

令和 4 年 5 月 19 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05948

研究課題名(和文)低フィチン穀類によるリン酸資源の有効活用と環境負荷低減

研究課題名(英文)Effective utilization of phosphorus resources and reduction in environmental load by low phytate cereals

研究代表者

実岡 寛文 (SANEOKA, HIROFUMI)

広島大学・統合生命科学研究科(生)・教授

研究者番号：70162518

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文): 穀類に含まれるリン酸(P)の70～90%は有機態リン酸化合物のフィチン酸(フィチン酸, Phytic acid)である。しかし、フィチン酸は、鶏、豚などの単胃動物では吸収・利用できないため、家畜飼料に不足したPを補う目的で、リン鉱石から精製した無機態Pが飼料に添加されている。フィチン酸にFeやZnなどの微量元素がキレート結合したフィチンは、微量元素の吸収を阻害する抗栄養成分の一つである。本研究では、フィチン酸に関わる様々な問題を解決することを目的に、フィチン酸が低く、無機態リン酸含量の高い「ダイズ低フィチン系統」を育成し、リン資源の節約と環境負荷低減について検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

リン酸肥料の原料や家畜飼料へ添加されるリン酸は、リン鉱石が原料である。しかし、リン鉱石は地下資源であるため将来枯渇が危惧されている。リン鉱石は採掘されない日本では外国からの輸入に依存しているため、リン酸資源の有効活用が課題となっている。家畜飼料にリン酸が添加される理由は、豚や鶏などの単胃(非反芻)動物で消化吸収できない有機態リン酸化合物のフィチン酸が、飼料原料の穀類に多く含まれているからである。家畜に吸収されなかったフィチン酸は糞として排泄されている。本研究では、ダイズ低フィチン系統の育成に成功し、この低フィチン系統はリン酸資源の有効活用や環境汚染の低減に有効であることが示唆された。

研究成果の概要(英文): The major portion (70～90%) of phosphorus contained in grains such as soybean is as phytic acid, which is an organic phosphorus compound. Phytic acid cannot be absorbed and used by monogastric animals, such as chickens and pigs, and is excreted into the environment together with feces. Therefore, inorganic phosphorus purified from phosphorus ore is supplemented in livestock feed to address phosphorus deficiency in feed. In addition, phytin, in which trace elements such as Fe and Zn are chelated to phytic acid, is an antinutrient component that inhibits the absorption of trace elements. To solve these various limitations related to phytic acid, in this study, a "low phytic acid soybean line" was developed and its characteristics investigated to evaluate the savings in phosphorus resources and reduction in environmental load.

研究分野：植物栄養学および土壌学

キーワード：低フィチン穀類 ダイズ リン酸資源の削減 環境汚染低減 リン有効活用

## 1. 研究開始当初の背景

我が国では、リン酸(P)肥料の原料であるリン鉱石は、全て海外から輸入している。また、その産出国はアメリカ合衆国、中国など数か国に限られ、かつ、埋蔵量も減少しているため、世界的にリン資源の争奪戦が起こり、その有効活用が重要な課題となっている。

ダイズの種子や穀類に含まれるリン酸の貯蔵形態はフィチン酸(ミオイノシトール六リン酸)である。植物は、その生育過程でリン酸を吸収し葉、茎などの成長に利用するが、種子が成熟する過程でリン酸は子実へ転流し、フィチン酸の合成に使われる。種子成熟期にはフィチン酸の割合は全リン酸の70~90%にも達する。消化器官にフィチン酸を分解する酵素(フィターゼ)を持たない人間、豚、鶏などの単胃(非反芻)動物では、フィチン酸は分解し利用できないため、フィチン酸は糞として排泄されている。一方で、リン酸は動物の生命を維持する重要な養分であるため、リン鉱石から加工・精製した無機リン酸を家畜の飼料へ添加し、不足するリン酸を補っている。

フィチン酸に関わる課題を解決する方法として、フィチン酸を分解できる微生物由来のフィターゼを家畜飼料に添加するなどの方法が動物生産科学領域で試みられている。一方、作物生産学領域では、フィチン酸含量の低い穀類の育成がアメリカ合衆国などを中心に試みられている。本研究の代表者は、交雑育種法を用いフィチン酸の低いダイズの育成を試み、その結果、我が国では、始めてダイズ低フィチン系統の育成に成功し、多くの系統を保有している。これらの系統は、種子の全リン酸量は西日本で栽培されている普通栽培品種とほぼ同量であるが、全リン酸に対するフィチン酸の割合が25~35%と普通栽培品種の70~90%に比べて著しく低い。したがって、これらの低フィチン系統を活用すれば、フィチン酸に関わる課題が解決できるのではと考え、本研究を行うに至った。

## 2. 研究の目的

リン酸は作物の生育に必要な必須元素の一つであり、植物にとって十分でなかった場合は肥料として与えなければならない。特に、リンは、窒素、カリウムと並んで肥料の三要素と言われている。リン酸肥料の原料は、有限なリン鉱石であり、リン酸質肥料原料は入手困難となることが予想されている。そのため、リン酸施肥量の少ない条件などでも生育可能な植物の選抜や育成が重要である。また、土壤に施肥したリン酸は土壤中のカルシウム(Ca)、鉄(Fe)と結合しやすく、難溶性リン酸となり、作物に吸収されにくくなるため、こうした土壤中の難溶性リン酸を獲得・利用する機能の高い作物が、リン酸の有効利用を高める上で重要な要素となると考えられる。そこで、本研究課題では、低リン酸ストレス条件下で低フィチン系統を栽培し、生理生態学的な観点からストレス抵抗性を評価し、ストレスに強い系統の選抜を行う。

フィチン酸は、単胃動物では吸収・利用できないため、豚、鶏に給与される濃厚飼料中のリン酸の多くが糞として環境中に排泄されている。リン酸は、動物の成長にとって重要な養分であることから、濃厚飼料に不足したリン酸を補うためにリン鉱石から精製した無機態リン酸が添加されているが、リン鉱石は将来枯渇が危惧されている。また、フィチン酸のリン酸基にCa、Fe、Znなどの陽イオンがキレート結合した物質がフィチン(Phytin)である。このフィチンは、単胃動物のミネラル利用性を減少させる抗栄養成分の一つとして知られている。研究代表者は、本研究課題を開始する前までに、低フィチン系統と普通栽培品種のダイズで作った濃厚飼料を長期間鶏への給与実験を行って、低フィチン鶏糞と普通鶏糞を保有している。そこで、本研究課題では、保有している両鶏糞の特性と、作物に両鶏糞堆肥を施肥し作物の生育および養分吸収にどのような影響を及ぼすかを明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) 計画1: 2005年度から、毎年圃場条件下で栽培し選抜した「低フィチン系統」について、5月下旬に広島大学精密実験圃場に播種し、10月下旬から11月上旬にかけて収穫し収量調査を行い、安定した収量が得られる低フィチン系統を選抜した。

(2) 計画2: 西日本栽培品種「あきまろ」と低フィチン系統の1系統をペーパーポットに播種し、初生葉が完全に展開した時に、マサ土、ピートモス、パーライトを体積比で1:1:1の割合で混合した培養土を詰めた9Lポットに移植し収穫期まで栽培した。移植前に、培養土にダイズ根粒菌を接種し、さらに、基肥として100 kg K<sub>2</sub>O/ha(硫加)と苦土石灰1500kg/haを施肥した。リン酸は、過リン酸石灰を用いて20 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg/ha(20区)と100 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg/ha(100区)の2処理区を設けた。種子が成熟した収穫適期に収穫し、収量調査と子実の品質を調査した。

(3) 計画3: 低フィチン系統とフィチン態P含量が普通栽培品種と同程度の普通系統の2系統を、リン酸を施肥していないP欠如区で土耕ポット栽培し、根から放出し根圏の有機態リン酸を可溶化できるフィターゼおよびホスファターゼ活性を調査した。

(4) 計画4: 普通栽培品種および低フィチン系統を、赤玉土を入れた6Lポットに栽培した。P処理区は、対照区、低リン区(-P区)、リン酸カルシウム区(P-Ca区)、そしてリン酸鉄区(P-Fe区)の4処理区を設けた。対照区は、過リン酸石灰を5.85g/ポット施肥し、-P区は無施肥

とした。P-Ca 区, P-Fe 区は, 対照区とリン酸施肥量が同じになるように, それぞれリン酸カルシウム, リン酸鉄を施肥した。収穫適期に子実, 茎, 地下部に分け, 熱風乾燥後, 乾物重を測定し, 全リン濃度を測定した。

(5) 計画 5 : 本研究課題を実施する前に保有していた鶏糞を実験に用いた。鶏を飼育した飼料は, 全 P 含量は同じであるが, 全 P に対するフィチン態 P の割合が 30% の低フィチン系統と 80% の普通品種の種子を材料にして作った。この 2 種類の飼料で一定期間飼育した鶏から毎日鶏糞を回収し, 乾燥させたものを実験に用いた。低フィチン系統で作った飼料を与えた鶏の糞を低フィチン鶏糞, 普通品種で作った飼料を与えた鶏の糞を普通鶏糞とする。両鶏糞の全 P 含量はほぼ同じ量であるが, フィチン態の割合は低フィチン鶏糞で 48.7%, 普通鶏糞では 65.8% と低フィチン鶏糞でフィチン酸が低かった。さらに, 作物が吸収・利用しやすい水溶性 P およびク溶性 P (クエン酸で可溶化する P) の全 P 濃度に対する割合は, 低フィチン鶏糞で 64%, 普通鶏糞で 33% であった。この鶏糞を, 赤玉土を充填した 1/1, 0000a ホワイトポットにホウレンソウを, さらに, 赤玉土とバーミキュライトを 1:1 で混合した培養土を充填した 6L ポットにダイズを栽培した。鶏糞は, 1.0 t, 2.0t/ha 施肥した。ホウレンソウには 200 N kg/ha の硫酸を, ダイズには根粒菌を, さらに, 両作物に 100 kg K<sub>2</sub>O/ha (硫加) と苦土石灰 1,500kg/ha を基肥として施肥した。

#### 4. 研究成果

(1) 計画 1 : 広島大学精密実験圃場に, 低フィチン系統 6 系統および西日本栽培品種を 5 月上旬に播種し収穫期に収量調査を行った(図 1)。その結果, 低フィチン系統の子実収量は普通栽培品種と差が見られず, その収量は日本におけるダイズの平均収量と同程度の 300~350kg/10 a であった。



図 1 低フィチン系統の栽培の様子 (場所: 広島大学・精密実験圃場, 2021 年 10 月 8 日撮影)

(2) 計画 2 : 低フィチン系統と西日本栽培品種あきまろを, リン酸施肥量を 20 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg/ha (20 区) と 100 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg/ha (100 区) と変えた土耕ポット栽培を行った。その結果, 両種とも P20 区に比べて P100 区の子実重が高かったが, 低フィチン系統では両 P 処理区でも子実重は高い傾向にあった(表 1)。また, 20 区において低フィチン系統の莢数および 100 粒重とも普通系統に比べて高かった。以上の結果から, 低フィチン系統は低 P 区で高い子実生産を維持できることが示唆された。

表 1 低フィチン系統と西日本栽培品種あきまろと収穫期の収量, 莢数, 100 粒重の比較

品種・系統	処理区	収量	莢数	100粒重
		(g / 個体)	(個/個体)	(g/個体)
低フィチン系統	P20	51.2 <sup>a</sup> ±4.4	74.8 <sup>c</sup> ±2.2	23.7 <sup>a</sup> ±1.2
	P100	85.1 <sup>a</sup> ±4.1	156.3 <sup>a</sup> ±3.4	25.5 <sup>a</sup> ±1.3
あきまろ	P20	43.2 <sup>d</sup> ±4.2	53.0 <sup>c</sup> ±2.1	14.8 <sup>b</sup> ±0.4
	P100	73.9 <sup>c</sup> ±3.6	121.8 <sup>b</sup> ±4.5	16.2 <sup>a</sup> ±0.8

3) 計画 3 : 低フィチン系統と普通系統の種子をリン酸無施肥の条件下で発芽させ, 発芽の様子と発芽の生育状況を観察し, さらに根について, 土壌中の難溶性リン酸を可溶化する酵素のフィターゼ活性およびホスファターゼ活性を調査した。その結果, 低フィチン系統の発芽率は普通系統と大差なく, 種子のフィチン酸含量を減少させても種子の発芽には影響はないことが示唆された。根と地上部の生育を比較した結果, 低フィチン系統では, 低リン条件下で根の生育がわずかに良好であった(図 2)。さらに, 根から抽出したフィターゼおよびホスファターゼの活性は, 低フィチン系統では, 普通系統に比べて低フィチン系統で有意に高かった(図 3)。

以上の結果, 低フィチン系統は, 農耕地の蓄積しているフィチン酸などの有機態リン酸を可溶化し, 利用する機能が高いことが明らかになった。しかし, 根におけるフィターゼおよびホスフ

アターゼの合成や根圏への放出に関わる機構機作については不明であり、今後の課題である。

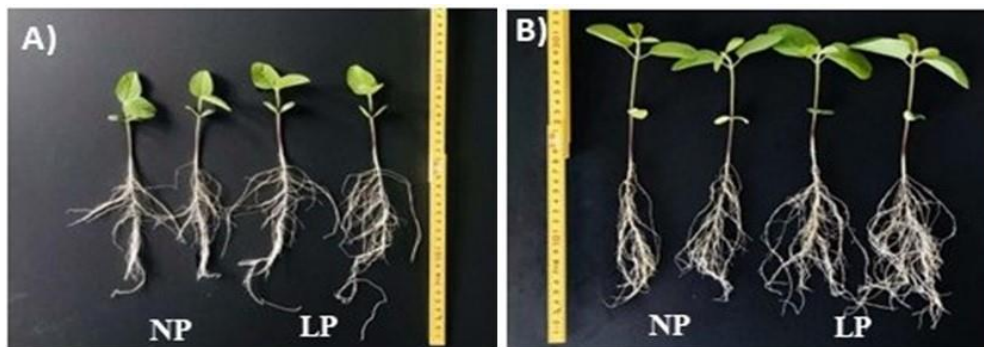


図2 普通系統 (NP) と低フィチン系統 (LP) の発芽後 9 日目(A)と 14 日目(B)の生育状況

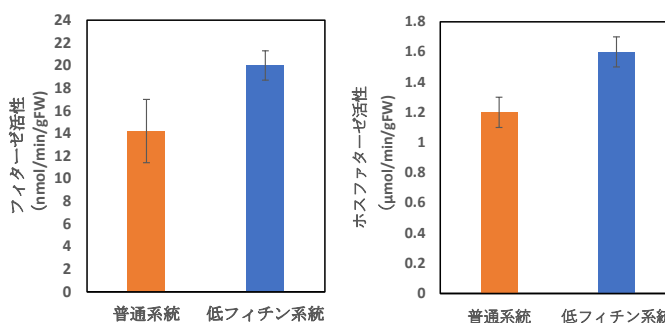


図3 低フィチン系統および普通系統の根のフィターゼおよびホスファターゼ活性

(4) 計画4: 普通栽培品種および低フィチン系統を、Pを十分に施肥した対照区、リン酸施肥量の少ないリン区 (-P区)、リン酸カルシウム (P-Ca区) とリン酸鉄 (P-Fe区) を施肥した条件で栽培し収穫時にサンプリングした。その結果、低フィチン系統では、-P区、P-Ca区、P-Fe区で子実重が高い傾向にあった(図4)。さらに、吸収したPの子実への分配率は、3つの低リン区で、低フィチン系統では82~92%、普通品種では73~81%であった。また、生育初期から収穫までの間リン酸不足や成熟により落下した枯葉へのP分配率は低フィチン系統で2~10%、普通品種で10~14%であった。以上の結果、低フィチン系統では、難溶性リン酸の利用効率が高く、かつ、一度吸収して葉に蓄積したPを分解し、それを子実へ転流させ、再利用する能力が高いことが明らかになった。低フィチン系統が難溶性P施肥条件でも生育が促進される理由として難溶性リン酸を分解するクエン酸やリンゴ酸の有機酸の分泌能力が高いことが推察されたが、根から分泌される物質の同定は今後の課題である。

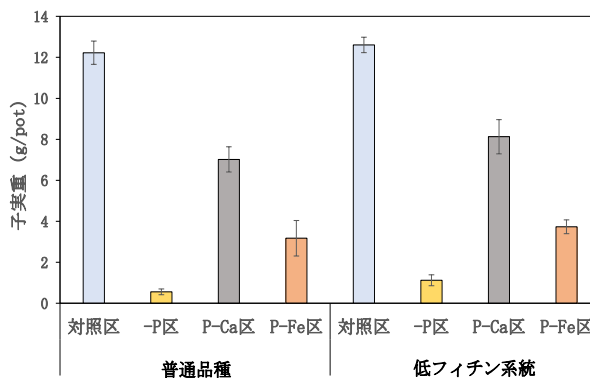


図4 対照区、低P区、P-Ca区、P-Fe区で栽培した低フィチン系統と普通品種の子実重

(5) 計画5: 低フィチン系統と普通品種で作った飼料を与えた鶏から回収した低フィチン鶏糞と普通鶏糞をハウレンソウに施肥し、初期生育を調査した(図5)。その結果、1t施肥区では、茎葉部および根部とも低フィチン鶏糞区が有意に高かった。2t区では普通鶏糞と低フィチン鶏糞区で差はなかった。施肥量による違いを見ると、低フィチン鶏糞の1t区は、2t区および普通鶏糞の1t区、2t区に比べて、最も生育量が高かった。この原因として、低フィチン鶏糞は

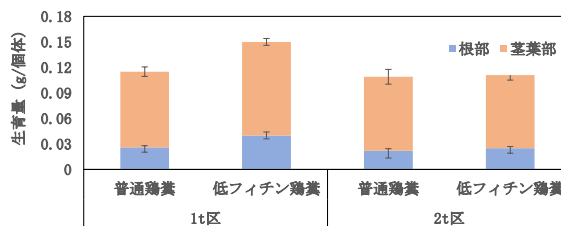


図5 ハウレンソウの初期生育に及ぼす普通鶏糞および低フィチン鶏糞施肥の影響 (品種: オーライ, 播種後 53 日目にサンプリングした。)

作物が吸収・利用しやすい水溶性Pおよびク溶性P濃度が高いため、ハウレンソウにおいてリンの利用効率が上昇し、初期生育へ良好な影響を及ぼすことが示唆された。さらに、1t区において茎葉部のP, K, Ca, Mg含量を比較すると、低フィチン鶏糞区ではそれぞれ0.32, 7.68, 0.91, 2.16 mg/個体、普通鶏糞区ではそれぞれ0.28, 6.41, 0.72, 1.74mg/個体と、いずれの養分とも低フィチン鶏糞区で高かった。

ダイズの栄養成長期の根と根粒の生育、根粒の窒素固定に及ぼす鶏糞施肥の影響を調査した結果、根の生育および根粒重とも低フィチン鶏糞区で高い傾向にあった(図6)。さらに、アセチレン還元法で測定した窒素固定能も低フィチン鶏糞区で高かった。

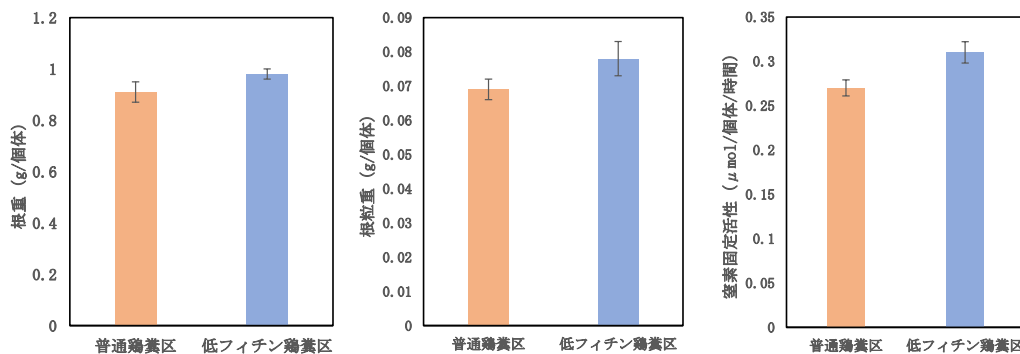


図6 栄養成長期のダイズの根と根粒の生育、窒素固定に及ぼす普通鶏糞および低フィチン鶏糞施肥の影響(鶏糞の施肥量は2t/haとし、基肥で1t、発芽後20日目に1t追肥した。他の養分は慣行施肥量に従った。)

#### (6) 総合考察及び結論

本研究課題において、①西日本において栽培されている市販の普通品種と同程度の安定した生産性が得られるダイズ低フィチン系統を選抜し、さらに、②その中からリン酸施肥量の少ない条件下でも生育が低下しにくい低フィチン系統を選抜した。③低フィチン系統は、フィターゼなど有機態リン酸を分解する酵素が根で高く、かつ、リン酸カルシウム、リン酸鉄などの難溶性リン酸の高い土壌条件下でも生育が良好であることが明らかとなった。さらに、④低フィチン系統で作った濃厚飼料を与えた鶏から得た低フィチン鶏糞で育てた作物は良好な生育を維持できた。以上の結果から、作物が吸収しにくい有機態リン酸や難溶性リン酸などが高い土壌条件下でも生育が維持できる低フィチン系統を利用することによって、土壌へのリン酸施肥量の削減が可能になると考えられる。さらに、低フィチン系統を濃厚飼料の原料とすることで、家畜飼料へのリン酸の添加量の削減が可能となり、かつ、鶏から排泄された鶏糞を利用することによって作物の初期生育が良好に維持されることから、低フィチン系統は、リン酸資源の有効活用や環境へのリン酸の負荷低減に有効であると推察された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 実岡寛文	4. 巻 4
2. 論文標題 フィチン酸含量の低いダイズの開発とリン酸資源の有効活用	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 43-45
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Dong Qin, Saneoka Hirofumi	4. 巻 75
2. 論文標題 Physiological Characteristics, Phytase Activity, and Mineral Bioavailability of a Low-Phytate Soybean Line during Germination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Foods for Human Nutrition	6. 最初と最後の頁 383-389
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11130-020-00827-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Qin Dong, Hara Yoshie, Raboy Victor, Saneoka Hirofumi	4. 巻 75
2. 論文標題 Characteristics and Quality of Japanese Traditional Fermented Soybean (Natto) from a Low-phytate Line	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Foods for Human Nutrition	6. 最初と最後の頁 651-655
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11130-020-00865-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Qin Dong, Kohei Echigo, Victor Raboy, Hirofumi Saneoka	4. 巻 149
2. 論文標題 Seedling growth, physiological characteristics, nitrogen fixation, and root and nodule phytase and phosphatase activity of a low-phytate soybean line	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Physiology and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 225-232
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.plaphy.2020.02.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Nisar Ahmad Taliman, Qin Dong, Kohei Echigo, Victor Raboy, Hirofumi Saneoka	4. 巻 8
2. 論文標題 Effect of Phosphorus Fertilization on the Growth, Photosynthesis, Nitrogen Fixation, Mineral Accumulation, Seed Yield, and Seed Quality of a Soybean Low-Phytate Line	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 plants	6. 最初と最後の頁 119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants8050119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Qin Dong, Toyonaga Daiso, Saneoka Hirofumi	4. 巻 -
2. 論文標題 Characterization of myo-inositol-1-phosphate synthase (MIPS) gene expression and phytic acid accumulation in oat ( <i>Avena sativa</i> ) during seed development	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cereal Research Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s42976-021-00186-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Qin Dong・実岡 寛文
2. 発表標題 Physiological characteristics of low phytate soybean line under low phosphorus condition
3. 学会等名 日本草地学会2020年度静岡大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nisar Ahmad Taliman・鈴木康彦・実岡寛文
2. 発表標題 リン酸施肥および乾燥ストレス処理がダイズ低フィチン系統の生産性および子実品質に及ぼす影響
3. 学会等名 日本草地学会2020年度静岡大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野口義晃・鈴木康彦・秦 東・上田晃弘・実岡寛文
2. 発表標題 低フィチンダイズにおける低リン耐性系統の選抜とその特性
3. 学会等名 日本草地学会広島大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木康彦・実岡寛文
2. 発表標題 開花期以降の乾燥ストレスがダイズの生育と生産性に及ぼす影響
3. 学会等名 日本草地学会広島大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関