブタノール耐性になったSBP2株を液体培養した場合、ブタノール耐性濃度は1.0%であった(図(2)-11)。ブタノール耐性付与以前のSBP2株は0.5%以下の耐性であったので、寒天培地での耐性に比べて、耐性濃度は落ちるものの液体培養でも耐性効果があらわれた。



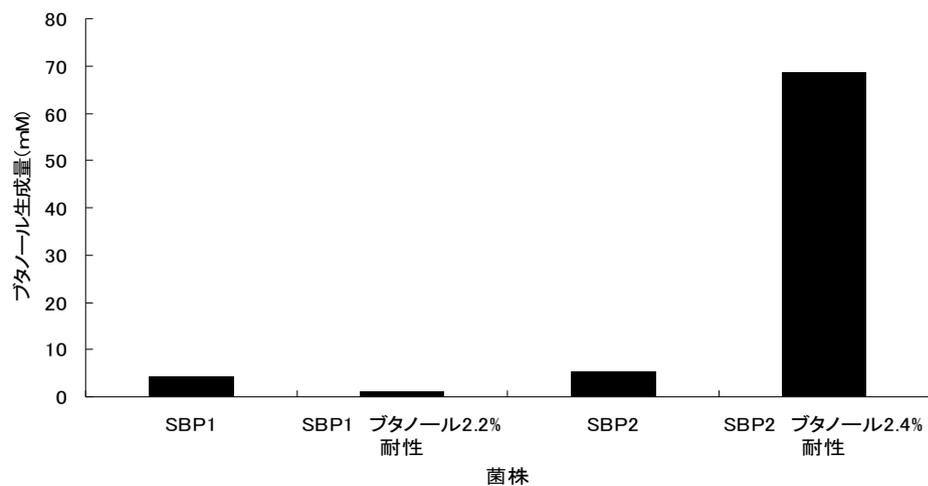
図(2)-10. ブタノール耐性株の選抜



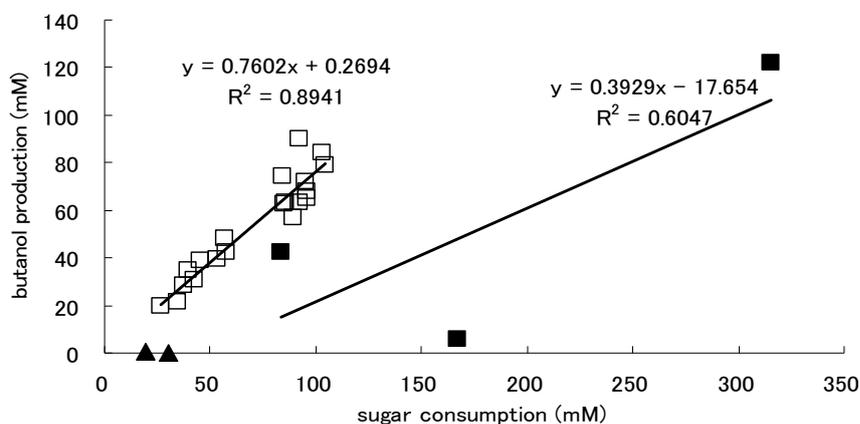
図(2)-11. 2.4%ブタノール耐性SBP2株の液体培地でのブタノール耐性

値は培養7日目のOD₆₆₀の値から0日目の値を引いたもの。

2.4%ブタノール耐性SBP2株の3倍希釈スイートソルガム搾汁液でのブタノール生成量はブタノール耐性付与以前と比較して10倍程度になった(図(2)-12)。ブタノール耐性付与前のSBP2株のブタノール転換効率は0.39ほどであったが、2.4%ブタノール耐性SBP2株のブタノール転換効率(ブタノール生成量 mol/単糖換算糖消費量 mol)は0.78に上がった(図(2)-13)。このことより、2.4%のブタノール耐性の付与によりブタノール転換効率は2倍近く向上したことになる。ここで、2.4%ブタノール耐性SBP2株をSBP2-HB株とした。このSBP2-HB株のブタノール転換効率0.78はブタノール高生産株として報告されている*Clostridium beijerinckii* BA101株と同等であった。図(2)-14はSBP2-HB株をスイートソルガム搾汁液(5倍希釈)で培養したときの時間経過による菌体密度、糖消費、生成物量の変化である。このときアセトンの生成はみられなかった。

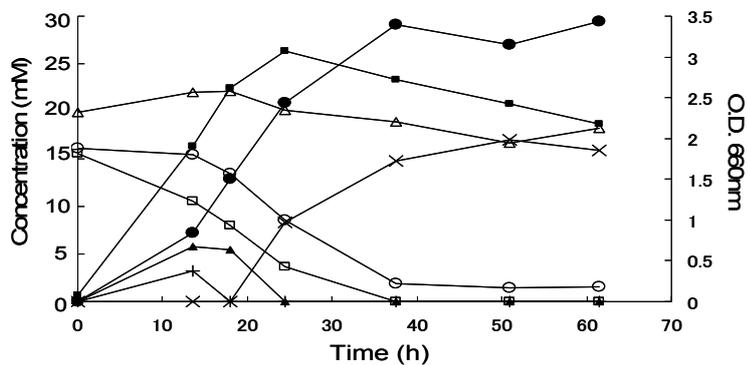


図(2)-12. スイートソルガム搾汁液 (3倍希釈) での各菌株のブタノール生成量



図(2)-13. ブタノール耐性株と非耐性株の糖消費とブタノール生成の関係

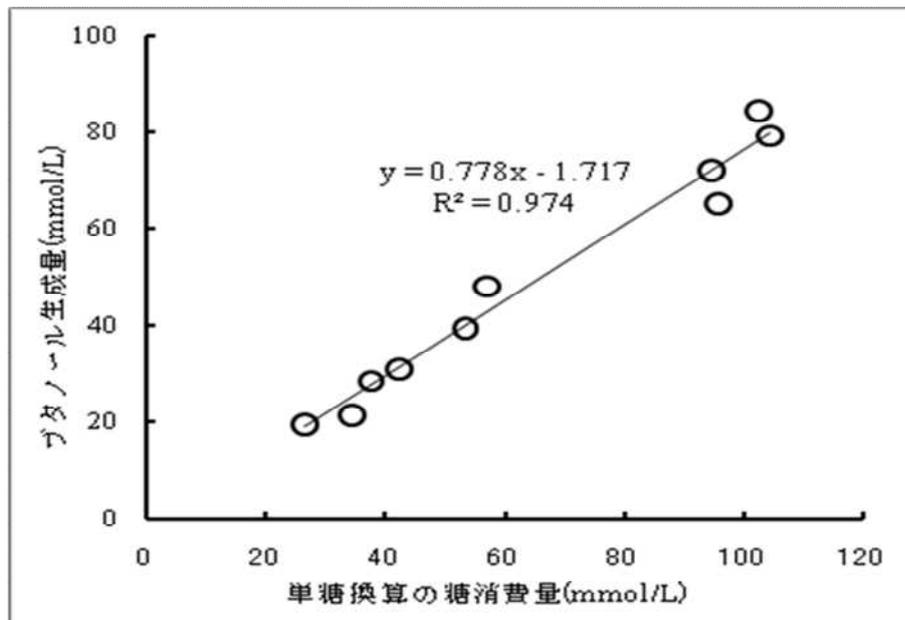
記号：□，SBP2-HB株；■，SBP2株；▲，JCM 1390株



図(2)-14. 高ブタノール生成菌SBP2-HB株の菌体密度、糖消費、生成物量の変化

記号：■，O.D. 660nm；●，ブタノール；□，グルコース；△，スクロース；○，フルクトース；×，酪酸；▲，酢酸；+，乳酸

以上のように、SBP-2株のブタノール馴化培養により、2.4%(v/v)のブタノールに耐性を持つ株(SBP2-HB株)を選抜した。SBP-1株では、ブタノール耐性限界濃度2.2%(v/v)の菌株が得られた。その後の試験はSBP2-HB株を用いて行った。SBP-2株の糖からブタノールへの転換率(単糖換算の糖消費量当たりのブタノール生成量のモル比)は、0.27であったが、SBP2-HB株では0.78にまで上昇した。その結果を図(2)-15に示す。

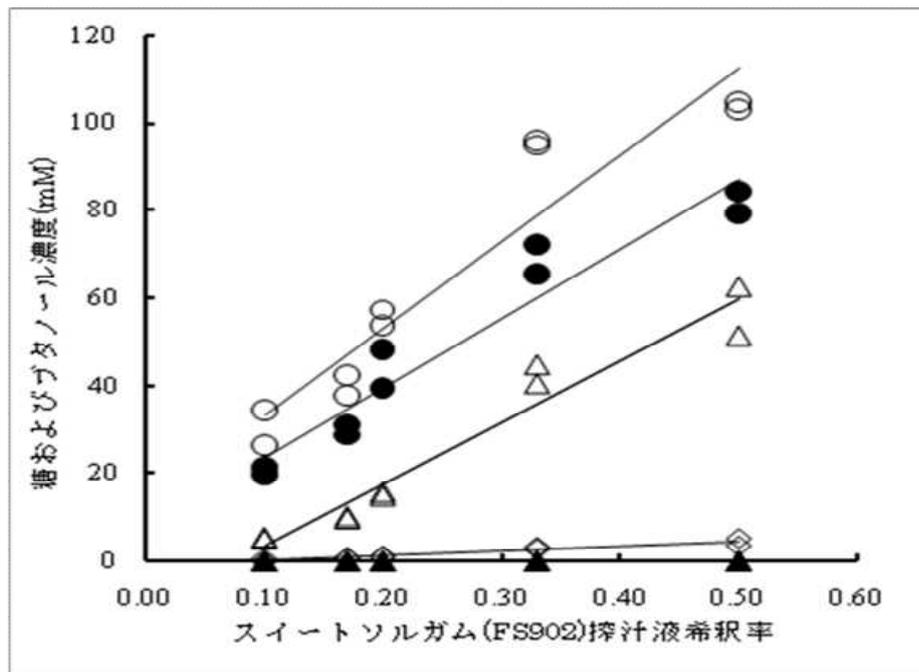


図(2)-15. SBP2-HB株における希釈条件での糖消費とブタノール生産。

高ブタノール生産性株 *C. beijerinckii* BA101株を6%グルコース含有培地で培養した場合のブタノール生成収率(ブタノール生産量のグラム数/糖消費量のグラム数)は0.32と報告されている。この値は、糖からブタノールへの転換率(モル比)0.78に相当するので、SBP2-HB株は、高ブタノール生産株として認められているBA101株と同等のブタノール生産能があると言える。糖消費に対するブタノール生産は、以下の式で近似された：

[ブタノール生成量(mol)] = 0.778[単糖換算の糖消費量(mol)] - 1.7171 ($r^2 = 0.974$)。この近似式から、糖からブタノールへの転換率(単糖換算の糖消費量当たりのブタノール生成量のモル比)は0.78と算定される。

スイートソルガム搾汁液は高濃度の糖を含むため、そのまま発酵に供すると、発酵終了時に未利用の糖が残存し、含有する糖量当たりのブタノール生産性は低い。そこで、スイートソルガム(FS902)搾汁液について一連の希釈液を調製してSBP2-HB株の培養を行い、残存糖量とブタノール生産量との関係を検討した。搾汁液を1/2~1/10に希釈した場合、SBP2-HB株は全ての希釈液でグルコースを完全消費した。希釈率に対して残存スクロース量と残存フルクトース量をプロットすると直線近似でき、残存糖量がゼロになる希釈率(直線のx軸との交点)は、それぞれ0.075、0.077と算出され、希釈倍数(希釈率の逆数)にすると約13であった(図(2)-16)。したがって、スイートソルガム(FS902)搾汁液の場合では、約13倍に希釈して発酵に用いることで、糖の利用を最大限にしたブタノール生産ができると言える。



図(2)-16. SBP2-HB株における搾汁液濃度と糖利用率、ブタノール生産量との関係。

記号：○、単糖換算の糖消費全量；●、ブタノール生成量；△、残存スクロース量；▲、残存グルコース量；◇、残存フルクトース量

搾汁液濃度と残存スクロース量、残存フルクトース量との関係の直線近似式は、それぞれ、[残存スクロース量(mmol/L)] = 140.7[希釈率] - 10.58 ($r^2 = 0.947$)、[残存フルクトース量(mmol/L)] = 10.71[希釈率] - 0.825 ($r^2 = 0.918$)であり、どの希釈率の培養でも残存グルコースは検出されなかった。

以上の結果から、ブタノール転換効率について糖の消費率を種類別で見たとき、グルコースとフルクトースはほぼ同じ挙動をみせ、スクロースはこれとは異なっていた。スイートソルガム品種FS902搾汁液では、希釈率0.1~0.5までグルコースとフルクトースの消費率はほぼ100%であり、希釈率が0.5を超えて糖濃度が高くなると、消費率が低下した。スイートソルガム品種KCS105搾汁液では、希釈率0.06、0.1、0.16でグルコースとフルクトースの消費率が60~70%となり最も良好な結果を得た。さらに、スクロースの消費率はグルコースとフルクトースの消費率が頭打ちになる時期で上昇し始める傾向にあり、糖の添加時期により生成効率が改善されることが示唆された。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

1) エタノール発酵の原料としてはスイートソルガムFS902品種が最適であり、その時の酵母は今回使用した*Saccharomyces cerevisiae* NBRC0216およびHitachi株等清酒用酵母で十分使用できることが分かった。また、酵母を再利用する繰り返し回分発酵法は、スイートソルガムからのエタノール生産に適しており、上記両酵母で80-90%のエタノール収率を達成し、また原料となるスイートソルガムの品種を選ばないという利点があり、さらに雑菌の汚染を防ぐために殺菌や酸性

化をすることなくスイートソルガムからのエタノール生産が可能であり、実現化に向けて非常に有望な方法であることが判明した。

2) スイートソルガムの糖蜜は、バイオマスとしてエタノールの原料に利用可能である。一方、その搾りかすは可溶性成分が少なく、繊維が豊富な利用価値の低い副産物であり、その有効利用が求められており、本研究の結果、スイートソルガムを蒸煮・爆砕処理することで、繊維が脆弱化している可能性が示された。また乳酸発酵およびセルラーゼで処理することで、搾りかすが発酵し、pHが低下していることが示され、消化性の高い繊維成分は反芻家畜のエネルギー源となり得ることから、搾りかすを飼料として利活用できる可能性が示された。

3) 次世代バイオ燃料であるブタノールをスイートソルガム搾汁液から生産する菌株を分離した。これによって、スイートソルガムの燃料作物としての適応性を向上させる基盤ができた。

(2) 環境政策への貢献

1) 今回確立した繰返し回分発酵法は、原料組成や基質濃度によらず大変実用的なエタノール生産法であることが判明し、さまざまな原料に対応でき、さらに発酵残渣が再利用可能であることが示され、経済効果が期待される。

2) 本研究で、搾りかすも家畜の飼料として利用できる可能性が示された。本結果は、バイオマスと飼料とを密接につなげるもので、畜産業においても飼料資源の確保のため有益と考えられる。

3) 本研究で探索したスイートソルガム搾汁液からブタノールを高生産するSBP2-HB株は、トウモロコシからブタノールを高生産する菌株として知られている*C. beijerinckii* BA101株と同レベルであり、またスイートソルガム搾汁液の水希釈によって、未利用残存糖を減らしてブタノール生産量を高める簡便な手法に有効性を示し、原料の効率的変換に有用な菌株であることが示された。以上のことから、本研究のバイオブタノールがバイオエタノールと同様に重要な次世代燃料として期待される。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) Chohnan S., Nakane M., Habibur R., Nitta Y., Yoshiura T., Ohta H. and Kurusu Y., *Journal of Bioscience and Bioengineering* 111, 433-436 (2011)
“Fuel ethanol production from sweet sorghum using repeated-batch fermentation”

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表 (学会等)

- 1) 金本美穂、Habibur Rahman、長南 茂、新田洋司、久留主泰朗、太田寛行：日本土壤微生物学会2010年度大会(2010、5月)「スイートソルガム搾汁液からブタノールを生産する細菌の分離と性状分析」
- 2) Kanemoto, M., M.H. Rhaman, S Chohnan, Y. Nitta, Y. Kurusu, H. Ohta: 13th International Symposium on Microbial Ecology, Seattle, USA, **August 22-27, 2010**. "Isolation of bacteria able to grown in sweet sorghum juice and produce butanol"
- 3) M.Nakane, S.Chohnan, Y.Nitta, T.Yoshiura, H.Ohta, Y.Kurusu: the American Society for Microbiology 110th General Meeting, San Diego, USA, 2010. "Bioethanol production from sweet sorghum by *Saccharomyces cerevisiae*".
- 4) 石井照章、中村 豊、宮口右二、豊田 淳、本間貴司、長谷川守文、新田洋司、久留主泰朗：第65回関東畜産学会大会(2010、11月)「飼料としてのスイートソルガム残さの品質に及ぼす蒸煮・爆砕処理の影響」
- 5) Kanemoto, M., M.H. Rhaman, S Chohnan, Y. Nitta, Y. Kurusu, H. Ohta: 日本微生物生態学会第26回大会(2010、11月24~26日) "Characterization of soil clostridia able to grow in sweet sorghum juice and produce butanol"
- 6) Miho Kanemoto, M. Habibur Rahman, Yoshinori Sato, Shigeru Chonan, Youji Nitta, Yasurou Kurusu, and Hiroyuki Ohta. 国際環境生物地球科学シンポジウム (ISEB)、2011. Biomass circulation system through the biobutanol production from a sugar-rich plant, sweet sorghum
- 7) 金本美穂、M. H. Raman、佐藤嘉則、長南茂、新田洋司、久留主泰朗、太田寛行、日本微生物生態学会、2011、スイートソルガム搾汁液からブタノールを高生産する細菌株の選抜 Selection of high butanol producing strain able to grow in sweet sorghum juice.

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) シンポジウム、セミナーの開催 (主催のもの)

特に記載すべき事項はない。

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない

8. 引用文献

- 1) 中澤亮治：日本農芸化学会、9, 3, 285-291(1933) "糖蜜発酵酵母 (研究所酵母396号)"

- 2) (独) 農業技術研究機構：日本標準飼料成分表、p26、中央畜産会、東京、2001.
- 3) Gheshlaghi R, Scharer JM, Moo-Young M, Chou CP (2009) Metabolic pathways of clostridia for producing butanol. *Biotechnol Adv* 27:764-781.
- 4) Qureshi N and Blaschek HP (2000) Economics of butanol fermentation using hyper-butanol producing *Clostridium beijerinckii* BA101. *Trans IChemE, Part C* 78:139-144.
- 5) Gottwald M, Hippe H, Gottschalk G (1984) Formation of n-butanol from D-glucose by strains of “*Clostridium tetanomorphum*” group. *Appl Environ Microbiol* 48:573-576.
- 6) George HA, Johnson JL, Moore WEC, Holdeman LV, Chen JS (1983) Acetone, isopropanol, and butanol production by *Clostridium beijerinckii* (syn. *Clostridium butylicum*) and *Clostridium aurantibutylicum*. *Appl Environ Microbiol* 45:1160-1163.
- 7) George HA, Chen JS (1983) Acidic conditions are not obligatory for onset of butanol formation by *Clostridium beijerinckii* (synonym. *C. butylicum*). *Appl Environ Microbiol* 46:321-327.
- 8) 須藤 浩：サイレージと乾草、p 157、養賢堂、東京、1971.
- 9) Nonaka K, Ohta H, Sato Y, Hosakawa K (2008) Utilization of phenylpropanoids by *Pseudomonas putida* soil isolates and its probable taxonomic significance. *Microbes Environ* 28:360-364.

(3) 食料安全保障とバイオ燃料生産の両立を図る農業システム解析

茨城大学農学部
＜研究協力者＞
茨城大学農学部

吉田 貢士・小松崎 将一・佐藤 達雄・小林 久

乃田 啓吾・Krisandhi Widjaya

平成21(開始年度)～23年度累計予算額：53,797千円

(うち、平成23年度予算額：17,930千円)

予算額は、間接経費を含む。

[要旨] 本サブテーマでは、耕作放棄地におけるスイートソルガム栽培による分散型システムのエネルギー、経済評価、環境評価を行う。分散型システムは規模が小さいためバイオエタノールの生産について効率のとは言い難いが、それでもエネルギーおよびコストにおいてメリットが出るのであれば、さらに耕作放棄地対策としての効果や環境負荷が少なくすむというメリットを持つため、循環型エネルギー利用の技術として検討する価値のあるシステムである。具体的には、(1) 地域レベルにおける、耕作放棄地の立地条件を考慮したエネルギー評価、経済評価、(2) 圃場レベルにおける、窒素・リンに関する栽培通期における物質収支の評価、(3) 異なる気象条件下での糖生産の効率化と環境保全の両立の検討、(4) 県レベルにおける分散型システムの拡張に関する試算をそれぞれ検討した。結果として茨城県のA町を対象としたエネルギーおよび経済評価では、算出エネルギー／投入エネルギーの比は1.9、バイオエタノール1L当の製造コストは120円弱という結果となり、実用に向けては粗放的な農業管理やスケールの検討が必要であることが示された。圃場レベルでの物質収支では、現行の施肥管理では環境への残存量が多く、また糖生産の効率化に向けた栽培体系として、出穂までの栽培が必要であり、栽培期間が長期にわたることから渇水や台風といった気象条件に対するリスクに対応する栽培スケジュールが本システムに必要であることを示した。最後に、本システムのスケール効果について検討し、単なる大規模化ではなく耕作放棄地の分布条件、つまり地域の特性を考慮したスケールの検討が必要であることを示した。

[キーワード] 窒素収支、リン収支、耕作放棄地、土地利用シナリオ評価、LCA

1. はじめに

平成23年3月11日の東日本大震災に端を発する、原子力エネルギーへの依存度に関する問題は大きな社会問題として日本のエネルギー政策を真剣に検討する必要があることを浮き彫りにした。原子力エネルギーの代替案として、太陽光、地熱、風力等多くの自然エネルギーが検討されているが、燃料としてのエネルギーについてはガソリンの代替に電気を利用することについての可否も大きな問題である。ここでは電気自動車技術の発展を否定するものではなく本研究でとり上げる問題ではないが、電気自動車の技術開発の進捗と、石油燃料の代替としてバイオエタノールを利用するシステムは今後の社会において混在する可能性が高い。すなわち、電力の面からいえば、今回の原子力エネルギーの依存度に対する社会的な合意形成の問題があるため、電気自動車等に利用しうる余剰電力が今後供給しうるかといった問題や、石油の面からいえば、埋蔵量に限界があることや、石油価格が国際的な政治案件となることに起因する供給面の不安定性に伴う、持続的な利用が可能かどうかという問題があるため、石油への依存度を若干でも減らすことができるバイオエタノールによる、地域レベルでのエネルギー循環利用システムは喫緊の課題として検討すべきである。

また、長期的に見ても、温暖化の抑制に向け低炭素社会の実現、およびそれを下支えするエネルギー循環型システムの開発が重要である。循環型社会システムの開発には、エネルギー収支からみたコストパフォーマンスも重要であるが、それと同時に地域ごとの特性を反映した柔軟性、持続性が不可欠である。本サブテーマにおいて目標としたのは、近年日本で一般的にみられる大都市近郊の畑・水田農業における農業人口の低下、担い手不足問題による耕作放棄地の増加が進む地域における、スイートソルガムを用いた分散型バイオエタノール生産システムの仮想的導入評価と、モニタリングに基づく圃場レベルでのスイートソルガム生産の環境影響評価である。循環型社会システムの一つの技術としてスイートソルガムから生成するバイオエタノールの燃料利用とスイートソルガムの持続的な生産による分散型バイオエタノール生産システムを目指す。

一般にバイオエタノール生産において、エネルギー作物の栽培から精製プロセスのエネルギーコストを低減させることは、エネルギー効率を高めるために主要な目標である。特に、本研究で取り上げるスイートソルガムはイネ科の一年草植物で、生長速度も速く、粗放管理で高収量を得ることができる。現在、日本では主に飼料用として栽培されているが、バイオ燃料作物の中では、糖含有量がサトウキビに次いで高く、糖化プロセスが不要であり、サトウキビよりも作付けの北限が高いため、関東地域近辺でも栽培可能である。

さらに、エネルギー作物を導入した地域では、食料との競合を起こさないためにも、非食料生産地での栽培を検討する必要がある。近年では、本研究が対象とする茨城県のような首都圏に近い農業地域でも、営農形態の変化、高齢化に代表される労働人口の動態変化、土地の資産化を起因とする耕作放棄地の増加の問題がある。耕作放棄地の増加は、人間の手の入らない土地の増加を意味しており、いわゆる「里山」の減少につながり、生産性のみならず生態系保全の観点からもマイナスの側面がある。耕作放棄地を有効活用する方策は地域レベルでは、より具体的な目標となりうる。

エネルギー収支分析や環境負荷削減効果の計測には、対象とするシステムの包括的な環境影響を定量的に評価することができるLCA分析の適用が有効である。LCAに関して、清水ら(2009)¹⁾は資

源作物生産におけるデータベースの構築を行った。また、佐賀(2008)²⁾は、資源イネを原料とするバイオエタノール生産システムのエネルギー収支・CO₂削減量をLCAによって明らかにし、また経済性の面からエタノールの最適生産規模について検討している。しかし、耕作放棄地への実際の導入を考慮した際、その面積や農地の分散条件によってエネルギー収支やコストは大きく変化するが、それらを考慮した地域レベルでの評価については、知見が少ないのが現状である。

本研究のスイートソルガム栽培による分散型システムとは、米国やブラジル等で行われている広大な面積と大規模なプラントを利用したエネルギー効率を追求する集中型システムと反対の方向性を持っており、比較すると効率自体は劣らざるをえないことは容易に予想できる。しかし、集中型システムによる過剰な肥料や農薬といった環境負荷や食料生産との競合という側面は、規模が小さいことや環境管理が容易であることから、利用可能な土地利用が限られている地域や本研究が対象とする茨城県のような水環境に対して脆弱な閉鎖性水域を持つ場合には、環境保全の面では有利と考えられる。また、分散型システムでは、域内の全エネルギーを賄うことは無理であるが、エネルギー供給の外部依存性を下げる効果は期待でき、エネルギーのリスクヘッジとしての機能と、地域の環境保全を両立することが可能となることが期待される。さらに、耕作放棄地対策や減反保障として、エネルギー作物を栽培することも一つの推奨される方法であり、従来の商品作物を栽培するのと異なり、市場での高付加価値を得る努力が不要であるため、栽培時間が減少することが期待できる。このことは、今後の農業の経営体により企業的な方向に進む場合には、実現性の高いシステムとなり、地域の新規の雇用、耕作放棄地の対策になりうることを期待できる。

このようなメリットのあるエネルギー作物、スイートソルガムによる分散型のエネルギー循環システムを地域レベルで導入することを検討する。

2. 研究開発目的

本研究で提案する分散型システムで予想される問題点を大きく分けると、一つはどの程度のエネルギーが循環利用可能であるのかという点と、もう一つは持続的にシステムが運用可能か否かという点がある。持続的なシステムの運用のためには、エネルギー効率、費用対効果、環境影響のそれぞれの側面について、メリットがあることが望ましい。エネルギー効率および費用対効果についての測定は、圃場レベルおよび地域レベルでの測定、評価が必要である。また、環境影響については、圃場レベルでの水収支・物質収支の測定、評価が必要である。具体的な目的は下記の3点である。

- (1) 地域レベルにおける、耕作放棄地の立地条件を考慮したエネルギー評価、GHG影響評価、経済評価
- (2) 圃場レベルにおける、窒素・リンに関する栽培通期における物質収支の評価と持続性評価
- (3) 異なる気象条件下での糖生産の効率化と環境保全の両立に向けた栽培システムおよび輪作体系の検討

これらに加え、本分散型システムを県レベルで導入した場合、どの程度効果があるかについても試算し、本分散型システムの実用可能な範囲を検討する。

- (4) 県レベルにおける分散型システムの拡張に関する試算

3. 研究開発方法

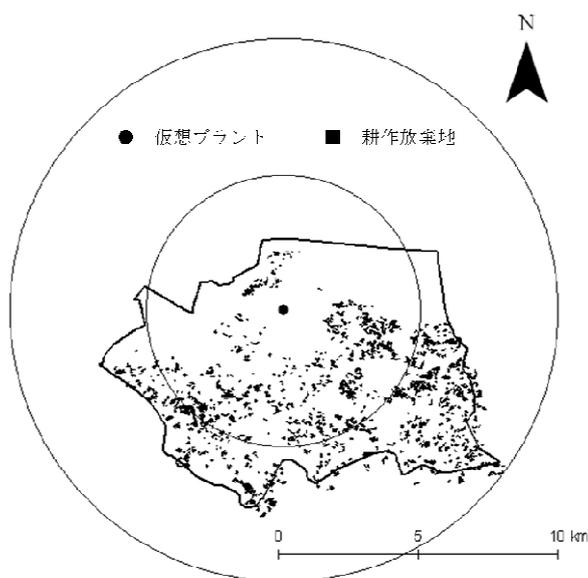
(1) 地域レベルにおける、耕作放棄地の立地条件を考慮したエネルギー評価、GHG 影響評価、経済評価

1) 研究対象地

研究の対象地としたのは、茨城県南部のA町である。A町の基礎データを表(3)-1に示す。都市近郊の平地農業地域で、耕作不便、農家の高齢化等の原因により、耕作放棄地の増加が問題となっている。農業人口を年齢別にみると、40～64歳が37%、65以上が56%と、全体の約9割が40歳以上である。耕作放棄地は耕地面積1haに対し、5aの密度で存在し、広く、薄く分布している。これにより、農地の荒廃、地域の水利システムに支障をきたすなど、農業生産に影響を与えている。また、景観の悪化、不法投棄の増加なども危惧される。平地農業地域の耕作放棄地は中山間地域と比較して、荒廃が軽度のもので多い一方で、分散的に存在しているため対策が立てにくい。

そこで、分散状況の把握のため、A町における耕作放棄地のGISデータを作成した(図.(3)-1)。A町の耕作放棄地の分布を町役場から入手した耕作放棄地状況図と土地利用図(国土地理院)をGIS上で編集し、耕作放棄地の分布のみを表示したものである。以下の分析は、この耕作放棄地分布図を基にして行った。

2) エネルギー投入量、CO₂排出量のインベントリ分析



図(3)-1 耕作放棄地分布図

表(3)-1 A町の諸元データ(2009年)

人口	47,994 人
農業人口	1,334 人
町面積	6,498ha
耕地面積	2,170 ha
耕作放棄地	369ha

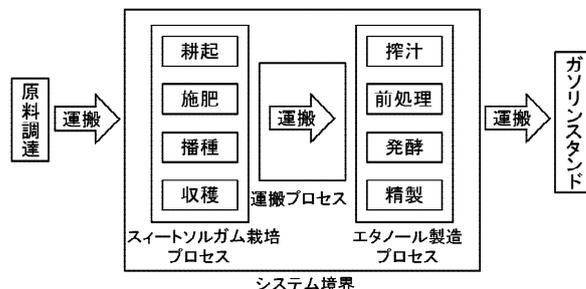
本研究では、システムのエネルギー評価にあたって、LCAを行う。LCAはインベントリを求め、システム内の工程ごとにエネルギー、GHG排出量を積み上げることで求めた。図(3)-2にLCAのインベントリ分析の対象システムを示す。

本システムの概要は、A町に存在する全ての耕作放棄地にてスイートソルガムを栽培し、設定したプラント（仮想的に設定したため茨城大学農学部内とした）に運搬し、そこでバイオエタノール製造、業者への販売を行うというものである。本システムを担うのは、バイオエタノールプラントの経営者（あるいは市町村やNGO）であり、栽培は農家・農業経営体への委託、販売はエネルギー業者への委託を想定している。このバイオエタノール生産システムを3つのプロセスに大別し、各プロセスでのエネルギー投入量、CO₂排出量を算出する。3つのプロセスとは、

- ①スイートソルガム栽培プロセス
- ②運搬プロセス
- ③バイオエタノール製造プロセス

の栽培から製造までで、販売はシステムの境界外とした。スイートソルガム栽培プロセスにおけるシステムの時間的な境界は耕作放棄地における耕起から収穫までとした。栽培は1年に1作行うことを想定し、できるだけ粗放的管理で行うことを前提とした。したがって圃場整備や施設建設等の基盤整備、除草・灌漑などの圃場管理、および作業労力については考慮していない。なお、栽培を請け負うのは、委託を受けた農家あるいは農業経営体を想定している。

運搬プロセスにおけるシステム境界は栽培したスイートソルガムを、地域に分布する各耕作放棄地から後述する仮想プラントまで運搬するところまでとした。運搬時における原料の積み込み、積み下ろしについては考慮していない。



図(3)-2 インベントリ分析対象システム

表(3)-2 スイートソルガム栽培におけるインベントリ項目および係数

分類	インベントリ項目	エネルギー(MJ)	CO ₂ (kg)
燃料使用(L)	軽油	38.20	2.644
	ガソリン	36.70	2.528
燃料製造(L)	軽油	9.64	1.040
	ガソリン	6.76	0.729
肥料(kg)	複合肥料/普通化成	8.59	0.934
機械製造(h)	トラクター	35.94	2.820
	ロータリーティラー	19.71	1.547
	マニュアルブレッダー	40.90	3.211
	ブロードキャスター	16.01	1.257

バイオエタノール製造プロセスにおけるシステム境界は燃料作物の搾汁、前処理、発酵、精製とした。搾汁液には十分な糖分が含まれているため、糖化プロセスはここでは必要がない。

a. スイートソルガム栽培プロセスにおけるインベントリ分析

スイートソルガム栽培における分析項目およびインベントリ係数を表(3)-2に示す。インベントリ係数については佐賀(2008)²⁾より引用した。

b. 栽培プロセスにおけるインベントリ分析

インベントリ項目は、

- ① 農業機械の運転に用いられる軽油・ガソリンが持つ燃料発熱量
- ② 軽油・ガソリンを製造するために用いられる燃料製造エネルギー
- ③ 普通化成肥料の製造に用いられる肥料製造エネルギー
- ④ トラクター・マニユアスプレッダー等の製造に用いられる農業機械製造エネルギー（使用時間あたりに換算）の4種類に大別した。分析項目ごとのエネルギー投入量は、分析項目ごとの資材投入量または農業機械使用時間に、それぞれのインベントリ係数を乗じることによって計算した。

c. 運搬プロセスにおけるインベントリ分析

運搬プロセスにおけるインベントリ項目は、

- ① トラックの運転に使用される軽油の燃料発熱量、
- ② 軽油を製造するために用いられる燃料製造エネルギーの2種類に分類した。運搬に関するインベントリ分析は、A町の耕作放棄地分布図(図(3)-1)を用いて行った。スイートソルガムは一般的に使用されている4tトラックを用いて、仮想プラントまで輸送されるものと仮定した。今回の分析では、仮想バイオエタノール製造プラント（以下、仮想プラント）を中心の丸印の位置に設定した。なお、実際に茨城大学農学には、実験用プラントが存在し、エタノール生成の実証試験も他のサブグループの研究で行っている。図(3)-1の図中の同心円は仮想プラントからの距離を示しており、それぞれ半径5km、10kmとなっている。

運搬プロセスにおける燃料使用量は以下のように算出した。まず仮想プラントから半径1km間隔の同心円によってA町全面積をドーナツ状に分割し、各同心円に含まれる耕作放棄地の面積を計算した。次に、各同心円内の耕作放棄地の総面積と仮想プラントまでの平均距離を掛け合わせたものを積算した。運搬コストは式3-1（日本エネルギー学会（2002）³⁾）にて、求めた。

$$C=Pr \times L \times 57.9 (\text{円}/\text{km}/\text{ton}) + 1724 \quad (\text{式3-1})$$

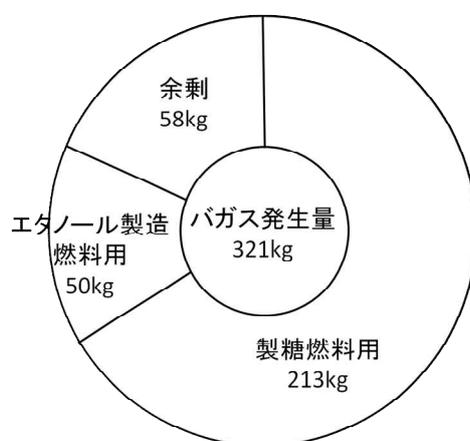
ここで、 C は運搬コスト（円）、 Pr はスイートソルガムの生産量（ton）、 L は栽培した耕作放棄地から仮想プラントまでの距離（km）である。さらに、燃料の使用量は2001年の平均軽油価格84円/Lで除すことで求めた。この燃料の総使用量に対し、軽油のインベントリ係数を乗ずることによって、運搬プロセスにおけるエネルギー投入量を算出した。なお、運搬に利用するトラック栽培者が従来から運搬車両を持っているものと仮定し、その機械製造エネルギーに関しては考慮していない。

d. バイオエタノール製造プロセスにおけるインベントリ分析

仮想プラントでのバイオエタノール製造におけるエネルギー投入量は、スイートソルガムの搾汁残渣（バガス）を燃焼することによってまかなうと想定した。小原（2006）⁴⁾は、サトウキビを

用いたバイオエタノール生産に関する研究において、サトウキビの搾汁残渣がエタノール製造時の燃料をまかなうことができることを示している(図(3)-3)。スイートソルガムのバガス発生量をスイートソルガムの乾物率(橋本ら(2011)⁵⁾)から推定すると、1t当たり220kgである、また、単位重量当たりのバガスの燃焼により得られるエネルギーには、サトウキビとスイートソルガムとで大きな差がないと仮定すると、本システムでは製糖を行わない分、エネルギーは十分にまかなえ、余剰分はさらに有効活用が期待できると考えられる。以上から、バイオエタノール製造プロセスにおけるCO₂排出量は0とした。

ただし本実証試験では、各種精製装置は通常の電気でまかなっており、発酵装置用のボイラーおよび発電機等の導入はしていない。



図(3)-3 サトウキビ1t当たりのバガス発生量

3) スイートソルガムからのバイオエタノール生産量

スイートソルガムの単位面積当たりの平均収量および乾物重量、糖分含有率は2010年に茨城大学フィールドサイエンスセンター内の圃場で実測された橋本ら(2011)⁴⁾の値を引用した。エタノール変換効率は発酵効率、遠心分離効率、精製効率を乗じて求めた小原ら(2005)⁶⁾。

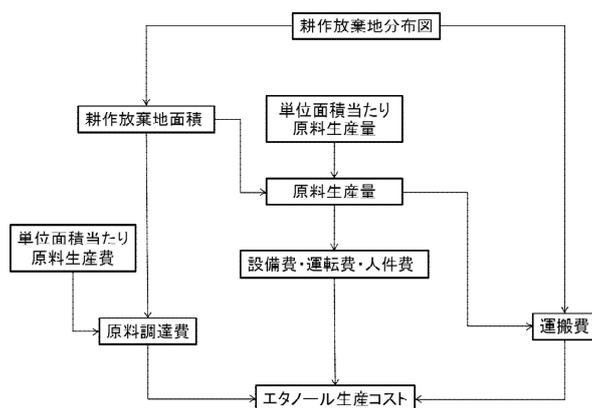
表(3)-3にこれを示す。スイートソルガムの単位面積当たりの平均収量に糖含有率および変換効率を乗じて算出したエタノール生産量は1,900L/haとなった。

4) スイートソルガムを原料とするバイオエタノール生産システムの経済評価

a. エタノール製造コストの算出方法

表(3)-3 スイートソルガム実測データ

平均収量	46.46t/ha
乾物重量	10.39t/ha
糖分含有率	0.11
エタノール変換効率	0.53
エタノール生産量	1,900L/ha



図(3)-4 エタノール生産コストフローチャート

エタノール製造コストは、設備費、人件費、運転費、運搬費および原料調達費の5つの費用項目から算出した。図(3)-4にエタノール生産コストの算出フローチャートを示す。まず、耕作放棄地面積と単位面積当たりのスイートソルガムの収量からA町で得られるバイオマス量を算出し、仮想プラントの規模を決定した。このプラント規模に対応した設備費、人件費および運転費を求めた。次にバイオマス量と耕作放棄地の分布から、運搬費を式3-1から求めた。また、耕作放棄地面積と単位面積当たり原料生産費から、原料調達費を求めた。

b. 原料調達費の算出

原料となるバイオマスを、耕作放棄地で栽培したスイートソルガムとした。スイートソルガムの収集コスト及び生産コストは、生産資材などの直接経費、人件費、機械償却費の3項目から構成される。これらの値については清水ら(2009)¹⁾から引用した(表(3)-4)。以上のデータから、エタノール1Lあたりに換算したスイートソルガムの収集コストは55.5円、と推計された。また、運搬コストはで式3-1で算出したものを使用した。

c. 設備費の算出

バイオマスプラントでは規模の経済が強く働くことから、スケールファクターを考慮することは重要である。スケールファクターについては、以下の式3-2(朝野(2007)⁷⁾)を用いた。

$$\left(\frac{Sa}{Sb}\right)^x = \frac{Ca}{Cb} \quad (\text{式3-2})$$

ここで、Xはスケールファクターであり、一般的に化学プラントは0.7乗であることが多い。Saは

表(3)-4 スイートソルガム栽培における原料調達費

大項目	小項目	単価
人件費	耕起・施肥・播種	1,000円/(hr×人)
生産資材	有機質肥料	2,500円/t
	耕起(軽油)	110円/L
作業ユーティリティ	施肥(軽油)	110円/L
	播種(軽油)	110円/L

プラントAの設備規模、Sb はプラントB の設備規模を示す。また、Ca はプラントA、CbはプラントB の建設費総計を示す。比較対象となるSaおよびCaは山田（2006）⁸⁾より引用した（表(3)-5）。このエタノールプラントの耐用年数は17年間、金利は0の定額として、エタノール1Lあたりの設備費用を算出した。

(2) 圃場レベルにおける窒素・リンに関する栽培通期における物質収支の評価と持続性評価

本課題で提案する分散システムは、耕作放棄地を対象に作付けをすることを前提としており、必ずしも毎年継続的にスイートソルガムを強制的に栽培するものではなく、栽培を請け負う側の負担を考慮し、例えば耕作放棄地から復田、復畑として利用することや、1年程度の休耕ローテーションを組むことなども想定している。つまり、耕作放棄地としてではなく農地として地域内で保全されている状態であることが、栽培を請け負った側としては第一義として重要であり、エネルギー作物であることは二義的な理由である。エネルギー作物ならば、商品作物と異なり労働時間の短縮が期待できるという点でメリットを想定する。

ただし、実際の栽培管理では、単一品種での栽培管理がコスト面、労働面からすると効率的である。したがって、スイートソルガムの栽培においても、連作を想定した上で環境負荷の見直しや持続性について検討する必要がある。以上から、下記に示すように圃場レベルでの物質収支を求め、排出負荷が環境に対し影響を及ぼすかについて検討する。

1) 実験圃場およびモニタリングシステム

圃場試験は、茨城大学農学部フィールドサイエンスセンター内の圃場で行った。圃場には畦シートを用いて9つの試験区を作成した。試験区は無施肥区と化学肥料区、さらにメタン発酵消化液を液肥利用した3水準を3反復した。試験区には気象観測タワー、土壌水分センサー、観測井を設置した。さらに、2010年度の試験では表面流の取水も実施した。なお、本試験圃場では2007年度～2009年度に別試験が行われており、2007年度はナタネ、2008年度はブロッコリー、2009年度はスイートコーンが栽培されていた。実験条件を極力均一にするよう、本試験も同じ種類の肥料を使用し、同量の施肥を行った。栽培スケジュールおよび施肥量に関するデータを示す（表(3)-6、(3)-7）。本圃場にて、水収支、窒素リン収支を測定した（図(3)-5）。下記に、各項目の測定方法

表(3)-5 式3-2におけるSa, Caの値

Sa	20,000kL
Ca	3,800,000千円

表(3)-6 作業スケジュール

日付	作業内容
2010/6/15	観測開始
7/1	耕起
7/2	施肥
7/3	播種 施肥
7/20	灌漑開始
7/30	追肥
9/7	灌漑終了
12/7	観測終了

表(3)-7 施肥量

	1haあたり (kg)	1試験区あたり (g)
窒素	120	216
リン	107	193
カリウム	120	216

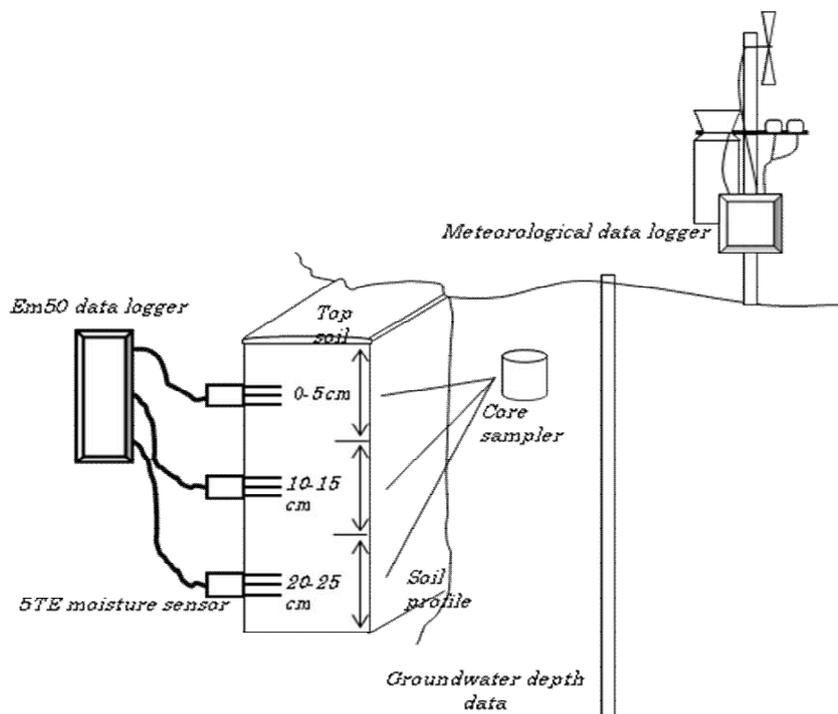
を示す。

a. 蒸発散

気象データは、1時間おきに気象観測タワー（オンセット社，米国）を使用して測定した。気象観測タワーは、試験区の外に設置し、気温・日射量・相対湿度・降雨量・風速・大気圧データを観測した。

蒸発散量は、土壌水分減少法にて求めた。土壌水分減少法とは、土層別に測定した土壌水分減少量に土層の厚さを乗じた値から蒸発散量を算定する方法である（丸山・三野，1999）⁹⁾。

$$ET = \sum_{i=1}^n (W_i' - W_i) D_i \quad (\text{式 } 3-3)$$



図(3)-5 圃場モニタリングシステム概要図

W_i' : 初期土壌体積含水率

W_i : 初期土壌体積含水率

D_i : 土層の厚さ

ただし、上記の方法は表層土が比較的乾燥している状態に対して蒸発散量を求める場合に適用したが、降雨が頻繁に生じるような湿潤な状態では適用は難しい。そこで、そのような場合にはペンマンモンティス法にて蒸発散量を求めた。ペンマンモンティス法については、FAO修正ペンマンモンティス式を採用した（Allen1998）¹⁰⁾。ペンマンモンティス式は(式 3-4)で表すことができる。

$$ET = \frac{0.408\Delta(Rn - G) + \gamma \frac{900}{T + 273} U(es - ea)}{\Delta + \gamma(1 + 0.34U)} \quad (\text{式}3-4)$$

ここで、ET: 蒸発散量(mm/d)、 Δ : 温度飽和水蒸気圧曲線の勾配(kPa)、Rn: 純放射量(MJ/m²/d)、G:

地熱 ($\text{MJ}/\text{m}^2/\text{d}$)、 γ : 乾湿計定数 ($\text{kPa}/^\circ\text{C}$)、 T : 平均温度 ($^\circ\text{C}$)、 U : 風速 (m/s)、 e_s : 飽和蒸気圧 (kPa)、 e_a : 蒸気圧 (kPa) である。

b. 土壌水分量

土壌水分は土壌水分スマートセンサー (S-SMB-M005、S-SMC-M005、S-SMD-M005、オンセット社、米国) を使用し測定した。センサーは、地表面から 5cm、15cm、25cm の深さに設置し、1 時間おきに体積含水率を測定した。

また、100cc 土壌サンプラーで採土を行い、含水比と乾燥密度を求めた。採土は播種前の 1 回を加え、月に 1 回、全 9 試験区に加えて試験区外の 1 地点の計 10 地点で行った。試験区内については、地表からの深さ 5cm、15cm、及び 25cm の 3 深度、試験区外については地表面から 5cm 及び 25cm の 2 深度から採土した。試験区外のサンプルはコントロールとして扱った。採土したサンプルは、その日のうちに 105°C で 24 時間炉乾した。なお、採土の際に不攪乱サンプルを同時に採取し、土中窒素保持量と土中リン保持量を分析するのにした。

c. 表面流出量

表面流出観測には、表面流を採水するためなだらかな傾斜がつくよう耕起時に約 0.4% の勾配をつけた。さらに、試験区の一辺の中央に穴を掘り、そこに箱 (底面積 約 970cm^2 、深さ 23cm) を設置し採水箱とした。採水箱の内側には水位を測定できるようにメジャーを取り付けた。また、設置した採水箱に表面流出水が集まるよう、採水箱を置いた試験区の一辺に塩ビ製パイプの集水管 (内径 7cm、長さ 約 120cm を 2 本) を設置した。

表面流出水量は降雨イベント時の集中観測により測定した。採水箱に表面流出水が貯まる度に水位を記録し、貯まった表面流出水を 500ml ボトルに採水した。採水箱内に残った表面流出水は、他試験区に影響が出ない場所を選び排水した。この作業を降雨が終わるまで繰り返した。なお、本試験では降雨終了から 6 時間以内に再び降雨があった場合は同じ降雨イベントとみなしている。

d. 地下水位

試験区に地下水観測のために観測井を設置した。観測井は、各試験区の中央にハンドオーガを使用し約 2m の穴を掘り、そこに 2m の塩ビ製パイプを差し込んで作成した。地下水位は、観測井に紐で繋いだ圧力式水位計 (ホボ U20 ウォーターレベルロガー、オンセット社、米国) を垂らし、1 時間おきに測定した。地下水位は、圧力式水位計で測定した水圧は気象観測タワーで測定した大気圧で補正する。

なお、地下水は週に一度、ハンドポンプを用いて観測井にて採水 (500ml) を行い、圃場から排出される環境負荷の検証データを求めるため水質を分析した。

e. 水質

i. 全窒素濃度 (T-N)

表面流出・地下水の全窒素濃度の測定は、全窒素自動測定装置 (TN-308P、株式会社アナテックヤナコ) を用いた。この測定機は、接触熱分解・化学発光法により全窒素濃度を測定している。分析の前処理として、試水中の懸濁態物質を超音波で粉碎し、2mm のふるいに通した。

ii. 全リン濃度 (T-P)

表面流出・地下水の全リン濃度の測定は、ペルオキシ二硫酸カリウム分解法 (JIS K0102) によって分解し、モリブデン青吸光光度法 (JIS K0102) によって測定した。

iii. 作物含有窒素量

作物サンプルを炉乾し、ミキサーで粉砕した後、炭素・窒素同時測定装置（MT-700Mark2、ヤナコ分析工業株式会社）で測定した。この測定器は単位サンプル乾物重あたりの窒素量（mg）を分析する。この値を収量データの乾物重に乗じて作物含有窒素量を求めた。

iv. 作物含有リン濃度

作物サンプルを炉乾し、ミキサーで粉砕したサンプルを用いて分析を行った。試験1ではサンプルを文献の方法を参考に（水野・南、1980）¹¹⁾ 硫酸と過酸化水素で分解し、その分解液をオートクレーブで滅菌処理した後、5000倍に希釈したものをペルオキシ二硫酸カリウム分解法（JIS K0102）によって分解し、モリブデン青吸光光度法（JIS K0102）によって測定した。

v. 土壌窒素濃度

月に1回、サンプリングした土壌（生土）と蒸留水を質量が1:5（生土9g、蒸留水45g）の割合で混ぜ、30分間振とうさせることにより窒素を水に溶かす方法（吉田、2010）¹²⁾を用いた。その抽出水を全窒素自動測定装置（TN-308P、株式会社アナテックヤナコ製）で測定した。

vi. 土壌リン濃度

採土した土壌を風乾させてトルオーグ法により分析した。トルオーグ法とは、土壌中のリン酸の一部を適当な溶液で抽出することによって可給態リン酸の量を把握する分析方法である。この抽出液は、0.3%の硫酸（超純水1Lで硫酸3mlを希釈したもの）20mlとアミド硫酸アンモニウム3.24gを混ぜ、1080mlになるよう超純水で希釈したものをを用いた。この抽出液400mlに2gの風乾土を入れ30分浸透させ、濾過した液体をペルオキシ二硫酸カリウム分解法（JIS K0102）によって分解し、モリブデン青吸光光度法（JIS K0102）によって測定した。

作物データは、被覆率、草丈、生体重、乾物重、乾物に含まれる窒素・リン量、糖の指標としてBrix値を測定した。被覆率とは、試験区を俯瞰した際に作物の葉が地表面を覆っている割合と定義する。

草丈は、作物の近くに測量用のスタッフを立て、十分離れた地点から目盛りを目視により読み取った。

被覆率は長い棒（草丈以上）の先にデジタルカメラを取り付け、試験区の真上から写真を撮り、画像解析ソフト（アドビ・フォトショップAdobe社、米国）を用いて算出した。具体的には、デジタル化した写真画像を画像処理ソフトで読み込んだ後、被覆度を測定する範囲を切り取り、植生部分のピクセル数を全体のピクセル数で除した値を、植生の被覆率とした。

作物の生体重は、週に1回、収量調査を行う試験区から無作為に選んだ3本の作物サンプルから測定した。この生体サンプルを、48時間、85℃で炉乾した後、乾物重を測定した。サンプルに播種密度を乗ずることで単位面積当たりの収量に換算した。

また、試験の終わりには坪刈による収量調査も行った。ビニールテープを四方に張り、ビニールテープに囲まれた面積内の作物の本数、生体重を測定した。その後、炉乾し、乾物重を測定した。Brix値は週1回の生長量把握のためのサンプリングの際、刈り取ったスイートソルガムの茎から搾汁液を絞り、アズワン社のデジタル糖度計で測定した。

2) 水・物質収支と環境への排出量

a. 水収支

下記のように、圃場レベルでの水収支式を設定する。

(降雨+灌漑) - (蒸発散+表面流出+浸透) = 土壌水分変化量

この時、「浸透」項目のみが本観測からは不明である。「浸透」は、時間遅れはあるものの最終的に地下水に到達し、流域へと流出する。したがって、「浸透」を環境負荷と捉え、その排出量を全体の差し引きから求めた。なお、水収支の土壌水分量は本試験圃場では栽培期間の最初の値と最後の値の差が十分小さい量であったので、0とみなすことができた。

b. 窒素・リン収支

窒素・リンについても同様に「浸透」を環境負荷とみなし、差し引きから求めることとした。

(降雨負荷+灌漑水質負荷+肥料) - (作物吸収+表面流出負荷+浸透負荷) = 土中変化量

各項目は、水収支項目に水質を乗じることで求められる。ただし、肥料、作物吸収は直接測定することで求めている。上記の収支式に基づき浸透負荷を求めている。

(3) 異なる気象条件下での糖生産の効率化と環境保全の両立に向けた栽培システムおよび輪作体系の検討

従来、スイートソルガムは日本国内では牛の餌としての利用が多く、出穂前に収穫することで年二作とする栽培システムが一般的であったため、糖の蓄積については知られてはいたものの積極的に利用することは、真剣に検討されてこなかった。スイートソルガムでバイオエタノール生産を考慮する場合、バイオマス量が大きく、かつ糖度がピークとなる時点で収穫することが望ましい。糖度のピークは、一般的に出穂後に来ることが知られているが、気象条件が糖分の蓄積に対して影響を与えるのかについては、モデルを含めて検討が進んでない状況である。

本分散システムでは、粗放的な栽培管理を念頭に置いており、年一度の作付け、収穫に基づく原料供給が前提とされている。特に、本分散システムは、効率的とは言い難い側面を持っているため、若干でも有利な条件でエタノール生産を行うことが必要であり、したがって、収穫については時期的な制約はないものとし、もっともエタノール生産に有利な条件下で分散システムを運用するため、気象条件と糖収量の関係について検討を行う。なお、この際、物質収支も合わせて検討するが、栽培の効率化は圃場周辺の環境負荷が大きいと持続性が担保できない可能性がある。そこで、輪作技術を導入し、年間での汚濁負荷の排出を緩和するシステムについても検討する。

表(3)-8 異なる気象条件における作付けスケジュール

日付	処理試験区	作業内容
2011/4/26	全区	観測開始
	全区	耕起
5/15	早播区	播種
	早播区	施肥
	早播区	殺虫剤・除草剤散布
7/12	全区	除草剤散布
7/21	遅播区	播種
	遅播区	施肥
	遅播区	殺虫剤・除草剤散布
2012/1/13	全区	観測終了

1) 気象条件の違い（早播き、遅播き）による糖収量の変化

観測期間は、2011年4月26日から2012年1月13日までの262日間である。実際に栽培を行った期間は、早播が2011年5月15日から2012年1月13日までの243日間、遅播が2011年7月21日から2012年1月13日までの176日間である。表(3)-8に作業日程を示す。

2011年4月26日に耕起を行った後、1つ辺り面積約56㎡（8m×7m）となるよう試験区を4つに分けた。栽培歴上の気象条件を変えるため、5月に播種を行う早播区と7月に播種を行う遅播区の2水準の試験区を設け、2反復の試験を行った。

(2)で行った圃場試験同様、土壌水分量観測と地下水観測、その他の測定項目を観測した。特に、本試験では収量調査と糖度について詳細に検討した。収量調査については、坪刈による調査を作物生長に合わせて行った。糖度についてはBrix値を求めた。Brix値とは、可溶性の固形成分濃度を表し、野菜や果物に含まれる糖分の指標として一般に用いられる値である。Brix値が高く、乾物重が大きい時点で収穫することがバイオエタノール生産においては望ましい。Brix値は週1回の生長量把握のためのサンプリングの際、刈り取ったスイートソルガムの茎から搾汁液を絞り、アズワン社のデジタル糖度計で測定した。

なお、本試験でも水収支、物質収支の測定を行い、環境への排出負荷を減らし、なおかつ糖収量を最大化する気象条件に見合う、栽培スケジュールについて検討を試みる。

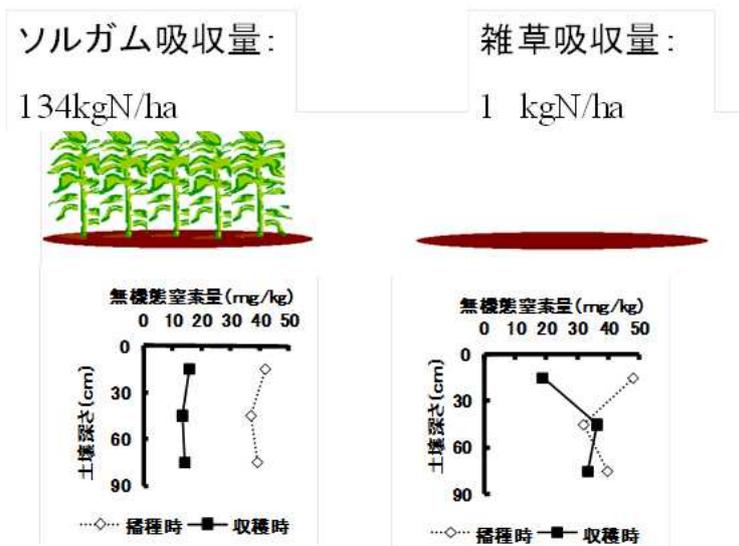
2) 環境保全に向けた輪作体系の検討

a. スイートソルガムの輪作体系上の意義

スイートソルガムなどバイオ燃料として注目される作物は、地域における輪作体系をつくる点で大きなメリットがある。茨城県は、かつては麦類と夏作物を組み合わせた輪作栽培をおこない、環境保全的な農業を伝統的に営んできた。しかし、平成18年度の関東地域での畑の耕地利用率（耕地面積に対する作付面積の割合）をみると、83.4%にとどまり、耕地利用率は年々減少している。このことは、耕作放棄地が増加していることや、作物が栽培されている畑においても輪作は崩壊し、1年に1回しか作物を栽培しない単作栽培が主流となっていることを示している。

また、耕作放棄地についても耕作が全く放棄されている圃場が注目されてきているが、茨城県南部の農業地帯では高齢化と国際競争力激化に伴い、ロータリ耕うんなどにより定期的に雑草管理を行うが、作物は栽培しない圃場が増加している。これらは、「不耕作地」とよばれ、統計上は計上されていないが、たとえば牛久市の調査では耕作されている畑作面積の5%以上がこれに相当することが指摘されている（牛久市農業政策課による聞き取り調査から）。そこでは、畑作物として省力的でかつ安定的な需要のある作物の導入が地域において熱望されている。その点で、茨城県南部においてスイートソルガムなどのバイオ燃料作物の導入は地域農業サイドからの要望も高い。

一方、スイートソルガムは畑作の輪作作物としても地力の維持増進や環境保全に効果的である。特に畑の単作栽培では、作物が収穫された後、土壌に残っている大量の肥料成分（栄養塩類）が降雨とともに土壌中を下降移動し地下水や湖沼などの汚染の原因となる。環境省の調査では飲用に不適な地下水汚染の原因としては畑地からの栄養塩類の溶脱によるものももっとも多いと指摘されている（環境省、2004）¹³⁾。



図(3)-6 ジャガイモ収穫後のソルガム栽培の有無と土壤中の窒素動態

図(3)-6にジャガイモを栽培した畑の後作にソルガムを栽培した畑と、栽培しない畑での窒素成分の動きを示した。ジャガイモを収穫した後のソルガムの播種時（点線）では、どちらの畑でも1 kg 土壌あたり40mgの窒素を90 cmの深さまで残っていた。ソルガムを栽培することで、1ha当たり134 kg の窒素を作物が吸収することができた。このため、ソルガムを栽培した畑では90 cmの深さまで土壌中の窒素成分を15mg程度まで減少した（実線）。しかし、ソルガムを栽培しない畑では、雑草の窒素吸収量はごく僅かであり、30cm以下の土壌中では高い窒素濃度が認められ、これらの窒素は地下水や湖沼の汚染源となる可能性が高い。

畑からの環境汚染を防ぎ、生態的に健全な農業生産を実現していくためには輪作体系は欠かせない技術である。ソルガムなどバイオ燃料作物などの多くは肥料を吸収する力が強いため、畑地で残留する肥料成分を吸収し、栄養塩類を地下水や湖沼に溶脱することを未然に防ぐことができるなど環境保全効果も大いに期待できる。

(4) 県レベルへの分散型システム導入のシナリオ分析

上記までの結果をもとに、分散型システムの拡大的な適用を検討する。本分散型システムの導入可能性を検討するには、(1)で実施したような町レベルでの導入を想定しているが、それは耕作放棄地面積およびスイートソルガムの収量を算定基準として検討する方法でもある。一方で、県レベルでの導入を考えると、プラントスケールと運搬距離との面からみた、分散型システムの上限についても検討する必要がある。したがって、対象とする原料供給地域の空間スケールの検討が重要となる。一般に、プラントの設備容量を拡大させるにつれ、単位生産量に対する設備費用が減少し、一方、設備容量の拡大に伴い、必要とされる原料は増加し、原料供給地域が拡大す

るため輸送コストが増加するからである。

ここでは、生産コストの比較から茨城県内での分散型システムの導入の可否を検討する。具体的には、

- ① 茨城県を5つのブロックに分類した場合の生産コスト比較
- ② 茨城県内の各市町村を対象とした場合の生産コスト比較

の2つのケースについて検討を行う。

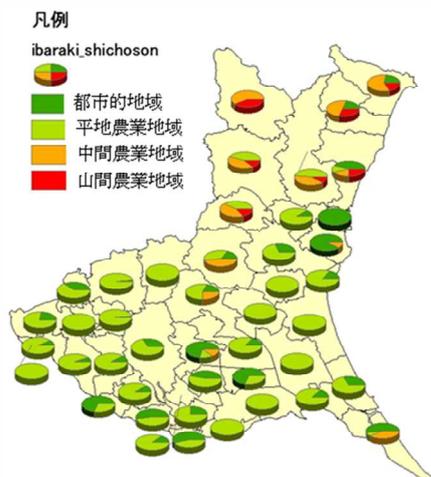
1) 茨城県の地域性

a. 農業地域類型と耕作放棄地

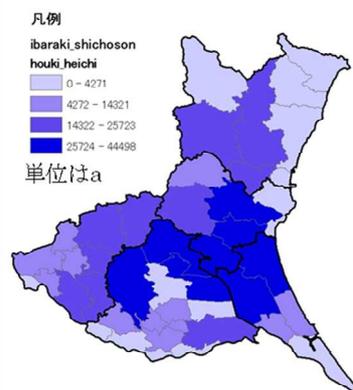
茨城県の耕作放棄地面積を農業地域類型ごとに分類したものを表(3)-9に示す(農業集落カードより作成)。これによると耕作放棄地面積は平地農業地域で最も多く60.4km²と全耕作放棄地の約65%を占めることがわかる。都市的地域の耕作放棄地問題、および中間農業地域+山間農業地域の耕作放棄地問題は相続の問題や耕作不便の問題があるが、平地農業地域については低収益性に

表(3)-9 茨城県の耕作放棄地面積

農業地域類型	都市的	平地	中間	山間
放棄地面積 (km ²)	16.1	60.4	12.4	3.1



図(3)-7 耕作放棄地の農業類型



図(3)-8 平地農業の耕作放棄地面積

より耕作放棄しているところもあり、十分な収益を確保することができれば新たな担い手を創出することができる可能性がある。本システムでは主に平地農業地域の耕作放棄地の利用を想定している。

b. 市町村データの作成

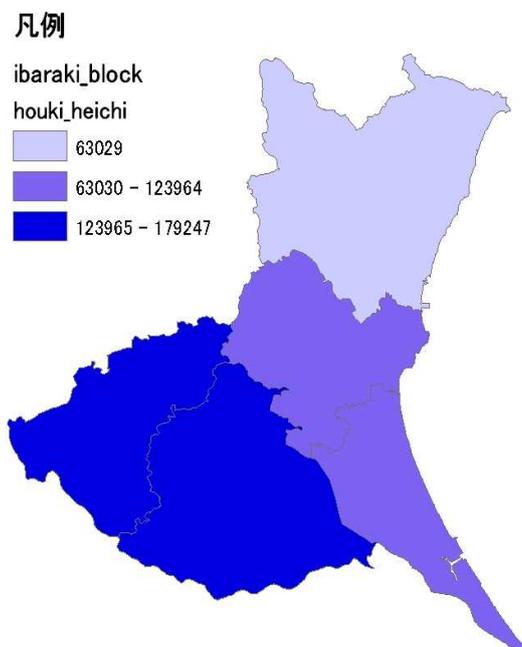
2005年農業集落カード(農林統計協会、2008)¹⁴⁾に基づき2011年時点の茨城県内44市町村のデータを作成した。具体的には、現在の市町村を1950年における357市町村の境界によって分割し、各々の農業地域類型面積を積算した。現在の阿見町は、旧阿見町、旧朝日村、旧舟島村、旧君原

村からなり、旧阿見町および旧朝日村は都市的地域、旧舟島村および旧君原村は平地農業地域に分類される。なお、農業地域類型に用いる土地利用については2005年のデータを用いた。

各市町村の耕作放棄地に占める農業類型別割合を図(3)-7に、平地農業地域の耕作放棄地面積を図(3)-8に示す。なお、図(3)-8の太線は後述する5つのブロックの境界を表している。図(3)-7より、北部では中間農業地域および山間農業地域の割合が多いのに対し、南部の霞ヶ浦周辺および西部では平地農業地域の割合が多いことが示されている。また図(3)-8より、平地農業地域の耕作放棄地面積が大きい市町村は県中央、霞ヶ浦の北側に多い。

次に44市町村を農林事務所の管轄に従って県北、県央、鹿行、県南、県西の5つのブロックに分類した。各ブロックの平地農業地域の耕作放棄地面積を図(3)-9に示す。ブロックごとに比較すると県南・県西ブロックの値が大きいが、図(3)-8と図(3)-9を比較すると、1つのブロック内の市町村で値のばらつきが大きいことが分かる。

2) コスト試算方法



図(3)-9 各ブロックの平地農業地域における耕作放棄地面積

a. コスト計算フロー

コスト計算はおおむね(1)で求めた方法論を踏襲している。すなわち、スイートソルガムの生産費、原料生産量に基づく規模のプラント設置・運用費、スイートソルガムの運搬費から構成される。異なるのは、地域ごと(ブロックまたは市町村)のデータを平成20年茨城県統計年鑑(茨城県、2009)¹⁵⁾より作成したことである。単位面積当たり原料生産量は橋本ら(2011)⁵⁾より46t/haとした。原料生産費は清水ら(2009)¹⁾を参考に表(3)-10に示す項目を積算し、約27万円/ha/yrとした。

b. 運搬費の計算方法

表(3)-10 生産コスト積算単価

大項目	小項目	単価	投入量	費用(千円/ha)
人件費	耕起・施肥・播種	1000円/hr/人	160hr/ha [*]	160
生産資材	種子	1000円/kg	3kg/ha	3
	肥料(堆肥N0.03%)	2500円/t	120kgN/ha	100
作業ユーティリティ	耕起(軽油)	110円/L	45L/ha [*]	5
	施肥(軽油)	110円/L	2 L/ha [*]	0.2
	播種(軽油)	110円/L	15L/ha [*]	1.7

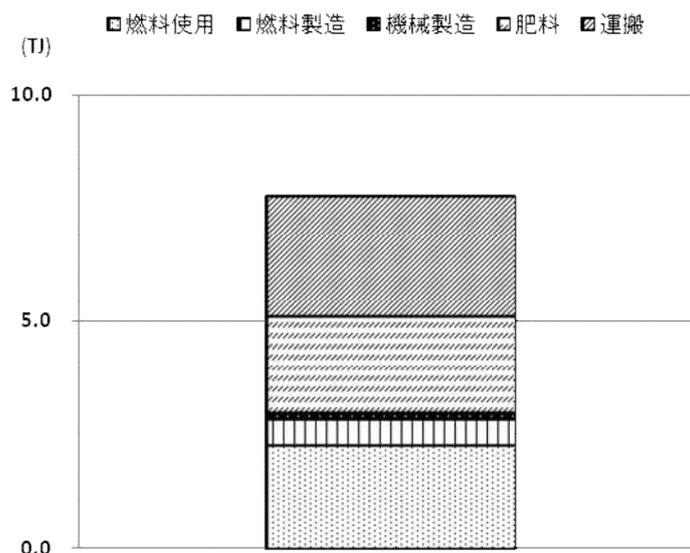
*は清水(2009)より引用

実際の茨城県内の平地農業における耕作放棄地の分布状況は不明であり、また道路網も複雑であるため、実際の運搬費を地理データから求めるのは現段階ではあまりに煩雑である。そこで、仮想的な運搬費を計算することとした。ブロック、もしくは各市町村といった対象となる地域の全面積と等しい面積の円を仮定し、その半径を代表半径と定義する。エタノール生産プラントは、仮想的にその中心にあるものとし、耕作放棄地は代表半径内に一様に分布すると仮定した。この耕作放棄地にて生産されたスイートソルガムをプラントに運搬するのに要するコストを運搬コストとして試算した。ただし、こうして求めた値は理論上の最小値であり、現実的には対象地域の形状やプラント位置によりはるかに大きな値となりうる。そこで、本研究ではこの値を2倍に補正して運搬コストとして採用した。

4. 結果及び考察

(1) 地域レベルの持続性

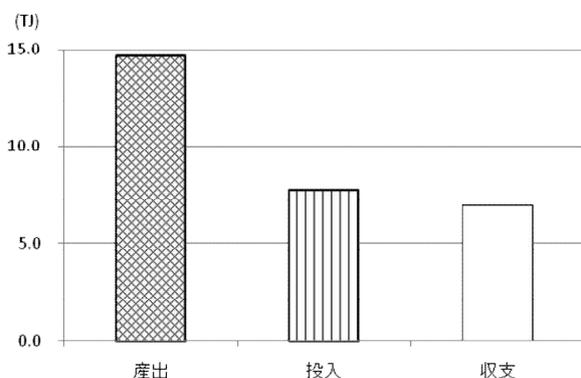
システム全体におけるエネルギー投入量を図(3)-10に示す。燃料使用(農作業)、燃料製造、



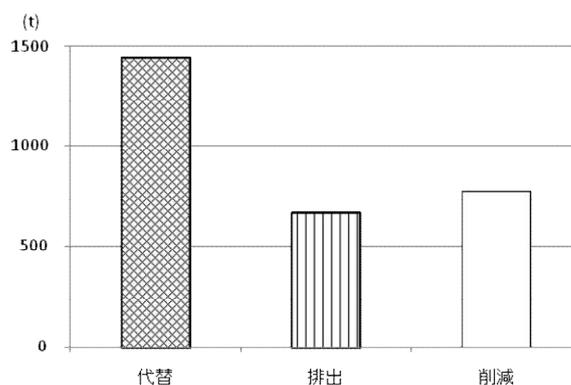
図(3)-10 エネルギー投入量

機械製造、肥料、および運搬の項目に分けて積算を行った。対象市町村に対するエネルギー投入量の合計値は、7.8TJとなった。作業プロセス別でみると、運搬におけるエネルギー投入量が2.6TJと最も大きくなった。耕作放棄地が集約的に存在する中山間地域と比べ、平地農業地域における耕作放棄地は薄く広い範囲に分布しているためである。A町は平地農業地域であり、耕作放棄地が小規模であり分散的に地域内に存在するといった特徴により、運搬にかかるエネルギーが増大したと考えられる。また、燃料使用と肥料におけるエネルギー投入量も相対的に大きな割合を占めている。本分散型システムでは、農作業の効率化は低い状態にあると考えられる。実際に、農家や農業経営体においては、スイートソルガム専用の農業機械は持っていないため、代用可能な農業機械での作業を想定しており、この点の効率化は今後の課題である。また、施肥量をできるだけ減らし、営農管理を極力行わない粗放的な作業体系で、一定の収量を目指す方法を検討することも必要である。

図(3)-11にエネルギー収支を図(3)-12にCO₂収支を示す。エネルギー収支とはエネルギー産出量からエネルギー投入量を減じたものとして定義する。エネルギー産出量はエタノール収量を発熱



図(3)-11 エネルギー収支

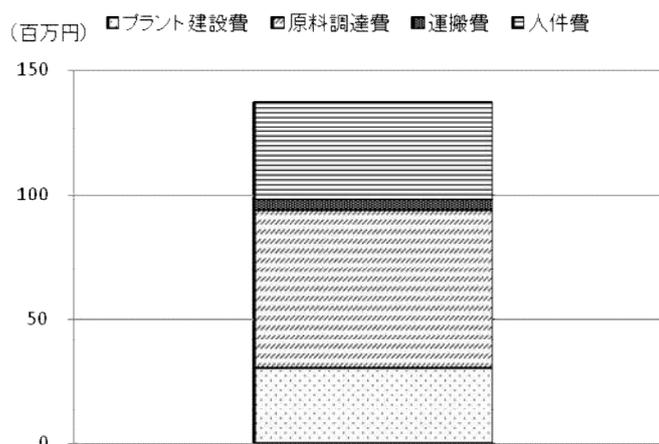


図(3)-12 CO₂収支

量換算したものであり、エネルギー投入量はスイートソルガム栽培プロセス・運搬プロセス・バイオエタノール製造プロセスにおける投入エネルギーの合計である。結果、産出エネルギーは14.7TJ、投入エネルギーは7.8TJであり、エネルギー収支は6.9TJのプラス、780tのCO₂削減効果があることもわかった。しかし、エネルギー収支の観点からは、産出エネルギー/投入エネルギーが1.0よりも大きいことが不可欠で、3.0以上が望まれる(清水ら 2009)¹⁾。本システムの産出エネルギー/投入エネルギーは1.9であり、これについては、労働力・肥料等の削減やより効率の良いエネルギー生産など、今後更なる検討が必要であろう。

1) スイートソルガムを原料とする分散型システムの経済評価

A町での年間のバイオエタノール製造コストを図(3)-13に示す。年間で約1億4,000万円の費用が必要であることがわかった。また、項目別にみると原料調達費が6,400万と最も大きい、原料調達費のうち約6000万が原料調達費内の人件費によるところである。プラントにおける人件費3900万と合わせて、システム内での総人件費は約1億円であり、これはシステムの年間製造コストの約



図(3)-13 エタノール年間製造コスト

7割を占める。本研究ではシステムにおけ発酵プロセスから販売に至るまでの担い手については、エネルギー生産に関わる企業もしくは販売に関わる企業、あるいはNGO的な団体を想定しているが、詳細な設定をしていないため、雇用形態や勤務状況等を想定することが難しい。したがって、プラントの運用に関する人件費等について、実際の運用を評価するものではない。これについては、将来システムに対する詳細なシナリオ設定を行う必要がある。しかしながら、以上の想定に基づいて1L当たりのバイオエタノール製造コストをみると、スイートソルガムを原料とする場合の製造コストは118.3円/Lであり、およそのガソリン販売価格である120円/Lを下回り、ある程度の価格競争力を持つことがわかった。

(2) 圃場レベルにおける窒素・リンに関する栽培通期における物質収支の評価と持続性評価

1) 水収支

表(3)-11、に水収支結果を示す。3区での差はほとんどなかった。これは、蒸発散量と表面流出量が3区でほぼ同じ値だったからである。投入された水の量の内、約半分が土壌下層に浸透してい

表(3)-11 圃場試験における水収支

(mm)	降雨量	灌漑量	蒸発散量	表面流出量	浸透量 (計算値)
無施肥区			289.4	158.4	400.6
消化液区	802.4	46.0	275.1	180.4	392.9
化肥区			284.6	184.4	379.4

表(3)-12 圃場試験における窒素収支

(kg・ha ⁻¹)	降雨量	灌漑量	施肥量	表面流出量	作物吸収量	浸透量 (計算値)	土中窒素変化量
無施肥区			0.0	1.9	39.1	-7.8	-24.5
消化液区	8.4	0.3	120.0	2.9	37.2	120.2	-31.6
化肥区				5.1	39.4	142.8	-58.6

ることを示している。

2) 窒素収支

表(3)-12に窒素収支結果を示す。無施肥区では施肥をしていないにもかかわらず、作物吸収量が消化液区・化肥区とほぼ同じ量だったので収支残差となる「浸透」負荷量がマイナスの値となった。これは、計算上は深い土層から作土層への窒素の上昇があったと見なされるが、実際にはそのようなことは生じるわけではなく、おそらく測定誤差の積み重ねが大きな原因と考えられる。

施肥を行った消化液区と化肥区では、施肥量を基準として作物吸収量は約30%以上、表面流出負荷量は5%未満であることがわかった。作物吸収量の値は吉田ら(2011)¹²⁾と比較して小さい結果となった。これは、スイートソルガムに関するこれまでの研究では、牛の餌への利用を念頭に置いていたためか出穂前での収穫が主であったので、観測も出穂までで終わるのが通例であったようである。一方、本システムでは糖含有量の増大が目的となるため、出穂後も継続して観測する必要があった。その結果、出穂後に窒素含有率が減少するという傾向が示された。窒素含有率が文献地よりもやや低くなるのは、このことに起因すると考えられる。スイートソルガムはバイオマス量が大きいと、土中の余剰窒素を吸収することも期待されているが、それも栽培スケジュールを通じて、適期があることが示された。

以上から窒素面に関して言えば、作土層からの窒素の吸収は大きいものの、深い土層への浸透量も大きく施肥と水管理による制御が必要であることが示された。環境保全型の農法を目指す場合には、作土層の窒素が欠乏しやすいことから施肥の回数を増やし、施肥量の総量を減らすことが望ましいが、一方で粗放管理を目指す場合には、緩効性の肥料を多用する等の方法が取られる必要があることが示された。

3) リン収支

表(3)-13にリン収支の結果を示す。消化液区と化肥区では、土中リン変化量が大きく減少したために、収支残差である「浸透」負荷が大きい値となった。施肥量のうち、作物吸収量は約6~10%、表面流出負荷量は約0.2~0.4%の割合を占めており、大半が「浸透」負荷に行った。この肥料の流出に加え、さらに作土層からも、もともとあるリンが流出したという結果を示している。ただし、リンは土壌に吸着されやすい性質をもつために、土中リン量の分析方法について改めて検討する必要があると考えられる。つまり、もともと土壌にあった可給態リンが、栽培期間中に土壌に吸着し不動態化した影響の方が強く表れており、実際に地下水へ浸透した量というのは大きくは

表(3)-13 圃場試験におけるリン収支

(kg・ha ⁻¹)	降雨量	灌漑量	施肥量	表面流出量	作物吸収量	浸透量(計算値)	土中リン変化量
無施肥区			0.0	1.6	4.7	10.3	-15.8
消化液区	0.2	0.2		0.4	6.7	212.7	-112.0
化肥区			107.0	0.2	10.4	229.4	-132.2

ないと考えられる。実際に、2010年から2011年の圃場の地下水の水質モニタリングをした結果をみると、窒素・リンともほぼ安定した濃度であり、収支式から求めた環境負荷量ほどの影響は、実際面では表れていない。ただし、これらの環境負荷は土層に残留していることは明らかであるため、その回収技術や作物吸収の向上を検討することが課題である。

4) 圃場栽培試験における収穫バイオマス量

生体重収量、乾物収量とも消化液区が最も多く、1haあたり生体重で50.3t、乾物重で11.1tとなった。化肥区は生体重収量が $46.5\text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ 、乾物収量が $10.4\text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ となり消化液区に続いた。無施肥区は生体重収量が $33.3\text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ 、乾物収量が $7.8\text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ と最も少ない値となった。また、草丈に関しても、栽培過程においては消化液区が最も早く生長し、化肥区がそれに続いた。無施肥区は最大で、消化液区に対しては約97cm、化肥区に対しては76cm小さい値で生長していた。同様に、被覆率も消化液区、化肥区、無施肥区の順に生長していった。乾物重をみても、無施肥区の値は施肥をおこなった区に比べ低い値で推移している。これらの結果より、施肥がスイートソルガムの生長に影響し、施肥を行うことでより多くの収量を得られることが確認できた。

しかし、無施肥区は施肥を行っていないにも関わらず、生体重、乾物重とも他の区の収量の65%以上の収量を得られたとも言える。本試験区は、スイートソルガム栽培以前は、消化液を施用した小麦、ナタネを栽培区であり、試験開始前の2010年6月17日時点で窒素 $47.0\text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ 、リン $49.4\text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ が土壌に残っていたため、無施肥であっても土壌に残存した栄養塩類を吸収して生長したものと考えられる。このことは、土壌余剰窒素が過剰な場合にクリーニングクロップとしての適性があることを示しており、分散システムの適用のメリットの一つになるかと思われる。

5) 差し引き環境負荷の評価

水収支・物質収支について検討した結果は、1)～3)に示した通りであり、栽培にともなう主な環境負荷は浸透量ということになる。算出した浸透量は、収支式による差し引きで求めた推定値であるため、投入量以上に浸透量が大きくなってしまったが、この結果については土中変化量の測定が大きく関係している。土中窒素の分析は、水抽出による測定を行ったため、水溶性である硝酸態窒素が主に検出された可能性が高い。よって、今回使用した測定方法では土壌に吸着したアンモニア態窒素と、不溶性の有機態窒素は考慮されていない可能性がある。リンに関しても、土壌に吸着しやすい性質を持っていることから、土中窒素と土中リンは、本試験で行った分析方法では検出できていないものと考えられる。そこで、地下水濃度をみると、施肥直後の上昇を除いては、窒素は $2\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下、リンは $1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下で推移している。つまり、地下水への窒素・リンの流出はほとんどみられないことがわかる。よって、各試験区に投入した窒素やリンは、今回分析を行った表層30cm以下の土壌に蓄積されていると考えられる。

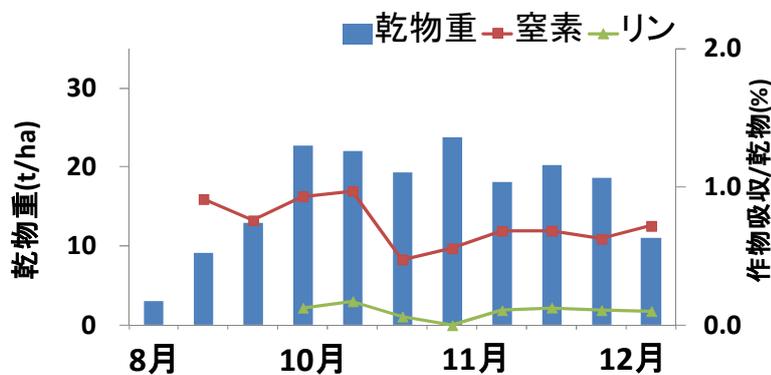
表(3)-14 窒素流出負荷量

($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$)	投入量	作物吸収量	流出負荷量
無施肥区	8.7	39.1	-30.4
消化液区	128.7	37.2	91.5
化肥区	128.7	39.4	89.3

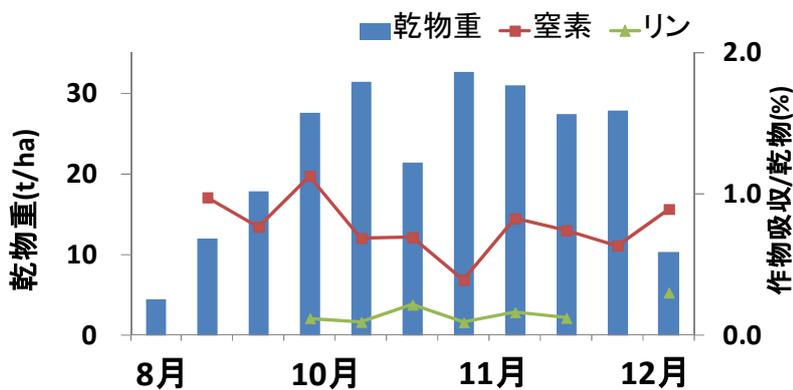
一方、降雨および施肥投入量から作物吸収量を差し引いた値が、将来的に回収されない限りはすべて環境へ流出すると仮定した場合、つまり土壌の初期条件を考えない場合についても検討を試みる。圃場への投入量と作物吸収量の差し引きで求めた負荷量を差し引き環境負荷とみなす(表(3)-14)。これで見ると消化液区、化肥区の窒素流出率は、投入量に対して約70%が流出していることになる。

ただし、差し引き環境負荷量は、作物吸収量の増減に大きな影響を受けるため、作物の収穫時期により排出量に差が生じる可能性がある。そこで、図(3)-14、図(3)-15に消化液区と化肥区の乾物重と窒素、リンの作物吸収率(乾物重当たりの含有率)の推移を示す。播種以降、作物吸収率は生育の進行につれやや減少するが、出穂以降の窒素、リンの作物吸収率はあまり変化していない。

以上から、出穂以降かつ降霜を極端に過ぎていなければ、どの時点で収穫を行っても作物窒素、リン吸収量に変化はなく、環境への排出負荷量一定になる可能性が示唆された。よって、出穂以降であれば収穫時期の決定は糖収量のみでおこなってよいことになる。



図(3)-14 乾物重と窒素、リンの作物吸収率(消化液区)



図(3)-15 乾物重と窒素、リンの作物吸収率(消化液区)

表(3)-15 栽培期間中の生体重と乾物重

t・ha ⁻¹	生体重		乾物重	
	早播	遅播	早播	遅播
5/15	0		0	
7/21		0		0
8/4	29.7		4.1	
8/30	38.0		7.1	
9/18		34.5		4.2
9/21	43.4		11.9	
9/29		41.5		6.8
10/25	37.2	53.0	11.7	9.5
12/13		43.0		13.3
12/15	46.6		14.2	
12/28	27.0	27.8	9.8	14.1
1/13	37.3	34.4	11.9	13.7

(3) 異なる気象条件下での糖生産の効率化と環境保全の両立に向けた栽培システムおよび輪作体系の検討

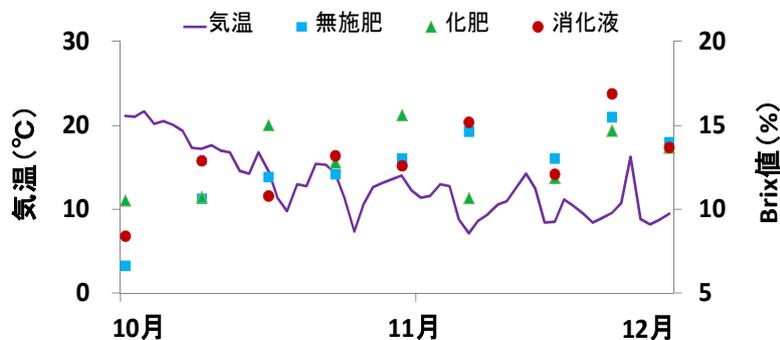
1) 糖収量と環境負荷

a. 収量

表(3)-15に栽培期間中の1haあたりの生体重と乾物重を示す。本試験の栽培中、台風に見舞われた。早播区、遅播区ともその倒伏被害による影響を受けたが、遅播区に限って言えば出穂前の段階であったため、その後、支柱による補強等で多くの苗は栽培を続けることが可能であった。しかし、日照、気温の関係で出穂までは進んだが登熟には至らなかった。早播区では、台風の倒伏被害が大きく、本来であれば収量はより多くが望めた可能性が高い。各試験区において、栽培収量時の乾物重は生体重の30~40%程度となった。

b. 糖収量

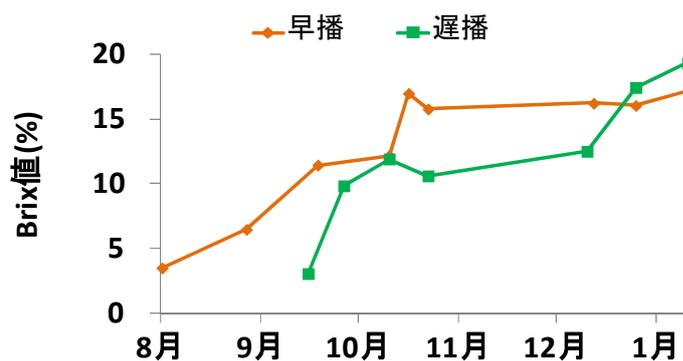
2010年の圃場調査の結果では、Brix値は出穂以降上昇が始まり、11月以降に一定となった。また、試験区間の差はほとんど見られなかった。このことから、Brix値に関しては作物生長以外の要因も変動に影響しているのではないかと考えられる。そこで、気温との関係を見てみると、気



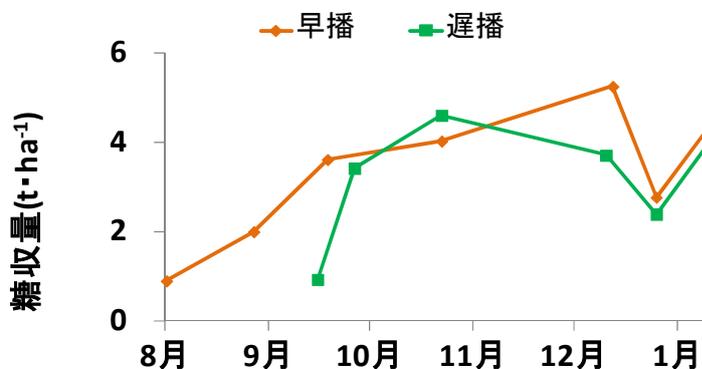
表(3)-16 気温とBrix値の変動

温の低下と共にBrix値が上昇していることが示された（図(3)-16）。気温が下がりBrix値が上昇する期間に収穫を行うことが望ましいが、糖収量は作物の水分量に大きく左右されるため、あまりに栽培後期になると作物の水分量にかわり乾物量が増加するため糖の減収につながると考えられる。

同様に2011年のBrix値の経時変化として、やはり出穂を過ぎたあたりから上昇していく。遅播区に関しては出穂後登熟まで至らなかったため、Brix値の上昇が遅れた（図(3)-17）。糖収量に関しては、ほぼBrix値の推移と同様に变化しているが、作物の水分量に大きく左右されるため、栽培後期になり作物の水分量が減少していくと糖収量も減少する（図(3)-18）。以上から、糖収量を最大化するには、出穂以降の収穫が必須であり、このことは栽培期間がある程度長期にわたることを示している。このことは栽培管理上台風による倒伏被害を、リスクとして見込む必要があり、安定的なスイートソルガム供給のデメリットになりうる。対策としては、作付けを遅らせることが最も簡単な方法であるが、今回の試験のように播種が遅すぎると、出穂が遅れ登熟に至らず、Brix値があまり上昇しないという結果にもなる。したがって、気象状況が不明である限りは、リスク管理的に考える必要があり、最適な栽培スケジュールに集中するよりは、作付け日を複数パターンにし、同じ台風による被害を軽減し、出穂時期をずらすような方法が現実的と思われる。



図(3)-17 各区のBrix値の推移

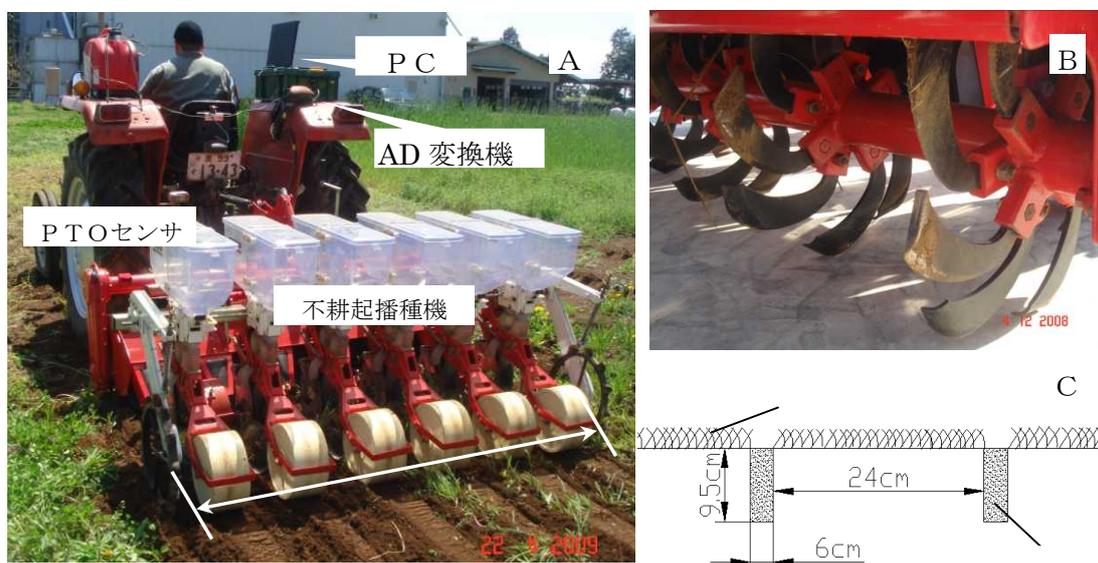


図(3)-18 各区の糖収量の推移

2) ジャガイモ・スイートソルガム輪作における不耕起播種技術の検討

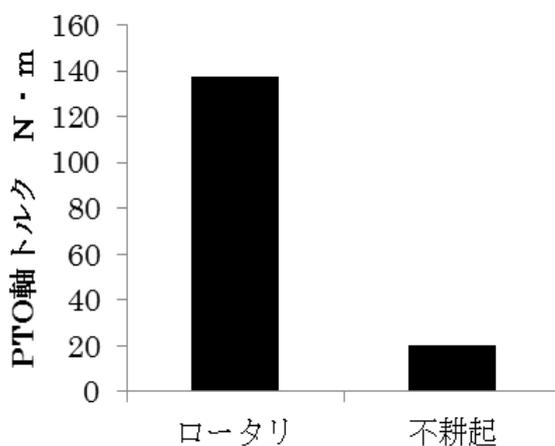
ジャガイモ後作には残留肥料成分が高く、農地から窒素負荷となっている。ジャガイモ後作に肥料吸収能力の高いスイートソルガムを作付することで、残留肥料成分を吸収し、無肥料で栽培可能である。2009年7月上旬にジャガイモ収穫直後に不耕起播種機でスイートソルガムを播種した結果、播種精度も良好であった(図(3)-19)。不耕起播種機の利用により慣行栽培に比べてPTO軸トルクを1/10に減少した(図(3)-20)。また、無肥料で栽培した結果、エタノール収量は2740/10a確保できた(表(3)-16)。

不耕起播種技術により、圃場での作業時間を30%削減でき、かつ圃場レベルでの燃料消費量を40%削減できる。また、無肥料で栽培可能なことから、投入エネルギーを著しく減少できる可能性がある。



図(3)-19 試験風景と供試した不耕起播種機の構造

注：Aは測定作業全景，Bは播種溝作成爪，およびCは圃場断面図を示す。



図(3)-20 ロータリ耕と不耕起播種によるPTO駆動力の差異

農業生産人口の高齢化や国際競争力の激化の中で、耕作放棄地の実態も大きく変化している。また、肥料価格や燃料価格の高騰など従来型の農業生産システムでは効率的なバイオ燃料作物の栽培システムの確立は課題が多い。その中で、本項目で取り上げた栽培体系は、主作物の非作付期間に耕地を利用し、残留肥料を利用することで肥料投入を抑制しかつ環境保全と地力増進につながる新しい農業システム構築のための基礎技術となる可能性が高い。

表 (3) -16 ジャガイモ後作スイートソルガムのエタノール収量

品種	栽植本数	草長	節数	糖分率	全重	乾物重	エタノール収量
	本/10a	cm		Brix%	kg/10a	kg/10a	kl/10a
ビッグシュガー	10,417	366	14.5	13.1	7273	3030	274.2

(4) 県レベルにおける分散型システムの拡張に関する試算

1) ブロックごとのエタノール生産コスト

5つのブロックごとのエタノール生産コストの試算結果を 表(3)-17に示す。県北を除く4つのブロックでは同程度の値となったが、最も低い県西ブロックでも135円/Lと、市販のガソリン価格より若干高い価格となった。この価格に販売経費や税金等を計上する必要があり、現時点でのガソリン価格に対する競争力は低いと考えられる。一般的には、スケールを拡大することで、生産コストが下がることが期待されるが、分散型システムにおいてはスイートソルガムの生産地の集団化を想定していない以上、スケールアップの効果はエタノールの製造コストが減少しても、運搬コストは下がらず、むしろ上がることとなるため、このように生産コストの低減にはつながらない。さらに、今回の試算は、耕作放棄地も平野部のみを対象とし、運搬コストの見積もりが実データではないという条件設定であるため、(1)で示したA町のデータよりも高い価格設定となったが、生産コストの低減に向けては、実際の耕作放棄地の分布状況と運搬コストの効率化を詳細に検討する必要がある。

2) 市町村ごとの試算結果

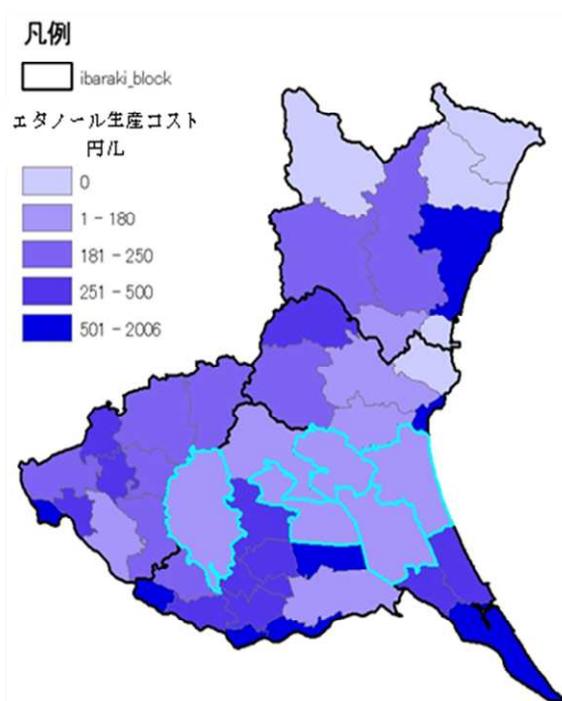
表(3)-17 ブロックごとのエタノール生産コスト(円/L)

Ethanol production cost in 5 blocks case				
県北	県央	鹿行	県南	県西
155.3	137.2	139.0	137.0	135.4

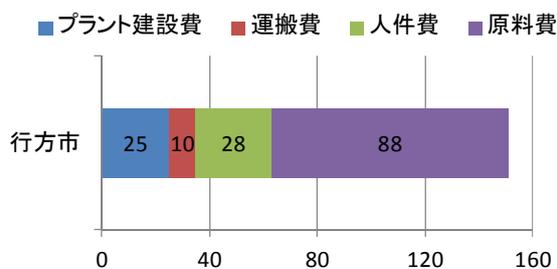
市町村ごとのエタノール生産コストの試算結果を図(3)-21に示す。図中の水色線はエタノール生産コストの低い方から5番目までの市町村（低い順に、行方市、小美玉市、かすみがうら市、つくば市、鉾田市：以下、5市町村）を表している。市町村間でエタノール生産コストのばらつきは大きいものの、最も低い行方市でも151円/Lと前述のブロック単位での試算結果と比較して15円/L程度高い値となった。これはスケールが小さくなったため、製造コストが上がったためである。また、運搬コストの計算方法は、ブロック分けの場合の方法論に準じている。下記に、コスト計算の詳細を検討する。

a. コスト内訳

図(3)-22に行方市のエタノール生産コスト151円/Lの内訳を示す。図中の人件費とは、プラントの運転に要する人件費を表す。エタノール生産コストの内訳では原料調達費（栽培費用）が88円/Lと最大で、全体の約60%を占めている。また図(3)-10より、原料調達費のうち59%がソルガム



図(3)-21 市町村毎の生産コストの分布



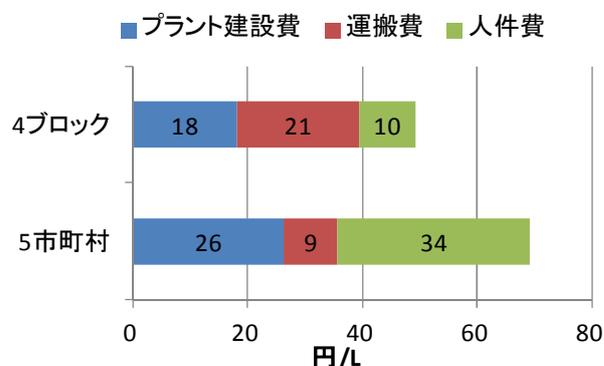
図(3)-22 エタノールコストの計算例（行方市）

栽培に要する人件費、37%が肥料代である。原料調達費は栽培プロセスに基づいて求められた費用であるためシステムのスケールによらず一定値である。このコストを下げる場合には、農家や農業経営体における人件費および肥料代を削減することが必要となる。また栽培プロセス上も、環境保全に対応した粗放的栽培方法の確立が求められる。

b. スケールの比較

図(3)-23に県北を除く4ブロックおよび5市町村のエタノール生産コストの平均値を示す。前述のように原料調達費についてはスケールによらず一定のため省略した。合計値では4ブロックの平均49円/L、5市町村の平均69円/Lと、4ブロックの平均が5市町村の平均と比較して20円/L程度低い値となった。

それぞれの代表半径は4ブロックが16～22km、5市町村が7～10kmであった。耕作放棄田における資源イネを対象とした佐賀ら(2008)²⁾の試算においても、代表半径約25kmでコストが最適化されており、総コストの観点からはブロック単位が最適なスケールであると考えられる。



図(3)-23 ブロック別および市町村別の生産コストの平均値

一方、設備・運転費と運搬費の合計に注目すると、4ブロックの平均39円/L、5市町村の平均35円/Lと、5市町村の平均が4ブロックの平均と比較して5円/L程度低い値となった。これは、スケールを落としたことによる運搬費の減少効果が大いだが、特に、5市町村は平野部の耕作放棄地が多いからでもある。また、プラント運用の人件費の部分でスケール効果があらわれており、ブロック単位の方が人件費は安くなる。しかし、本分散型システムにおいて、エタノール製造プラントの運営を具体的に想定しておらず、例えば収穫期に集中的に運転することを検討する場合にはオペレータの実働時間は期間的なものに限定されるだろうし、また複数の市町村で共通の運用で巡回的に管理するような方法を検討すれば人件費については、圧縮できる可能性がある。今後は、個別単位の分散型のシステムを核とし、そのような市町村のネットワーク型のシナリオの検討を行う必要がある。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

1) 耕作放棄地の立地条件を考慮したエネルギー評価、GHG影響評価、経済評価

これまで不明であったバイオ燃料作物としてのスイートソルガムの栽培にかかわるインベント

リが明らかになった。スイートソルガムは家畜の餌として利用される場合がこれまでは多く、栽培方法も糖含有量の蓄積には、それほど注意がはらわれてこなかった。そのため、ライフサイクルインベントリを明らかにしようという試みはされてこなかったが、本研究の成果としてバイオ燃料作物のデータベースに新たに付け加えることができた。

2) 圃場レベルにおける、窒素・リンに関する栽培通期における物質収支の評価と持続性評価

スイートソルガム栽培に伴う環境負荷の定量化が可能となった。特に、栄養塩類に対するスイートソルガムの作物吸収効果と肥料の残存率を明らかにすることができ、このことからスイートソルガムの他用途への活用（例えばクリーニングクロープ）等についての一定の知見を得ることができた。今後、水ストレスや窒素ストレス等の観測から、作物成長モデルの開発と環境動態モデルとの連携が期待できる。

3) 異なる気象条件下での糖生産の効率化と環境保全の両立に向けた栽培システムおよび輪作体系の検討

スイートソルガムの栽培プロセスにおける糖含有量の変動について知見を得ることができた。このプロセスについて、サブグループ1との連携をより高度化し、詳細な糖蓄積メカニズムの解明と連動した栽培プロセスおよび粗放管理型栽培技術の展開が可能となった。

4) 県レベルにおける分散型システムの拡張に関する試算

分散型システムを県レベルに拡張するのに必要な市町村単位のデータベースを構築した。これにより、地理条件・営農状況等の地域特性を考慮したコスト試算が可能となった。今後、対象地域ごとの地域特性に適した詳細なシナリオの検討が期待される。

(2) 環境政策への貢献

1) 耕作放棄地の立地条件を考慮したエネルギー評価、GHG影響評価、経済評価

本研究では茨城県A町を対象として、耕作放棄地栽培のスイートソルガムを原料としたバイオエタノール生産システムにおいて、耕作放棄地の空間分布を考慮したエネルギー評価、経済評価を地域レベルで行った。その結果、以下のことが明らかとなった。

システム全体での投入エネルギーは7.8TJであった。また、A町の耕作放棄地の分布が広く薄く存在するという特徴から、運搬におけるエネルギー投入が2.6TJで最も大きかった。よって、システム構築においては農地の規模とプラントからの距離・密度が重要であり、本システム評価手法により、地域の耕作放棄地分布状況からより有利な栽培農地の設定やプラントの立地の提案が可能となった。CO₂削減効果は780tであった。システムにおけるエネルギー収支は6.9TJのプラス、780tのCO₂削減効果があることもわかった。経済評価では、コストとして年間で約1億4000万円の費用が必要である。また、1L当たりの製造コストをみると、スイートソルガムを原料とする本システムの場合は118.3円であり、近年の平均的なガソリン販売価格を下回った。

2) 圃場レベルにおける、窒素・リンに関する栽培通期における物質収支の評価と持続性評価

まず施肥については化学肥料でも液肥（メタン発酵消化液）でも問題なく栽培できることが実

証された。収量調査の結果、無施肥区の乾物収量と比較すると、消化液区では42%、化肥区では33%の増収となった。化学肥料のみならず循環型の農業においても活用可能である。

栽培にともなう環境負荷の排出に関して、表面流出による負荷排出は本試験のような栽培条件ならば問題にならない値であることが明らかとなった。栽培にともなう主な環境への負荷排出は、浸透によるものであると考えられた。しかし、栽培期間中の地下水の窒素、リン濃度に大きな影響が見られないため、投入した窒素、リンの大部分は土壌中に貯留されている可能性が高いことが示された。土壌中に貯留された窒素やリンに関しては、無施肥条件でのスイートソルガム、もしくは別の作物を同じ土壌で栽培することで除去することが可能であると考えられる。

スイートソルガムは窒素吸収能力が高く、土壌にある程度の栄養塩類が残存していれば、無施肥条件での栽培が可能である。また、作物吸収窒素量に関しては、出穂時期を過ぎていけば、いつ収穫してもほぼ一定の値であることも明らかとなった。これにより、出穂以降に関しては、収穫時期の決定は糖収量の変動に委ねられるということになる。以上から、バイオ燃料作物としてスイートソルガムを栽培する際に、環境保全型の栽培スケジュールの提案が可能となった。

3) 異なる気象条件下での糖生産の効率化と環境保全の両立に向けた栽培システムおよび輪作体系の検討

Brix値に関しては、気温の低下により値が上昇することが示唆された。糖収量を得ることを目的として栽培を行う場合は、出穂以降も気温が低下するまで栽培を継続した方が有利であることが本試験より示された。しかし、糖収量はBrix値だけではなく作物の水分量にも大きく左右されるため、降霜により枯死を迎える段階まで栽培を行う必要はないと考えられる。これらから、糖の蓄積を効率的に行う栽培スケジュールが提案できる。

ただし、栽培期間前半における降雨不足により、以降の作物生長に大きく影響を及ぼすことも明らかとなった。スイートソルガム栽培初期時は、十分な降雨量が見込める時期が必要であると考えられる。一方、台風は作物生長に大きく影響することが明らかとなった。

5月に播種を行った早播区は、台風時期にはある程度草丈が伸びているが、出穂や登熟といった生育ステージには及ばず、生育途中の茎が弱い段階で台風被害を受けてしまうことがわかった。これに対し遅播区のように7月に播種を行う場合、台風時期にはまだ草丈が低いため、風の影響を受けづらいことも同時に明らかとなった。台風被害にあった個体は倒伏してしまい、その後の生長も阻害される。倒伏した後も栽培を続けることは可能だが、あくまでも出穂や登熟を迎えることが可能なのであり、一度倒伏した個体が自然に起き上がる可能性はほぼない。

以上より、本試験の結果から示される、バイオ燃料作物としてのスイートソルガム栽培は、施肥を行うことを前提に、降雨量が十分に得られ、台風を避けるような栽培条件、つまり試験2の遅播区のような栽培条件がバイオ燃料作物としてのスイートソルガム栽培には適していると結論づけられる。

4) 県レベルにおける分散型システムの拡張に関する試算

分散型システムを県レベルに拡張することを念頭に、ブロック単位・市町村単位でのコスト比較を行い以下のことが明らかとなった。それぞれのスケールでバイオエタノール生産コストの最も低いものを比較すると、ブロック単位では県西が136円/L、市町村単位では行方市が150円/Lと、

ブロック単位の方が低い結果となったが、いずれも現状ではガソリンとの価格競争力に欠ける値となった。一方、市町村ごとのバイオエタノール生産コストの分布には大きなばらつきがあるものの、比較的コストの低い市町村は霞ヶ浦北側の低平部に集中していることが明らかになり、これらの市町村の連携によりさらにコスト低減の可能性があることが示唆された。

今回の算定で得られたコスト計算は公的機関からの補償や助成というものを検討していない。ここで、スイートソルガム栽培に対する補償があった場合についても若干の検討をする。下記に、試算としてスイートソルガムの販売額、つまりシステムの運用者から見た場合の購入額を仮に1,000円/tonとすると、バイオエタノールの生産額は1L当たり50円を切ることは可能である(表(3)-18)。ただし、1ha当たり46tonの収量があるとした場合である。さらに、通常スイートソルガムが家畜飼料として流通しており、単純な商品の競合にはならないものの、配合飼料の価格が60～80円/TDNkgという価格設定からみても、1,000円/tonという設定では農家側は作付けを行わない可能性が高いことも付け加えておく。

表(3)-18 補助金を入れた場合のエタノール生産額の検討

プラ ント 数	代表 半径 (km)	プラ ント 処理 能力 (kL)	プラント 建設費 (定額、17 年償却) (百万円)	運搬 費 (百万 円)	人件 費 (百万 円)	エタノー ル 生産額 (原料費 抜き) (円/L)	スイート ソルガム 購入費* (百万円)	合計 (百万円)	エタノー ル 生産額 (原料費 込み) (円/L)
1	43.0	24093	255	599	38	37.0	361-1,806	1,254-2,699	52-112
2	30.4	12047	314	424	77	33.8	361-1,806	1,176-2,620	49-109
3	24.8	8031	354	346	116	33.9	361-1,806	1,177-2,622	49-109
4	21.5	6023	386	300	154	34.9	361-1,806	1,201-2,646	50-110
5	19.2	4819	413	268	193	36.2	361-1,806	1,234-2,679	51-111

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) 趙艶忠・趙鉄軍・小松崎将一: 農作業研究、45(1)、37-44(2010)

「カバークロップの種類と残渣処理が不耕起播種機利用時のトラクタの所要動力に及ぼす影響」

- 2) 吉田貢士、加藤亮、乃田啓吾、Krissandi Wijaya、黒田久雄: 応用水文No. 23、11-20(2011)

「播種日、施肥量の違いが燃料作物スイートソルガムの窒素吸収に及ぼす影響」

- 3) 吉田薫平、乃田啓吾、吉田貢士、加藤亮: 農業農村工学会資源循環研究部会論文集、7、pp. 61-66.

(2011) 「耕作放棄地で栽培のスイートソルガムを原料とするバイオエタノール生産システムの評価」

4) Tiejun ZHAO, Yanzhong ZHAO, Tatsuya HIGASHI, Masakazu KOMATSUZAKI: EAEF (Engineering in Agriculture, Environment and Food) 5(2) : 50-56, (2012) “Power Consumption of No-tillage Seeder under Different Cover Crop Species and Termination for Soybean Production”

<査読付論文に準ずる成果発表> (「持続可能な社会・政策研究分野」の課題のみ記載可。)

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表(査読なし)>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表(学会等)

1) 吉田貢士、森直哉、加藤亮、黒田久雄：平成22年度農業農村工学会(2010)

「バイオ燃料作物スイートソルガム栽培における水・窒素収支」

2) 小山知昭、加藤亮、黒田久雄、吉田貢士、井上栄一、佐藤達雄、岩下幸司：平成22年度農業農村工学会(2010)「メタン発酵消化液の肥料効果の検討」

3) 臼田薫、松山広樹、黒田久雄、吉田貢士、加藤亮：平成22年度農業農村工学会(2010)

「水質流出解析に向けたSWATモデルの霞ヶ浦小流域への適用」

4) 松山広樹、臼田薫、吉田貢士、黒田久雄、加藤亮：平成22年度農業農村工学会(2010)

「低平地水田地帯における栄養塩類の流出特性」

1) 橋本紗希、Krissanndi Wijaya、乃田啓吾、吉田貢士、加藤亮：平成23年度農業農村工学会(2011)「スウィートソルガム栽培における圃場レベルの窒素・リン収支解析」

2) 吉田薫平、乃田啓吾、吉田貢士、加藤亮：平成23年度農業農村工学会(2011)

「バイオ燃料作物スイートソルガムの耕作放棄地栽培におけるLCA評価」

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) シンポジウム、セミナーの開催(主催のもの)

特に記載すべき事項はない。

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

1) 清水夏樹、柚山義人、中村真人(2009)：資源作物生産特性データベースの整備、農工研技報、No. 209, pp. 29-56.

2) 佐賀清崇(2008)：地域バイオマスを原料とするエタノール生産システムの構築に関する研究、

東京大学博士論文.

3) 日本エネルギー学会(2002):新エネルギー等導入促進基礎調査(バイオマスエネルギーの利用・普及政策に関する調査).

4) 小原聡(2006):高バイオマス量サトウキビを用いたバイオエタノール生産-沖縄県伊江島における実証試験-

URL:<http://www.kinkiagri.or.jp/activity/Sympo/sympo50%28100315%29/3ohara.pdf>.

5) 橋本紗希、Krissanndi Wijaya、乃田啓吾、吉田貢士、加藤亮(2011):スウィートソルガム栽培における圃場レベルの窒素・リン収支解析、平成23年度農業農村工学会全国大会講演要旨集、pp.722-723.

6) 小原聡、寺島義文、杉本明、早野達宏、氏原邦博、下ヶ橋雅樹、迫田章義(2005):エネルギー用サトウキビからの食料共存型バイオマスエタノール生産、Journal of the Japan Institute of Energy, 84, pp.923-928.

7) 朝野賢司、美野輪智朗(2007):日本におけるバイオエタノールの生産コストとCO2削減コスト分析、日本エネルギー学会誌、vol.86, No.9, pp.682-687.

8) 山田富明、斉木隆、斎藤熹敬、本波康由、横尾一(2006):高効率エタノール発酵に基づくセルロース系バイオマスからの燃料用エタノール生産プロセスの開発と評価、第1回バイオマス科学会議発表論文集、(1), pp.28-29.

9) 丸山利輔・三野徹(1999):地域環境水文学、朝倉書店、p.34

10) Richard G. Allen, Luis S. Pereira, Dirk Raes, Martin Smith: Crop evapotranspiration, FAO Irrigation and drainage paper 56

11) 水野直次・南松雄(1980):硫酸-過酸化水素による農産物中N, K, Mg, Ca, Mn定量のための迅速処理法、日本土壌肥料学会誌51, pp.418-420

12) 吉田貢士・加藤亮・乃田啓吾・Krissanndi Wijaya・黒田久雄(2011):播種日、施肥量の違いが燃料作物スウィートソルガムの窒素吸収に及ぼす影響、応用水文No.23, pp.11-20

13) 環境省(2004):環境管理局水環境部「硝酸性窒素による地下水汚染対策事例集」平成16年7月
http://www.env.go.jp/water/chikasui/no3_taisaku/index.html

14) 農林統計協会(2008):2005年農論集落カード

15) 茨城県(2009):平成20年茨城県統計年鑑

Construction of Sustainable and Regional Community Model Based on Agricultural Bio-fuel Production

Principal Investigator: Yasurou KURUSU

Institution: College of Agriculture, Ibaraki University

3-21-1 Chuo, Ami, Inashiki, Ibaraki 300-0393, Japan

Tel:+81-298-888-8646 Fax:+81-298-888-8525 E-mail: krsy@mx.ibaraki.ac.jp

Key Words: Bio-fuel, Sweet Sorghum, Ethanol production,
Soil and water assessment, Life cycle assessment

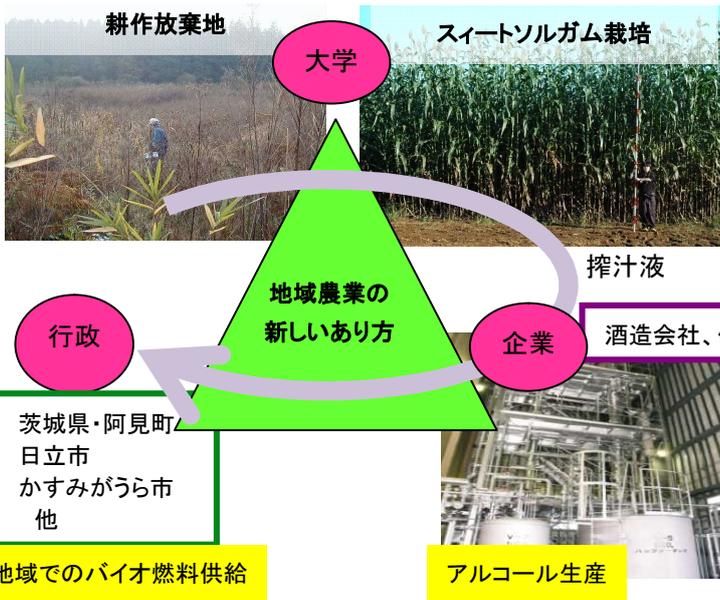
This project aims to construct regional systems for producing and using bio-fuel that contribute to the sustainability and independency of local communities and to assess their environmental impacts and effectiveness in the communities.

First, biomass productivity, optimum sowing date, harvesting date, and fertilizer (nitrogen, phosphoric acid, potassium) application rate of sweet sorghum were examined to establish the stable cultivation technique, and we developed the cultivation guidelines in Ibaraki prefecture. The possibility of development of frequency of polyploidization was examined. In consequence, two polyploid plants were first constructed. We revealed that biomass production and chlorophyll content were augmented by *Phialocephala fortinii*. *Veronaepsis simplex*, a kind of Dark-septate endophytic fungus (DSE), was found for the promotion of shoot and root growth in sweet sorghum even in low temperature condition.

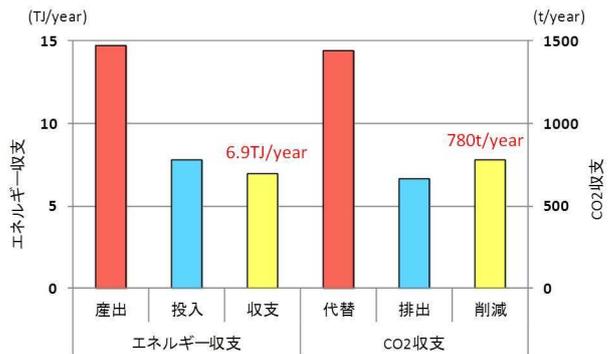
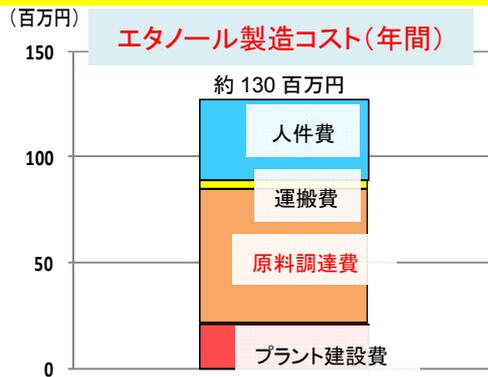
Second, the efficient ethanol production from sweet sorghum juice was examined by repeated-batch fermentation and high-conversion-rate was obtained. The use of sweet sorghum lees for livestock feed was tested and the fibers in the sweet sorghum were efficiently decomposed by steam-explosion by a short period. A butanol-tolerant strain was isolated from the *Clostridium beijerinckii* that could produce butanol from sweet sorghum juice and it was found that butanol could be produced efficiently from the sugar by the continuous fermentation.

Third, the onsite distributed bio-ethanol system of sweet sorghum was evaluated in energy, economic, and environmental aspects. As a result, in case of A town scale calculation, the energy output/input rate was 1.9, which was the value of bio-ethanol energy per total input energy for its production. And cost estimation was 118.3 yen/L. About 70 % of estimated cost was labor cost for sweet sorghum cultivation. Nutrients load from sorghum field were less than other vegetable crops. Those results show that more low input, more labor saving cultivation system should be established to improve the energy, economic and environmental system performances.

バイオ燃料農業生産を基盤とした持続型地域社会モデルに関する研究



阿見町モデル(阿見町内に1プラントを建設した場合)



- 1L 当たりの製造コスト：184.2 円
- 原料調達費 (栽培に要する費用) が大きい
- ↓
- 現在のままの栽培形態では製造コストが高い
- 社会展開をはかるには栽培費用の低減が必要
- 栽培パッケージモデルの開発 (低投入持続的栽培方法)

- エネルギー収支はプラス, CO2 削減効果もある
- エネルギー産出投入比：1.9
(=産出エネルギー/投入エネルギー)
- しかし、実用的には3以上が必要
- ↓
- 施肥・農薬等の削減・生産システムの改善が必要

茨城県モデル(茨城県内でスケールを拡大した場合)

プラント数	代表半径 (km)	プラント処理能力 (kL)	プラント建設費 (定額、17年償却) (百万円)	運搬費 (百万円)	人件費 (百万円)	エタノール生産額 (原料費抜き) (円/L)	スイートソルガム購入費* (百万円)	合計 (百万円)	エタノール生産額 (原料費込み) (円/L)
1	43.0	24093	255	599	38	37.0	361-1,806	1,254-2,699	52-112
2	30.4	12047	314	424	77	33.8	361-1,806	1,176-2,620	49-109
3	24.8	8031	354	346	116	33.9	361-1,806	1,177-2,622	49-109
4	21.5	6023	386	300	154	34.9	361-1,806	1,201-2,646	50-110
5	19.2	4819	413	268	193	36.2	361-1,806	1,234-2,679	51-111

*: ソルガム購入費を 1000-5000 円/トンと仮定した場合。

- スイートソルガムの栽培およびプラントのスケールを拡大すると、エタノール生産額を低減できる。