

氏名(本国籍)	前田節子 (京都府)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博甲第480号
学位授与年月日	平成20年3月13日
学位授与の要件	学位規則第3条第1項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	静岡大学
学位論文題目	玄米および発芽玄米の機能向上に関する研究
審査委員会	主査 静岡大学 教授 森田明雄 副査 静岡大学 教授 糠谷明 副査 岐阜大学 教授 小山博之 副査 信州大学 教授 南峰夫

論文の内容の要旨

発芽玄米は、血圧調整作用等の機能がある γ -アミノ酪酸 (GABA) を精白米の約 10 倍含有する。また、赤米は白米と比較して高い抗酸化能を有する。しかし、これらの成分を耕種的に高める手法や赤米の抗酸化能のメカニズム等は、十分に検討されていない。そこで、本研究では、玄米と発芽玄米の機能向上を目的とし、発芽玄米の GABA 含量を富化させる栽培方法および赤米の抗酸化能と着色遺伝子の関係を検討した。

イネ品種の混植は、いもち病やイネの倒伏を防ぐと報告されているが、栄養特性に及ぼす影響はこれまでに全く検討されていない。しかし、予備試験から、混植処理により発芽玄米の GABA 含量が高まる可能性が示唆された。そこで、在来品種を含む 5 品種・系統 (*japonica* 種) および 1 品種 (*indica* 種) を単植および混植栽培 (藤枝市) したところ、混植区の発芽玄米の GABA 含量 ($2.69 \mu\text{mol g}^{-1}$) は、単植区の平均値 ($1.75 \mu\text{mol g}^{-1}$) と比較して約 1.5 倍高くなった。同様に、北海道で育成された近縁関係の 3 品種を供試した (藤枝市) と、混植区の発芽玄米の GABA 含量 ($2.29 \mu\text{mol g}^{-1}$) は、単植区の平均値 ($1.62 \mu\text{mol g}^{-1}$) と比較して約 1.4 倍高くなった。さらに、旭川市で同じ 3 品種を用いて試験したところ、混植区の発芽玄米の GABA 含量 ($1.83 \mu\text{mol g}^{-1}$) は、単植区の平均値 ($1.71 \mu\text{mol g}^{-1}$) に比べて高くなる傾向を示した。一方、混植による減収および食味値の低下も認められなかった。以上の結果から、イネ品種の混植は、供試品種数や近縁の程度および栽培地に関わらず、発芽玄米の GABA 含量の富化に有益な栽培方法である可能性が示唆された。

GABA はグルタミン酸 (Glu) が脱炭酸され生成される。従って、タンパク質含量の高い玄米を用いれば、タンパク質の分解により発芽中に生成する Glu 含量が増加し、発芽玄米の GABA 含量の富化に繋がると考えられる。一方、穂肥の施用量方法により玄米のタンパク質含量が変化することが報告されている。そこで、コシヒカリを供試

して出穂日前 15 日、出穂前 5 日および出穂日に $2 \text{ g m}^{-2} \text{ N}$ または、 $4 \text{ g m}^{-2} \text{ N}$ の穂肥を施用するポット試験を行い、発芽玄米の GABA 含量への影響を検討した。その結果、穂肥の時期が遅いほど玄米のタンパク質含量と発芽玄米の GABA 含量が増加し、両者の間には有意な正の相関関係が認められた ($r=0.549, p<0.01$)。次に、ポット試験よりもさらに施用時期が遅い出穂日 5 日後の穂肥処理区を加え、窒素施用量を $3 \text{ g m}^{-2} \text{ N}$ または、 $6 \text{ g m}^{-2} \text{ N}$ とし圃場実験を行った。発芽玄米の GABA 含量は、ポット試験と同様に穂肥を出穂日にした処理区において高く、 $6 \text{ g m}^{-2} \text{ N}$ 処理区が最高値 ($1.84 \mu \text{ mol g}^{-1}$) であった。また、穂肥を出穂日までに施用した処理区では、玄米のタンパク質含量と発芽玄米の GABA 含量の間には、有意な正の相関関係があった ($r=0.659, p<0.05$)。しかし、出穂後の処理区には、両者の間に有意な関係は認められなかった。つまり、出穂日までの穂肥は、玄米のタンパク質含量と発芽玄米の GABA 含量を増加させるが、それ以降の追肥は、タンパク質含量は増加させても、発芽玄米の GABA 含量を増加させる効果は小さいことが示唆された。一方、ポット試験および圃場試験において、出穂日以降の窒素施用は、稈と穂の伸長を抑制し減収をもたらすことが明らかになった。以上の結果から、穂肥を出穂日前後に遅らせ、窒素施用量を増加させるという肥培管理方法が、収量を維持しながら発芽玄米の GABA 含量を富化するのに有効であると考えられた。

赤米の抗酸化成分は玄米の糠層に局在しているため、種皮褐色遺伝子（着色遺伝子）*Rc* の発現が赤米の抗酸化能に影響を及ぼすことが推定される。そこで、同質遺伝子系統である T65*Rc*（赤米）とその親系統の P.T.B.10（赤米）および台中 65 号（白米）を用いて、*Rc* 遺伝子と玄米の抗酸化活性の関係を検討した。XYZ 活性酸素消去発光法による *Rc* 遺伝子供与親の P.T.B.10 の抗酸化活性は白米のコシヒカリに対し有意に高かったが、同質遺伝子系統の T65*Rc* と戻し交配親の台中 65 号の抗酸化活性はコシヒカリと同程度であった。さらに、DPPH ラジカル分光測定法を用いても同様な結果が示された。これらのことから、着色遺伝子 *Rc* の白米への導入により、玄米の種皮を赤色に着色することは可能であるが、赤米の持つ抗酸化能を、白米に付与することは期待できないことが示唆された。つまり、着色遺伝子 *Rc* は、赤米が有する抗酸化活性には関与しないことが本試験により明らかとなった。

以上のことから、本論文は、発芽玄米の GABA 含量を増加させるためには、品種混植を行うこと、また、単植でイネを栽培する場合には、出穂期に穂肥を施用することが有効な方法であることを示した。さらに、着色遺伝子 *Rc* は赤米の抗酸化能に関与しないことを明らかにした。

審 査 結 果 の 要 旨

本学位論文は、イネの栽培方法と穂肥の施用方法が玄米および発芽玄米のアミノ酸含量に与える影響を検討し、イネ品種の混植と穂肥の遅い施用が発芽玄米の GABA 含量富化に有効であることを明らかにしたものである。また、赤米の抗酸化能の発現メカニズムについても検討し、赤米の抗酸化能に種皮褐色遺伝子 *Rc* が関与しないことも明らかにした。本研究で得られた知見は以下のとおりである。

在来品種を含む 5 品種・系統（japonica 種）および 1 品種（indica 種）を供試し、品種別の単植栽培と 6 品種の混植栽培を行った（藤枝市）。その結果、混植区の発芽

玄米の GABA 含量 ($2.69 \mu\text{mol g}^{-1}$) は、単植区の平均値 ($1.75 \mu\text{mol g}^{-1}$) と比較して約 1.5 倍高くなった。次に、同じく藤枝市において、北海道で育成された近縁関係の 3 品種を供試したところ、混植区の発芽玄米の GABA 含量 ($2.29 \mu\text{mol g}^{-1}$) は、単植区の平均値 ($1.62 \mu\text{mol g}^{-1}$) と比較して約 1.4 倍高くなった。さらに、同じ 3 品種を用いて旭川市で試験を行ったところ、混植区の発芽玄米の GABA 含量 ($1.83 \mu\text{mol g}^{-1}$) は、単植区の平均値 ($1.71 \mu\text{mol g}^{-1}$) に比べて高くなる傾向を示した。また、いずれの試験においても、混植による減収および食味値の低下は認められなかった。以上の結果から、組み合わせる品種の数や近縁関係に関わらず、イネ品種の混植は、発芽玄米の GABA 含量の富化に有益な栽培方法である可能性が示唆された。

また、土耕ポット栽培したコシヒカリを用いて、穂肥の時期を出穂日前 15 日（慣行栽培）、出穂日前 5 日および出穂日に施用量を $2 \text{ g m}^{-2} \text{ N}$ または、 $4 \text{ g m}^{-2} \text{ N}$ としして施用試験を行った（静岡市）。その結果、穂肥の時期が遅いほど玄米のタンパク質含量と発芽玄米の GABA 含量が増加し、両者の間に正の有意な相関関係が認められた ($r=0.549$, $p<0.01$)。そこで次に、穂肥の施用時期がさらに遅い、出穂日 5 日後の施用処理を加え、窒素施用量を $3 \text{ g m}^{-2} \text{ N}$ または、 $6 \text{ g m}^{-2} \text{ N}$ にして圃場実験を行った。発芽玄米の GABA 含量は、ポット試験と同様に、穂肥を出穂日に $6 \text{ g m}^{-2} \text{ N}$ （慣行区の 2 倍量）施用した処理区で最大 ($1.84 \mu\text{mol g}^{-1}$) となった。玄米のタンパク質含量と発芽玄米の GABA 含量の間にも、穂肥を出穂日までに施用した処理区では、有意な正の相関関係が認められた ($r=0.659$, $p<0.05$) が、出穂後に施用した処理区では、有意な関係が認められなかった。つまり、出穂日までの穂肥は、玄米のタンパク質含量と発芽玄米の GABA 含量を増加させるが、それ以降の追肥は、タンパク質含量は増加させても、発芽玄米の GABA 含量を増加させる効果は小さいことが示唆された。一方、ポット試験および圃場試験において、出穂日以降の窒素施用は、稈と穂の伸長を抑制し減収をもたらした。以上の結果から、穂肥を出穂日前後に遅らせ、窒素施用量を増加させる肥培管理方法が、発芽玄米の GABA 含量の富化に有効であると考えられた。

同質遺伝子系統である T65Rc（赤米）とその親系統の P.T.B.10（赤米）および台中 65 号（白米）を用いて、Rc 遺伝子と玄米の抗酸化活性の関係を検討した。XYZ 活性酸素消去発光法による Rc 遺伝子供与親の P.T.B.10 の抗酸化活性は白米のコシヒカリに対し有意に高かった。しかし、同質遺伝子系統の T65Rc と戻し交配親の台中 65 号の抗酸化活性はコシヒカリと同程度であった。このことから、着色遺伝子 Rc の白米への導入により、玄米の種皮を赤色に着色することは可能であるが、赤米の持つ抗酸化能を、白米に付与することは期待できないことが明らかとなった。つまり、着色遺伝子 Rc は、赤米が有する抗酸化活性には関与しないことが示された。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

- 1) 前田節子・新村洋人・中川公太・安藤創介・浅井辰夫・森田明雄（2007）種皮褐色遺伝子 Rc が玄米の抗酸化能に及ぼす影響。育種学研究 9:97-102.

- 2) S. MAEDA, H. SHINMURA, K. NAKAGAWA, T. ASAI, A. MORITA (2007) Comparison of the free amino acid content and certain other agronomical traits of germinated and non-germinated brown rice in monocultured and mixed plantings. SABRAO Journal of Breeding and Genetics 39:107-115.

既発表学術論文

- 1) Akio Morita, Osamu Yanagisawa, Satoshi Takatsu, Setsuko Maeda, Syuntaro Hiradate (2008) Mechanism for the detoxification of aluminum in roots of tea plant. (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). Phytochemistry, 69, 147-153