

平成21年 5月21日現在

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18580064
 研究課題名（和文）植物の重金属ストレスに対する応答システム、特に無害化機構の分子生理学的解析
 研究課題名（英文）Heavy-metal stress response system of plants, especially molecular-physiological analysis of detoxification mechanisms.
 研究代表者
 長谷川 功 (HASEGAWA ISAO)
 日本大学・生物資源科学部・教授
 研究者番号：40218441

研究成果の概要：シロイヌナズナを用い、カドミウム(Cd)処理に伴う硫黄代謝系および各重金属リガンドの生合成系に關与する酵素遺伝子13個の発現量とリガンド生成量について検討したところ、Cd処理濃度で最も高発現している遺伝子は、フィトケラチン(PCs)合成酵素遺伝子(PCS1)であった。システイン合成能を強化した形質転換体ではPCS1遺伝子の高発現と同時にPCs含量が増加し、カドミウムによる生育抑制が顕著に軽減された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	2,000,000	0	2,000,000
2007年度	800,000	240,000	1,040,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,500,000	450,000	3,950,000

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：植物成長・生理、重金属ストレス応答、シロイヌナズナ、カドミウム、フィトケラチン、グルタチオン、システイン、グルタチオン

1. 研究開始当初の背景

増加する人口に見合う安全な農作物の持続的生産は今世紀における最重要課題のひとつである。WHO/FAO合同によるCodex委員会では、食品の安全規格の制定が進められており、米がCd 0.4mgKg^{-1} に制定され、野菜等では $0.05\sim 0.11\text{mgKg}^{-1}$ が制定されつつある。

現在のわが国における土壌の重金属汚染の問題は、未対策の鉱工業跡地などの比較的高濃度ではあるが狭い汚染土壌地域の対策も考えなければならないが、もっと重要なことは、食糧の安全性を考えると農用地のよう

に重金属濃度は比較的低濃度ではあるが広範囲の土壌から重金属を除去する方法であり、今のところ有効な方法は確立されておらず、このままでは前述した農作物のカドミウムに関するCodex規格の遵守が困難となる事態が起こることが予測される。

そこで近年注目されるようになったのが、植物の養分吸収機能を利用し、土壌中の重金属を吸収・除去する技術、すなわちPhytoremediationである。この方法は、コストが少なく済むというだけでなく、重金属を吸収した植物から重金属を回収し再利用することが可能である。

重金属汚染土壌の浄化に用いる植物は、重金属耐性で高集積能が不可欠であり、その分子育種や利用技術開発には、生態学的特性や耐性機構の生理学的解析など基礎的な研究が重要である。しかし、植物に取り込まれた重金属イオンに対して体内代謝系がどのように応答し、体内における無害化物質各々がどのような順番で作られ、どのような役割を果たしているか総合的に解析した研究はほとんどない。

2. 研究の目的

既知の重金属無害化物質はいずれもチオール基を持つシステインとそれを多く含んだ化合物であり、これらは植物の硫黄代謝を経て合成されることから、本研究では、この硫黄代謝系とその産物であるペプチド類の生合成系が、植物体内に取り込まれたカドミウムイオンに対してどのように応答するかを検討することで、植物のカドミウム耐性の発現機構の中で各リガンドの無害化に対する寄与の程度を明らかにすることを目的として研究を行った。しかも、本研究は、チオール基を有する含硫生体分子群、すなわち重金属無害化物質の生体内での動態を中心とした生理学的解析と同時に、それらの生合成に関与する酵素の合成遺伝子の発現量で解析する分子生物学的な手法を、同一植物生体で行ったことを特徴とする。

3. 研究の方法

(1) シロイヌナズナの Cd 処理にともなうイオウ代謝およびチオール基を有する含硫生体分子群の合成酵素遺伝子の発現について

水耕栽培したシロイヌナズナにCd0~50 μ Mを添加し7日間処理した。このシロイヌナズナからRNeasy Plant Mini Kitを用いてRNAの抽出・精製を行った。その後、DNase処理し、一定量を1st strand cDNA synthesis kit for RT-PCR [AMV]²⁺を使用してRT-PCRし、cDNAを合成した。このcDNAを鋳型として各酵素遺伝子用プライマーを用いてPCRし、その増幅量をサイバーグリーン法で定量した。同時に、ハウスキーピングジーンであるアクチン遺伝子のAct8の発現量を測定し、これにより補正した値を各酵素遺伝子の発現量とした。発現量を測定した遺伝子は、ATPスルフィラーゼ (APS1)、APS還元酵素 (APR1, 2)、硫黄還元酵素 (SIR)、セリンアセチルトランスフェラーゼ (Serat2:2)、システイン合成酵素 (OAS1, B, C)、 γ -グルタミルシステイン合成酵素 (GSH1)、グルタチオン合成酵素 (GSH2)、フィトケラチン合成酵素 (PCS1, 2)、メタロチオネイン合成遺伝子 (MT1A) の9つである。

(2) カドミウム処理にともなって発現するタンパク質の分離・同定とカドミウム結合能の確認

シロイヌナズナの栽培およびCd処理は、前項に準じてた。この植物から定法によりタンパク質を抽出しゲル濾過クロマトグラフィー用の試料溶液とした。

Superdex75, 10/300, GL のカラム (10mm \times 300-310mm)に、試料溶液を250 μ l 添加した。50mM Tris-HCl バッファー (pH 7.5) を用いて、流速 0.091ml/min で溶出させ、フラクションコレクターにより、0.5ml ずつ試験管に分取し、分光光度計で波長 254nm の吸光度を測定した。さらに、吸光度測定後の溶出液を原子吸光法により Cd を分析した。

(3) システイン合成能を強化した形質転換シロイヌナズナの作成と導入遺伝子の発現確認

ハウレンソウ由来のシステイン合成酵素 (CSase) 合成遺伝子 *CS3F* (K.Saito *et al.* 1994) を Gateway Technology (Invitrogen) を用いて Binary vector に導入し、pGWB2-CSase を構築した。この pGWB2-CSase を *Agrobacterium tumefaciens* EHA101 に導入し、floral dip 法を用いてシロイヌナズナに感染させ、システイン合成能を強化した形質転換シロイヌナズナを作成した。また、導入遺伝子である *CS3F* の発現確認は次のような方法で行った。

得られたT1植物体からRNeasy Plant Mini Kitを用いてRNAを抽出・精製し、DNase処理した。500ng相当のRNAを1st strand cDNA synthesis kit for RT-PCR [AMV]²⁺を使用してRT-PCRし、cDNAを合成した。このcDNAを鋳型とし、CaMV35S-promoterとNOS-terminator用primerを使用してPCR反応を行った。PCR終了後、1.0% Agarose gel電気泳動、10分間EtBr染色した。形質転換体については、これまでと同様の水耕法によるものと培地plateを用いた方法で行った。まず、水耕法によるCd耐性試験では、非形質転換株と形質転換株について、14日間水耕栽培した両株の水耕液に、Cd処理濃度が50 μ MとなるようにCdCl₂の原液を添加し、6日間処理栽培を行った。

一方、培地plateを用いた試験では、非形質転換株と形質転換株の種子それぞれを滅菌した後、Cd含有培地plateに1枚当たり25粒を無菌播種し、明暗12時間、21°Cで12時間、26°Cで8時間の条件下で約1ヶ月間栽培した。このCd含有培地は、pHを5.8に調整しCd濃度が0, 50, 100, 150, 200 μ MとなるようにCdCl₂で添加した。

(4) システイン合成能強化がカドミウム処理

にともなうフィトケラチンの生合成におよぼす影響

非形質転換および形質転換シロイヌナズナの栽培およびCd処理濃度はCd0、50 μ Mとし、試料の調整やフィトケラチンの抽出およびゲル濾過クロマトグラフィーによるフィトケラチンの分離精製とCd結合能の確認は前項に準じた。

(5) システイン合成能強化がカドミウム処理にともなうフィトケラチン合成系に関する主要な酵素遺伝子の発現におよぼす影響

非形質転換株とシステイン合成能を強化した形質転換株にCd処理したものからRNeasy Plant Mini Kitを用いてRNAの抽出・精製を行った。その後、これまでと同様にシステイン合成酵素(OAS1)、 γ -グルタミルシステイン合成酵素(GSH1)、グルタチオン合成酵素(GSH2)、フィトケラチン合成酵素(PCS1)の4つの遺伝子の発現量を測定した。

4. 研究成果

(1) シロイヌナズナのCd処理にともなうイオウ代謝およびチオール基を有する含硫生体分子群の合成酵素遺伝子の発現について

地上部において、Cd1 μ M処理した時の各酵素遺伝子の発現量は無処理区と比べてほとんど差は見られなかった。しかし、Cd10 μ M処理になると、硫黄代謝系の始めに位置するAPS還元酵素遺伝子APR1、APR2の発現量が約50%抑制されるとともに、フィトケラチン合成酵素遺伝子PCS1の発現量が約2倍に増加していた。一方、明らかに生育が抑制され、クロロシスが発現するCd50 μ M処理では、APS還元酵素(APR1, 2)、硫黄還元酵素(SIR)、セリンアセチルトランスフェラーゼ(Serat2;2)遺伝子の発現量がいずれも約50%減少しており、フィトケラチン合成酵素遺伝子PCS1の発現量のみが約3倍に増加していた。この結果を硫黄代謝系および重金属リガンド生合成系マップ上でシステインを起点として考察すると、Cdが移行・集積される地上部では、集積量が多くなるCd10 μ Mおよび50 μ Mの6日間処理において、硫黄代謝系の上流域にあたるAPS還元酵素や硫黄還元酵素、あるいはo-アセチルセリンの合成に関わる酵素遺伝子の発現が抑制されることが示唆された。その一方で、重金属のリガンドとして無害化機能を有するとされるフィトケラチンは、Cd集積量が多くなるCd10、50 μ M処理で無害化のために、フィトケラチン合成酵素遺伝子の発現が高まったものと考えられる。また、もう一つの重金属リガンドとしてのメタロチオネイン合成遺伝子MT1A

は、Cd処理してもほとんど発現量は変わらず、シロイヌナズナではメタロチオネインは重金属の無害化には機能していないことが示唆された。

一方、根においては、Cd1 μ M処理で γ -グルタミルシステイン合成酵素遺伝子GSH1の発現量が約2倍に増加していたが、それ以外の酵素遺伝子の発現量は無処理区とほぼ同じであった。また、Cd10 μ M処理では地上部と同様に、APS還元酵素遺伝子APR1の発現量は約50%減少していたが、他の各酵素遺伝子の発現量は無処理区と比べて大きな変化は見られなかった。また、有意差があるとは言えないが、根では γ -グルタミルシステイン合成酵素遺伝子やグルタチオン合成酵素遺伝子、フィトケラチン合成酵素遺伝子などが無処理区の約80%程度発現量が増加する傾向が見られた。

このことは、低濃度のCdが取り込まれた根では、その無害化に関与している可能性の高いグルタチオン(GSH)の生合成が活性化されることを意味している。それは、GSHがCdとのチオール化合物形成による無害化のみならず、Cdによる細胞膜を構成するリン脂質の過酸化に対して抗酸化剤としても機能するためと考えている。そして、Cd処理濃度が高い場合、CSase活性が抑制されるために、それを補うために硫黄代謝系のもう一つのKeyとなるAPS還元酵素遺伝子が発現したものと考えられる。根部における硫黄代謝系および重金属リガンド生合成系マップ上でシステインを起点として考察しても地上部のような一定の傾向は認められなかった。

また、APS還元酵素遺伝子APR1とフィトケラチン合成酵素遺伝子PCS2は、templateとなるcDNA量が2ngおよび20ngではほとんど定量することができず、200ngまでtemplate量を増やすと定量が可能となった。実際に、PCS2は、PCS1に比べて地上部、根部ともに発現が弱いという報告があり、本実験においても同様の結果が得られたことから、これら2つの遺伝子については以後の測定を行わないこととした。

また、メタロチオネイン合成遺伝子MT1Aは、地上部・根部ともにCd処理しても発現量の増加は見られなく、シロイヌナズナではメタロチオネインよりもフィトケラチンがCdの無害化に関与していることが示唆された。根部における硫黄代謝系および重金属リガンド生合成系マップ上で地上部と根部の各酵素遺伝子のCd処理にともなう発現の差異を比較すると、明らかに地上部と根部ではCd処理に対する応答が異なっていた。

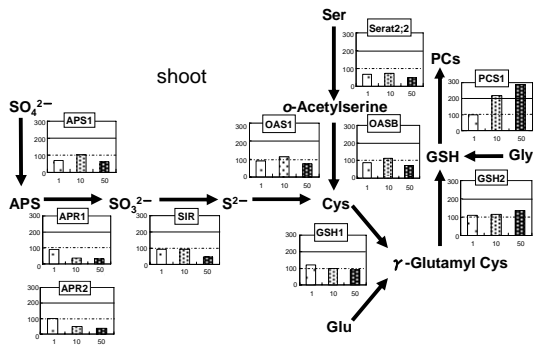


図1. Cd処理にともなうイオウ代謝系酵素遺伝子の発現量

一般的に、植物は重金属処理をした場合、根が先に重金属に接し、それが吸収されて地上部へ転流する。そのため、処理の影響は最初に根に現れ、次いで地上部になることが予想される。そして、重金属含量は、概して地上部より根の方が高いことが多い。このことからすれば、根の各酵素遺伝子への影響が地上部に先立って発現していると考えていたが、結果は逆の様相を示し、根での酵素遺伝子の発現の差異は小さかった。このことから、Cd処理の影響は、1日(24時間)よりも短時間に現れていることが予想されたので、次の実験を実施した。

地上部では、Cd処理後1時間でCd処理濃度に関わらずシステイン合成酵素遺伝子OAS1やグルタチオン合成酵素遺伝子GSH2、フィトケラチン合成酵素遺伝子PCS1の発現量が増加した。中でも、Cd50μM処理することによってGSH2およびPCS1の発現は約6倍にまで高まった。Cd処理後2時間以上が経過しても、これらの両遺伝子は高発現が持続していた。しかし、4時間を経過するとAPS還元酵素APR2の発現量がCdの処理濃度に関係なく抑制され、このAPR2は24時間後に回復した。一方、根ではCd処理後1時間からAPR2とPCS1の発現量が増加し始め、Cd50μM処理においては、Cdの処理時間が長くなるにつれて両遺伝子の発現が顕著に増加した。そして、APR2は12時間後以降になると無処理区との差がなくなったが、PCS1は144時間(6日目)まで高発現が持続した。

そこで、Cd処理後12、24、48、72、96、144時間(6日)の結果と合わせ、Cd処理にともなって発現量が顕著に増加したGSH2の発現量の推移のようにグルタチオン合成酵素遺伝子GSH2は、地上部ではCd処理直後に顕著に高発現するが、24時間以降になると無処理区と大差なくなるが、根部ではCd処理が低濃度の場合は24時間後に、高濃度の場

合はCd処理直後に高まったが、地上部ほど顕著ではなかった。一方、フィトケラチン合成酵素遺伝子PCS1は、地上部・根部ともにCd処理直後から高発現し、それが維持されていた。しかし、生育阻害が現れないCd1μM処理では、144時間経過すると無処理区と同等の発現レベルに低下した。そして、体内Cd含有率が高いCd10μM処理以上になると高発現が維持(Cd10μMの根部を除く)されていたが、その発現パターンにはサイクルがあることが示唆された。

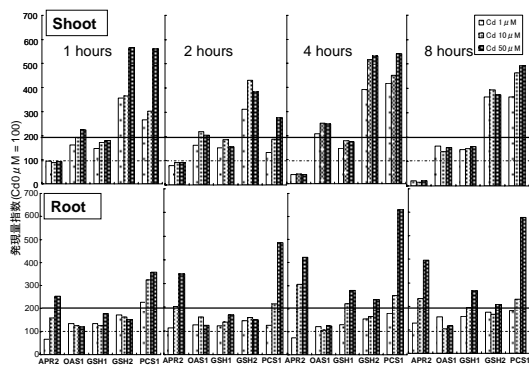


図2. 地上部と根部の対比でみた硫黄代謝および重金属リガンドの生合成に関する酵素遺伝子のCd処理後短時間における発現量の推移

これらのことから、地上部においてはCd処理濃度が高まるにつれて両遺伝子の発現量が高まり、しかも、PCS1はCd処理時間が長く経過しても持続的に高発現していることから、Cdの無害化機構としてフィトケラチンが大きな役割を果たしていることが示唆された。しかし、実際にCd50μM処理するとクロロシスが現れ、生育は大きく阻害されていた。これは、フィトケラチン合成酵素合成遺伝子が高発現しても、その構成成分であるシステインの生合成に関する酵素遺伝子の発現が促進されたり抑制されたりすることで、構成成分であるシステインの供給が一定でないために、タンパク質レベルでのフィトケラチンの生成量が少ないためと考えられる。

(2) カドミウム処理にともなって発現するタンパク質の分離・同定とカドミウム結合能の確認

Cd処理濃度にもなうフィトケラチン生成量の変化をみると、生育があまり阻害されなかったCd1、10μM処理では、8,000Daのピーク高は無処理区とほぼ同じであった。また、明らかに生育が阻害され、クロロシス症状が現れるCd50μM処理でも、8,000Daのピーク高は無処理区およびCd1、10μMと比較して大きな差は見られなかった。

これらのことから、Cd10、50 μ Mではフィトケラチン合成酵素遺伝子の発現量は無処理区と比べて約2倍、3倍に増えるが、フィトケラチンの生成量は無処理区とほぼ同じであった。

また、Cd10 μ Mは体内 Cd 含有率が約 10 μ g/g であり、この Cd 処理濃度まではシロイヌナズナの植物体内で合成されるフィトケラチンで無害化することが可能であるため、生育はあまり阻害されないが、Cd 含有率が約 30 μ g/g にまで増加する Cd50 μ M 処理だと植物体内のフィトケラチンでは完全に無害化することができず、結果としてクロロシス症状が発現したものと考えられる。Cd 処理濃度が高まるにつれてフィトケラチン合成酵素遺伝子の発現量が2倍、3倍と増加していることから、シロイヌナズナは Cd が取り込まれた時、フィトケラチンを合成して無害化するためのシステムが発現していることが明らかである。しかし、この植物では遺伝子の発現量が増加しても、フィトケラチンの構成成分であるシステインの供給が増加しないため、フィトケラチンが合成されないと考えた。

(3) システイン合成能を強化した形質転換シロイヌナズナの作成と導入遺伝子の発現確認

CS3Fの発現を確認したところ、システイン合成能を強化した形質転換株3個体(A;21-39、B;17-35、C;22-43)は、CS3Fが高発現していた。そこで、これらの3個体を用いてCd耐性試験を行った。水耕栽培によるCd耐性試験の結果、非形質転換株はCd50 μ Mを処理することによってクロロシス症状が現れ、明らかに生育が阻害された。しかし、フィトケラチンの構成成分であるシステインの合成能を強化した形質転換株の3lineの内、A;21-39とC;22-43は、生育があまり阻害されず、クロロシスの症状もほとんど発現しなかった。特に、C;22-43のlineは形質転換株の中でCdによる生育阻害が最も小さかった。

一方、培地plateによる試験では、ゲランガムで固化させた培地plate中のCdは、ゲランガムに包埋されているため植物根圏への拡散が少なく、Cd処理の影響が顕著に現れるCd濃度は150 μ M以上であった。Cdを150 μ Mおよびが現れているのに対し、形質転換株はほとんど生育が阻害されず、B;17-35以外はクロロシス症状もあまり見られなかった。また、Cd200 μ M処理すると非形質転換株は明らかに生育が抑制され、本葉が数枚展開した後、枯死した。しかし、形質転換株は若干クロロシス症状が現れている株があ

るものの、生育はほとんど阻害されず、Cd耐性能の向上が見られた。水耕法による結果と同様、培地によるCd耐性試験でも最も生育阻害を受けなかった形質転換株はC;22-43のlineであった。従って、今後の実験は、このC;22-43のlineを用いて行った。



図3. Cd50 μ M 処理したシステイン整合性強化植物の生育(右)

(4) システイン合成能強化がカドミウム処理にともなうフィトケラチンの生合成におよぼす影響

非形質転換株とシステイン合成能を強化した形質転換株について、フィトケラチン含量を測定した結果、Cd50 μ M処理すると、非形質転換株では-SH基の吸収を示す254nmのピークはPCsI (M. W. 8,000Da)だけであるが、システイン合成能を強化した形質転換株にはPCsII (M. W. 30,000Da)のピークが明瞭に現れ、しかもPCsI (M. W. 8,000Da)のピークが減少していた。フィトケラチン(PCs)は、基本化合物構成が γ (Glu-Cys) $_n$ -Glyであり、現在までにnの数が2~11のものが発見されている。このn数が大きいほどシステイン含量の多いフィトケラチンであり、Cdの結合数も多くなる。今回分離したPCsIIの方がn数の多いフィトケラチンである。従って、フィトケラチンの構成成分であるシステインの合成能を高めた形質転換株では、システインが恒常的に作られることによって、フィトケラチン合成酵素遺伝子の高発現に伴ってフィトケラチン合成も高まるが、PCsI (M. W. 8,000Da)よりもCd結合数が多くなる高分子(n数が大きい)のPCsII (M. W. 30,000Da)をより多く合成することが示された。以上のことから、フィトケラチンの生合成系は、システイン供給能が制御因子になっていることを意味し、前項での仮説が正しかったことを証明し得た。

(5) システイン合成能強化がカドミウム処理にともなうフィトケラチン生合成系に関する主要な酵素遺伝子の発現におよぼす影響

非形質転換株とシステイン合成能を強化した形質転換株の各酵素遺伝子の発現量みると、非形質転換株は、Cd50 μ M 処理した時

にフィトケラチン合成遺伝子 PCS1 の発現量のみが顕著に増加したが、システイン合成能を強化した形質転換株は、Cd 無処理でシステイン合成酵素遺伝子 OAS1 は約 2 倍に増えており、グルタチオン合成酵素遺伝子 GSH2 とフィトケラチン合成酵素遺伝子 PCS1 の発現量は約 3 倍に増えていた。この植物に Cd50 μ M で6日間処理を行うことで、グルタチオン合成酵素遺伝子 GSH2 の発現量が3倍に、フィトケラチン合成遺伝子PCS1の発現量が6倍に増加した。

これらの結果を前項の結果と合わせると、非形質転換株のシロイヌナズナに高濃度のCdを処理した場合、フィトケラチン合成酵素遺伝子の発現量が顕著に増加するが、フィトケラチンを構成するシステインの供給がそれに見合うだけ増加しないためにフィトケラチンが合成されず、結果としてクロロシスが現れる。しかし、フィトケラチンを構成するシステインが、フィトケラチン合成酵素遺伝子の高発現にともなって合成されるフィトケラチン量に見合うだけ供給されれば、フィトケラチン含量が増加し、Cdによる生育抑制が顕著に軽減された、と考察できる。

以上の結果、植物のCd無害化機構にはフィトケラチンが大きな役割を果たしており、Cdに対する耐性能はフィトケラチンおよびそれを構成するシステイン合成能力の高低によって表現されているものと考えられる。

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5件)

- 1)長谷川功, 植物におけるカドミウムの吸収・集積および耐性能に関する研究, 土肥誌, 79, 429-432, 2008 (査読有り)
- 2)T.Hosono, T.H.Fukao, K.Inada, R.Tanaka, I.Hasegawa, et al, Alkenyl group is responsible for the disruption of microtubule network formation in human colon cancer cell line HT-29 cells. Carcinogenesis, 29, 1400-1406, 2008 (査読有り)
- 3)K.Tahara, T.Yamanoshita, M.Norisada, I.Hasegawa, et al, Aluminium distribution and reactive oxygen species accumulation in root tips of two Melaleuca trees differing in aluminium resistance, Plant and Soil, 307, 167-178, 2008 (査読有り)
- 4) T. Aizawa, N. B. Ve, K.Kimoto, N. Iwabuchi, H. Sumida, I.Hasegawa, S. Sasaki, T. Tamura, T. Kudo, K. Suzuki, M. Nakajima, and M. Sunairi, *Curtobacterium ammoniigenes* sp. nov., an

ammonia-producing bacterium isolated from plants inhabiting acidic swamps in actual acid sulfate soil areas of Viet Nam., International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 57, 1447-1452, 2007 (査読有り)

- 5)長谷川 功, 植物による環境浄化—ファイトレメディエーション技術開発の現状と今後の課題, 農業および園芸, 82(10), 1053-1061, 2007 (査読有り)

[学会発表] (計5件)

- 1)鈴木彩子, 加島洋亨, 新町文絵, 野口章, 長谷川功, 植物の酸性適応能とリン栄養特性との関係, 日本土壤肥料学会, 平成20年9月9日, 名古屋市立大学
- 2)寶満佳文, 加島洋亨, 田原 恒, 新町文絵, 野口 章, 長谷川功, 強酸性耐性植物のアルミニウム応答特性について, 日本土壤肥料学会, 平成20年9月9日, 名古屋市立大学
- 3)蛭田温子, 渡辺美生, 今泉隆次郎, 青木俊夫, 野口 章, 長谷川功, カドミウムイオンに対する植物のストレス応答機構の解析, 日本土壤肥料学会, 平成19年8月22日, 東京農大
- 4) Atsuko Hiruta, Mio Watanabe, Mai Niikura, Sayuri Kurasako, Hiroyuki Kashima, Fumie Shinmachi, Akira Noguchi, Isao Hasegawa, Functional analysis of thiol compounds involved in sulfur metabolism during cadmium-ion stress in *Arabidopsis thaliana*., Proceedings of 18th World Congress of Soil Science, pp221, 2006
- 5) Hiroyuki Kashima, Hitomi Mase, Fumie Shinmachi, Akira Noguchi, Satohiko Sasaki, Isao Hasegawa, Functional analysis of adaptation of plants to strongly acidic soil., Proceedings of 18th World Congress of Soil Science, pp.220, 2006

[図書] (計1件)

- 1)H.Kashima, F.Shinmachi, A.Noguchi, S.Sasaki, I.Hasegawa, S.Sasaki et al(Eds.) Development of New Bioremediation Systems of Acid Sulfate Soil for Agriculture and Forestry, Shoukadoh Book Sellers, Kyoto, Japan, 93-96, 2008

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長谷川 功 (HASEGAWA ISAO)

日本大学・生物資源科学部・教授

研究者番号: 40218441