

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：13801

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23380063

研究課題名(和文) 生育環境にตอบสนองしたバラ香気成分生合成経路シフトの分子機構の解析と可視化

研究課題名(英文) Molecular mechanism on the seasonal change in biosynthetic pathways of rose scent compound in response to the environment

研究代表者

渡辺 修治 (Watanabe, Naoharu)

静岡大学・創造科学技術大学院・教授

研究者番号：90230979

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,500,000円、(間接経費) 4,350,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は季節によって変化するバラ主要香気成分2-フェニルエタノール(以下2PEと略記)の生合成経路の解明である。重水素標識L-フェニルアラニン([2H8]LPhe)をバラ花卉、プロトプラストに投与し、生成する重水素標識2PEの量、標識パターンをGCMSにより詳細に解析することにより、DC経路(LPhe フェニルアセトアルデヒド:PAld, 2PE)に加え、特に高温期(夏期)にはAT経路(LPhe フェニルピルビン酸PPA, 2PE)が活性化すること、その環境要因が温度であることをはじめて解明した。

研究成果の概要(英文)：The objective of the research is to clarify the molecular mechanism on the seasonal change in biosynthetic pathways of rose scent 2-phenylethanol (2PE) in response to environment. Based on the feeding experiments of L-[2H8]phenylalanin ([2H8]LPhe) to rose flowers and the GCMS, and LCMS analyses, we have clarified that two new enzymes, AAAT and PPDC are involved in the new biosynthetic pathway from LPhe to 2PE (LPhe, PPA, PAld, 2PE). We have also confirmed that the pathway is actively operating under the environmental conditions at high temperature.

研究分野：農芸化学

科研費の分科・細目：生物有機化学

キーワード：生合成 GCMS バラ香気成分 LCMS 環境要因 芳香族アミノ酸脱アミノ酵素 ケト酸脱炭酸酵素 プロトプラスト

1. 研究開始当初の背景

(1) 研究背景

花の香り成分は昆虫誘引に重要な役割を果たす情報伝達物質である (Negre ら, *Plant Cell*, 2004)。本研究における標的香り成分である 2-フェニルエタノール (2PE) はピリドキサルリン酸 (PLP) 依存性-芳香族脱炭酸酵素 (AADC, PAAS) と、フェニルアセトアルデヒド還元酵素 (PAR) の 2 種の酵素によって L-フェニルアラニン (LPhE) から生合成されることがバラ (*Biosci. Biotech. Biochem.* 2007, 2008; *J. Plant Physiol.* 2009, 2010)、ペチュニアで (Kaminaga ら, *J. Biol. Chem.* 2006) 明らかにされている。LPhE を生成するシキミ酸経路上の転写調節因子である *ODORANT1* (Verdonk ら, *Plant Cell* 2005) や *EOBII* (Rimon ら, *Plant Cell* 2010)、コリスミ酸ミューターゼ (CM1, 2, Coloquhoun ら, *Plant J.* 2010) がペチュニアの芳香族香り成分生合成を調節している。

(2) 着想に至った経緯

研究代表者 (渡辺) らはバラの花を中心とした花香の生合成・発散研究により、以下の成果 (A)、および、本研究課題を着想するに至った知見 (B), (C) を得ている。

成果 (A) 2PE 生合成経路の解明: 重水素標識 LPhE ($[^2H_8]$ LPhE) の無傷植物への投与実験 (*Tetrahedron* 2004), 凍結乾燥花卉や抽出酵素による変換反応の詳細な解析により、新しい生合成経路 $LPhE \rightarrow PAld \rightarrow 2PE \rightleftharpoons 2PEG$ (図 1 上) を提唱するに至った (上記業績、*日本国特許* 2006)。

知見 (B) 2PE 生合成経路の季節変化:

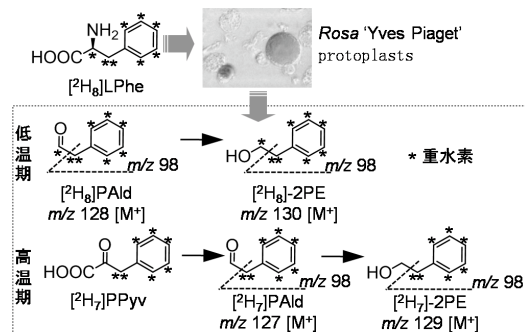


図1 GC-MS解析結果に基づく $[^2H_8]$ LPhEからの $[^2H_n]$ -2PE へのプロトプラストでの変換経路

上段成果(A): 低温期 AADC, PARによる変換;

下段知見(B): 高温期仮想経路

$[^2H_8]$ LPhE の花卉 (プロトプラスト) への投与実験において、低温期 (11~4 月) には $[^2H_8]$ -2PE が、高温期 (5~10 月) には $[^2H_7]$ -2PE が主要生成物となること、 $[^2H_8]$ PAld のベンジル位 2H の H への交換は認められないことを GC-MS の解析結果に基づき解明した (図 2)。また、この時期の花卉ではフェニルピルビン酸 (PPA) が 2PE へと容易に変換された (第 45 回植物化学調節学会発表) ことから、 $LPhE \rightleftharpoons PPA \rightarrow PAld \rightarrow 2PE$ となる新たな経路 (図 1 下) を提唱している。

知見 (C) 2PE ショートカット生合成経路の存在: 高温期, 低温期のいずれにおいてもコ

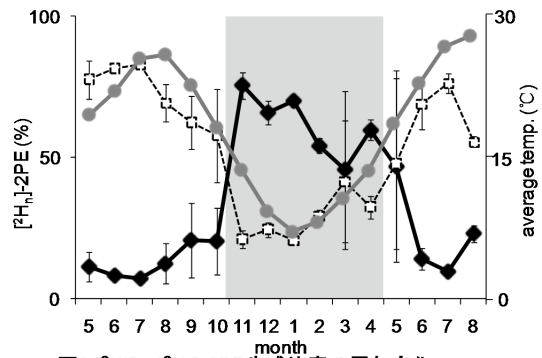


図2 $[^2H_8]$ -, $[^2H_7]$ -2PE 生成比率の周年変化

● $[^2H_8]$ -2PE □ $[^2H_7]$ -2PE ● 気温

高温期 (5月~10月) $[^2H_7]$ -2PE 主要

低温期 (11月~4月) $[^2H_8]$ -2PE 主要

リスミ酸 (ChA), プレフェン酸 (PhA), PPA の各単独投与で LPhE 単独投与時より 2PE 生成量が著しく増加し、PPDC 阻害剤 (Mann, *et. al.*, *Org. Biomol. Chem.*, 2004) の共投与によって 2PE 生成量が顕著に低下した。これらの事実は LPhE を介しない 2PE のショートカット生合成経路の存在も示唆している。

環境要因、ストレスに対して植物は二次代謝産物量を調節して適応することは知られているが、同一植物内で特定の香り成分生合成経路が、生育環境、季節によって変化するとの上述のような研究報告例は全くみられない。

2. 研究の目的

本研究においては、生育環境要因 (気温、光強度、地温等) の変化によりおこる 2PE 生合成関連代謝物、酵素、遺伝子の変化と環境要因を特定することを目的とする。そのために、まず、低温期の 2PE 生合成経路: $LPhE \rightarrow PAld \rightarrow 2PE$ に加え、高温期の新生合成経路 $LPhE \rightleftharpoons PPA \rightarrow PAld \rightarrow 2PE$ を分子レベルで解明する。次に、ショートカット $PhA \rightarrow PPA \rightarrow PAld \rightarrow 2PE$ を同時に、花卉内での生合成関連代謝物、酵素、遺伝子の局在化、移動、香り成分の移動、発散プロセスを可視化することを目的とする。

バラにおける LPhE から 2PE への変換経路を解析することで、既知変換経路を高温期においても補償しうる経路の存在を提示し、バラの環境適応の仕組みを提唱可能とする (図 3)。

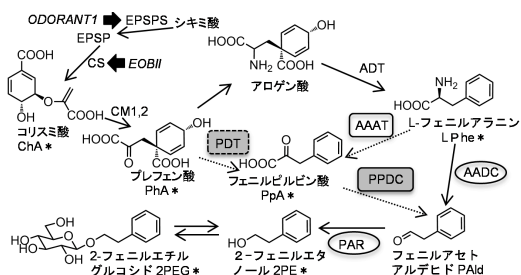


図 3. 2-フェニルエタノールの生合成経路および検討事項

また、複数の植物で提唱されている複雑なシキミ酸経路二次代謝産物の多様性を単一種の栽培植物であるバラで理解できるようになる。また、高温等の環境変化がもたらす生

合成経路のシフトに基づき、新たな酵素 AAAT, PPDC の構造と機能, AAAT, PPDC 遺伝子の特定が初めて達成される。また、逆に低温期の 2PE の生合成鍵酵素 AADC に代わり高温期には PPDC が主要となる原因をそれぞれの酵素の構造と機能の構造生物学的解析により、分子科学的根拠を与え、高温ストレスと酵素機能・構造との関係の解明の端緒を与える。上記の知見に基づき、バラにおける高温ストレスマーカー(例えば PPDC 遺伝子等)の発見が可能となる。さらに、2PE 生合成経路シフトの分子機構の解明により、植物の環境ストレス応答の多様性の仕組みを解明するという新たな学問領域への展開が期待されるとともに、ショートカット生合成経路に関する分子科学的知見は、香る植物の創出、育種技術開発基盤の知見として位置付けられる。また、香気成分生合成中間体を含めた香気成分の可視化により、そのプロセス制御にヒントを与えるため、生合成能力を有しながら香気成分を発散できないため香らない植物の分子機構の解明に手がかりを与える。

3. 研究の方法

周年採取可能な栽培品種バラ *Rosa* ‘Yves Piaget’ を試料として用いる。2PE の生合成経路の季節変化の要因を解明する目的で、

(1) 代謝経路を変化させる環境要因(高温、強光条件)と暴露時期の解明

温度処理による 2PE 生成量の変化は 24 時間以内に惹起されることが明らかとなった。温度処理下での 2PE 生成量を経時的に定量する目的で、バラに対し 0-24 時間の温度処理を行った。この時、 $[^2\text{H}_7]$ -2PE の生成量が高いバラ(夏期型バラ相当)に対する低温処理により $[^2\text{H}_7]$ -2PE の減少を確認できると推測した。逆に、 $[^2\text{H}_7]$ -2PE の生成量が高いバラ(冬期型バラ相当)に対する高温処理により、 $[^2\text{H}_7]$ -2PE の増加を確認できると推測した。そこで本実験では、前処理としてバラに対し 4 °C および 30 °C 処理を 24 時間行い、これらをそれぞれ冬期処理バラ、夏期処理バラとした。次に冬期処理バラおよび夏期処理バラを 4 °C および 30 °C で 0-24 時間インキュベートし、この間に生成した 2PE を経時的に定量した。また、温度処理 0 時間における生成量を 1 とし、各処理時間における 2PE の変化率を算出した。

(2) 高温期と低温期における糖—シキミ酸代謝経路上の代謝物の相違

高温期、低温期に採取したバラ花卉の糖代謝、シキミ代謝産物の 48 時間の消長をメタボローム分析にて解析した。

(3) 安定同位体標識化合物と酵素阻害剤の併用による酵素反応の解析

$[^2\text{H}_8]$ Lphe とともに、微生物起源の PPDC の阻害剤として開発された 3-デアザ TPP を合成し、これをバラ花卉から単離したプロトプラストに投与し、2PE あるいは $[^2\text{H}_7]$ -2PE を定量した。

(4) 高温期と低温期における 2PE 生合成に

関わる酵素 AADC, PAR, PPDC, AAAT, PDT およびそれらの酵素遺伝子発現の相違

新たな酵素である AAAT は既知の植物アミノ基転移酵素を基に遺伝子クローニングによって候補遺伝子を得た。大腸菌に組換え、発現タンパク質の機能解析をした。また、一過性の RNAi により 2PE の生成量を定量解析した。PPDC については植物では全く新たな酵素であるため、タンパク質を精製した。内部アミノ酸配列を LC-MS/MS 解析に供し、de novo sequencing を行った。ケト酸脱炭酸酵素 (KDC) に類似したアミノ酸配列を基に遺伝子クローニングを行い KDC の全長配列を得た。昆虫細胞発現系を用いてこれら全長発現 KDC タンパク質を得、酵素機能を解析した。

生合成関連酵素遺伝子の発現解析は高温期と低温期のバラ花卉より次世代シーケンサーを用いて実施した。

(5) 質量顕微鏡による 2PE 生合成関連代謝産物の可視化

浜松医科大学の瀬藤光利教授ら(光イメージング研究センター)の指導の下、2PE 配糖体である 2PE β -D-glucopyranoside (2PEG) の質量顕微鏡による検出、花卉切片の観察を試みた。

4. 研究成果

(1) 生合成経路の変化をもたらす環境要因の解析

① 温度シフトによる $[^2\text{H}_8]$ -2PE、 $[^2\text{H}_7]$ -2PE の生成量の変化

低温 (4 °C) 前処理バラにおいては、4 °C でインキュベートしても 2PE の生成量に変化は見られなかった。一方、30 °C では処理時間とともに 2PE の生成量が徐々に増加した。処理 24 時間の時点での変化率は、 $[^2\text{H}_8]$ -2PE が 2.7 倍、 $[^2\text{H}_7]$ -2PE が 6.4 倍であり、 $[^2\text{H}_7]$ -2PE の増加が特に顕著であった (図 4)。

高温 (30 °C) 前処理バラでは 30 °C のインキュベート中に $[^2\text{H}_8]$ -2PE の生成量は変化せず、 $[^2\text{H}_7]$ -2PE の生成量が 1.9 倍にまで増加した。一方、4 °C でインキュベートにより処理 24 時間の時点での変化率は $[^2\text{H}_8]$ -2PE が 0.54、 $[^2\text{H}_7]$ -2PE が 0.29 といずれも低下したが特に $[^2\text{H}_7]$ -2PE の減少が顕著であった。以上のように、夏期処理バラおよび冬期処理バラを作成したことにより、 $[^2\text{H}_7]$ -2PE の生成量の変化を確認することができた (図 4)。

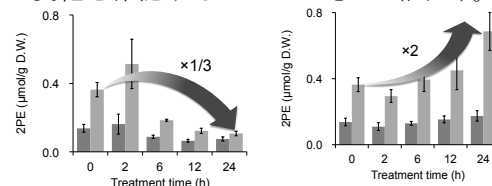


図 4 低温処理(左)、高温処理(右)による $[^2\text{H}_8]$ / $[^2\text{H}_7]$ -2PE の変化。濃いバー $[^2\text{H}_8]$ -2PE; 薄いバー $[^2\text{H}_7]$ -2PE

さらに $[^2\text{H}_7]$ -2PE の生成量が 4 °C 処理で減少し、30 °C 処理で増加したことから、AT route は低温によって抑制され、高温によつ

て亢進することが明らかとなった。

②異なる温度下にて生成する 2PE の定量

4、10、20、25、30 °C の温度条件下にて L-[²H₈]Phe をバラ花卉に投与し、[²H₇]-2PE および [²H₈]-2PE を定量した。その結果、処理温度の上昇に伴い [²H₇]-2PE および [²H₈]-2PE の生成量が増加した。また、[²H₇]-2PE および [²H₈]-2PE の生成割合をそれぞれ算出した結果、[²H₇]-2PE の割合が温度の上昇に伴い増加した。これらの結果は、特に [²H₇]-2PE の生成量が温度によって大きく変化することを示している。

上記①②の結果から、AT route はバラの生育温度の上昇に伴い昂進することが示された。

(2) 高温期と低温期の代謝物の分析

2PE の前駆体である L-Phe においては 2PE 発散にみられる明暗で異なる発散量の変化と同調する消長は、いずれのバラでも観察されなかった。他方、シキミ酸経路における L-Phe の上流化合物 ChA は低温期で、PPA は特に高温期で 2PE の発散リズムと同調する変化を示した (図 5)。これらの事実より、低温期では L-Phe から PAld、2PE への変換が律速になっているのに対して、高温期では PPA の生成・代謝が律速になっている可能性が示唆された。

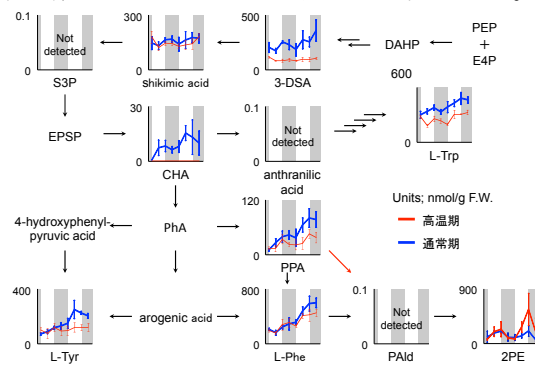


図 5 高温期と低温期のシキミ酸経路代謝物と 2PE の分析結果 赤線:高温期; 青線:低温期

(3) 安定同位体標識化合物と酵素阻害剤による酵素反応生成物の解析

高温期に昂進される PPA→PAld→2PE 経路では PPA から PAld に変換する PPDC が鍵酵素である。高温期のバラに PPA を投与したときの 2PE 増加量が酵素阻害剤 3-デアザ TPP 投与によって半減した。また、高温期のバラにおいて [²H₈]L-Phe と上記の阻害剤を共投与すると、生成する [²H₇]-2PE 量が用量依存的に低下した。上記の事実から、PPDC が高温期の 2PE 生合成に重要な役割を果たしていることが生化学的にも確認された。

(4) 生合成酵素および遺伝子発現解析

①AAAT の解明

L-Phe⇌PPA→PAld→2PE における L-Phe⇌PPA を触媒する既知植物アミノ基転移酵素を基に

遺伝子クローニングした。3種類の AAAT 候補遺伝子のうち 1 つで顕著な L-Phe→PPA 活性が認められた (図 6)。この AAAT 遺伝子を一過性 RNAi によって阻害したところ、バラ花卉プロトプラストにおいて、最終生成物である 2PE 量が有意に減少した。また、AAAT は L-Phe>L-トリプトファン>L-チロシンの順に高いアミノ基転移活性を示したのに対し

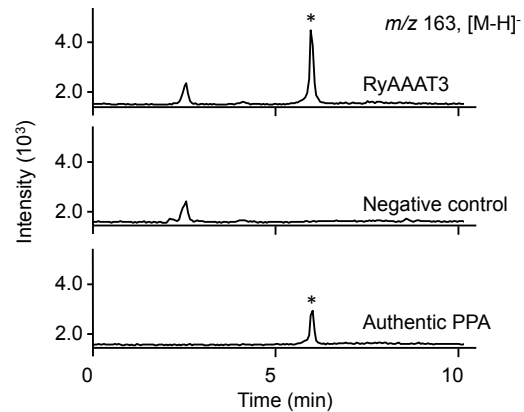


図 6 LCMS によるバラ AAAT 生成物の解析 *生成物 PPA

て、グリシン、L-アラニンにはほとんど活性を示さなかったことから、芳香族アミノ酸を好適な基質とすることを明らかにした。

②PPDC の解明

PPA→PAld を触媒する酵素の解明を行った。まず、当該活性を指標に精製したタンパク質の内部アミノ酸配列、de novo sequencing に基づき、ケト酸脱炭酸酵素 (KDC) に類似したアミノ酸配列が得られた。このアミノ酸配列を基に遺伝子クローニングを行い KDC の全長配列を得た。昆虫細胞発現系を用いてこれら KDC の全長を発現タンパク質として得た後に酵素機能を解析した。その結果、KDC は PPA→PAld 反応を触媒する PPDC であることを明らかにした (図 7)。

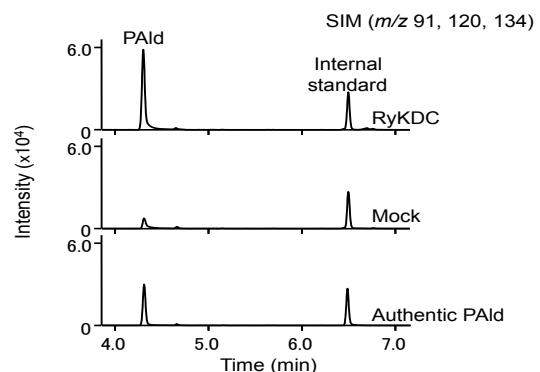


図 7 LCMS によるバラ KDC (PPDC) の反応生成物の解析

植物酵素において当該反応を触媒する酵素を明らかにした例はなく、当該酵素の活性発現に寄与する新規の知見が得られることが期待される。

③遺伝子発現解析

以上の新たに得られた知見を基に、高温期と低温期のバラ花卉より次世代シーケンサーを用いて遺伝子発現を解析した。その結果、LPhé→2PE 生合成経路における既知経路、新経路ともに高温期と低温期で遺伝子発現量に有意な差は認められなかった(図8)。このことから2PEに至る経路の季節変化には酵素遺伝子の転写レベルではなくその他の要因(例えば、翻訳後修飾、酵素の反応性の変化等)が関与していると結論付けられた。H26年度もこの点を重視して生化学的研究を継続している。

④2PE ショートカット生合成経路の検討

PhA→PPA を触媒する ADT/PDT の遺伝子発現についても併せて解析した。その結果、PDT 活性を持つことが報告されている *AtADT1* (シロイヌナズナ *ADT1*)、*PhADT2* (ペチュニア *ADT2*) の相同遺伝子はそれぞれ高温期において有意に発現量が上昇していた(図8)。これら2遺伝子の酵素機能を明らかにすることで2PE ショートカット生合成経路の季節性変化の解明につながる。

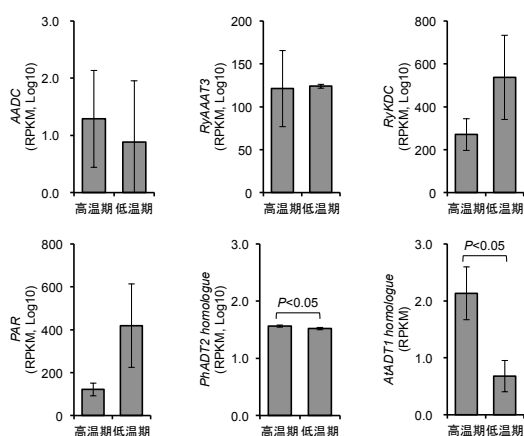


図8 次世代シーケンサーによる高温期、低温期のバラ花卉における2PE生合成関連遺伝子の発現解析結果

(5) 質量顕微鏡による代謝物の局在解析

まず、2PEGの標準品の検出を試み、検出が可能であることを確認した。次に、バラ花卉切片の2PEGの検出を試みた。マトリックス塗布後の試料において2PEGが検出された。しかし、マトリックスの粒子径が花卉厚の3分の1程度と極めて大きいため本検出法では局在化の検討は難しいと判断し、研究期間内での検討を中止した。最近、マトリックスを塗布するのではなく、昇華蒸着する新たな方法が提案されたため、前出機関における質量顕微鏡の使用が可能となった時点で改めて検討する予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計10件)

①Ying Zhou, Ling Zhang, Jiadong Gui, Fang Dong, Sihua Cheng, Xin Mei, Linyun Zhang, Yongqing Li, Xinguo Su, Susanne Baldermann, Naoharu Watanabe, Ziyin Yang.

Molecular cloning and characterization of a short chain dehydrogenase showing activity with volatile compounds isolated from *Camellia sinensis*. *Plant Molecular Biology Reporter* (2014). DOI: 10.1007/s11105-014-0751-z、査読有

②Tsuyoshi Katsuno, Hisae Kasuga, Yumi Kusano, Yoshihiro Yaguchi, Miho Tomomura, Jilai Cui, Ziyin Yang, Susanne Baldermann, Yoriyuki Nakamura, Toshiyuki Ohnishi, Nobuyuki Mase, Naoharu Watanabe.

Characterization of odorant compounds and their biochemical formation in green tea with a low temperature storage process. *Food Chem.*, **148**, 388-395 (2014). DOI:

10.1016/j.foodchem.2013.10.069、査読有

③Ariaki Murata, Ulrich H. Engelhardt, Peter Fleischmann, Keita Yamada, Naohiro Yoshida, Dieter Juchelka, Andreas Hilkert, Toshiyuki Ohnishi, Naoharu Watanabe, Peter Winterhalter. *J. Agric. Food Chem.*, **61**, 11321-11325 (2013).

DOI: org/10.1021/jf403605a、査読有

④Ziyin Yang, Eiji Kobayashi, Tsuyoshi Katsuno, Toshimichi Asanuma, Tamaki Fujimori, Takamasa Ishikawa, Miho Tomomura, Kazuo Mochizuki, Takaya Watase, Yoriyuki Nakamura, Naoharu Watanabe.

Characterization of volatile and non-volatile metabolites in etiolated leaves of tea (*Camellia sinensis*) plants in the dark. *Food Chem.*, **135**, 2268-2276 (2012).

DOI:10.1016/j.foodchem.2012.07.066、査読有

⑤平田拓、大西利幸、渡辺修治

香りの生合成経路が季節によって変わる、*化学と生物*, **50**, 570-578(2012)。(2011年度日本農芸化学会トピックス賞受賞内容) DOI: 10.1271/kagakutoseibutsu.50.570、査読有

⑥Hiroshi Hirata, Toshiyuki Ohnishi, Haruka Ishida, Kensuke Tomida, Miwa Sakai, Masakazu Hara, Naoharu Watanabe.

Functional characterization of aromatic amino acid aminotransferase involved in 2-phenylethanol biosynthesis in isolated rose petal protoplasts. *J. Plant Physiol.* **169**,445-451 (2012). DOI: 10.1016/j.jplph.2011.12.005、査読有

⑦Susanne Baldermann, Masaya Kato, Peter Fleischmann, Naoharu Watanabe.

Biosynthesis of α - and β -ionones, prominent scent compounds, in flowers of *Osmanthus fragrans*. *Acta Biochim. Pol.*, **59**, 79-81 (2012). 査読有

⑧Fang Dong, Ziyin Yang, Susanne Baldermann, Yutaka Kajitani, Shogo Ota, Hisae Kasuga, Yumi Imazeki, Toshiyuki Ohnishi, Naoharu Watanabe. Characterization of L-phenylalanine metabolism to acetophenone and 1-phenylethanol in the

flowers of *Camellia sinensis* using stable isotope labeling. *J Plant Physiol.* **169**, 217-225 (2012).

DOI: 10.1016/j.jplph.2011.12.003、査読有

⑨渡辺修治

花香気成分生合成・発散制御の分子機構に関する生物有機化学的研究、*植物の生長調節*, **46**, 11-18 (2011). (2010年度植物化学調節学会賞受章研究)、査読有

⑩Fang Dong, Ziyin Yang, Susanne Baldermann, Yasushi Sato, Tatsuo Asai, Naoharu Watanabe.

Herbivore-induced volatiles from tea (*Camellia sinensis*) plants and their involvement in intra-plant communication leading to changes in endogenous metabolites. *J. Agric. Food Chem.* **59**, 13131-13135 (2011) DOI: 10.1021/jf203396a、査読有

[学会発表] (計5件)

①神田桃代、平田拓、渡辺修治、大西利幸
バラ香氣成分 2-phenylethanol の生合成経路はどうして季節変動するのか? 植物化学調節学会 2013年度大会、新潟市 (2013.10.31.)

②Momoyo Kanda, Hiroshi Hirata, Toshiyuki Ohnishi, Naoharu Watanabe
Rose scent 2-phenylethanol was produced via two biosynthetic pathways in response to seasonal change in environment. VI International Symposium on Rose Research and Cultivation, Hannover, Germany. (2013.8.27.)

③平田拓、石田晴香、神田桃代、渡辺修治、大西利幸
バラ香氣成分 2-phenylethanol の新規生合成経路の解明、植物化学調節学会 2011年度大会、宇都宮市 (2012.11.2.)

④神田桃代、平田拓、石田晴香、大西利幸、渡辺修治
バラ香氣成分 2-phenylethanol 生合成経路を変化させる要因と中間体解析、日本農芸化学会 2012年度大会、京都市 (2012.3.24)

⑤平田拓、富田健介、石田晴香、坂井美和、大西利幸、渡辺修治
バラ香氣成分 2-phenylethanol 生合成経路の季節に伴う変化、日本農芸化学会中部支部、第163回例会、静岡市 (招待講演) (2011.12.3.)

[図書] (計1件)

①Ziyin Yang, Susanne Baldermann, Naoharu Watanabe.
Formation of damascenone and its related compounds from carotenoids in tea. Chapter 31, In: *Tea in Health and Disease Prevention*, DOI: 10.1016/B978-0-12-384937-3.00031-8 Copyright, 2013 Elsevier Inc.

[その他]

ホームページ

http://www.ipc.shizuoka.ac.jp/%7Etnmase/watanabe_lab/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡辺 修治 (WATANABE, Naoharu)
静岡大学・創造科学技術大学院・教授
研究者番号: 90230979

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

原 正和 (HARA, Masakazu)
静岡大学・農学研究科・教授
研究者番号: 10293614

大西 利幸 (OHNISHI, Toshiyuki)
静岡大学・農学研究科・准教授
研究者番号: 60542165