

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23380043

研究課題名(和文)低フィチンダイズの環境適応性の解析とリン資源有効利用技術の開発

研究課題名(英文)Adaptation to environment of low-phytic acid soybean, and development of techniques for effective utilization of phosphorus resource

研究代表者

実岡 寛文(SANEOKA, HIROFUMI)

広島大学・生物圏科学研究科・教授

研究者番号：70162518

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円、(間接経費) 3,720,000円

研究成果の概要(和文)：家畜用飼料原料の穀類には有機態リン酸化合物のフィチン酸(フィチン態リン酸)が大量に含まれている。フィチン酸は、豚や鶏などの単胃動物では、消化吸収されないため、リン酸の多くが糞として排泄されている一方で、不足するリン酸を補うために飼料に無機リン酸が添加されている。しかし、原料のリン鉱石は、有限な資源であり枯渇の恐れがある。そこで、本研究では、飼料原料として使われているダイズに着目し、全リン酸は変えずにフィチン酸のみを低減し家畜に吸収されやすい無機リン酸を高めた低フィチンダイズを育成し、その低フィチンダイズの環境適応性と、それが環境汚染の軽減とリン酸資源の有効活用に应用できるかどうか検討した。

研究成果の概要(英文)：Phytic acid (myo-inositol hexakis dihydrogen phosphate; IP6; Phytate) is the main storage form of phosphorus (P) in cereals, which used for feedstuffs to livestock. However, P form IP6 is not available to non-ruminant animals such as pigs and poultries as they lack effective endogenous enzymes for the hydrolysis of IP6. As a result of the poor bioavailability of P, non-ruminant animals excrete a major fraction of seed P they consume and the resulting animal waste P can contribute to water pollution. And, to make up for the deficiency of P, inorganic-P derived from finite phosphate rock reserves is added to feedstuffs. In order to solve the problems associated with phytate, in this study, low-phytate soybean genotypes which reduced the amount of phytate and increase available P in the seed was breeding. The low-phytate soybean was investigated whether effective to reduce P excretion by non-ruminant animals for establishing a technique of leading to savings of phosphate resources.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・植物栄養学・土壌学

キーワード：フィチン酸 ダイズ 鶏糞 リン酸 リン酸資源 環境適応性 環境汚染防止

## 1. 研究開始当初の背景

ダイズなどの穀類には有機態リン化合物であるフィチン酸が多く含まれている。しかし、豚や鶏などの単胃動物では飼料(エサ)に含まれるフィチン酸は消化・吸収できない。例えば、豚で見ると、エサ中に含まれているダイズの全リン酸の内、わずか30%程度しか吸収できていない。このように、家畜のエサに含まれる植物性飼料原料のリン酸の多くが糞とともに排泄されている。その結果、豚糞や鶏糞を大量に農地へ施用すると農耕地にリン酸が蓄積するとともに、雨水などの表面流水が原因で農耕地から河川等へ大量のリン酸が流れ込み、環境負荷の原因の一つともなっている。

一方で、フィチン酸に Fe、Zn などの陽イオンの微量元素が結合するとフィチンという難溶性のキレート化合物を形成する。この結果、フィチンに結合した Fe、Zn は吸収できなくなり、そのためにフィチンは抗栄養成分として知られている。アフリカや中南米など穀類を多く消費する国々で Fe や Zn などの微量元素の不足が見られるが、その原因の一つとしてフィチンが考えられている。

リン酸は動物にとって骨の形成やエネルギー代謝などに必須な元素である。穀類に多くのフィチン酸が含まれているために、エサから摂取できるリン酸はほとんど期待できない。そのため、不足するリン酸を補うために、無機リン酸をエサに添加している。しかし、原料のリン鉱石は枯渇することが予想されている。

そこで、植物性飼料原料に含まれているリン酸を家畜が吸収しやすい形態に変え、それを家畜のエサとして利用すれば、エサに含まれているリン酸が利用されやすくなると考えられる。その結果、これまでエサに添加している無機リン酸の使用量を減らすことができる。そのため、リン酸資源の節約につながると同時に、家畜から排泄される糞に含まれるリン酸を減らすことができるので農耕地へのリン酸の過剰蓄積と同時に、リン酸による環境負荷を低減することができると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究では、フィチン酸に関わる問題を解決することを目的に、申請者が育成したフィチン酸の低いダイズについて、1) 筆者がこれまで育成してきた系統の中から、収量性が高く、安定した生産性を持つ系統を選抜することを目的に、低フィチン系統の生産性および環境適応性が高フィチン系統に比べて差が見られないかどうかを検討した。また、2) 低フィチン系統で鶏用の飼料を作り、低フィチン飼料が鶏の成長や生理機能に、また、鶏によるリン酸の利用率および排泄量のどのような影響を及ぼすかを検討した。さらに、3) 低フィチン飼料で飼育した鶏から排泄された鶏糞を野菜栽培で施用し、作物の生産性

にどのような影響を及ぼすかを明らかにした。

## 3. 研究の方法

### (1) 材料(低フィチンダイズ)

低フィチンダイズの親株は、アメリカ合衆国 Victor Raboy 博士から提供していただいた。このダイズはエチルメタンスルホン酸(EMS)処理で誘発した突然変異体の中から選抜したものである。2004年に広島大学で、この変異体を花粉親とし、それに日本の普通栽培品種(母親)とを交配し得られた F1 系統を 2005 年から 2013 年に栽培し、系統選抜したものである。

### (2) 低フィチンダイズの選抜と環境適応性

広島大学内の精密実験圃場に、畦幅 70cm × 株間 10cm、1 株 1 本立ち(栽植密度  $m^2$  当たり 14.3 個体)で低フィチン 6 系統、その同質遺伝系統の高フィチン系統および対照品種として普通栽培品種を栽培した。開花期に、主茎長、節数、子実、茎、葉、根、根粒重などを測定し生区特性、収量および収量構成要素などの生育特を明らかにした。さらに、リン酸施肥量を変えた条件(ha 当たり 50、150、300kgP<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)で栽培した。開花期、子実肥大期、収穫期などの生育期ごとに生育特性、収量および収量構成要素の調査を行った。また、各時期にアセチレン還元法による窒素固定、窒素およびリン酸、フィチン態リン酸の集積を測定した。

### (3) 低フィチンダイズでできた飼料の鶏の生理機能とリン酸排泄に及ぼす影響

基礎飼料(トウモロコシ・魚粉二種混合飼料(日本農産工業))に高および低フィチンダイズおよび高フィチンダイズ(対照区)を 30%混合した飼料を用い、生後 7 日齢のブロイラーおよび産卵鶏を供試鶏として用い飼養した。給与期間、定期的に鶏の生体重、血漿中の Pi 濃度を測定および卵殻強度を測定した。さらに、鶏糞を経時的に採取し、乾燥重と鶏糞中の全リン酸濃度を測定した。

さらに、低フィチンダイズ飼料および高フィチンダイズ飼料で飼養した産卵鶏の乾燥糞を ha 当たり 500、1000、2000kg、ノウバイエルポット(1/10000a)に施用した後、コマツナを栽培し、播種後 30 日目にサンプリングを行い、地上部重とリン酸濃度を測定した。

## 4. 研究成果

### (1) 低フィチンダイズの選抜と環境適応性

平成 22 年度~24 年度の 3 年間、広島大学精密実験圃場で選抜してきた低フィチン 6 系統および高フィチン 2 系統、普通栽培品種 2 品種を栽培し、各系統の生産性と環境適応性を調査し、低フィチンダイズの選抜を行った。

その結果、両系統の発芽率および初期生育には差は無かった。収穫期の全リン酸(全 P)に対するフィチン態リン酸(Phy-P)の割合

が約 30%で、かつ、その収量も普通栽培品種や高フィチン系統 (Phy-P/全 P=80%) と変わらない 300~350kg/10a の収量性を持つ低フィチン系統が得られた。また、低フィチン系統の粗タンパク質、粗脂肪、粗灰分、ミネラル濃度などの飼料成分にも差がなかった。

一方、ha 当たり 50、150、300kgP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> の施肥条件で栽培し生育特性および収量調査などを行った。その結果、開花期において一単位当たり分枝数は、リン酸施肥による差は見られなかったが、高フィチン系統に比べて低フィチン系統で分枝数がわずかに多かった。個体全乾物重は、リン酸施肥量に伴って増加したが、いずれのリン酸施肥区でも両系統の差は見られなかった (図 1)。

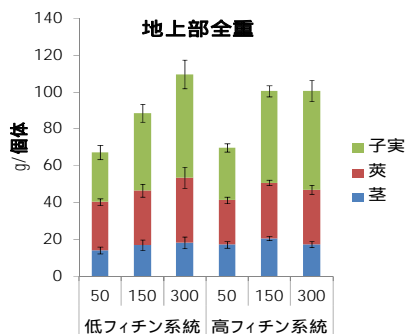


図 1. リン酸施肥が地上部重に及ぼす影響

葉の光合成速度は両系統間で差は無かった。個体当たりの窒素固定能は、リン酸施肥量の増加に伴って増加し、さらに、個体当たりの窒素固定能は、高フィチン系統に比べて低フィチン系統で高かった。

収穫期の子実重は、高フィチン系統および低フィチン系統ともに P 施肥の増加に伴って増加したが、系統間で差はなかった (図 2)。

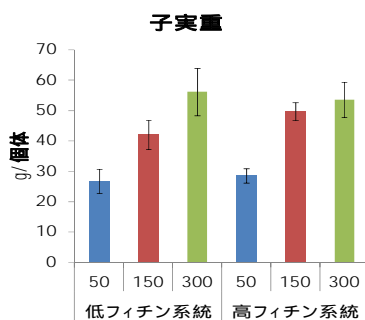


図 2. 収穫期の子実重

子実の全 P 濃度は高フィチン系統でそれぞれ 4.41、7.62、8.85mg/g、低フィチン系統で 4.69、7.18、8.97mg/g で差はなかった。それに対して、Phy-P 濃度は高フィチン系統でそれぞれ 4.15、5.51、6.44mg/g、低フィチン系統で 2.01、2.32、2.32mg/g、無機リン酸 (Pi) 濃度は高フィチン系統でそれぞれ 0.48、0.51、0.62mg/g、低フィチン系統で 2.65、3.64、

4.84mg/g であり、両系統で大きな差が見られた。両系統とも P 施肥量の増加に伴って全 P 濃度が増加した。Phy-P 濃度は高フィチン系統では P 施肥に伴って増加したが、低フィチン系統では増加しなかった。全リンに対する Phy-P の割合は、低フィチン系統では 26~43%、高フィチン系統では 73~90%であった (図 3)。

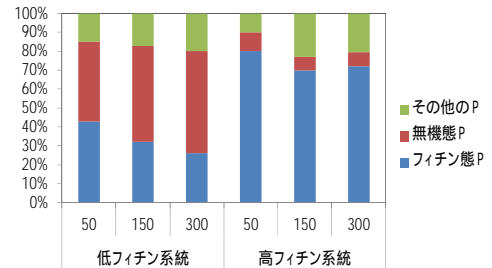


図 3. 種子中の全 P に対するフィチン態 P の割合

以上の結果、低フィチン系統は Phy-P 濃度が低くなったものの、逆に Pi が集積する以外は高フィチン系統と子実成分および収量性、生理的特性に違いはなかったことから、ダイズの子実のフィチン酸を減少させても、環境適応性および収量性に支障はないと推察された。

#### (2) 低フィチンダイズ飼料の鶏の生理機能とリン酸排泄に及ぼす影響

産卵鶏・ブロイラーのいずれにおいても低フィチン区で 14・21 日齢の体重が重く、特に産卵鶏では低フィチン区で 2~3 週齢間の増体重量が有意に高く、増体に効果があった。飼料摂取量は、ブロイラーでは低フィチン区において 14~21 日齢で有意に多かったが、産卵鶏では有意差がなかった。また、血漿中 Pi 濃度が低フィチン区で有意に高く、飼料中リン酸の吸収率が高いと考えられた (図 4 左)。さらに、産卵鶏では低フィチン区で卵殻強度が上昇するのが認められた。

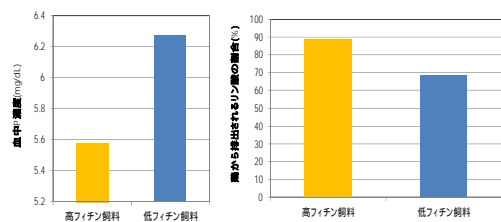


図 4. 産卵鶏の血中 P 濃度 (左) と鶏から排泄されるリンの割合 (右)

鶏から排泄されるリン酸の割合は、低フィチン飼料区では高フィチン飼料区に比べて 20%程度低かった (図 4 右)。

乾燥鶏糞を使ってコマツナの栽培試験を行った結果、コマツナの生育は、いずれの鶏糞施用区においても低フィチン飼料区で

ずかに高かった(図5)。

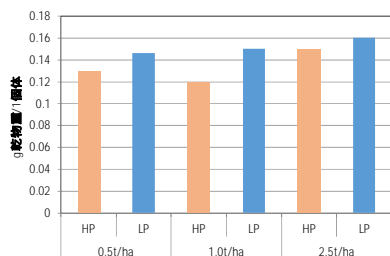


図5 高フィチン飼料区(HP)および低フィチン飼料区(LP)で飼養した産卵鶏から排泄された鶏糞がコマツナの生育に及ぼす影響(乾燥鶏糞を使用)

【考察】以上の結果、低フィチン系統の生産性および環境適応性は、高フィチン系統と大きな差はなかった。さらに、低フィチンダイズで調製した飼料で飼育した鶏の増体量および血中のP濃度は高く、かつ、鶏から排泄された鶏糞中のPの割合は、高フィチン飼料に比べて低かった。このことから、低フィチン飼料が、鶏の成長を促進し、さらに鶏からのリン酸の排泄量を軽減できると推察された。低フィチン飼料で飼養した鶏の乾燥鶏糞でコマツナを栽培しても生育に差は認められなかった。以上のことから、リン酸資源の有効活用および環境負荷物質の低減に対して低フィチンダイズが有効であることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

上田晃弘・実岡寛文、リン酸資源の枯渇に対応したリン栄養研究 6. 低フィチン穀類の開発とその利用、日本土壤肥料学雑誌、査読有、84、2013、118-124。

福田泰子・細川武志・夏目悠司・二村優次・政岡賢一・立川瑛子・実岡寛文、低フィチンダイズと普通栽培品種エンレイの生育・収量および栄養成分の比較、日本土壤肥料学雑誌、査読有、83、2012、381-388。

〔学会発表〕(計5件)

実岡寛文・松山豪紀・若林幹太・上田晃弘、低フィチンダイズの生育、窒素固定および子実生産に及ぼすリン酸施肥の影響、日本土壤肥料学会 2013 年度大会、2013 年 9 月 11 日~9 月 13 日、名古屋大学、名古屋市熊谷茉莉・若林幹太・上田晃弘・実岡寛文、リン酸施肥量が穀類子実へのフィチン酸の集積に及ぼす影響、日本土壤肥料学会関西支部講演会、2013 年 11 月 28 日~11 月 29 日、KKR 山口あさくら、山口市

谷口祥子・孫茜・小櫃剛人・実岡寛文・前田照夫、高および低フィチン酸ダイズの給与がニワトリヒナの成長に及ぼす影響、関西畜産学会、2013 年 9 月 5 日~9 月 6 日、

滋賀県立大学、熊谷茉莉・柿澤ハルナ・上田晃弘・実岡寛文、種子成熟過程における穀類のフィチン酸および無機リン酸濃度の変動、日本土壤肥料学会 2012 年度大会、2012 年 9 月 4 日~9 月 6 日、鳥取大学、鳥取市  
立川瑛子・上田晃弘・実岡寛文、低フィチンダイズにおけるフィチン酸合成遺伝子のマイクロアレイ解析、日本土壤肥料学会 2011 年度大会、2011 年 8 月 8 日~8 月 10 日、つくば国際会議場、つくば市

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

実岡 寛文 (SANEOKA HIROFUMI)  
広島大学・大学院生物圏科学研究科・教授  
研究者番号：70162518

(2)研究分担者

前田 照夫 (MAEDA TERUO)  
広島大学・大学院生物圏科学研究科・教授  
研究者番号：50144895  
(H24年度より研究分担者)

小櫃 剛人 (OBITSU TAKETO)  
広島大学・大学院生物圏科学研究科・准教授  
研究者番号：30194632