

従来鉄肥料を超える PDMA の効果

–トウモロコシにおける鉄栄養改善の優位性–

PDMA is more efficient than conventional iron fertilizers

–The technical superiority of improving iron nutrition in maize–

細田 健介*

Kensuke Hosoda

鈴木 基史*

Motofumi Suzuki

Abstract

Iron is an essential nutrient for plants, but its low solubility in alkaline soils often limits absorption. Synthetic chelating agents are used in agricultural Fe fertilizers; however their suboptimal biodegradability raises environmental concerns. To address this issue, Proline-deoxymugineic acid (PDMA) was developed, inspired by mugineic acids secreted by graminaceous plants. Building on prior evidence that PDMA alleviates iron deficiency in rice, this study investigated its effectiveness in maize. In alkaline soils, Fe(III)-PDMA effectively mitigated iron deficiency, whereas conventional synthetic chelates, such as Fe(III)-EDTA and Fe(III)-HBED, showed low recovery rates. Fe(III)-PDMA also showed superior efficacy in hydroponic cultivation, while conventional synthetic chelates exhibited reduced recovery as their stability increased. Fe(III)-PDMA is absorbed similarly to Fe(III)-mugineic acids, whereas conventional synthetic chelated iron requires displacement before iron can be absorbed via Fe(III)-mugineic acid transporters, a process that becomes increasingly difficult with higher chelate stability. These findings indicate that PDMA is a promising iron fertilizer for graminaceous crops, including maize.

1. はじめに

鉄は、植物にとって不可欠な栄養素であり、葉緑素（クロロフィル）の合成や代謝反応に深く関与している。鉄が不足すると、植物は光合成を行うためのクロロフィルを植物体内で合成できなくなり、新葉が黄色になる鉄欠乏の症状を呈する。鉄は土壤中に豊富に存在するにもかかわらず、中性からアルカリ性の土壌環境では水に溶けにくく、酸化鉄、水酸化鉄、リン酸鉄など、生物が利用しにくい形で存在している。水酸化第二鉄の場合は、pHが1増えると溶解度が約1000分の1となる。このため、特にアルカリ性の土壌では鉄の溶解度が極めて低く、植物の鉄吸収が困難となる。世界の土壌の約30%はアルカリ土壌であり、鉄欠乏が作物生産の阻害要因の一つとなっている。世界の人口は2050年には約

100億人になると予想されており、食糧問題が懸念されている。そのため、アルカリ土壌での鉄欠乏の問題を解決できれば、予想されている食糧不足の解決に貢献できる。植物は鉄を吸収するために、二つの異なる吸収機構を進化させてきた¹⁾ (Fig. 1)。一つは非イネ科植物のStrategy-Iと呼ばれる「2価鉄イオン吸収型」である。根から「根酸」と呼ばれる有機酸を分泌し、土壌中の鉄を溶かす。ただし、溶け出した鉄は3価イオンの状態であり、そのままでは植物が吸収することはできない。そこで、根に存在する鉄還元酵素 (FRO) がこの3価鉄イオンを2価鉄イオンに還元し、吸収可能な形に変える。こうして2価鉄イオンとなった鉄は、IRTと呼ばれる膜輸送タンパク質を通じて植物に取り込まれることができる。二つ目はStrategy-IIと呼ばれる「ムギネ酸-

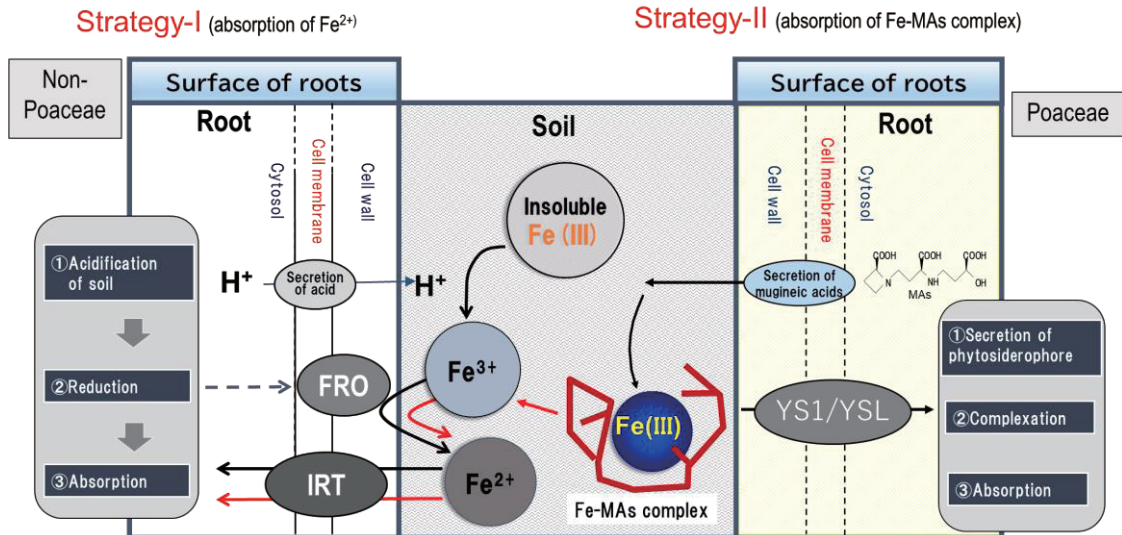


Fig. 1. Strategies of Fe acquisition in plants (Strategy-I and Strategy-II)

鉄吸収機構」であり、イネ科植物に特有の吸収機構である。この吸収機構では「ムギネ酸」と呼ばれる物質が重要な役割を果たす。ムギネ酸は、ムギ等のイネ科植物の根から分泌される 6 配位の鉄キレート化合物で、鉄を包み込むようにして溶かし性質を持つ¹⁾ (「キレート」はギリシャ語で「カニのハサミ」を意味し、金属を囲む分子構造を指す)。イネ科植物は鉄不足を感知すると、根の中でムギネ酸やその類縁体 (以下、「ムギネ酸類」) を合成し、土壌中に分泌する²⁾。ムギネ酸類は難溶性の鉄を溶かして「ムギネ酸類-鉄錯体」を形成し、YS1/YSL トランスポーターと呼ばれる膜輸送タンパク質を通じて根に吸収される。このように、Strategy-I では鉄を 2 価に還元してから吸収するのに対し、Strategy-II では鉄は 3 価のまま吸収するという違いがある。

植物が進化させてきたこのような鉄吸収機構にもかかわらず、植物は生育に十分な鉄分を吸収することができないことがある。「ムギネ酸類-鉄吸収機構」のイネ科植物においては、ムギネ酸類の合成能力と分泌量によって鉄吸収が制限される。イネ科植物の中では、イネ、トウモロコシ、ソルガムはムギネ酸類の分泌能力が低いため、アルカリ土壌

では土壌中の鉄を十分に溶かせず、鉄欠乏になりやすい。一般的には、農業上の鉄欠乏を改善するために、3 価鉄 (Fe III) と錯体化した Fe (III)-EDTA、Fe (III)-EDDHA などの合成キレート鉄が使用されている。これらは一定の効果を示すが、生分解性が低く環境への残留リスクがあり、十分な効果が得られない場合がある。

これらの課題を解決するため、我々はムギネ酸類の誘導体である PDMA (プロリンデオキシムギネ酸) を開発した³⁾ (Fig. 2)。PDMA は生分解性の性質を持つため、環境負荷が少ない。石灰質アルカリ土壌で栽培したイネに Fe (III)-PDMA を施用した結果、鉄欠乏が改善され、従来の合成キレート鉄よりも高い効果を示した。さらに、鉄と錯体を形成していないフリーの PDMA を土壌に投与した場合も、PDMA が土壌中の

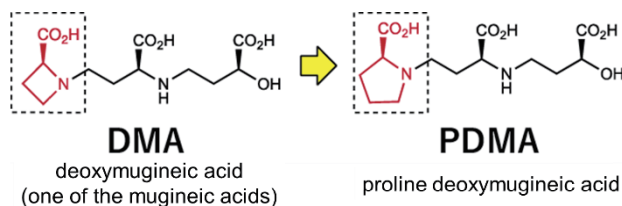


Fig. 2. Structure of DMA and PDMA.

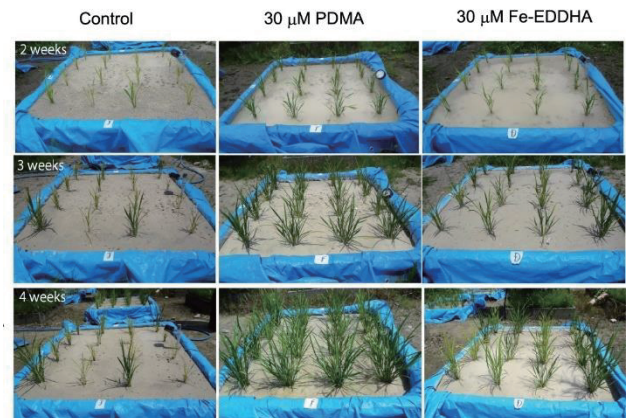


Fig. 3. Efficacy in rice plants of soil applied metal-free PDMA and Fe-EDDHA³⁾.

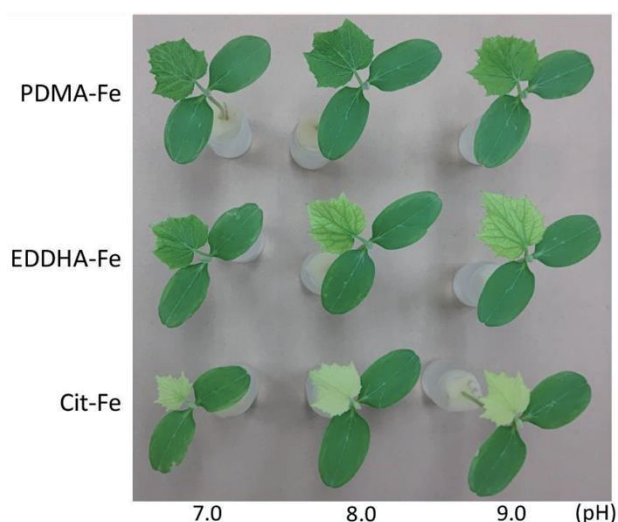


Fig. 4. Efficacy of Fe-PDMA in hydroponically cultured cucumber plants⁵⁾.

Fe(III)と錯体を形成することで、同様の効果を示した (Fig. 3)。

分子レベルの解析では、Fe(III)-PDMAが天然のFe(III)-DMA (ムギネ酸類の1種)と同様に、イネ、トウモロコシ、オオムギのYSLトランスポーターによって輸送されることが証明された³⁾。また、構造解析でも、オオムギのYSLトランスポーターをFe(III)-PDMAが通過する際の構造は天然のFe(III)-DMAと著しく類似していることも判明した⁴⁾。

さらに、PDMAはキュウリ、カボチャ、ピーナッツなどの非イネ科植物においても鉄欠乏の改善に有効であることが報告された^{5) 6)} (Fig. 4)。キュウリではFe(III)-PDMAが根で容易に2価鉄イオンに還元され、Strategy-Iによる2価鉄イオン吸収が促進されている可能性が示された⁵⁾。

以上のように、多くの植物種においてPDMAの鉄肥料としての高い潜在的な有効性が示されてきたが、鉄欠乏に弱いとされるイネ以外のイネ科の穀物では栽培試験がされていなかった。そこで本研究では、アルカリ土壌で栽培されている主要穀物の一つであるトウモロコシを対象に、石灰質アルカリ土壌および水耕栽培におけるPDMAの鉄欠乏改善効果を一般的な鉄肥料である合成キレート鉄と比較した。

本稿は、石川県立大学および徳島大学との共同研究の成果をもとに、2024年8月に国際学術誌 *Soil Science and Plant Nutrition* に掲載された論文⁷⁾ (執筆: 石川県立大学 小林高範教授ら) の一部を和訳し、解説したものである。

2. 試験方法

2. 1 キレート鉄水溶液の調製

PDMAは化学合成されたものを用いた³⁾。

トウモロコシ石灰質アルカリ土壌ポット試験では、PDMAを水に溶解し、0.2mM溶液を調製した。これに等モル量のFeCl₃・6H₂Oを混合し、室温で1時間攪拌してFe(III)をキレート化しFe(III)-PDMAにした。トウモロコシ水耕栽培試験では、PDMAとクエン酸を水に溶解し、0.3mM溶液を調製した。これに等モル量の硫酸鉄(III)と混合し、室温で1時間攪拌してFe(III)-PDMAとFe(III)-citrateにした。合成キレート鉄であるFe(III)-HBED、Fe(III)-EDTA、およびFe(III)-EDDHAは、水に溶解し、それぞれ0.2mM溶液を調製した。

2. 2 石灰質アルカリ土壌ポットにおけるトウモロコシ栽培試験

栽培試験の枠組みをFig. 5に示す。石灰質アルカリ土壌試験(1)では、トウモロコシ(品種:ランチャー82)の種子を水で湿らせたペーパータオル上で、25°Cの暗所で6日間発芽させた。長鉢4号ポットの底に土壌流出防止のため紙を詰め、次に石灰質アルカリ土壌(pH約9)を800gと、窒素・リン酸・カリウム含有緩効性肥料(エコロング313-70)を2g混合して加えた。続いて270mlの水を土壌に加えて飽和状態にし、発芽したトウモロコシの苗を1本/ポットで移植した。トウモロコシのポットは、14時間光/10時間暗、28°C/23°Cのサイクルで人工気象器にて栽培した。ポットには週3回(2~3日ごと)、飽和状態(270mL/800g土壌)になるまで水を供給した。移植後16日目、土壌中の溶液量としてFe(III)-PDMAの濃度が10、30、または90μM、Fe(III)-EDTAの濃度が90μMとなるように灌水した。キレート鉄の葉色改善効果の評価には葉緑素の含量を表すSPAD(Soil & Plant Analyzer Development)値をSPAD計(コニカミノルタ製)で週3回(2~3日ごと)測定した。資材投与16日後に植物を収穫した。

石灰質アルカリ土壌試験(2)では、実験(1)と同様にポットでトウモロコシを栽培したが、以下の変更を加えた。播種後5日目に、苗を石灰質アルカリ土壌に移植した。移植後16日目に、Fe(III)-PDMA、Fe(III)-EDTA、またはFe(III)-HBEDの水溶液を土壌中の溶液量として30μMとなるように灌水した。

2. 3 植物中の鉄濃度分析

収穫した植物について、3~4cmに切断後、70°Cで2~3日

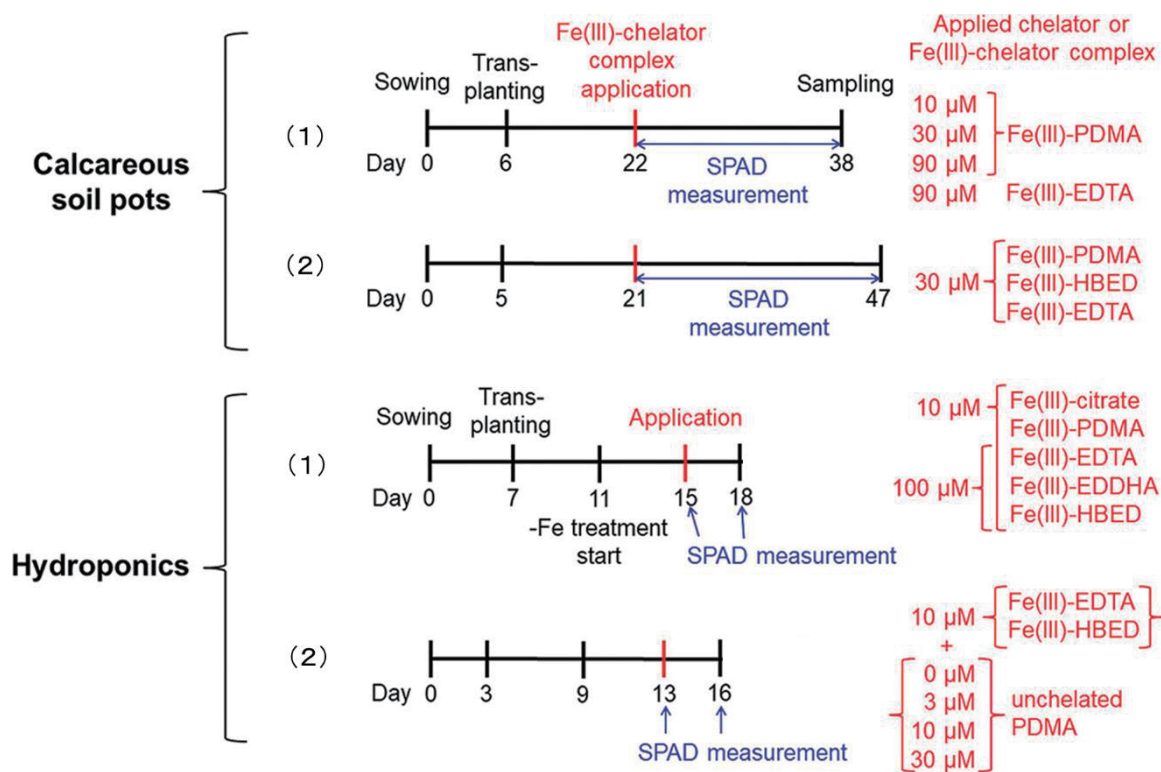


Fig. 5. Experimental frameworks of maize cultures (partially modified from ⁷⁾).

間乾燥させた。100~200mgの試料を、13.4M HNO₃ 2.0mLおよび8.8M H₂O₂ 2.0mLを用いて230°Cで20分間加熱し、有機物を酸化分解して除去した。鉄濃度は誘導結合プラズマ発光分光分析法(5800 ICP-OES; Agilent Technologies製)で測定した。

2. 4 水耕栽培におけるトウモロコシ栽培試験

水耕栽培試験(1)では、トウモロコシ(品種:ランチャ-82)の種子を水で湿らせたペーパータオル上で発芽させた。発芽後2日間は暗所で、その後5日間は人工気象器内にて14時間光/10時間暗、28°C/23°Cのサイクル下で栽培した。幼苗は8Lの水耕液(4.0mM Ca(NO₃)₂、1.3mM NH₄H₂PO₄、2.0mM MgSO₄、8.0mM KNO₃、46μM H₃BO₃、9μM MnCl₂、0.8μM ZnSO₄、0.3μM CuSO₄、0.1μM Na₂MoO₄、100μM Fe(III)-EDTA)に移植して4日間栽培した後、上記の水耕液からFe(III)-EDTAを含まない水耕液に移し、4日間栽培した。その後、3株の植物をそれぞれ、10μM Fe(III)-citrate、10μM Fe(III)-PDMA、10μM Fe(III)-EDTA、10μM Fe(III)-EDDHA、10μM Fe(III)-HBED、100μM Fe(III)-EDTA、100μM Fe(III)-EDDHA、または100μM Fe(III)-HBEDを含む550mLの水耕液に移植した。各水耕液はNaOH水溶液でpH7.0に調整した。

各キレート鉄水耕液への移植から0、3日目に、最新葉について葉緑素の含量を示すSPAD値を測定した。

試験(2)では、トウモロコシ(品種:ロイヤルデントTX1235)の種子を、水で湿らせたペーパータオル上で発芽させた。発芽後2日間は暗所で、その後1日間は人工気象器内で14時間光/10時間暗、28°C/23°Cのサイクル下で栽培した。苗は前述の水耕液に移植し、6日間栽培した後、Fe(III)-EDTAを含まない水耕液に移植し、4日間栽培した。その後、3株の苗をそれぞれ10μM Fe(III)-EDTAまたは10μM Fe(III)-HBEDを含む水耕液に移植し、0、3、10、ないしは30μMの鉄と錯体を形成していないフリーのPDMAを投与した。各水耕液はNaOH溶液でpH7.0に調整した。各キレート鉄の投与から0、3日目に、SPAD値を測定した。

2. 5 統計解析

データは、SPSS(IBM JAPAN製)を用いて、一元配置分散分析(one-way ANOVA)を行い、その後、TukeyのHSD(Honestly Significant Difference)検定によって5%水準で評価した。

3. 結果

3. 1 石灰質アルカリ土壌ポットにおけるトウモロコシ

栽培試験結果

(1) 濃度依存的な Fe(III)-PDMA の鉄欠乏改善効果と合成キレート鉄 Fe(III)-EDTA との比較

Fe(III)-PDMA 投与後、どの濃度処理区においても5日後に鉄欠乏改善効果が発現した。また、効果は Fe(III)-PDMA の濃度に応じてより長期間持続した (Fig. 6a, 6b)。Fe(III)-EDTA の投与では、90 μM 濃度であっても実験全体を通じて無処理区の SPAD 値との差に有意差は見られなかった (Fig. 5a)。試験終了後、葉中の鉄濃度を測定したところ、90 μM Fe(III)-PDMA 処理では無処理区と比較して有意な増加が認められた (Fig. 6c)。90 μM Fe(III)-EDTA の施用では、無処理区の鉄濃度との差に有意差は見られなかった。

(2) Fe(III)-PDMA の鉄欠乏改善効果と合成キレート鉄 Fe(III)-EDTA や Fe(III)-HBED との比較

Fe(III)-PDMA を投与することで鉄欠乏改善効果が発現した (Fig. 7a, 7b)。Fe(III)-EDTA と Fe(III)-HBED の投与では、無処理区の SPAD 値との差に有意差は見られなかった。

3. 2 水耕栽培におけるトウモロコシ栽培試験結果

(1) Fe(III)-PDMA 及びその他のキレート鉄における鉄欠乏改善効果

各キレート鉄水耕液への移植から3日後、処理区によっては鉄欠乏改善効果が発現してきた (Fig. 8a, 8b)。キレート鉄無処理区のトウモロコシは新葉のクロロシスが深刻化し、SPAD 値は約2.5まで下がった。Fe(III)-citrate では効果が認められなかった。10 μM Fe(III)-PDMA の投与は鉄欠乏改善に有効であり、3日後の SPAD 値が約25であった。他の合成キレート鉄は10 μM 濃度では有意な効果を示さなかつ

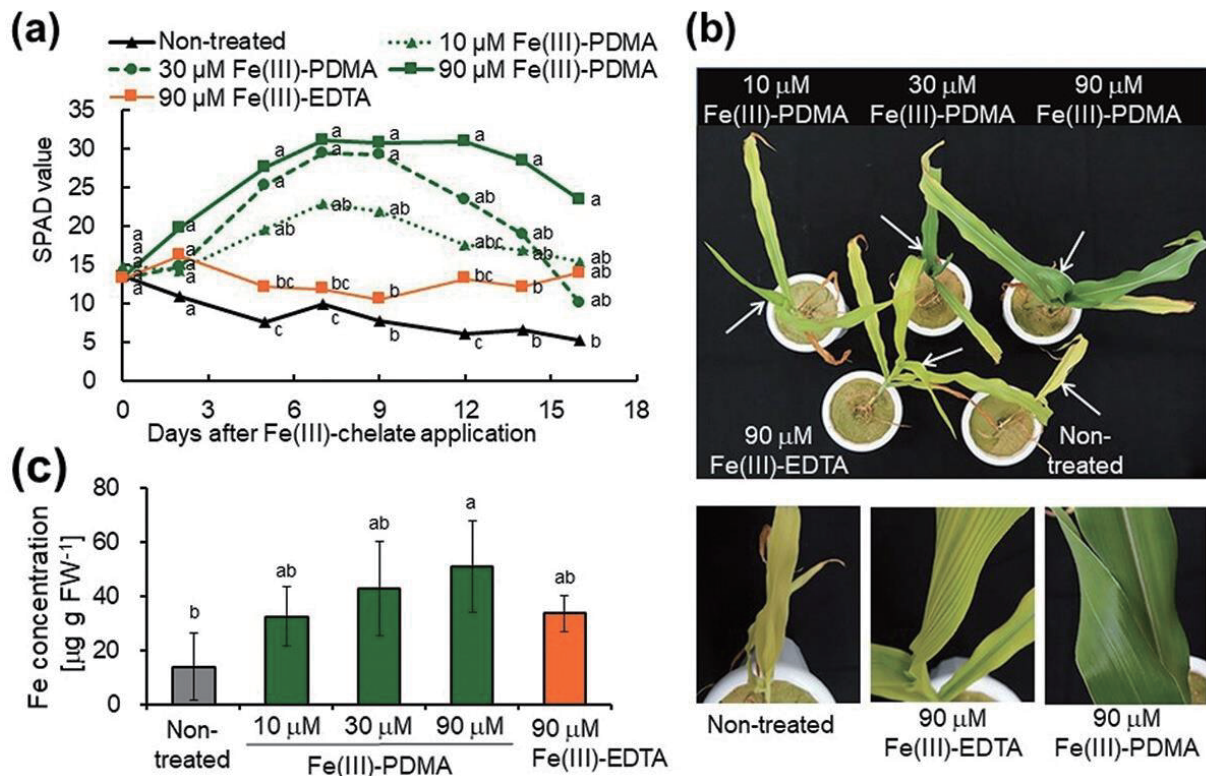


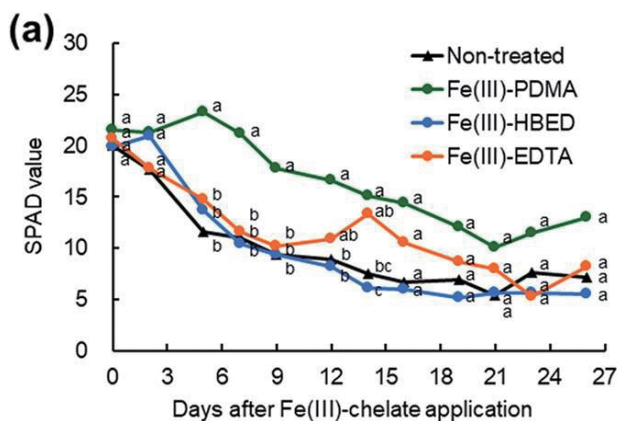
Fig. 6. Efficacy of Fe(III)-PDMA and Fe(III)-EDTA in a maize calcareous soil pot experiment (1)⁷⁾.

(a) Transition of SPAD values in the newest leaves.

(b) Representative plants at 9 days after Fe(III)-chelate complex application. Upper: whole plants (arrows indicate new leaves). Lower: magnified view of new leaves.

(c) Fe concentrations in upper leaves after the experimental period.

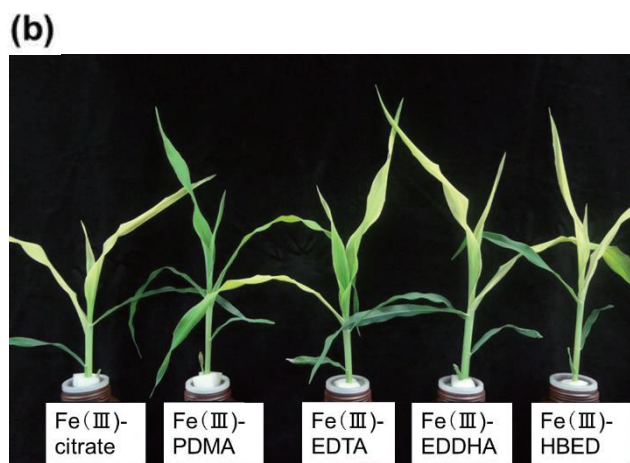
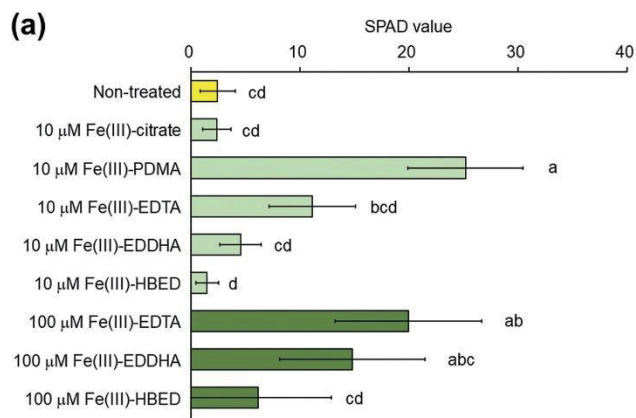
In (a) and (c), groups sharing the same letters indicate no significant differences ($p < 0.05$; Tukey's HSD test).



Non-treated Fe(III)-PDMA Fe(III)-HBED Fe(III)-EDTA

Fig. 7. Efficacy of 30 μM Fe(III)-PDMA in maize compared with 30 μM Fe(III)-HBED or EDTA in a calcareous soil pot experiment(2)⁷⁾. (a) Transition of SPAD values in the newest leaves. Groups with the same letters indicate no significant differences ($p < 0.05$; Tukey's HSD test) (b) Representative plants at 7 days after Fe(III)-chelator complex application.

った。これらの合成キレート鉄を 100 μM 濃度で投与した場合、Fe(III)-EDTA では有意な回復が認められた。一方、Fe(III)-EDDHA および Fe(III)-HBED の効果は 100 μM の投与でも無処理区のトウモロコシと比較して有意ではなかった。
 (2) 鉄と錯体を形成していないフリーの PDMA と Fe(III)-EDTA または Fe(III)-HBED の併用による鉄欠乏改善効果
 鉄を強固に保持し、高い安定性を有する合成キレート鉄



10 μM

Fig. 8. Efficacies of Fe(III)-PDMA and other Fe(III)-chelator complexes at different concentrations in hydroponic maize Experiment(1). (a) SPAD values of the newest leaves at 3 days after Fe(III)-chelator complex application. Groups with the same letters indicate no significant differences ($p < 0.05$; Tukey's HSD test)⁷⁾. (b) Representative plants at 3 days after Fe(III)-chelator complex application.

(EDTA および HBED) の存在下において、鉄と錯体を形成していないフリーの PDMA を混合した場合のトウモロコシの鉄欠乏改善効果を評価した。その結果を Fig. 9 に示す。各キレート鉄の投与から 3 日後、キレート鉄無処理区および 10 μM Fe(III)-EDTA または Fe(III)-HBED のみを投与したトウモロコシの葉の SPAD 値は約 2~3 まで低下した。一方で、10 μM Fe(III)-EDTA に 3 μM の PDMA を混合した場合、トウモ

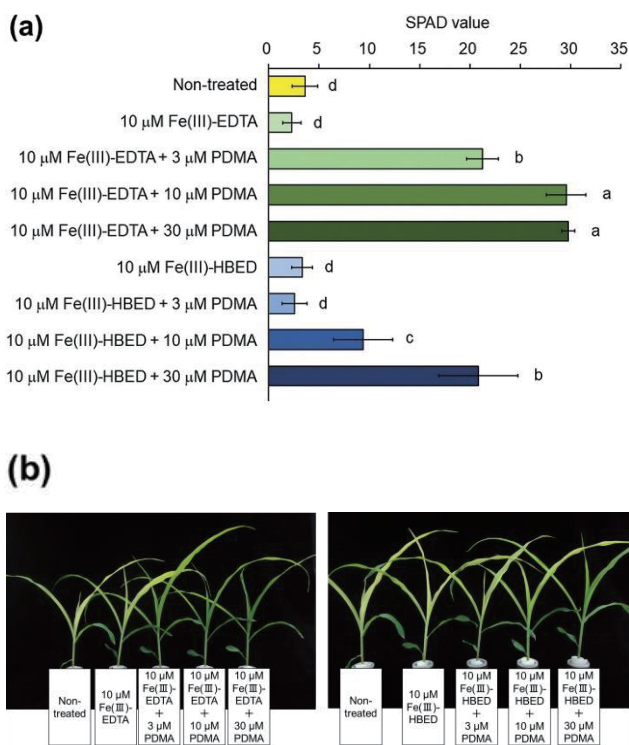


Fig. 9. Efficacy of unchelated PDMA in combination with Fe(III)-EDTA or Fe(III)-HBED in maize hydroponic Experiment (2).

(a) SPAD values of the newest leaves at 3 days after PDMA and Fe(III)-chelator complex application. Groups with the same letters indicate no significant differences ($p < 0.05$; Tukey's HSD test)⁷⁾

(b) Representative plants at 3 days after PDMA and Fe(III)-chelator complex application.

ロコシが鉄欠乏から回復し、10 μ M Fe(III)-EDTA に 10 μ M または 30 μ M の PDMA を混合した場合は、SPAD 値が約 30 に達し、鉄欠乏から完全に回復した。10 μ M Fe(III)-HBED 水耕液に PDMA を 3 μ M 混合した場合の効果は弱かったが、10 μ M または 30 μ M の PDMA の混合により、濃度依存的にトウモロコシの鉄欠乏を回復させた。これらの結果は、鉄と錯体を形成していないフリーの PDMA の混合により、単独投与では効果の弱い Fe(III)-EDTA または Fe(III)-HBED の存在下でもトウモロコシの鉄欠乏を回復させられることを示唆している。

4. 考察

アルカリ土壌ポット試験と水耕栽培試験の両方で、Fe(III)-PDMA は高い鉄欠乏改善効果を示した。これは、Fe(III)-PDMA が天然のムギネ酸類-鉄錯体と同様に、YSL トランスポーターによって直接吸収されるためと考えられる。一方、従来の合成キレート鉄ではトウモロコシへの鉄欠乏改善効果は弱く、その程度はキレート鉄の安定度定数 ($\log K_{Fe(III)}$) が大きいほど低下する傾向が見られた。具体的には、EDTA (25.0)、EDDHA (33.9)、HBED (39.7) の順に安定度定数が高くなる。実験結果では、この順に SPAD 値も低下し、HBED 処理区では鉄欠乏症状が顕著であった。この理由は、従来の合成キレート鉄が YSL トランスポーターに直接吸収されず、根から分泌されるムギネ酸類による鉄の置換が必要のためと考えられる。置換のしやすさは安定度定数に依存し、安定度定数が高いほど鉄の置換が困難になる。例えば、Fe(III)-HBED は Fe(III)-EDTA より約 10^{14} 倍安定であり、ムギネ酸類による置換が起りにくい。さらに、Fe(III)-EDTA や Fe(III)-HBED に金属フリーの PDMA を混合した場合、安定性の高い HBED の方が鉄欠乏からの回復が不十分で、この結果は仮説を裏付けている。以上より、Fe(III)-PDMA はイネ科植物に直接吸収されるため高い鉄欠乏改善効果を示すのに対し、従来の合成キレート鉄はムギネ酸による置換を経なければならず、安定性が高いほどその置換が難しく、結果として鉄欠乏改善効果が弱まると考えられる。

5. おわりに

本研究により、PDMA が主要穀物の一つであるトウモロコシにとって効果的な鉄肥料となり得ることを示した。従来の合成キレート鉄では効果が低い一方、Fe-PDMA は天然のムギネ酸類-鉄錯体と同様に YSL トランスポーターを介して吸収され、高い鉄欠乏改善効果を示す。よって、PDMA はアルカリ土壌のような不良環境下における鉄供給源として大きな可能性を秘めている。近い将来に懸念されている食糧問題を解決するためにも、今後は実際の不良環境における PDMA の実証評価を進めていきたい。

参考文献

- 1) V. Römheld, H. Marschner, Plant Physiology, 80 (1986), 175-180.
- 2) S. Takagi, Soil Science and Plant Nutrition, 22 (1976), 423-433.
- 3) M. Suzuki, A. Urabe, S. Sasaki, R. Tsugawa, S. Nishio,

- H. Mukaiyama, Y. Murata, H. Masuda, M. S. Aung, A. Mera, M. Takeuchi, K. Fukushima, M. Kanaki, K. Kobayashi, Y. Chiba, B. B. Shrestha, H. Nakanishi, T. Watanabe, A. Nakayama, H. Fujino, T. Kobayashi, K. Tanino, N. K. Nishizawa, K. Namba, *Nature Communications*, 12 (2021), 1558.
- 4) A. Yamagata, Y. Murata, K. Namba, T. Terada, S. Fukai, M. Shirouzu, *Nature Communications*, 13 (2022), 7180.
- 5) D. Ueno, Y. Ito, M. Ohnishi, C. Miyake, T. Sohtome, M. Suzuki, *Plant and Soil*, 469 (2021), 123-134.
- 6) T. Wang, N. Wang, Q. Lu, S. Lang, K. Wang, L. Niu, M. Suzuki, Y. Zuo, *Plant, Cell & Environment*, 46 (2022), 239-250.
- 7) M. Suzuki, Y. Suzuki, K. Hosoda, K. Namba, T. Kobayashi, *Soil Science and Plant Nutrition*, 70 (2024), 5-6, 435-446.