

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：33919

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580053

研究課題名(和文) ラベンダーの香質変化に関する遺伝解析

研究課題名(英文) Genetic analysis for alteration of essential oil fragrance in lavender

研究代表者

津呂 正人 (TSURO, MASATO)

名城大学・農学部・准教授

研究者番号：40410774

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円、(間接経費) 1,290,000円

研究成果の概要(和文)：ラベンダー精油の香調変化を目的として、1) 遺伝解析に有効なSSRマーカーの作成、および2) 精油の主要成分の一つであるリモネン合成酵素遺伝子を導入した形質転換体の作出を行った。ラバンジンのゲノムDNAからSSR配列を単離し、11マーカーを作出できた。これらマーカーはLavandula節植物の識別に有効であり、他の遠縁種でも一部利用可能であった。また、リモネン合成酵素遺伝子を導入したラバンジンでは、葉においてリモネンのみならず他の環化モノテルペンの生産が増加しており、他方、花穂ではリモネンとリナロールの生産が抑制され、器官によって導入遺伝子が異なる挙動を示すことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：In order to alter the fragrance of essential oil of lavender, we conducted two major works; 1) construction of the SSR marker, and 2) production of transgenic plants with limonene synthase gene. The results of these works are as follows. 1) Eleven primer pairs of SSR markers were constructed. These markers could distinguish species among section lavandula, while only a few of them could be available to identify other species except for section lavandula. 2) In transgenic plants with 35S-driven limonene synthase gene (LIMS), overexpressed LIMS increased not only limonene but also other cyclic monoterpenoid production in vegetative leaves, while suppression of LIMS expression reduced their total essential oil production, including the dramatic decrease of limonene, linalool, and linalyl acetate, in florets of the reproductive stage. These results suggested that transgene expression differed by organs.

研究分野：園芸学・造園学

科研費の分科・細目：花卉

キーワード：ラベンダー 精油 モノテルペン SSR 香り

1. 研究開始当初の背景

植物の香りは、単一の化合物によって持たされることがほとんどなく、複数の化合物が混合し、揮発することで独特の芳香を作り出している。この揮発性化合物の成分比は種によって大きく異なり、これが香調の違いとなって表れている。一方、揮発性化合物の成分比は栽培環境などで変化することが知られているが、同一環境では異なる種あるいは品種間で大きく変化することはなく、遺伝的に調節されることが推測される。すなわち、植物の香りは遺伝的に調節されており、その遺伝的背景を明らかにし、成分比を調節することができれば、これまでとは香調の異なる新しい植物を作出することが可能になると考えられる。

ラベンダーの花穂には、甘く、上品な香りを呈する精油が蓄積されている。精油中には10~20個程度の独特の強い香りを呈するモノテルペン化合物が含まれており、品種間で成分比が異なることが明らかとなっている。しかしながら、モノテルペン化合物の成分比を調節する遺伝的背景は明らかとなっていない。他方、これらモノテルペン化合物の生合成遺伝子が近年急速に明らかになりつつあり、これら情報を利用した遺伝子組換えによる香りの改変が種々の精油生産植物で行われつつあるが、ラベンダーではそのような報告例がない。

ラベンダー精油成分比の改変による新たな香調の創造を目的としたとき、精油成分比を調節する遺伝的背景を理解すること、ならびにモノテルペン化合物合成酵素の導入による精油生産比の人工的改変を試みることは重要である。

2. 研究の目的

ラベンダーの新たな香りの創造を目的として、1) 精油成分比を調節する遺伝因子を同定するための解析集団の作成と連鎖地図に座乗させるためのSSRマーカーの作出、2) 精油中の主要なモノテルペン化合物であるリモネンおよびリナロール合成酵素遺伝子を導入し、これら成分比が増加することで香調が変化した個体の作出を試みた。

3. 研究の方法

1) SSRマーカーの作出

真正ラベンダーとスパイクラベンダーの種間雑種であるラバンジン品種‘スーパーセビリアンブルー’からゲノムDNAを抽出し、Nunome et al. (2006)の手法によりCAおよびGAをモチーフとしたSSR濃縮ライブラリーを作成した。各SSR濃縮ライブラリーをベクターにクローニングし、大腸菌に導入した後、各モチーフについてそれぞれ96クローンずつ塩基配列を決定し、繰り返し数が5以上のSSRを含んだクローンでは、SSR領域を増幅するためのプライマーペアを設計した後、‘スーパーセビリアンブルー’を用い

てPCRにより目的領域の増幅の確認を行った。

2) 真正ラベンダーF₁解析集団の作成

真正ラベンダーにおける連鎖地図作成のために形質の異なる3品種(‘アロマティコ’、濃紫3号’、‘エレガンスアイス’)について2品種間で正逆交雑を行い、F₁種子の採取を行った。

3) リモネンおよびリナロール合成酵素遺伝子導入ラバンジンの作出

GENBANKの真正ラベンダー由来リモネン合成酵素遺伝子(LIMS; accession No. DQ263740)およびリナロール合成酵素遺伝子(LINS; accession No. DQ263741)の塩基配列情報をもとに、真正ラベンダー花穂から抽出した総RNAを用いてLIMSおよびLINS全長cDNAをクローニングした。得られたcDNAを植物体全体で強発現するプラスミドベクターpRI101-AN (Takara Bio)に挿入し、*Agrobacterium tumefaciens* LBA4404に保持させた。

ラバンジン品種‘スーパーセビリアンブルー’葉由来カルスを作出し、上記遺伝子を保持した*A. tumefaciens* LBA4404を感染させた後、除菌・選抜を繰り返して再分化を誘導した。得られた再分化個体についてPCRで導入遺伝子を確認した後、LIMS導入個体については葉および花穂のLINS導入個体では葉のmRNAを抽出し、導入遺伝子発現量をリアルタイムRT-PCR法で解析した。同時に、各器官を水蒸気蒸留して精油を抽出し、GCおよびGC-MSで精油成分の同定・定量を行った。

4. 研究成果

1) SSRマーカーの作出

2種類のSSR濃縮ライブラリーからCAモチーフ区で93クローン、GAモチーフ区で94クローンの計187クローンで塩基配列情報が得られ、そのうちCAで53クローン(57%)、GAで57クローン(61%)の計110クローン(59%)において、5以上の繰り返し数が含まれるSSRを確認した(第1表)。CAおよびGAの濃縮ライブラリー間でSSRのクローンが含まれる割合にほとんど差異は認められなかったが、実際に含まれていたSSRのモチーフは、両ライブラリー共にGAの割合が高く、90%以上の値を示した。濃縮ライブラリーの作成により、高頻度でSSRを含むクローンを得たが、SSRの領域が配列の末端に偏って存在するものが多かったため、最終的に設計できた全プライマーペアの数は、わずかに51ペアにとどまった。設計した全てのプライマーペアを用いてPCR増幅したDNA断片のサイズを、アクリルアミドゲル電気泳動により確認したところ、42のプライマーペアにおいてDNA断片の増幅が認められた。しかし、1kb以上のDNA断片を増幅するプライマーペアが多く、配列情報から期待されたサイ

ズと同程度の DNA 断片を増幅したプライマーペアは 11 のみであった。11 マーカーを用いて *Lavandula* 属の 6 種 19 品種における多型解析を行ったところ、7 マーカーについては真正ラベンダー 9 品種内において多型が認められ、LAMS33 マーカーでは 9 品種内に 8 個の対立遺伝子が存在していた。一方、真正ラベンダーの品種内で単型であった 4 マーカーのうち 2 マーカーについても、*Lavandula* 属の種間において多型を示した。しかし、真正ラベンダーやラバンジンが属する *lavandula* 節以外の *L. stoechas* や *L. canariensis* の品種においては DNA 断片が増幅しないマーカーが認められ、特に遠縁である *L. canariensis* については 2 マーカーのみの増幅であった。

第 1 表 ラベンダーのゲノム DNA 由来濃縮ライブラリーからの SSR マーカーの開発

濃縮ライブラリー のモチーフ	配列情報を得た クローン数	SSR を含む クローン数 ²	設計したプライ マーペア数 ²	期待したサイズが 増幅したマーカー数
CA/GT	93	53(57)	16(17)	6
GA/CT	94	57(61)	35(37)	5
総計	187	110(59)	51(27)	11

² 括弧内の数値は配列情報を得たクローン数に対する割合(%)を示す

2) 真正ラベンダー-F₁ 解析集団の作成

形質の大きく異なる真正ラベンダー 3 品種、'アロマティコ'(二季咲)、『濃紫 3 号』(濃紫色花卉)および『エレガンスアイス』(白色花卉)について、各 2 品種間で正逆交雑を行い、F₁ 種子の採取を試みた。真正ラベンダーは、同一花器官における雄蕊と雌蕊の成熟期が異なること、品種間で交雑親和性が多少異なることから、交雑組み合わせ間で稔実種子獲得率に大きな差異があり、集団解析に必要な十分な種子数(少なくとも 100 粒以上)を獲得できたのは『濃紫 3 号』×『エレガンスアイス』の組み合わせのみであった。

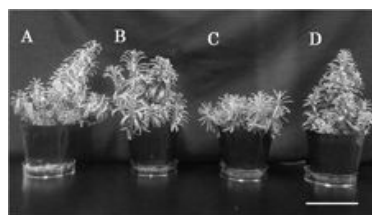
3) リモネンおよびリナロール合成酵素遺伝子を導入したラバンジンの作出

Agrobacterium 感染後、選抜培養期間中に多くのカルスが枯死した。しかし、一部のカルスは増殖しカルス表面にグリーンスポットを形成し、約 30 週間後にグリーンスポットから不定芽の形成が認められた。*LIMS* 導入区(以下 *LIMS* 区)では 1659 個の感染カルスのうち 22 個のカルスで不定芽が確認され、不定芽形成率は 1.3%であった(第 2 表)。また、*LIMS* 導入区(以下 *LIMS* 区)では 2259 個のカルスに処理を行った結果、24 個のカルスから不定芽が形成し、不定芽形成率は 1.1%であり(第 2 表)、いずれの区も極めて低い値であった。

第 2 表 *A. tumefaciens* を感染させたカルスからの不定芽形成

接種菌株	接種カルス数	不定芽形成 カルス数	不定芽形成率 (%)
pRI 101 AN(<i>LIMS</i>)/LBA 4404	1659	22	1.3
pRI 101 AN(<i>LIMS</i>)/LBA 4404	2259	24	1.1
非感染	30	28	93.3

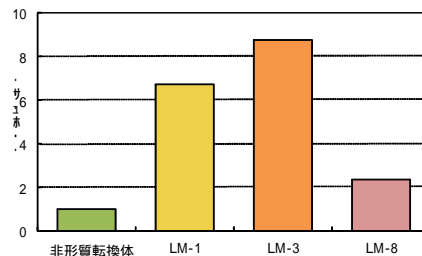
結果として *LIMS* 区および *LIMS* 区でそれぞれ 3 個体が再分化し、いずれの個体も PCR により導入遺伝子が確認された。さらに *LIMS* 区において、*NOSP* と *NPT* の一部を含む DNA 断片をプローブとしてゲノミックサザンブロット分析を行ったところ、すべての個体から導入遺伝子の存在が確認され、1 コピー挿入されていることが明らかとなった。*LIMS* 区で得られた再分化個体を培養室内で約 1 年間栽培し、形質を比較したとき、非形質転換体および他の形質転換系統と比較して LM-3 で節間が著しく詰窮し、矮化していた(第 1 図)。



第 1 図 *LIMS* を導入した形質転換体
A; 非形質転換体, B; LM-1, C; LM-3, D; LM-8

モノテルペン合成酵素の基質となる GPP はジベレリンの前駆体でもある。このため、LM-3 では *LIMS* の強発現によってテルペノイド合成フローに変化が生じた結果、ジベレリン生産量が低下したと推察された。

導入した *LIMS* の発現が精油の生産性および成分比に与える影響を調査するために *LIMS* の発現量の解析と主要な精油成分の定量化を行った。栄養成長期では、いずれの形質転換系統でも非形質転換体と比較して葉の *LIMS* の発現量が増加しており(第 2 図)、それと合わせてリモネン生産量も 2.0~2.7 倍と有意に増加していた(第 3 表)。また、すべての形質転換系統で精油含量が増加していた。形質転換体の *LIMS* 発現量はリモネン含量と相関はなく、精油含量との間に有意な相関が認められた($r=0.96$)。特に、環状モノテルペン化合物である α -ピネン、カンフェンおよびボルネオール量がいずれの個体でも有意に増加していることから、リモネン合成酵素が環状モノテルペン合成酵素として機能していることが推察された。

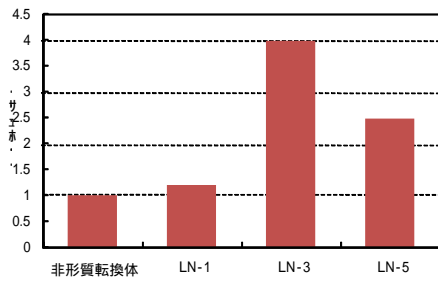


第 2 図 *LIMS* 導入区における葉の *LIMS* の相対発現量

一方、*LIMS* 導入個体でも葉において *LIMS* 発現量の増加が認められ、それとともなってリナロール含量の増加が確認された(第 3 図、第 4 表)。

第3表 LIMS導入個体における葉の精油成分量

化合物	精油成分量(μg/g F.W.) ^{a)}			
	非形質転換体	LM-1	LM-3	LM-8
α-ピネン	57.7 ± 3.2	144.6 ± 20.6**	172.0 ± 28.0*	108.2 ± 11.0*
カンフェン	45.9 ± 3.8	99.8 ± 7.9**	98.9 ± 11.4*	73.0 ± 4.6*
β-ピネン	48.2 ± 4.5	100.1 ± 24.1	150.2 ± 21.7**	68.1 ± 14.6
3-カレン	92.0 ± 10.9	196.7 ± 44.0	197.8 ± 25.1	175.8 ± 48.8
リモネン	55.6 ± 4.5	150.2 ± 19.7**	149.0 ± 15.4**	112.0 ± 18.8*
1,8-シネオール	603.0 ± 33.6	1373.7 ± 256.8*	1985.8 ± 337.8*	883.4 ± 153.7
リナロール	15.7 ± 8.2	206.6 ± 46.2*	36.0 ± 3.4	67.9 ± 23.0
カンファー	623.4 ± 48.5	1565.9 ± 63.9**	17.9 ± 8.6**	1228.8 ± 103.8**
ボルネオール	304.9 ± 72.5	1248.5 ± 77.0**	3085.9 ± 661.1*	1033.0 ± 143.5*
α-テルピネオール	51.9 ± 8.2	162.1 ± 32.4*	235.8 ± 43.8*	108.6 ± 30.0
β-カリオフィレン	16.6 ± 2.8	95.8 ± 9.8**	131.8 ± 34.2*	74.7 ± 25.9
総精油量	1915.3 ± 188.7	5344.0 ± 500.5**	6261.0 ± 1126.3*	3933.4 ± 449.8*



第3図 LIMS導入区における葉のLIMSの相対発現比

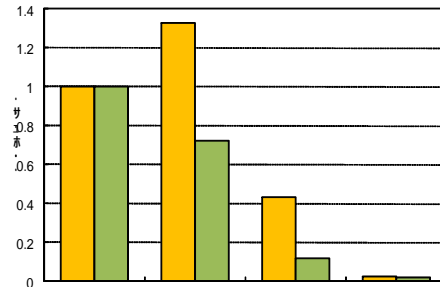
第4表 LIMS導入個体における葉の精油成分量

化合物	精油成分量(μg/g F.W.) ^{a)}			
	非形質転換体	LN-1	LN-3	LN-5
α-ピネン	52.8 ± 6.2	44.3 ± 7.7	64.5 ± 6.8	38.6 ± 5.5
カンフェン	44.0 ± 3.3	29.2 ± 5.0	48.2 ± 4.3	40.9 ± 5.3
β-ピネン	40.3 ± 4.8	33.3 ± 6.2	40.1 ± 6.5	22.7 ± 3.1*
3-カレン	87.1 ± 8.6	60.5 ± 9.6	56.2 ± 11.0	26.1 ± 5.3*
リモネン	50.2 ± 4.0	49.5 ± 9.2	75.3 ± 10.3	48.0 ± 7.4
1,8-シネオール	516.0 ± 55.4	375.8 ± 73.9	531.2 ± 103.0	475.2 ± 51.1
リナロール	9.2 ± 1.7	32.1 ± 7.3*	55.2 ± 13.0*	92.7 ± 10.3*
カンファー	529.8 ± 45.1	308.5 ± 58.8	617.4 ± 124.1	726.4 ± 53.0*
ボルネオール	226.0 ± 8.4	297.2 ± 46.0	448.1 ± 65.8*	977.7 ± 41.4*
α-テルピネオール	38.0 ± 6.8	43.3 ± 8.7	64.6 ± 14.2	46.1 ± 2.9
β-カリオフィレン	11.5 ± 2.3	27.9 ± 5.9	24.7 ± 8.4	33.9 ± 3.2*
合計	1604.7 ± 124.9	1301.6 ± 236.7	2025.5 ± 355.3	2528.2 ± 185.5*

ラバンジン花穂において、葉とは異なる組成の精油を生産する。LIMS導入個体において、春化処理後、花穂を誘導することができたためLIMSが花穂精油の生産性および成分比に与える影響を調査した。花穂ではLM-3およびLM-8において非形質転換体と比較してLIMSの発現量が低下しており(第4図)、リモネンの生産量も減少していた(第5表)。また、すべての形質転換系統で精油量が減少していた。特に、花穂精油の主成分であるリナロールの生産量が非形質転換体と比較して0.1~0.3倍に低下しており、それとともに、リナロールのアセチル化物である酢酸リナリルも有意に減少していた(第5表)。LIMSの発現量を解析したところ、すべての形質転換系統で発現量の低下が確認された(第4図)。すなわち、コサプレッションが花穂で生じていたと考えられた。さらに本研究で用いたLIMSの配列はLIMSと78%もの相同性があり、このことからLIMSがLIMSのコサプレッションにも関与している可能性が推察さ

れた。LM-3では葉精油と同様にカンファアの生産量が減少しており、花穂精油からもソマクロナル変異等によるボルネオール酸化酵素の生産が抑制されていることが示唆された。

上記の結果より、導入遺伝子の発現挙動は器官によって異なり、35Sプロモーターで調節した遺伝子は、本来発現の低い葉では強く発現し、強く発現している花穂ではサプレッションを強く誘導することが明らかとなった。



第4図 LIMS導入個体の花穂における定量的リアルタイムPCR解析

■ LIMS ■ LIMS

第5表 LIMS導入個体における花穂の精油成分量

化合物	精油成分量(μg/g F.W.) ^{a)}			
	非形質転換体	LM-1	LM-3	LM-8
α-ピネン	76.1 ± 2.1	63.5 ± 15.4	41.1 ± 3.3**	69.3 ± 13.2
カンフェン	90.0 ± 0.8	91.9 ± 13.4	60.7 ± 2.9**	89.7 ± 15.2
β-ピネン	80.7 ± 4.4	44.0 ± 12.5	33.0 ± 3.4**	73.1 ± 15.0
リモネン	165.2 ± 5.3	124.4 ± 33.1	63.0 ± 7.9**	104.2 ± 19.8*
1,8-シネオール	1272.9 ± 88.5	925.6 ± 120.0	824.2 ± 26.2**	1137.7 ± 269.2
(E)-オシメン	878.6 ± 109.8	395.1 ± 119.5*	151.4 ± 48.6**	354.6 ± 73.7*
(Z)-オシメン	533.1 ± 44.5	465.9 ± 96.8	146.2 ± 42.7**	422.3 ± 75.9
リナロール	9462.9 ± 401.9	2822.4 ± 629.2**	1763.2 ± 296.6**	1242.8 ± 165.3**
カンファー	1449.8 ± 33.0	1420.3 ± 206.7	139.8 ± 19.0**	989.0 ± 121.9*
ボルネオール	1180.6 ± 63.3	822.7 ± 67.0*	1818.0 ± 135.7*	1139.7 ± 212.0
α-テルピネオール	360.1 ± 49.7	159.7 ± 38.4*	61.7 ± 7.8**	102.1 ± 9.3**
酢酸リナリル	3097.2 ± 353.0	1269.7 ± 209.0*	466.5 ± 93.6**	495.1 ± 96.4**
酢酸ラバンジユリル	263.2 ± 28.3	126.0 ± 25.7	58.3 ± 6.4**	228.5 ± 44.3
β-カリオフィレン	228.4 ± 42.2	130.0 ± 25.3	55.8 ± 13.1*	80.5 ± 20.7**
総精油量	19138.7 ± 882.3	8860.4 ± 1561.6**	5682.9 ± 613.3**	6528.5 ± 1132.0**

以上の結果より、ラベンダーの香調改変を目的とした遺伝解析を行う上での基礎的知見を多く獲得することができた。本研究で得られたSSRマーカーはF₁およびF₂集団における連鎖地図作成に極めて有用であり、遺伝子組換えによる香調改変では、新たに特定の遺伝子を強く発現させるよりも、強く発現している主要な芳香性化合物の生産をサプレッションにより抑制させる方が効果的であることが示唆された。

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7件)

1. M. Tsuru and S. Asada (2014) Differential expression of limonene synthase gene affects production and composition of essential oils in leaf

- and floret of transgenic lavandin (*Lavandula X intermedia* Emeric ex Loisel.). *Plant Biotechnology Reports* 8: 193-201.
2. M. Tsuru, A. Sakuma and M. Mino (2013) In vitro evaluation of small RNA accumulation in chrysanthemum mediated by chrysanthemum stunt viroid. *Environmental Control in Biology* 51: 95-98.
 3. 南山泰宏・古谷規行・稲葉幸司・浅井信一・中澤尚 (2012) 辛味果実の発生しない甘トウガラシ新品種‘京都万願寺2号’の育成. *園芸学研究* 11: 411-416.
 4. Y. Mimura, T. Inoue, Y. Minamiyama and N. Kubo (2012) An SSR-based genetic map of pepper (*Capsicum annuum* L.) serves as an anchor for the alignment of major pepper maps. *Breeding Science* 62: 93-98.
 5. R. Nakatsuji, T. Hashida, N. Matsumoto, M. Tsuru, N. Kubo and M. Hirai (2011) Development of genomic and EST-SSR markers in radish (*Raphanus sativus* L.). *Breeding Science* 61: 413-419.
 6. M. Tsuru and H. Ikedo (2011) Changes in morphological phenotypes and essential oil components in lavandin (*Lavandula X intermedia* Emeric ex Loisel.) transformed with wild-type strains of *Agrobacterium rhizogenes*. *Scientia Horticulturae* 130: 647-652.
 7. 津呂正人・伊藤好恵・森末智美・中尾義則 (2011) ラバンジン葉カルスへのコルヒチン処理による倍加個体の作出とその特性. *園芸学研究* 10: 303-308.
- 〔学会発表〕(計 11 件)
1. 大原健史・津呂正人・吉田久美(2014) アジサイカルスの誘導と花色発現に関わる成分および遺伝子の分析. *園芸学会平成 26 年度春季大会*, 平成 26 年 3 月 29-30 日 (筑波大学)
 2. 大原健史・吉田久美・津呂正人 (2013) アジサイ組織培養カルスの誘導と成分分析. *日本農芸化学会中部支部第 168 回例会*, 平成 25 年 10 月 12 日 (名古屋大学)
 3. 太田恵子・浅田怜志・津呂正人(2013) コルヒチン処理によるローマンカモミール倍加個体の作出. *園芸学会平成 25 年度秋季大会*, 平成 25 年 9 月 21 日 (岩手大学)
 4. 南山泰宏・津呂正人(2013) ラベンダーにおける SSR マーカーの開発とその特性. *園芸学会平成 25 年度秋季大会*, 平成 25 年 9 月 21 日 (岩手大学)
 5. 浅田怜志・津呂正人(2013) リナロール合成酵素遺伝子を導入したラバンジン形質転換体の作出と葉の精油成分. *園芸学会平成 25 年度秋季大会*, 平成 25 年 9 月 20 日 (岩手大学)
 6. 太田恵子・浅田怜志・津呂正人(2013) ラベンダー由来リナロール合成酵素遺伝子を導入したローマンカモミールの作出. *園芸学会平成 25 年度春季大会*, 平成 25 年 3 月 23-24 日 (東京農工大学)
 7. 浅田怜志・津呂正人(2013) リモネン合成酵素遺伝子を導入したラバンジン花穂で見られる精油成分比の変化. *園芸学会平成 25 年度春季大会*, 平成 25 年 3 月 23 日 (東京農工大学)
 8. S. Asada and M. Tsuru (2012) Chemical composition of the leaf essential oils from lavandin transformed with limonene synthase gene. 43rd International Symposium on Essential Oils, 平成 24 年 9 月 6-7 日 (Lisbon, Portugal)
 9. 浅田怜志・津呂正人(2012) リモネン合成酵素遺伝子を導入したラバンジンにおける葉の精油分析. *園芸学会平成 24 年度春季大会*, 平成 24 年 3 月 28 日 (大阪府立大学)
 10. 佐久間敦子・津呂正人・三野眞布(2011) In vitro 培養系を利用したキク矮化ウィロイド(CSVd)の病徴評価. *園芸学会平成 23 年度秋季大会*, 平成 23 年 9 月 25 日 (岡山大学)
 11. 津呂正人・池戸宏之・伊藤奈々・加藤千秋(2011) ラバンジン毛状根からの植物体再分化. 再分化個体の特性. *園芸学会平成 23 年度秋季大会*, 平成 23 年 9 月 25 日 (岡山大学)
- 〔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

津呂 正人 (TSURO MASATO)

名城大学・農学部・准教授

研究者番号：40419774

(2) 研究分担者

南山 康宏 (MINAMIYAMA YASUHIRO)

和歌山大学・教育学部・准教授

研究者番号：00463266

(3) 連携研究者

()

研究者番号：