

平成 30 年 6 月 6 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14839

研究課題名(和文)「米ぬか農法」の雑草防除メカニズムと生物農薬への展開

研究課題名(英文) Mechanism of rice bran application for weed control in rice farming system as a biopesticide

研究代表者

井上 眞理 (Iwaya-Inoue, Mari)

九州大学・農学研究院・教授

研究者番号：60091394

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：米ぬか農法は、経験的に雑草防除効果が知られている。米ぬか(果皮およびアリューロン層が主な構成組織)の作用は、遮光および嫌気効果と理解されてきたが、その発芽抑制メカニズムには未だ不明な点が残されている。本研究では、米ぬか成分中に含まれる物質の機能として、抗酸化能力に着目した。水田雑草として代表的なヒメタイヌビエを米ぬかの品種間差および濃度の影響について、発芽および伸長を調べた。その結果、特に、黒米の米ぬかに含まれるアントシアニンが抗酸化物質として、発芽・伸長を有意に抑制することを確認した。また併せて発芽機構の研究でモデル植物としてよく用いられているムギ類の知見に従って、生化学解析を行った。

研究成果の概要(英文)：Rice bran application on weed control in paddy field has been traditionally used as an organic farming system, however, many questions about the roles of rice bran on plants remain to be clarified. This study was conducted to determine the effect of rice bran application on weed control depending on rice bran concentration and its cultivars. It has been known that reactive oxygen species (ROS) promote seed germination while antioxidants scavenge the ROS to suppress the functions in several cereal crops. Here, biological activities of rice bran and antioxidant activities were focused on rice (*Oryza sativa* L.) cultivars having different colors of pericarp as well as that of barnyardgrass, a typical weed in paddy field. As a result, higher concentration of rice bran application showed the effective way on suppressing seed germination and growth of the weed. Especially, rice bran with a black pericarp containing anthocyanin played an important role as an ROS scavenger to control the weed.

研究分野：作物生理学

キーワード：米ぬか アリューロン細胞 雑草制御 活性酸素 抗酸化物質

1. 研究開始当初の背景

農薬や化学肥料の使用により作物の収量は増大するが、その一方で、深刻な土壌汚染や作物の農薬残留問題も看過できない。近年、消費者のニーズとして安全面にも関心が高まる中で、低農薬栽培や有機肥料栽培が注目され、有機農産物の JAS 規格が制定されている。水稻栽培では、水田雑草による収量低下は 20%にもなるとされ(野田ほか 1968)SU系、ダイアジン系、酸アミド系等の除草剤に頼っているのが現状であるが、無農薬や低肥料の観点から、「米ぬか農法」が有機栽培農法として一部で行われている。米ぬかは、玄米外層に当たる果皮と糊粉(アリューロン)層で主に構成され、窒素や脂質を多く含み有機肥料としても利用できる。近年、消費が伸びている無洗米は、玄米の削り込み量が多く、12%ほどの米ぬかを副産物として生産している。無洗米は、家庭から米の研ぎ汁が下水に流れないために、環境に優しい米として消費が伸びており、無洗米の製造と米ぬか農法による栽培によって、循環型農業が成立する。

米ぬか農法は、有機肥料としての効用だけでなく(Kuk et al. 2001)経験的に雑草防除効果が知られており、物理的な遮光および嫌気効果と理解されてきた。しかし、米ぬかで水田を完全に遮光することは不可能であることや、水田雑草は嫌気条件下でも発芽・生育可能という特性をもち、これまでの解釈には矛盾があり、米ぬかによる雑草種子発芽抑制メカニズムには未だ不明な点が数多く残されたままである。このため、安定した雑草管理技術が確立されておらず、収量低下や労力増加を引き起こし、有機栽培を導入・継続する上で最大の障害となっている。

2. 研究の目的

持続可能な農業が重要視される中、米ぬかは以前から有機質肥料として利用されている。米ぬかには、窒素、リン酸、カリウムだけでなく、様々な微量のミネラルも含まれており、水稻作における肥料として利用されている。さらに、米ぬか抽出物は、水田雑草のヒメタイヌビエとタカサプロ

ウの生育抑制を示す事から、米ぬかによる雑草抑制も報告されている(Kuk et al. 2001)。

米ぬかによる雑草防除のメカニズムは、溶存酸素の減少等で説明されることが多いが、必ずしも確立されていない。米ぬかにはアスコルビン酸をはじめとする抗酸化物質が多く含まれている(Kuk et al. 2001)。抗酸化物質であるアスコルビン酸は、コムギの種子の発芽と成長抑制に効果的であることを報告した(Ishibashi and Iwaya-Inoue 2006)。さらに、オオムギ種子のアリューロン細胞を用い、活性酸素種(ROS)の生成には、発芽と休眠が密接に関連しており、GA/ABAの上流でシグナル制御していることが明らかになった(Ishibashi et al. 2012)。

これらの背景から、米ぬかに含まれる抗酸化物質に着目し、水田雑草の防除メカニズムとの関連を明らかにする事を目的とし、代表的な水田強害雑草であるヒメタイヌビエの発芽に与える影響を調査する。本研究では、雑草抑制効果の高い米ぬか(主として果皮およびアリューロン層)成分中の物質による雑草防除メカニズムを明らかにし、米ぬか農法の科学的検証を行う。

3. 研究の方法

水田雑草としてヒメタイヌビエ(*Echinochloa crus-galli* L. P. Beauv. var. *formosensis* Ohwi)を供試した。また、米ぬか用の品種として、水稻(*Oryza sativa* L.)品種‘さがびより’、‘元気つくし’、‘朝むらさき’(黒米)を主として供試した。米ぬかの濃度を5%とし、9cmシャーレを用いて25℃で7日間発芽試験を行った。各品種について米ぬかのDPPHおよびABTSラジカル消去活性を調査した。

さらに、吸水後のヒメタイヌビエ種子において、活性酸素種の一つであるH₂O₂含量および抗酸化酵素(APX, CAT, GR, GPX, SOD)の活性測定を行った。米ぬか処理は、‘元気つくし’(5%の米ぬか混合液)で3日間処理したものをを用いた。

また、ポット栽培による米ぬかの雑草防除効果の検証を行うために、ヒメタイヌビエの種子を10粒ずつ1/5000aのワグネルポットに播き、米ぬか処理区と対照区を設定し、ヒメタイヌビエの発芽および成長抑制

効果だけでなく、水田土壌中に埋蔵されている雑草への抑制効果についても併せて調べた。

4. 研究成果

本研究では米ぬか農法の雑草防除の効果とその機構を明らかにすることに着手して研究を進めた。代表的な水田雑草であるヒメタイヌビエを主に用いて、米ぬかによる発芽率および成長抑制の効果を調べた。その結果、ヒメタイヌビエは米ぬかの濃度が高くなるほど、発芽および伸長が抑制された。ヒメタイヌビエの発芽率、発芽勢および伸長抑制には米ぬかの品種間差があり、米ぬかの抗酸化能力が高いほどヒメタイヌビエの発芽および伸長を抑制した(図1)。

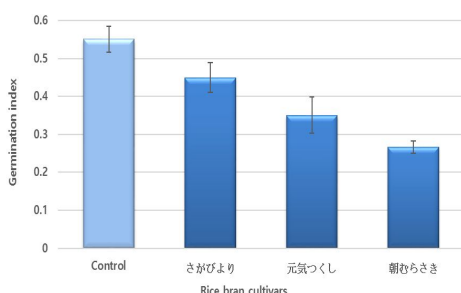


図1 水稲3品種の米ぬか成分によるヒメタイヌビエの発芽勢抑制効果

米ぬかの抗酸化能力は無色米より有色米で高く、有色米(黒米)品種の‘朝むらさき’が優位に高く、無色米も‘元気つくし’、‘さがびより’の順で、対照区に比べ抗酸化能力が高いことを示した(図2)。米ぬかの抗酸化能力が高いほどヒメタイヌビエの発芽および伸長を抑制したことから、水稲の米ぬかのうち、特に黒米の米ぬか成分はヒメタイヌビエの発芽および伸長を抑制することが示された。

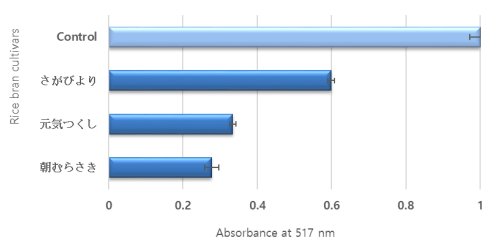


図2 水稲3品種の米ぬか成分におけるDPPHラジカル消去活性能

さらに、米ぬかにより、ヒメタイヌビエのROSおよびROS分解酵素の含量が対照

区より有意に減少することを明らかにした。一方、ヒメタイヌビエの内生ROS分解酵素は、ROSを直接分解しなかったことから、米ぬか中の抗酸化物質がヒメタイヌビエのROSを直接分解したことが示唆された。

さらに、米ぬかの濃度がイネと雑草の成長へ与える影響をみるために1/5000aのワグネルポットで栽培した。米ぬか処理区では、ヒメタイヌビエの発芽および伸長を抑制し濃度が高いほど効果的だった。また、土壌中に埋蔵されていたホソバヒメミノハギのような双子葉の雑草の成長抑制にも、米ぬか処理は効果的であった。一方、米ぬか処理によるイネの伸長自体には影響は見られず、米ぬか処理による水稲の成長阻害はないと考えられる。

水稲とヒメタイヌビエの競合において、水田の水深を深くすることで防除できることが経験的に知られている。しかし、水田の水が地下に漏れたり、畦の高さが低い等の問題で水深を深く維持するのが難しい場合には、ヒメタイヌビエは、葉が水面上に達すると急激に伸長する特性をもつ(Furuno 2001)。このことから、水深を深く管理できない水田では米ぬかを処理することで、ヒメタイヌビエの発芽および伸長を抑制し、水田雑草防除の効率を高める事が期待できる。

これらのことから、米ぬかは、ヒメタイヌビエの発芽および発芽勢の抑制だけでなく、伸長成長も抑制することが明らかとなり、米ぬかの品種間差が認められた。米ぬかによる雑草抑制効果は、黒米の‘朝むらさき’が最も高く、抗酸化作用の指標としてDPPHおよびABTSラジカル消去活性を測定した。その結果、抗酸化能力は‘朝むらさき’、‘元気つくし’、‘さがびより’の順に高く、発芽抑制効果と同様の傾向を示した。さらに、米ぬか処理によりヒメタイヌビエのH₂O₂含量が抑制されていることが示唆された。一方、米ぬか処理後のヒメタイヌビエの抗酸化酵素の活性は対照区に比べ抑制されていたことから、米ぬかに含まれる抗酸化活性が吸水後のヒメタイヌビエの活性酸素を除去する事で発芽を抑制する事が明らかとなった。抗酸化能力が高い米ぬかがヒメタイヌビエの発芽および伸

長を抑制したことから、実際に米ぬか農法をするときには抗酸化能力の高い米ぬかの品種の選定が重要であることを明らかにした。

以上の結果は、米ぬか農法において、果皮にアントシアニンを含む黒米や赤米等の品種がより雑草防除に効果的であることを示し、米ぬかの抗酸化能力に着目した雑草防除の生物農薬としての応用の可能性を示唆している。

【参考文献】

- Furuno (2001) The power of duck: integrated rice and duck farming.
Ishibashi and Iwaya-Inoue (2006) *Plant Prod. Sci.* 9: 172-175
Ishibashi et al. (2012) *Plant Physiol.* 158: 1705-1714
Kuk et al. (2001) *Kor. J. Environ. Agric.* 20: 108-111
野田ほか (1968) 雑草研究 7: 49-53

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(3件)

1. Suriyasak, C, Harano K, Tanamachi K, Matsuo K, Tamada A, Iwaya-Inoue M and Ishibashi Y (2017) Reactive oxygen species induced by heat stress during grain filling of rice (*Oryza sativa* L.) are involved in occurrence of grain chalkiness. *J. Plant Physiol.* 216: 52-57; 10.1016/j.jplph.2017.05.015 査読有り
 2. Ishibashi Y, Aoki N, Kasa S, Sakamoto M, Kai K, Tomokiyo R, Watabe G, Yuasa T and Iwaya-Inoue M (2017) The interrelationship between abscisic acid and reactive oxygen species plays a key role in barley seed dormancy and germination, *Front. Plant Sci.*, 8, 275 (1-10); 10.3389/fpls.2017.00275 査読有り
 3. 井上眞理 (2018) 植物の低温・乾燥耐性における水分生理学的研究, 低温生物工学会誌 64 (1) 1-11 査読有り
- 〔学会発表〕(計8件)
- 1 Watabe, G, Aoki N, Kai K, Tomokiyo R, Hamaoka N, Iwaya-Inoue M and Ishibashi Y (2016) Abscisic acid-catalase2-reactive oxygen species cycle is involved in dormancy and germination of barley seeds, 13th International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals (ISPFSC), 2016.9.18-20 Perth, Australia
 - 2 渡部岳, 森山泰智, 久保志織, 甲斐恭平, 濱岡範光, 井上眞理, 石橋勇志 (2016) オオムギの種子休眠・発芽機構における青色光と活性酸素の関係, 日本作物学会 242 回講演会, 2016. 10. 8.
 - 3 Suriyasak, C, Matsuo K, Tamada A, Tateishi R, Tsuji M, Kobayashi T Hamaoka N, Iwaya-Inoue M and Ishibashi Y (2016) Mechanism of delay in ancestral heat stress experienced rice (*Oryza sativa* L.) seed germination, *AFELiSA 2016 (The 13th International Joint Symposium among Japan and Korea)*, 2016.11.09. Korea
 - 4 Watabe G, Moriyama T, Kubo S, Kai K, Hamaoka N Iwaya-Inoue M and Ishibashi Y (2016) A role of reactive oxygen species responsive gene in barley (*Hordeum vulgare* L.) seed germination, *AFELiSA 2016 (The 13th International Joint Symposium among Japan and Korea)*, 2016.11.09. Korea
 - 5 井上眞理 (2017) 植物の低温・乾燥耐性における水分生理学的研究, 第 62 回低温生物工学会大会 (学会賞受賞講演) 2017.5.21
 - 6 Kodama, F, Watabe G, Moriyama T, Okamura K, Kubo S, Hamaoka N, Iwaya-Inoue M and Ishibashi Y (2017) Relationship between reactive oxygen species responsive gene 1 (RRG1) and plant hormones in barley (*Hordeum vulgare* L.) seed germination. *AFELiSA 2017 (The 14th International Joint Symposium among Japan and Korea)*, 2017.11.07. Fukuoka
 - 7 Chetphilin Suriyasak, 玉田愛奈, 小林拓矢, 濱岡範光, 井上眞理, 石橋勇志 (2018) Effects of high temperature during grain filling on seed germination in rice (*Oryza sativa* L.) 日本作物学会 243 回講演会, 2018. 3. 29

- 8 石橋勇志, Park Cheon Hwan, 井上眞理
(2018) 米ぬかによる水田雑草防除メカニズム. 第 57 回大会日本雑草学会,
2018.4.15

〔図書〕(計 1 件)

- 1 Ishibashi Y, Yuasa T, Iwaya-Inoue M (2018)
Seed dormancy induced by extreme dehydration and its breaking mechanism in relation to water status and reactive oxygen species. *In* Survival Strategies in Extreme Cold and Desiccation: Adaptation Mechanisms and their Applications, Series of Advances in Experimental Medicine and Biology. (Eds) Iwaya-Inoue M, Sakurai M, Uemura M, Springer, Tokyo *In press* 査読有り

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/lab/sakumotsu/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

井上眞理 (Mari IWAYA-INOUE)
九州大学大学院農学研究院 教授
学術特任教員(2017.4-2019.3)
九州大学名誉教授(2017.4~)
研究者番号: 60091394

(2)研究分担者

石橋勇志 (Yushi ISHIBASHI)
九州大学大学院農学研究院 准教授
研究者番号: 50611571