分子改良による植林樹木ユーカリの酸性土壌耐性強化戦略

小山博之^{*1}, 河津 哲^{*2}

植物の環境抵抗性を向上させることは、増加する“植物生産物”に対する需要をまかなうための有力な戦略である。ストレス耐性を強化した植物では、単位面積当たりの生産性の向上や耕作不適地の活用による面積の拡大による増産と、在来の生産技術で必要となる栽培環境の改善のために投入する資源やエネルギー量を減少させる効果も期待できる。遺伝子組換えはその有力な方法であり、モデル植物での研究段階から、実用的な植物への応用の段階を向かえている。この分野に対する取り組みは、“食の生産”の主な担い手である草本植物が中心であったが、“植物バイオマス生産”の主役である木本植物に対する研究環境も急速に整備されている。

世界の人口増加や経済成長は、二酸化炭素濃度の上昇やエネルギーの大量消費などの、地球環境に対する負のインパクトを与えている。今後、四半世紀ごとに15億人の人口が増加し、50 ppm 近くの二酸化炭素が増加する。2002年、ハワイ島のマウナロア観測所は、過去10年間の平均増加量を大きく超える年間3 ppmの二酸化炭素濃度の増加を観測した。経済発展を続ける中国は、

すでに大豆の最大の輸入国であり、日本を超える原油の消費国でもある。この状況の中、食料とバイオマス資源を供給する“植物生産”が果たすべき役割はより重要になっている。しかし、それを支える世界の耕地面積は減少傾向であり、生産活動に必要な資源やエネルギーも制約されつつある。少ない資源投入で需要に見合う供給を確保するためには、栽培植物の不良環境での抵抗性を向上させることの意義は大きい^(1,2)。たとえば、土壌の観点から、最も深刻なストレス環境とされる酸性土壌は耕作可能陸地の30%強を占めるが、この土壌では、生産性の維持に多量の石灰（炭酸カルシウム、中和によるアルミニウム（Al）イオンの沈澱除去とカルシウムの供給）とリン酸肥料の投入が必要である⁽³⁻⁵⁾。石灰は二酸化炭素の排出源であるとともに、リンは資源寿命が短い資源である。仮に、植物に酸性土壌障害に対する耐性をもたせることができれば、投入する資源量を少なくして、さらに植物生産に利用できる面積を広げることにも可能となろう。

これまで、環境抵抗性の向上に関する研究は、“食料の安定生産”を担う作物、すなわち草本植物を中心に進められてきた。しかし、バイオマス生産における役割の

Strategies for Improving Growth Performance of Eucalypts in Acid Soil by Genetic Modification
Hiroyuki KOYAMA^{*1}, Tetsu KAWAZU^{*2}, ^{*1}岐阜大学応用生物科学部, ^{*2}王子製紙(株)森林資源研究所

大きさから見ると木本植物の環境抵抗性を向上させることはきわめて重要な意味をもつ。すでに、我が国の多くの企業が海外で産業用材の生産を目的とする事業植林を展開している。ここに導入する樹種には生長性や用材特性などの経済性ととも、環境抵抗性も要求されている⁽⁶⁾。これには、牧場跡地や荒廃した農地などの作物生産に適さない土地を植林地に使用する場合が多いことも背景にある。したがって、それほど生産性が高くない、どちらかといえば不良環境において、経済性の高い樹種を高生長させるといった、相反した問題を同時に解決する必要が生じている。この問題を解決するハードルは高いが、単に事業植林の経済性の点からだけでなく、不良環境を含めた土地資源の有効利用や植生拡大による二酸化炭素の固定量増大の観点からも取り組む意義がある。

ここでは、環境ストレスの中でも酸性土壌に対する耐性強化に関わる研究の現状と植林樹種ユーカリに対する適応例を、その背景を含めて概説する。まず、事業植林におけるユーカリの現状について述べる。

製紙原料としてユーカリは植林されている

我が国の海外産業植林（環境改善を目的になされる環境植林とは区別される）では、広葉樹のユーカリ（*Eucalyptus* spp.）とアカシア（*Acacia* spp.）、および針葉樹のラジアータマツ（*Pinus radiata*）などの生長が早い“早生樹種”が主に使用されている⁽⁷⁾（表1）。植林地は、オセアニア（オーストラリア、ニュージーランド、パプアニューギニア）を中心に、南米（ブラジル、

チリ、エクアドル）、アジア（ベトナム、中国）や南アフリカなど世界中に展開されている。この海外産業植林では、製紙産業向けに占める割合がきわめて高く、ユーカリが最も主要な植林樹種である。それは、ユーカリが早生樹種で生長性が良いことに加えて、製紙産業で好まれるパルプ特性をもつためである⁽⁶⁾。

一般にユーカリと呼ばれるのは、オーストラリアを中心に分布する約500種以上からなるフトモモ科“ユーカリ属”のことである。この中で、製紙産業の事業植林で

表1 ■ 日本企業の海外植林プロジェクト概要

	2002 年末面積 (361.7 千 ha)	計画面積 (493.4 千 ha)
用途別内訳 (%)		
チップ	53.2	66.2
パルプ	42.3	28.4
その他用材	4.5	5.4
国別内訳 (%)		
オーストラリア	29.9	41.4
ニュージーランド	11.9	11.0
パプアニューギニア	6.2	4.9
ブラジル	33.5	22.3
チリ	13.7	12.9
エクアドル	0.5	2.1
中国	0.3	1.2
ベトナム	2.7	2.1
南アフリカ	1.2	2.0
主な樹種 (%)		
ユーカリ	67.1	69.1
ユーカリ・ラジアータマツ	17.1	16.6
ユーカリ・アカシア	3.8	4.2
ラジアータマツ	8.8	6.1
アカシア	3.2	4.1

(社)海外産業植林センター集計値より

図1 ■ ブラジルにおけるユーカリ植林地

ユーカリ交雑種（*Eucalyptus grandis* × *urophylla*）は優れた生長特性をもっている。3.4年生の林分（左）、樹高は20 mを越えている。生長性と容積重が大きい（つまり密度の高い）個体からクローン増殖を行ない、以後の生産性の向上を図る。右は、単木で幹材積生長量75 m³/ha/年を越えるユーカリ交雑種の精英樹候補

は、パルプ用材特性が優れたグロブラス種、パルプ特性には問題はあるが環境適応能力が高いカマルドレンシス種の他に、種間交雑種などが用いられている。南米の植林地では原産国オーストラリアよりも生長が良いケースが多く、概ね $16\sim 25\text{ m}^3/\text{ha}/\text{年}$ の生産性が報告されている⁽⁷⁾。とりわけ、生長性がきわめて高い「スーパーツリー」と呼ばれる種間交雑種 *E. grandis* × *urophylla* を用いる植林地では、7年の輪伐期で $40\text{ m}^3/\text{ha}/\text{年}$ を越す生産性を確保している。これは、生産性が高いことで知られるチリや南ア共和国の2倍である⁽⁸⁾。ちなみに、日本で生長が早いスギの幹材積生長量は $5\sim 8\text{ m}^3/\text{ha}/\text{年}$ にすぎない。この「スーパーツリー」は、ブラジルの企業が1970年代に胴枯病 (stem canker) に対する抵抗性の向上を目的として作製したオーストラリア原産樹種の交配系統から、さらにパルプ用材特性と生長性を考慮して選抜したものである。オーストラリアでは両樹種の自然植生が離れているため、この種間交雑種は天然には存在しなかったが、偶然にも素晴らしい組合せが見つかったわけである。しかし、種間交雑であることから、優れた特性を示す個体 (“精鋭樹”) は挿し木による増殖が必要であり、クローン植林技術の確立により生産性はめざましく向上した⁽⁹⁾ (図1)。種間交雑種の中には幹材積生長量 $75\text{ m}^3/\text{ha}/\text{年}$ という驚異的な能力を示した例も報告されているが、その栽培には草本の場合と同様な施肥管理も必要となる。また、この樹種は高生長性ゆえに環境ストレスの影響を受けやすいため、土壌ストレスや乾燥ストレスにより、近隣の植林地間でも大きな生育差が認められることも多い。したがって、環境抵抗性を向上さ

せることが安定生産の鍵と考えられる。

ユーカリにおける分子改良研究基盤は急速に整備されている

従来、植林木の生産性の改良は、基本的に植林現場における地道ともいえる育種技術によってなされてきた。しかし近年、遺伝子組換え技術などが開発され、ユーカリでも草本と同様な分子改良を実施することは可能である。遺伝子組換えによる育種、すなわち分子改良では効率的な遺伝子組換え系の構築が前提となる。今ではモデル植物の一つとして扱われるイネも、我が国の研究者が物理的な手法で遺伝子導入に成功したのに引き続き⁽¹⁰⁾、汎用性の高いアグロバクテリウム法を開発したことが契機となっている⁽¹¹⁾。ユーカリでも、近年、アグロバクテリウムを用いた高効率の遺伝子組換え系が構築された。

ユーカリへの遺伝子導入のネックは、遺伝子導入を行なう段階もさることながら、再分化個体を獲得するステップにあった。これは生長点培養の着想を取り入れた、苗条原基法の開発により解決された。苗条原基 (shoot primordium) とは、茎頂などの分裂組織を液体培地で回転培養することで得られる瘤状の継代培養が可能な細胞集塊である。この状態では植物ホルモンを制御することで、多数の苗条に一齐に分化させることが可能である⁽¹²⁾。この技術開発により、クローン増殖、細胞融合、体細胞変異作出に道が開かれた。さらに、茎頂分裂組織からは早生分枝 (precocious branches) と呼ぶ多芽体も得られる。遺伝子をこの早生分枝に導入することによ

図2 ■ ユーカリの組織培養技術

組織培養技術はカルス経由でクローン増殖を行なう苗条原基法と多芽体経由でクローン増殖する早生分枝法がある。早生分枝はアグロバクテリウム法による遺伝子導入の優れた母材料となり、複数のユーカリ樹種の早生分枝から得られた形質転換カルスは、苗条原基形成を経由して効率的に形質転換植物体が獲得できる。

図3 ■酸性土壌での生育障害

左の写真は南アフリカの酸性土壌での栽培試験風景である。10 t/haの石灰を投入してある写真奥では多くの作物が通常の生育を示すが、無石灰の手前では枯死している。手前まで生育している、一見雑草に見える植物は、エチオピアで主食とされているテフである。一方、酸性土壌での生育には種内に耐性差が存在する。シロイヌナズナ(右の写真)のCol(右)とLer(左)は酸性土壌で育てると生育が大きく異なる。ここでは、上の処理区ほど石灰の投入量が多い。

り、最短6カ月で組換え体を獲得することができる。ところで、組織の若返り(juvenilization)技術を用いれば、成木由来の組織にも遺伝子組換えが可能である⁽¹³⁾。これにより、植林地で選ばれた“精鋭樹”に対する遺伝子導入も可能な実用的な遺伝子組換え技術が確立された(図2)。さらに、ユーカリではゲノム科学時代に対応した研究基盤も整備されている。遺伝資源の収集・譲渡体制の確立(Australian Tree Seed Centre: <http://www.ffp.csiro.au/tigr/atscmain/>)やEST解析が進められるとともに、全ゲノムのシークエンスプロジェクトも検討されている。

以上の状況から、草本と同様な着想で、ユーカリの環境抵抗性を向上させることは技術的に可能と考えられる。次の項からは、植林樹種の難溶性リン酸利用能力を中心とする酸性土壌耐性を強化する試みについて述べる。

酸性土壌ストレスは複合的な生育阻害ストレスである

酸性土壌は世界の耕作地として利用可能な陸地面積の30%強を占めるが、生産性を維持するためには多量の石灰やリンを投入する必要がある。つまり、ユーカリが植林される温帯～熱帯域に広く分布する酸性土壌では、カルシウムやマグネシウムが溶脱により欠乏し、さらに根の伸長を阻害するAlイオンが可溶化する⁽¹⁴⁾。この種の土壌では、植物の第二生育制限因子であるリン酸は⁽¹⁵⁾、Alと難溶性のリン酸塩を生成することにより施肥効果が低くなる。リンは農業が最も主要な消費産業であるが、資源寿命が短いことでも知られ、酸性土壌でのリンの利用効率を上げることは持続的な植物生産の観点からも意義がある。

図3に示した南アフリカ共和国の例では、生産性の維

持には1 ha当たり10 tの石灰投入が必要であり、毎年その10%を追加投入する必要があるという。世界規模での削減は、資源・エネルギーの効率的利用の点から考えて貢献は大きい。ところで、図に見られるような無石灰区での枯れ上がりは、“根の生育不良”によるものである。この“根の生育不良”は、主にAlイオンにより根端の分裂伸長領域をターゲットとして生じる。その結果、植物は乾燥した時期に十分な水分を吸収するために必要な根圏域を確保することができず、旱魃期には致命的な減収がもたらされる。一方、種間・種内には酸性土壌耐性に大きな差が存在することが知られている。たとえば、シロイヌナズナの代表的なアクセッション(品種に相当する)であるLerは感受性で、Colは耐性である。このような耐性差の機構を分子レベルで解明することは、酸性土壌耐性を遺伝子組換えにより強化するための前提である。

Alストレス耐性の分子機構研究の最近の進展

Alストレスは、Alイオン過剰害と難溶性リン酸の生成によるリン酸欠乏から構成されるが、土壌中では不可分である。しかし、実験室では両者を区別した解析が進められ、耐性機構が分子レベルで明らかにされつつある。両者に共通して言えることは、複数遺伝子が支配する“耐性機構群”により耐性が構成されていることである。たとえば、イネやシロイヌナズナなどで行なわれたAl耐性に関するQTL(Quantitative Traits Loci)解析*では、複数の遺伝子によりAl耐性が支配されるこ

*QTL: 有用形質の多くは、作用・効果が異なる複数の遺伝子により制御される量的形質(quantitative traits)である。QTL解析では、それを支配する遺伝子座群(loci)の染色体上の位置と効果を推定することができる。そのため、ゲノム科学研究に対応する重要な遺伝学的手法と考えられている。

図 4 ■ アルミニウムストレス耐性機構

アルミニウムは根の伸長を阻害すると同時に、リン酸と難溶性のリン酸アルミニウムを生成し、リン酸欠乏をもたらす。Al 耐性には内部の耐性と排除機構が存在し、リン酸欠乏に対しては難溶性リン酸を可溶化する機構が存在する。

図 5 ■ 有機酸放出の分子機構

有機酸放出は細胞膜の有機酸輸送と代謝に関連する。クエン酸とリンゴ酸が主な有機酸である。両者は、特異性の高い細胞膜上のトランスポーターで輸送される。クエン酸の集積には、合成経路の酵素活性の増加と分解系の活性の低下が関与する。太字で示したものは、遺伝子組換えにより有機酸放出の改善が認められた分子を示している。Aco：アコニターゼ、ALMT1：リンゴ酸トランスポーター、CS：クエン酸合成酵素、ICDH：イソクエン酸デヒドロゲナーゼ、MDH：リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、PEPCase：ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ、PK：ピルビン酸キナーゼ

とが示され^(16,17)、低リン酸耐性植物は異なるリン酸獲得機構を併わせもつことが明らかになっている⁽¹⁸⁾(図 4)。

Al イオンによる根の伸長阻害は分裂・伸長組織細胞において、細胞外では細胞膜・細胞壁の伸展性の低下が、細胞内部では活性酸素種⁽¹⁹⁾の生成やシグナル伝達の攪

乱されることが原因と考えられている⁽³⁾。Al 耐性とは細胞内部もしくは外部のリガンドへの Al の到達を防ぐか、過酸化などの Al によって引き起こされる障害を軽減する機構である。これらは働く場の違いにより“内部耐性機構 (internal Al tolerant mechanisms)”と“Al

排除機構 (Al exclusion mechanisms)” に大別されている。両者に関わるいくつかの遺伝子に関しては、遺伝子組換えにより耐性を強化できることが示されている。

一方、土壤中でのリン酸の不可給態化は、Al などと反応して無機態の難溶性リンとして固定されるのと同時に、有機態の難溶性リンの生成によっても生じる。両者を可溶化する機構はそれぞれ別であるが、難溶性リン酸の利用効率の高い植物は両者を可溶化する機構を併わせもっている。たとえば、低リン土壤に適応できる植物であるシロバナルーピン (*Lupinus albus* L.) はリン酸欠乏状態で、試験管ブラシ状の根 (クラスター根もしくはプロテオイド根と呼ばれる) を形成する。この根からは、有機酸やホスファターゼを分泌する。有機酸は、難溶性無機態リンを可溶化し、ホスファターゼは難溶性有機態リンを可溶化する⁽¹⁸⁾。両者は補完的に、土壤中の難溶性リンプールからのリン酸吸収を向上させている。麴カビ由来のフィターゼ (植物の貯蔵態の難溶性リン酸で、土壤中でも分解されにくいフィチン酸からリン酸を遊離させる酵素) の過剰発現体⁽²⁰⁾ や、有機酸代謝の改変により難溶性リン酸の利用効率を向上させた植物が作出されている⁽²¹⁾。ユーカリの Al 耐性や低リン酸耐性を強化することも、技術的には可能な状況となっている。次の項では、ユーカリにおける酸性土壤耐性の分子改良の実施例について述べる。

有機酸代謝改変ユーカリの作出

根端からの有機酸放出は、Al 耐性⁽²²⁾ と低リン酸耐性⁽¹⁸⁾ に共通する耐性機構である。この形質は、“Al 耐性に関して最も実現性が高い分子改良ターゲットである”と、90 年代中盤には提唱されていた⁽²³⁾。放出する有機酸の種類は植物種により異なり、Al 刺激による迅速な放出と、長期のリン酸欠乏処理による誘導的な放出の 2 種類に大別される。これには、細胞膜上の有機酸輸送体と細胞内部での有機酸の代謝が関わっている (図 5)。有機酸放出には細胞膜上の有機酸輸送タンパク質 (アニオンチャネルと考えられている) が必須であるが、有機酸に対する特異性および Al 刺激に対する応答の有無が異なる分子種が存在すると考えられている。このうち、コムギの Al 刺激型のリンゴ酸放出に関しては、near isogenic line (1 遺伝子座だけが異なる系統) を用いた解析から、リンゴ酸トランスポーター遺伝子 (*ALMT1*) が単離された⁽²⁴⁾、過剰発現により Al 耐性ができることが確かめられた。一方、リン酸欠乏により有機酸の放出量が増加する現象も多くの植物で認められ

るが、これには有機酸代謝の変動も関与していると考えられている。前述のシロバナルーピンのクラスター根の組織では、クエン酸の合成・分解のバランスが他の根組織と異なり、クエン酸が蓄積するように変化している。これには、基質供給を含むクエン酸合成系の活性増加と、細胞質でのクエン酸分解系の活性低下が関与している。このパターンはクエン酸放出能力が高くリン酸アルミニウムを利用できる変異ニンジン細胞や、柑橘類がクエン酸を果実に蓄積する過程でも認められている⁽²⁵⁾。

有機酸代謝に関する遺伝子組換え体は、クエン酸やリンゴ酸の合成量を増加させる着想で作製され、複数の植物で Al 耐性や難溶性無機リンの利用能力の改善が報告されている。この着想を、ユーカリ交雑種に適用した例を次に示す。

ニンジン由来のミトコンドリア局在のクエン酸合成酵素をユーカリ交雑種 (*Eucalyptus grandis* × *urophylla*) GUT5 で過剰発現させ、通常レベルの 2~3 倍のクエン酸合成酵素活性をもつ植物体を作製した。根でクエン酸合成酵素活性が最も増加していた組換え体は、非組換え体に比較して根からのクエン酸放出量がおよそ 1.5 倍に増加していた。この個体を、交換性 Al を含みリン酸を

図 6 ■ クエン酸代謝改変ユーカリの酸性土壌での根の発達
事業植林に用いられているユーカリ交雑種 (GUT5) にミトコンドリア局在のクエン酸合成酵素 (CS) を過剰発現させると、根のクエン酸放出能力がわずかではあるが向上した。この組換え体は、交換性 Al を含みリンの吸着能力も高い酸性土壌で、非組換え体に比較して根の生育量が増加した。

吸着しやすい酸性土壌で栽培したところ、地上部のリン含量、生育ともに20%程度の改善が認められた。個体間差が大きいと、統計的に有意であることを示すに至っていないが、特徴的なのは図6に示すように根量が増加していることである。この形質により、リンの獲得のみならず他の養分の吸収にも貢献することが期待できる。なお、細胞膜の有機酸輸送タンパク質遺伝子を共導入することが、飛躍的にクエン酸放出能力を高めるために必須と考えるが、クエン酸輸送タンパク質の遺伝子は今のところ特定されていない。今後は、この未知の遺伝子を含め、Al耐性や低リン酸ストレスに関連するいくつかの遺伝子を多重導入することで、機能性の面からの改良が進むことが期待できる。

*

以上述べたように、植林樹種であるユーカリでは、草本と同様な着想で形質を改良する技術的な基盤は確立されている。実際には、事業植林で組換え体を使用するためには、さまざまな問題が残されている。たとえば、木本は他殖性であり草本に比較して花粉の飛散距離も長い。ため、遺伝子拡散防止に関するより厳密な配慮が必要である。これには、雄性不稔系統を母本として組換え、既存のクローン増殖技術を組み合わせることが効果的であると考えられる。このような安全性の向上や、パブリックアクセプタンスの獲得が必要なのは、草本の遺伝子組換えと同等である。また、半乾燥地などの不良環境における植林では、その地域・土壌条件での水収支も考慮した永続的な栽培技術を確認することも重要である。

これまででもいろいろな場で、遺伝子組換えと植物の生産性向上に関する議論がなされてきた。この議論の多くは、食料生産の立場から、すなわち草本の立場で進められたものである。これに関しては、さまざまな機会に度々来日して講演しているEarth Policy Instituteのレスター・ブラウン博士のグループの著書（地球環境白書シリーズ）にわかりやすく解説されている。そこでは、耕地面積の増加はすでに限界であり、他の用途への転用などにより減少傾向にあること、水資源を含むさまざまな生産資材の不足が予想されることから、さらに生産性を向上させることはこれまで以上の困難を伴うと結論している。ユーカリなどの事業植林は、食料生産を行なう耕地よりも、さらに環境ストレスが現われやすい場所で展開されることが多いことから、生産性を向上させるた

めには同様な困難が伴うと考えられる。ところで氏は、「新しいテクノロジーである遺伝子組換えは、植物の生産性が頭打ちになっている現状を打破するものと期待されて久しいが、必ずしも貢献できていない」と指摘している。これには、必ずしも同意できないが、植物科学領域の研究成果が実学に結びつくか否かの正念場を迎えていることは確かである。

文献

- 1) 柴田大輔：土肥誌，71，733（2000）。
- 2) レスター・ブラウン：“飢餓の根絶を目指して，地球白書2001-2002”，家の光協会，2001，p.71。
- 3) H. Matsumoto：International Rev. Cytol.，200，1（2000）。
- 4) 田中 明：“酸性土壌とその農業利用——特に熱帯における現状と将来”，博友社，1984，p.259。
- 5) 加藤秀正：“低pH土壌と植物”，博友社，1994，p.123。
- 6) 河津 哲，小山博之：バイオインダストリー，19，28（2002）。
- 7) FAO：（http://www.fao.org）“The global outlook for future wood supply from forest plantations”，Roma（2000）。
- 8) マイケル・B・ジェンキンス，エミリー・T・スミス：“森林ビジネス革命”，築地書館，2002，p.225。
- 9) K. Eldridge，J. Davidson，C. Harwood & G. van Wyk：“Eucalypt Breeding and Domestication”，Oxford University Press，Oxford，1993，p.288。
- 10) K. Shimamoto，R. Terada，T. Izawa & H. Fujimoto：Nature，338，6212（1992）。
- 11) Y. Hiei，S. Ohta，T. Komari & T. Kumashiro：Plant J.，6，271（1994）。
- 12) K. Ito，K. Doi，Y. Tatemichi & M. Shibata：Plant Cell Rep.，16，42（1996）。
- 13) T. Kawazu，K. Doi & K. Kondo：United States Patent，US 6,563,024 B1（2003）。
- 14) 井上克弘，森 敏：“低pH土壌と植物”，博友社，1994，p.3。
- 15) 三村徹郎：“植物の環境応答 生存戦略とその応答機構”，植物細胞工学別冊11，秀潤社，1999，p.191。
- 16) Y. Kobayashi & H. Koyama：Plant Cell Physiol.，43，1526（2002）。
- 17) J.F. Ma & J. Furukawa：J. Inorg. Biochem.，97，46（2003）。
- 18) G. Neumann，A. Massonneau，E. Martinoia & V. Roemheld：Planta，208，373（1999）。
- 19) Y. Yamamoto，Y. Kobayashi，R.S. Devi，S. Rikiishi & H. Matsumoto：Plant Physiol.，128，63（2002）。
- 20) A.E. Richardson，P.A. Hadobas & J.E. Hayes：Plant J.，25，641（2001）。
- 21) H. Koyama，A. Kawamura，T. Kihara，T. Hara，E. Takita & D. Shibata：Plant Cell Physiol.，41，1030（2000）。
- 22) J.F. Ma，P.R. Ryan & E. Delhaize：Trends Plant Sci.，6，273（2001）。
- 23) L.V. Kochian：Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.，46，237（1995）。
- 24) T. Sasaki，Y. Yamamoto，B. Ezaki，M. Katsuhara，S.J. Ahn，P.R. Ryan，E. Delhaize & H. Matsumoto：Plant J.，37，645（2004）。
- 25) 小山博之：化学と生物，40，78（2002）。