稲発酵粗飼料のサイレージ発酵が主要水田雑草種子の 死滅に及ぼす影響 *

小荒井晃^{*1}・服部育男¹・鈴木知之^{1,2}・住吉 正¹・
大段秀記¹・佐藤健次^{1,3}・加藤直樹¹・保田謙太郎^{1,4}

要 約：発酵粗飼料として利用する水稻栽培の普及が進められているが、水田雑草の種子が混入した稲発酵粗飼料が生産された場合、それを採食した牛のふん中に生存した雑草種子が混入し、その牛ふんで堆肥を作成・水田に散布することによって雑草種子の分布が拡大する危険性が懸念される。そこで、稲発酵粗飼料中のサイレージ発酵が主要な水田雑草種子の生存に及ぼす影響を明らかにするため、ヒメタイヌビエ、アメリカセンダングサ、タカサブロウ、イヌホタルイ、タマガヤツリ、コナギおよびクサネム種子を供試草種として、稲発酵粗飼料中の種子の生存状況について調査した。その結果、ヒメタイヌビエ、アメリカセンダングサ、タカサブロウ、イヌホタルイ、タマガヤツリおよびコナギの種子は、約 90～180 日のサイレージ発酵によってほとんど死滅するのに対し、種皮が硬実の状態にあるクサネム種子は、サイレージ発酵によってほとんど死滅しなかった。したがって、硬実のクサネム種子が稲発酵粗飼料に混入した場合、牛ふん堆肥を通じて種子が拡散する可能性が極めて高いことが示唆された。

キーワード：稲発酵粗飼料、硬実、サイレージ発酵、種子生存、水田雑草

緒 言

近年、国内では、排水等の条件が悪い水田でも栽培でき、飼料自給率の向上にも寄与する転作作物として、茎葉と子実を合わせて収穫し、サイレージ発酵させて粗飼料として利用

する水稻栽培（以下、発酵粗飼料用イネ栽培）が推進されている（小川 2005）。この発酵粗飼料用イネ栽培では、経営上の理由から食用イネ栽培と比較して、省力低コストで栽培しなければならないので雑草管理が不十分となり、収穫時に雑草が繁茂して、収穫作業の際、イネだけでなく、雑草や雑草種子もあわせて収穫する事例が多く見られる。飼料畑では雑草種子が混入した輸入飼料をウシに給与し、そのウシから排泄した牛ふんを材料として堆肥を作成、圃場に散布したが、外来雑草の侵入・発生面積の拡大の要因の一つだと推測されている（西田 2002）。そのため、水田においても稲発酵粗飼料中に混入した水田雑草種子がウシに給与する時点で生存していた場合、牛ふん中に水田雑草種子が混入するため、その牛ふんで堆肥を作成し、水田に散布することで雑草の発生が拡大する危険性が懸念される。

トウモロコシ、ソルガムなどの飼料作物では、サイレージに混入した雑草種子は、材料草の水分含量が高いほど死滅率が高いことが報告されている（Zahmley and Fitch 1941; 高井・佐々木 1969; 高林ら 1978; 増田ら 1984）。たとえば、水分含量が 60%～75% の中水分サイレージおよび 75% 以上の高水分サイレージの場合、供試したすべての雑草種子で発芽力が完全に失われたとする報告がある（高井・佐々木 1969）。一方、水分含量が 60% 以下の低水分サイレージでは、メヒシバ（*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koeler）種子は、イタリアンライグラスを材料草とするビニールスタックサイロ内で約 60 日間サイレージ発酵させた場合、水分含量 49% の材料草ではまったく発芽力を有しなくなるのに対し、水分含量が 44% の材料草では、多くの種子が発芽力を有していたこと（高林ら 1978）、エゾノギシギシ（*Rumex obtusifolius* L.）の完熟種子は、オーチャードグラスを主体とした寒地型牧草を材料草とするビニールバッグサイロ内で約 40 日間サイレージ発酵させた場合、水分含量 59% の材料草では 13% の種子が発芽力を有していたのに対し、予乾して水分含量が 53% となった場合、63% の種子が発芽力を有したこと（増田ら 1984）が報告されている。これは、水分含量が高い場合ではサイレージ発酵が順調に進行するが、水分含量が低い水分サイレージの場合ではわずかな水分含量の変動によって、サイレージ発酵の進行が抑制される場合があるためと考えられる。嫌気的なサイレージ発酵では、酸素の欠乏、乳酸や酢酸などの有機酸の生成および pH の低下が生ずる。これら飼料作物のサイ

* 本研究の一部は、日本雑草学会第 46 回講演会（2007 年 4 月）において発表した。本研究の一部は、農林水産省委託プロジェクト研究「粗飼料多給による家畜飼養技術の開発」および農水省委託プロジェクト「新鮮でおいしい「ブランド・ニッポン」農産物提供のための総合研究」による研究費と農林水産省農林水産研究情報総合センターのシステムを利用して実施した。

1 農研機構 九州沖縄農業研究センター
〒 833-0041 福岡県筑後市和泉 496
koarai@affrc.go.jp（小荒井晃）
2 現、国際農林水産業研究センター
〒 305-8686 茨城県つくば市大和 1-1
3 現、（一社）日本草地畜産種子協会
〒 101-0035 東京都千代田区神田紺屋町 8 アセンド神田紺屋町ビル 4 階
4 現、秋田県立大学生物資源科学部附属フィールド教育研究センター
〒 010-0451 秋田県南秋田郡大湯村字大湯 6
（2015 年 1 月 13 日受付，2015 年 8 月 24 日受理）

レージ発酵によって雑草種子が死滅する要因として、多くの研究者が、発酵にともない生成する有機酸あるいは発酵を促進させるためにサイレージ調製時に添加する有機酸の関与を指摘している (Woodward 1940; 高井・佐々木 1969; 高林ら 1978; 増田ら 1984)。

発酵粗飼料用イネは、収穫時の生育ステージ、予乾の有無などでサイレージの水分含量は大きく変化する。また、サイレージ発酵特性が飼料作物とは異なり、一般に、乳酸含有量が低く、酢酸含有量が高くなる傾向を示す (一般社団法人日本草地畜産種子協会 2014)。そのため、稲発酵粗飼料中に混入した雑草種子の生存に及ぼす影響は、他の飼料作物による発酵粗飼料とは異なる場合も想定される。

そこで、著者らは、小規模サイレージ発酵試験として用いられているパウチサイロ (田中・大桃 1995) および生産現場でサイレージ調製法のひとつとして使われているドラム缶サイロ (高野ら 1992) を用いて、イネのサイレージ発酵が主要な水田雑草種子の生存に及ぼす影響について検討した。また、あわせて、サイレージ発酵による雑草種子の死滅の要因として、有機酸の生成が指摘されることから、乳酸や酢酸などの有機酸の生成や pH の低下が主要な水田雑草種子の生存に及ぼす影響についても検討した。すなわち、無機酸であるリン酸、良好に発酵した場合にサイレージ内において生成する乳酸およびサイレージ発酵が不良の場合にサイレージ内において生成する酢酸による pH の低下が雑草種子の生存に及ぼす影響を検討し、ついで実際のサイレージ内は、複数の乳酸、酢酸などの有機酸が混在していることから、良好に発酵したサイレージと同程度の有機酸濃度での影響を明らかにするため、0.15% の酢酸を添加した 0.15 M 乳酸緩衝液による pH の低下が雑草種子の生存に及ぼす影響を検討した。ここでは、それらの結果を報告する。

材料および方法

1. 供試種子および生死判定法

いずれの実験も、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 (以下、農研機構) 九州沖縄農業研究センター (福岡県筑後市、東経 130.49°, 北緯 33.21°, 標高 9 m) の場内水田および近接水田から採取し、風乾後に実験開始まで冷蔵で貯蔵したヒメタイヌビエ (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. var. *formosensis* Ohwi), アメリカセンダングサ (*Bidens frondosa* L.), タカサブロウ (*Eclipta prostrata* (L.) L.), イヌホタルイ (*Schoenoplectus juncooides* (Roxb.) Palla), タマガヤツリ (*Cyperus difformis* L.), コナギ (*Monochoria vaginalis* (Burm. f.) Presl var. *plantaginea* (Roxb.) Solms-Laub.) およびクサネム (*Aeschynomene indica* L.) の種子を供試した。タマガヤツリおよびクサネムを除く雑草種子の生死は、押しつぶし法、発芽法および胚の TTC 染色法によって判定した (住吉ら 2011)。タマガヤツリ

については、種子の大きさが小さく、胚の TTC 染色法による生死判定が困難なため、発芽法による生死判定の後、種子を約 4 週間乾燥させ、再度発芽法による生死判定を実施、その後約 4 週間低温貯蔵させ、再度発芽法による生死判定を実施した。それでも発芽しなかった種子を死亡種子と判定した。クサネムについては、発芽法により発芽した種子は非硬実の生存種子、吸水して膨潤しても発芽しない種子は非硬実の死亡種子と判定した。吸水せずに膨潤しない未発芽種子は種皮に傷を付け、再度発芽法により発芽した種子は硬実の生存種子、吸水して膨潤しても発芽しない種子は硬実の死亡種子と判定した。なお、発芽法では発芽後、種子根が順調に伸長した種子を生存種子と判定した。

2. 実験 1: 稲発酵粗飼料中に混入した主要水田雑草種子の生存に及ぼすサイレージ発酵の影響

1) パウチサイロ: 2004 年 10 月 12 日に地際から約 10 cm の高さで刈り取り、10~20 cm に細断した黄熟期のイネ (品種: ニシアオバ) をプラスチックバッグ (商品名: 旭化成パックス (株) 製 飛竜 KN-210, 内寸: 18 cm × 28.5 cm) に 100 g 充填し、中心部に 2004 年秋に採取 (アメリカセンダングサのみ 2003 年秋に採取) したヒメタイヌビエ, アメリカセンダングサ, タカサブロウ, イヌホタルイ, タマガヤツリ, コナギおよびクサネム種子が草種ごとに別々に 100 粒 (クサネムのみ 50 粒) 入った化学繊維製メッシュ袋 (内寸: 約 9 cm × 約 19 cm, メッシュサイズ: 目開き約 0.1 mm) をいずれか 1 つ混入し、バキュームシーラー (シャープ (株) 製 SQ-202) を用いて真空密封した。その後、屋内でサイレージ発酵させ、36 日、93 日および 184 日後に開封し、雑草種子の生死およびサイレージ内の pH を調査した。反復は 3 とした。

2) ドラム缶サイロ: 2005 年 10 月 20 日にフレール型専用収穫機によって地際から約 10 cm の高さで刈り取り、10~20 cm に細断した黄熟期のイネ (品種: タチアオバ) を 60 リットル容ポリエチレン製ドラム缶 (オープントップタイプ, 商品名: コダマ樹脂工業 (株) 製 パワードラム POM-60) に可能な限り高密度に充填し、サイレージの中心部に 2005 年秋に採取したヒメタイヌビエ, アメリカセンダングサ, イヌホタルイおよびクサネム種子が草種ごとに別々に 30 粒入った化学繊維製メッシュ袋を 1 種につき 3 つずつ混入して密封した。その後、屋内でサイレージ発酵させ、32 日、95 日および 186 日後に開封し、雑草種子の生死を判定した。また、32 日後にサイレージ内の pH, 揮発性塩基態窒素 (VBN), 有機酸濃度および全窒素 (T-N) 比を調査し、これらの値から稲発酵粗飼料の発酵品質の評価基準として推奨される V-スコア法を用いて、V-スコア値を算出した (自給飼料利用研究会 2009)。なお、使用したドラム缶は発酵期間ごとに 1 つとしたため、統計解析は行わなかった。

両サイロとも、サイレージの化学分析は、水抽出液を用い

て、pH はガラス複合電極 pH メータ、VBN は微量拡散法（自給飼料利用研究会 2009）、有機酸濃度は BTB ポストラベル法（自給飼料利用研究会 2009）、T-N は CN コーダーによって調査した。

3. 実験 2：異なる種類および pH の緩衝液への浸漬が主要な水田雑草種子の生存に及ぼす影響

2006 年 10 月 16 日に 2005 年秋に採取したヒメタイヌビエ、アメリカセンダングサ、タカサブロウ、イヌホタルイ、コナギおよびクサネム種子が草種ごとに別々に入った化学繊維製メッシュ袋を pH 5.00、6.00、7.00 に調整した 0.5 M 酢酸緩衝液、0.1 M 乳酸緩衝液（pH 7.00 は乳酸緩衝液で緩衝作用が得られる pH 範囲外のため試験なし）、0.3 M リン酸緩衝液および蒸留水が 20 ml 入った真空包装用規格袋中にいずれか 1 つ封入し、バキュームシーラーを用いて、真空密封した。真空の際に緩衝液の一部が空気と一緒に吸引されたが、種子は残った緩衝液に十分に浸漬されていた。その後、15°C 暗条件で保存、34 日後に生死を調査した。供試種子数は 30 粒（クサネムのみ 60 粒）、反復は 3 とした。

4. 実験 3：緩衝液への酢酸の添加がヒメタイヌビエ、アメリカセンダングサ、コナギおよびクサネム種子の生存に及ぼす影響

2007 年 1 月 23 日に 2006 年秋に採取したヒメタイヌビエ、アメリカセンダングサ、コナギおよびクサネム種子が草種ごとに別々に入った化学繊維製メッシュ袋を pH 4.00、4.70 に調整した 0.15% の酢酸を添加した 0.15 M 乳酸緩衝液が 20 ml 入った真空包装用規格袋中にいずれか 1 つ封入し、バキュームシーラーを用いて、真空密封した。真空の際に緩衝液の一部が空気と一緒に吸引されたが、種子は残った緩衝液に十分に浸漬されていた。その後、15°C 暗条件で保存、35 日後に生死を調査した。比較のため、pH 4.00、4.70 に調整した 0.15 M 乳酸緩衝液、pH 4.00、5.00 に調整した 0.02 M 酢酸緩衝液、0.10 M 酢酸緩衝液および蒸留水についても同様の方法で種子を浸漬、保存して、生死を調査した。なお、本実験では、稲発酵粗飼料の発酵品質を評価する指標として推奨されている V-スコア法では発酵品質に全く影響しないサイレージ中の酢酸濃度を 0.2% 以下としているため（自給飼料利用研究会 2009）、酢酸の濃度を 0.15% とした。供試種子数は 30 粒（クサネムのみ 50 粒）、反復は 3 とした。

5. 統計解析

生存率のデータはアークサイン変換した後、統計処理ソフト（SAS Add-In 4.3 for Microsoft Office, SAS Institute Japan）を用いて、実験 1 では草種ごとにサイレージ発酵期間、実験 2 および実験 3 では各草種の緩衝液ごとに pH を因子とする一元配置分散分析を行った。主効果が 5% 水準で有意である場合は、Tukey 法（ $p < 0.05$ ）により平均値の多重比較を行った。

結 果

実験 1：1) パウチサイロ：稲発酵粗飼料の水分含量は、58.3% と低水分サイレージであった。発酵品質は、サイレージ発酵期間 36 日で pH 5.8、93 日で pH 5.4、184 日で pH 4.9 と順調に発酵していった。分散分析の結果、種子の生存に対して、すべての草種において、5% 水準でサイレージ発酵期間の効果が認められた。種子の生存率が 5% 以下となったサイレージ発酵期間は、ヒメタイヌビエ、タカサブロウおよびイヌホタルイでは 184 日、アメリカセンダングサ、タマガヤツリおよびコナギでは 93 日であった（第 1 図）。一方、クサネム種子は、サイレージ発酵期間が長くなるにしたがって死滅は進行したが、その死滅効果は十分ではなかった（第 1 図）。184 日間サイレージ発酵させたクサネム種子の硬実、非硬実の割合は、硬実が 83.7%、非硬実が 16.3% であり、硬実で生存していた種子の割合は 99.6%、非硬実で生存していた種子の割合は 2.0% であった（第 1 表）。

2) ドラム缶サイロ：稲発酵粗飼料の水分含量は、52.8% と低水分サイレージであった。また、パウチサイロと比べて pH の低下が速く、発酵品質は、サイレージ発酵期間 32 日で pH 3.81、乳酸濃度 1.14%、酢酸濃度とプロピオン酸濃度の合計値 0.15%、酪酸濃度 0.03% となり、V-スコアが 95 点と極めて良好に発酵していた。発酵 32 日で十分良好な発酵状態となっていたため、その後の発酵品質は調査しなかった。混入したヒメタイヌビエ種子は、32 日の開封では 11%、95 日の開封では 7% の種子が生存していたが、186 日の開封ではすべて死滅していた。また、アメリカセンダングサおよびイヌホタルイの種子は、ヒメタイヌビエ種子より早く死滅が進行し、95 日ですべて死滅した。一方、クサネム種子は、サイレージ発酵によって死滅する種子はほとんどなかった（第 2 図）。

実験 2：分散分析の結果、種子の生存に対して、ヒメタイヌビエ種子では 0.5 M 酢酸緩衝液、アメリカセンダングサおよびタカサブロウ種子は 0.5 M 酢酸緩衝液および 0.1 M 乳酸緩衝液、イヌホタルイ、コナギおよび非硬実のクサネム種子ではすべての緩衝液において 5% 水準で pH の影響が認められた。一方、硬実のクサネム種子ではすべての緩衝液において pH の影響が認められなかった。ヒメタイヌビエ種子は、0.5 M 酢酸緩衝液の浸漬では pH の低下にしたがって死滅が進行し、pH 5.00 ですべての種子が死滅した。0.1 M 乳酸緩衝液および 0.3 M リン酸緩衝液の浸漬では、蒸留水への浸漬による生存率との間に有意な差は認められなかった。アメリカセンダングサおよびタカサブロウ種子は、0.5 M 酢酸緩衝液の浸漬では pH の低下にしたがって死滅が進行し、pH 5.00 ではすべての種子が死滅した。0.1 M 乳酸緩衝液の浸漬では pH の低下にしたがって死滅は進行したが、その死滅効果は

第1図 パウチサイロにおけるサイレージ発酵が水田雑草種子の死滅に与える影響

● 生存率, ○ pH

1) エラーバーは標準誤差を示す。

2) 分散分析の結果、主効果が5%水準で有意である場合は、Tukey 法による平均値の多重比較を行い、同一アルファベットは生存率の間に5%水準で有意な差がないことを示す。

第1表 クサネム種子の種皮の状態とサイレージ発酵が種子の生存に及ぼす影響

種皮の状態	比率 (%)	生存率 (%)
硬実	83.7 ± 6.0	99.6 ± 0.5
非硬実	16.3 ± 6.0	2.0 ± 1.4

1) 平均値±標準誤差で示す。

2) 室内で184日間サイレージ発酵させた。

十分ではなかった。0.3 M リン酸緩衝液の浸漬では、蒸留水への浸漬による生存率との間に有意な差は認められなかった。イヌホタルイ種子は、0.5 M 酢酸緩衝液の浸漬では pH

の低下にしたがって死滅が進行し、pH 5.00 ではすべての種子が死滅した。0.1 M 乳酸緩衝液および 0.3 M リン酸緩衝液の浸漬では pH の低下にしたがって死滅は進行したが、その死滅効果は十分ではなかった。コナギ種子は、緩衝液の種類によらず pH の低下によって死滅が進行し、pH 5.00 でほとんどの種子が死滅した（第2表）。

クサネム種子は、試験開始まで風乾で約1年経過した種子を供試したため、約3~4割の種子が非硬実であった。非硬実のクサネム種子は緩衝液の種類によらず pH 7.00 ですべて死滅した。硬実のクサネム種子はいずれの緩衝液への浸漬でも蒸留水への浸漬による生存率との間に有意な差は認められなかった（第2表）。なお、乳酸緩衝液およびリン酸緩衝液

第2図 ドラム缶サイロにおけるサイレージ発酵が水田雑草種子の死滅に与える影響

1) サイレージ発酵32日のイネ WCS は、pH 3.81、乳酸濃度 1.14% FM、酢酸濃度とプロピオン酸濃度の合計値 0.15% FM、酪酸濃度 0.03% FM、V-SCORE：94点と極めて良好なサイレージであった。

2) エラーバーは、ドラム缶内のメッシュ袋間の標準偏差を示す。

第2表 異なる緩衝液への浸漬と pH が水田雑草種子の生存に与える影響

草種	pH	生存率（％）		
		0.5 M 酢酸緩衝液	0.1 M 乳酸緩衝液	0.3 M リン酸緩衝液
ヒメタイヌビエ				
	蒸留水	90.0 a	90.0	90.0
	7.00	91.1 a	—	93.3
	6.00	60.5 b	94.4	88.1
	5.00	0.0 c	80.0	87.7
アメリカセンダングサ				
	蒸留水	97.8 a	97.8 a	97.8
	7.00	91.1 a	—	95.6
	6.00	83.3 a	86.7 b	95.6
	5.00	0.0 b	83.3 b	85.6
タカサブロウ				
	蒸留水	100.0 a	100.0 a	100.0
	7.00	94.4 ab	—	96.7
	6.00	78.9 b	83.3 b	97.7
	5.00	0.0 c	92.2 ab	91.1
イヌホタルイ				
	蒸留水	94.6 a	94.6 a	94.6 a
	7.00	79.1 b	—	86.9 a
	6.00	26.8 c	90.5 ab	91.6 a
	5.00	0.0 d	71.1 b	70.1 b
コナギ				
	蒸留水	92.2 a	92.2 a	92.2 a
	7.00	12.0 b	—	84.7 ab
	6.00	1.1 b	50.8 ab	57.8 b
	5.00	0.0 b	3.6 b	5.3 c
クサネム（非硬実）				
	蒸留水	87.5 a (31.5)	87.5 a (31.5)	87.5 a (31.5)
	7.00	0.0 b (27.2)	—	0.0 b (36.7)
	6.00	0.0 b (32.2)	0.0 b (29.4)	0.0 b (30.0)
	5.00	0.0 b (30.4)	0.0 b (36.1)	0.0 b (40.8)
クサネム（硬実）				
	蒸留水	100.0	100.0	100.0
	7.00	100.0	—	100.0
	6.00	99.9	100.0	100.0
	5.00	98.5	100.0	100.0

1) —は試験なし。

2) 分散分析の結果、主効果が5%水準で有意である場合は、各草種の緩衝液ごとに Tukey 法による平均値の多重比較を行い、同一アルファベットは生存率の間に5%水準で有意な差がないことを示す。

3) クサネム (非硬実) の括弧内の値は、供試種子に占める非硬実種子の割合を示す。

に浸漬した非硬実のクサネム種子の一部は、発芽はするもののその後種子根が伸長しない種子が見られた。これら種子は死滅種子と判定した。

実験3：クサネム種子は、採種してから試験までの期間が短いため、ほとんどが硬実種子であったので、硬実種子の結果のみ示す。分散分析の結果、種子の生存に対して、ヒメタ

イヌビエ種子では0.10 M 酢酸緩衝液、アメリカセンダングサ種子では0.02 M 酢酸緩衝液を除くすべての緩衝液、コナギ種子ではすべての緩衝液において5%水準でpHの影響が認められた。一方、硬実のクサネム種子ではすべての緩衝液においてpHの影響が認められなかった。ヒメタイヌビエ種子は、pH 4.00の0.10 M 酢酸緩衝液への浸漬では、すべての

第3表 酢酸の添加が水田雑草種子の生存に与える影響

草種	pH	生存率（％）			
		0.15 M 乳酸緩衝液 + 0.15％（0.025 M）酢酸	0.15 M 乳酸緩衝液	0.02 M 酢酸緩衝液	0.10 M 酢酸緩衝液
ヒメタイヌビエ					
	蒸留水	66.7	66.7	66.7	66.7 a
	5.00	—	—	67.8	61.1 a
	4.70	58.9	70.0	—	—
	4.00	56.7	61.1	72.7	0.0 b
アメリカセンダングサ					
	蒸留水	97.8 a	97.8 a	97.8	97.8 a
	5.00	—	—	88.9	73.3 b
	4.70	82.2 b	73.3 ab	—	—
	4.00	3.3 c	31.1 b	85.6	2.2 c
コナギ					
	蒸留水	94.4 a	94.4 a	94.4 a	94.4 a
	5.00	—	—	0.0 b	0.0 b
	4.70	0.0 b	0.0 b	—	—
	4.00	0.0 b	0.0 b	0.0 b	0.0 b
クサネム（硬実）					
	蒸留水	100.0	100.0	100.0	100.0
	5.00	—	—	100.0	100.0
	4.70	100.0	100.0	—	—
	4.00	100.0	100.0	100.0	100.0

第2表の脚注を参照。

種子が死滅したが、それ以外の緩衝液の浸漬では、蒸留水への浸漬による生存率との間に有意な差は認められず、乳酸緩衝液に酢酸を添加しても死滅の効果は認められなかった。アメリカセンダングサ種子は、0.10 M 酢酸緩衝液の浸漬では pH の低下にしたがって死滅が進行し、pH 4.00 ではほとんどの種子が死滅した。0.02 M 酢酸緩衝液の浸漬では、蒸留水への浸漬による生存率との間に有意な差は認められなかった。0.15 M 乳酸緩衝液では、pH の低下にしたがって死滅は進行したが、その死滅効果は十分ではなかった。しかし、0.15%の酢酸の添加によってほとんどの種子が死滅した。コナギは、有機酸の種類および濃度と pH の値にかかわらず、緩衝液への浸漬によってすべての種子が死滅した。一方、硬実のクサネム種子はいずれの緩衝液への浸漬でも蒸留水への浸漬による生存率との間に有意な差は認められなかった（第3表）。

考 察

一般にサイレージ発酵にともなう温度上昇は緩やかで、雑草種子の生死に影響するような高温にはならない(高井・佐々木 1969; 馬場ら 1997)。サイレージ発酵によって雑草種子が死滅する要因のひとつとしては、発酵にともない生成する有機酸の関与が指摘されている (Woodward 1940; 高井・佐々

木 1969; 高林ら 1978; 増田ら 1984)。稲発酵粗飼料は、有機酸組成が、酢酸含量が高くなる傾向を示すなど飼料作物サイレージとは異なる。そこで、実験2において乳酸や酢酸などの有機酸や pH の低下が主要な水田雑草種子の生存に及ぼす影響について検討したところ、種子の死滅に及ぼす有機酸の影響は草種によって大きく異なることが明らかになった。コナギ種子では、無機酸であるリン酸や低濃度である 0.02 M 酢酸緩衝液でも pH の低下にしたがって死滅が進行したことから、サイレージ発酵による有機酸の生成ではなく、pH の低下が種子の生存に影響を及ぼすことが示唆された（第2表）。イヌホタルイ種子もリン酸による pH の低下で死滅が進行したが、死滅効果は十分ではなかった。アメリカセンダングサおよびタカサブロウ種子ではサイレージ発酵によるリン酸による pH の低下は種子の生存には影響を及ぼさなかった。また、乳酸の生成とそれにとまう pH の低下による種子の死滅効果も十分ではなく、酢酸の生成とそれにとまう pH の低下が死滅に関与することが示唆された（第2表）。しかし、稲発酵粗飼料の発酵品質を評価する指標として推奨されている V-スコア法では発酵品質に全く影響しないサイレージ中の酢酸濃度とプロピオン酸濃度の合計値を 0.2% 以下としている（自給飼料利用研究会 2009）。実験2で用いた 0.5 M 酢酸緩衝液は、およそ 3% の濃度に相当し、良好な発

酵品質を反映した濃度ではなかった。そこで、実験3において、酢酸濃度が0.2%以下となる0.02 M 酢酸緩衝液および0.15%の酢酸が添加された0.15 M 乳酸緩衝液で検討した。その結果、0.02 M 酢酸緩衝液では酢酸濃度が低いためpHの低下によるアメリカセンダングサ種子の死滅効果は十分ではなかったが、0.15%の酢酸が添加されたpH 4.00の0.15 M 乳酸緩衝液ではほとんどの種子が死滅することを確認した。したがって、アメリカセンダングサ種子のサイレージ内での死滅には、順調なサイレージ発酵にともなう乳酸の生成および発酵品質に悪影響を及ぼさない程度の酢酸の生成が重要であることが示唆された。タカサブロウおよびイヌホタルイは、実験3を実施していないため、実験2において有機酸の生成とpHの低下が種子の死滅に関与することが示唆されたものの、今後さらに検討していく必要がある。ヒメタイヌビエ種子は、0.02 M 酢酸緩衝液および0.15%の酢酸が添加された0.15 M 乳酸緩衝液では死滅しなかった。実験1において他の草種と比較してヒメタイヌビエ種子は死滅の進行が遅かった。実験3の結果からは、ヒメタイヌビエ種子は死滅には、乳酸、発酵品質に悪影響を及ぼさない程度の酢酸の生成とpHの低下以外にも他に要因があり、これらが複合的に作用して、死滅が進行するため、死滅の進行が遅くなった可能性が示唆された。これについても、今後さらに検討していく必要がある。クサネム種子は、濃硫酸の30分以上の浸漬処理によって非硬実となることが知られているが（佐合ら1983）、これはpHの低下が影響したのではなく、濃硫酸の特性である酸化作用により、硬い種皮が傷ついたため、本試験に供試したpHの範囲内での酢酸浸漬処理では、種皮への影響はないと考えられる。したがって、硬実状態にあるクサネム種子は、胚が硬い種皮によって有機酸やpHの影響を受けないためサイレージ発酵では死滅しないと判断された。非硬実のクサネム種子はリン酸緩衝液のpH 7.00でもすべて死滅したことから（第2表）、非硬実となった種子が長期間の吸水により胚が消耗したためと考えられる。

飼料作物サイレージでは、低水分サイレージの場合、わずかな水分含量の変動によって、サイレージ発酵の進行が抑制される場合があるため、多くの雑草種子が生存することが報告されている（Zahnley and Fitch 1941; 高井・佐々木 1969; 高林ら 1978; 増田ら 1984）。今回作成した稲発酵粗飼料はパウチサイレージ、ドラム缶サイレージとも水分含量が60%以下であり、低水分のサイレージであったが、良好にサイレージ発酵が進行し、硬実のクサネムを除き、約90~180日の発酵期間ですべて死滅した。パウチサイロでは有機酸の濃度は測定していないが、pHの低下が緩やかではあるものの進行していることから、非硬実の雑草種子の死滅に必要な濃度の有機酸が生成し、種子が死滅したのと考えられる。実用規模のドラム缶サイレージでは、1反復での結果ではあるが、

発酵32日で乳酸濃度1.14%、酢酸濃度とプロピオン酸濃度の合計値0.15%、pH 3.81となり、非硬実の水田雑草種子を死滅させるには十分な有機酸濃度とpHであったと判断される。生産現場で用いられる機械収穫作業体系で作成される水分含量60%前後の低水分の稲発酵粗飼料は、サイレージの種類、乳酸菌の添加の有無、梱包密度などによりサイレージ発酵の進行が変動することが知られている。小型ロールバールラップサイレージでは、6か月発酵した水分含量60.0~65.1%のサイレージは乳酸濃度0.52~0.81%、酢酸濃度0.28~0.44%、pH 4.3~4.7、発酵品質を示すVスコア値81~93点となったとする報告がある（独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構近畿中国四国農業研究センター 2007）。また、フレール型専用収穫機によるロールバールラップサイレージでは、4か月発酵した水分含量58.7~66.3%のサイレージは乳酸濃度0.35~0.37%、酢酸濃度とプロピオン酸濃度の合計値2.89~4.21%、pH 3.6~4.1、Vスコア値77~86点となったとする報告がある（服部ら 2006）。このように、小型ロールバールラップサイレージやフレール型専用収穫機によるロールバールラップサイレージでも4~6か月のサイレージ発酵で乳酸の生成、発酵品質に影響を与えない程度の酢酸の生成およびpHの低下が認められることから、生産現場においてもサイレージ発酵によってほとんどの非硬実の雑草種子は死滅状態でウシに給与されると判断された。そのため、大量の雑草種子が混入した稲発酵粗飼料が作成された場合、すぐに開封せず、3~6か月の間、十分にサイレージ発酵させた後に開封、給与することが、雑草の発生拡大を防ぐために極めて重要である。また、草地雑草では、サイレージ発酵された生存雑草種子は、その後のウシの消化作用により死滅が促進されることから（Blackshaw and Rode 1991）、水田雑草種子についても同様のことが期待される。

一方、硬実種子のクサネムについては、3~6か月のサイレージ発酵では、ほとんどの種子が生存した状態でウシに給与されると判断された。硬実のクローバー類（*Trifolium* spp.）やウサギアオイ（*Malva parviflora* L.）の種子はウシやヒツジの消化作用による影響を受けないことから（山田・川口 1972; 福田ら 1998; Michael *et al.* 2006）、硬実のクサネム種子についても生存状態で排泄される可能性が極めて高い。したがって、牛ふんの堆肥化の過程でクサネム種子の生存状態がどのような影響を受けるかについて今後検討していく必要があろう。

謝 辞

研究補助として本研究にご協力いただいた農研機構九州沖縄農業研究センター研究支援センター業務第1科および業務第2科（筑後）および同研究センター水田作研究領域雑草防除研究グループの職員の方々に深く感謝する。

引用文献

- 馬場武志・太田剛・大石登志雄 1997. イタリアンライグラスラップサイレージの発酵品質に及ぼす材料草の水分、刈取りステージ及び貯蔵場所・貯蔵期間の影響. 福岡県農業総合試験場報告 16, 117-120.
- Blackshaw, R. E. and L. M. Rode 1991. Effect of ensiling and rumen digestion by cattle on weed seed viability. *Weed Sci.* 39, 104-108.
- 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構近畿中国四国農業研究センター 2007. 「飼料用稲生産技術マニュアル No. 7 飼料用稲の小型ロールベール収穫・調製体系マニュアル」. 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構近畿中国四国農業研究センター, 広島, pp. 21.
- 福田栄紀・吉田雅俊・尾上桐子・松本繁・目黒良平 1998. 牛の第1胃内におけるシロクロバ種子集団の硬実性の状態推移モデル. 日本草地学会誌 43, 398-405.
- 服部育男・佐藤健次・小林良次・只野克紀・上村慶治・小原信孝・伊藤尚勝 2006. フレール型ロールベールで収穫したイネ科飼料作物サイレージの発酵品質. 日本草地学会誌 52, 161-165.
- 一般社団法人日本草地畜産種子協会 2014. 「稲発酵粗飼料生産・給与技術マニュアル(第6版)」. 一般社団法人日本草地畜産種子協会, 東京, pp. 92.
- 自給飼料利用研究会 2009. 「粗飼料の品質評価ガイドブック (三訂版)」. 社団法人日本草地畜産種子協会, 東京.
- 増田泰久・西村光博・小林民意・山野大偉治・中野豊・五斗一郎 1984. サイレージ中に埋蔵された草地雑草エゾノギンギン種子の発芽率. 九州大学農学部学芸雑誌 38, 181-185.
- Michael, P. J., K. J. Steadman, J. A. Plummer and P. Vercoe 2006. Sheep rumen digestion and transmission of weedy *Malva parviflora* seeds. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 46, 1251-1256.
- 西田智子 2002. 飼料畑・草地における外来雑草の侵入—外来雑草の飼料畑・草地への侵入と蔓延. 日本草地学会誌 48, 168-176.
- 小川増弘 2005. 特集稲発酵粗飼料の総合的生産・利用技術体系の開発—はじめに. 農業技術 60, 487-489.
- 佐合隆一・大西茂志・田中文隆 1983. 水田作におけるクサネムの生態と防除. 雑草研究 28, 100-105.
- 住吉正・小荒井晃・川名義明・牛木純・赤坂舞子・渡邊寛明 2011. 水稲作における難防除雑草の埋土種子調査法. 雑草研究 56, 43-52.
- 高林実・窪田哲夫・阿部林 1978. 牛の採食による雑草種子の伝播に関する研究. 農事試験場研究報告 27, 69-91.
- 高井慎二・佐々木泰斗 1969. サイレージの含水率が雑草種子の発芽に及ぼす影響. 東北農業試験場研究速報 10, 35-38.
- 高野信雄・大桃定洋・瀬川敬・土屋忠雄・荒智 1992. サイレージ用ドラム缶サイロの活用と効果 (1). 畜産の研究 46, 1175-1180.
- 田中治・大桃定洋 1995. プラスチックフィルムを用いた小規模サイレージ発酵試験法 (パウチ法) の開発. 日本草地学会誌 41, 55-59.
- 山田豊一・川口俊春 1972. 家畜の排糞による牧草播種 第2報 乳牛に給与された牧草種子の糞中排出と排出種子の発芽および出芽. 日本草地学会誌 23, 8-15.
- Woodward, T. E. 1940. The viability of seeds as affected by the siloing process. *Journal of Dairy Science* 23, 267-271.
- Zahmley, J. W. and J. B. Fitch 1941. Effect of ensiling on the viability of weed seeds. *Journal of the American Society of Agronomy* 33, 816-822.

Seed viability of paddy weeds ensiled by forage rice

Akira Koarai^{★1}, Ikuo Hattori¹, Tomoyuki Suzuki^{1,2},
Tadashi Sumiyoshi¹, Hideki Ohdan¹, Kenzi Sato^{1,3},
Naoki Kato¹ and Kentaro Yasuda^{1,4}

Summary

Paddy weeds may spread through the manure of cattle feeding

- 1 NARO Kyushu Okinawa Agricultural Research Center, 496 Izumi, Chikugo, Fukuoka 833-0041, Japan
koarai@affrc.go.jp (Akira Koarai)
- 2 Present address: Japan International Research Center for Agricultural Sciences, 1-1 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8686, Japan
- 3 Present address: Japan Grassland Agriculture and Forage Seed Association, 8 Kandakonyacho, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0035, Japan
- 4 Present address: Faculty of Bioresource Sciences, Akita Prefectural University, 6 Ohgata, Ohgata, Akita 010-0451, Japan

on forage rice silage that is contaminated by weed seeds. We investigated the seed viability of several different types of paddy weeds ensiled with forage rice. Weed seeds of six species [*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. var. *formosensis* Ohwi, *Bidens frondosa* L., *Eclipta prostrata* (L.) L., *Schoenoplectus juncooides* (Roxb.) Palla, *Cyperus difformis* L. and *Monochoria vaginalis* (Burm. f.) Presl var. *plantaginea* (Roxb.) Solms-Laub.] mixed in forage rice died completely as a result of ensiling for approximately 90-180 days. However, the viability of *Aeschynomene indica* L. seeds, which have a hard coat, was not compromised even after ensiling them for approximately 180 days.

Therefore, when forage rice silage is contaminated with *A. indica* L. seeds, there is an increased risk of the excretion of germinable seeds in cattle manure.

Keywords: ensiling, forage rice, hard seed, paddy weed, seed viability