

青枯病抵抗性選抜トマト系統の果実特性試験と養液栽培における 青枯病抵抗性検定法の確立

備後美紀*・豊田秀吉*・松田克礼**・道後充恵*・加藤靖也*・直木優子*・大内成志***

Evaluation of fruit qualities in self-pollinated progenies of tomato
callus-derived bacterial wilt resistant lines and establishment of the method
for evaluating bacterial wilt resistance in hydroponic culture.

Miki BINGO, Hideyoshi TOYODA, Yoshinori, MATSUDA, Mitsue DOGO, Yasunari
KATO, Yuko NAOKI and Seiji OUCHI

Synopsis

In this study, fruit qualities of the bacterial wilt-resistant tomato line (LNSR-7) were evaluated in order to breed a new commercial cultivar. Additionally, the method for inoculating the bacterial wilt pathogen into tomato plants was examined using a hydroponic culture system. First, self-pollinated plants (R0-R8) of the resistant line were cultivated in the field and examined for their growth, plant appearance, and fruit productivities and qualities. All of tested tomato lines grew similarly to those of commercial cultivars used as control, and some progenies were found superior in plant appearance, fruit shape, and brix than the control cultivars. In the present study, four progenies (R6-37, R7-05, 21 and R8-23) were finally selected as resistant tomato plants with superior commercial characteristics. In the second experiment, the hydroponic culture method was adopted for achieving an effective inoculation of the pathogenic bacterium *Ralstonia solanacearum* (*Pseudomonas solanacearum*). The density (10^6 - 10^8 cells/ml) of the pathogen inoculated into a hydroponic culture solution was stably maintained during the entire periods of experiment and was shown to be enough to cause the wilting in all of tested tomato plants within 9 days after inoculation. Thus, the present study revealed an effective isolation and utilization of useful somaclonal variations for producing bacterial wilt-resistant tomato plants with high commercial characteristics, and established an effective inoculation method of the bacterial wilt pathogen for rapidly evaluating the resistance of selected tomato plants.

I 緒言

植物細胞は全能性 (totipotency) を有するため、いずれの組織・器官であっても適切な条件で培養することによって、培養細胞から完全な植物体を再生することが可能である。このような細胞・組織培養の過程では、遺伝

子突然変異や染色体異常に基づく遺伝的変異、いわゆる体細胞変異 (somaclonal variation)^{3,7)} が生じることが知られており、細胞工学技術を利用した突然変異育種法として、病害抵抗性品種などの優良系統の育成に応用されている^{2,15)}。

ナス科植物の青枯病は、*Ralstonia solanacearum*

* 農学部農学科 (Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kinki University, Nara 631, Japan)

** 農学総合研究所 (Institute for Comprehensive Agricultural Sciences, Kinki University, Nara 631, Japan)

*** 農学部農学科・農学総合研究所 (Department of Agronomy, Faculty of Agriculture and Institute for Comprehensive Agricultural Sciences, Kinki University, Nara 631, Japan)

(*Pseudomonas solanacearum*) によって引き起こされる細菌性導管病であって、いったん発生するとその防除が極めて困難であるため、最も重要な土壌病害の1つとされている¹⁹⁾。本病害の防除法としては、抵抗性品種の導入が考えられるが、特にトマトなどの果菜類においては、良質・多収を合わせもつ実用的な抵抗性品種は育成されていない。筆者らの研究室では、葉外植片由来の再生体後代を用いてトマト品種福寿2号から青枯病抵抗性系統を選抜し¹⁸⁾、得られた選抜系統については青枯病菌汚染圃場を利用した後代検定を行ってきた^{16,17)}。本研究では、その一環として、通常の露地栽培条件下における抵抗性選抜系統および市販の栽培品種の生育調査と得られた果実の品質特性について検討した。

一方、養液栽培は連作による塩類集積や土壌病害の回避、高品質化、装置化・システム化による生産性の向上を目的として普及してきた。なかでも、トマトは土耕以上の収量が得られ、果実の充実度や食味における品質評価も高いことから養液栽培の主要作物となっている¹¹⁾。しかしながら、いったん病原菌が侵入すると、水耕液中には病原菌を抑制する他の微生物相が少なく、また、水耕液が循環しているため急速に伝搬され、甚大な被害をもたらすことになる^{9,10)}。トマト青枯病もその1例であって、水耕栽培における多大な被害が報告されている¹⁴⁾。そこで、本研究では、養液栽培のなかでも湛液型水耕栽培に青枯病抵抗性選抜系統を導入するための基礎的実験を行うこととした。

II. 材料と方法

1. 抵抗性選抜系統の圃場栽培試験

1) 使用品種

本研究には、筆者らの研究室で選抜したトマト (*Lycopersicon esculentum*) 品種福寿2号由来の自殖第5世代から第8世代までの青枯病抵抗性選抜系統 (LNSR-7系統)^{16,18)} のなかから選んだ19系統 (82株) および対照品種として市販のトマトの栽培品種10品種 (65株) を用いた。それらをTable 1に示す。

Table 1. Tomato plant lines and cultivars used in the present study

	No. of tested plants
Resistant lines (LNSR-7)	
R5	5
R6-05	4
06	4
12	6
17	5
25	5
32	2
37	5
42	1
51	1
R7-01	5
05	6
21	5
31	6
33	1
R8-02	6
19	7
20	4
23	5
Commercial cultivars	
Ponderosa	6
Momotaro	7
Zulei	7
Kyoryokubeju	7
K70	7
Hokinshukuju	8
POMODORO ACE DA INSALATA	6
POMODORO DA INVERNO A GRAPPOLI	7
Red pair	7
Yellow pair	9

2) 幼苗の育成

温室シャーレ内の濾紙上にトマト種子を播種し、30℃の人工気象器内で発芽させた苗をバーミキュライトを入れた丸型ビニールポットへ移植し、25℃農学部実験農場加温ガラス温室内で1ヶ月間育苗した。

3) 圃場定植後の栽培管理

上記の方法で栽培したトマト苗を農学部実験圃場 (畝の幅90cm、高さ30cm、畝間70cm) に定植し、その後は慣行に従って栽培管理を行った。すなわち、第1花房は切除し、第4花房が形成された時点で、その上位2葉を残して摘芯し、以後果実収穫まで栽培した。また、施肥料については基肥と追肥を適宜行った。

4) 抵抗性選抜系統の草姿検定

茎葉の繁茂状況や全体的な育成バランス、各花房における果実の着生状態や果形などを調べ、以下のような草姿指数を定め、総合評

価を行った。

指数0：草姿が著しく弱く、また生長点が欠失しており、ほとんどが奇形果でそろいが悪く実用性が全く認められない個体

指数1：草勢が弱く、また奇形果が多く実用性のない個体

指数2：指数1よりも草勢および果形が優れ、やや実用性が認められる個体

指数3：草勢および着果状態が安定し、奇形果が少なく実用性が認められる個体

指数4：受光体制に優れ、草勢は安定し、果形も均一であって実用性の高い個体

5) 果実の品質特性検定

上記の方法で栽培したトマトについて、収穫した完熟果実の品質特性検定を行った。すなわち、検定項目は、果実の大きさ（縦長・横長）、重量および糖度（Brix値）とした。なお、糖度は糖度計（アタゴ社製N1型手持屈折計）を用いて測定した。

2. トマトの水耕栽培と青枯病菌の接種試験

1) 使用品種ならびに水耕液

本研究では、トマト品種ボンデローザを用いた。水耕液には、トマト栽培用に開発され、現在広く使用されている山崎トマト処方^{13,20)}を適用した。その組成をTable 2に示す。

Table 2. Yamazaki's tomato nutrient solution used for hydroponic culture of tomato plants

Components	Concentrations(g/kl)
KNO ₃	400.0
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	356.25
MgSO ₄ · 7H ₂ O	250.0
NH ₄ H ₂ PO ₄	77.5
Fe · EDTA	24.0
H ₃ BO ₃	3.0
MnSO ₄ · 4H ₂ O	2.0

2) 栽培条件の検討

水耕装置には、湛液型水耕装置ハイポニカ302（協和社製）を用いた。まず、上記の方法で発芽させたトマト種子を、切れ込みのあるウレタンブロックに埋め込み、25℃ガラス温室内の育苗用トレー（3.0cm×3.0cm）で育成した。その後、子葉が完全に展開し、本葉が1~2枚展開した時点で水耕に移した。なお、水耕液の液温は28℃、pHは6.0~6.5、電気伝導度（EC）は1.2mS/cmに設定した。

3) 青枯病菌接種試験

a. 青枯病菌の調製

青枯病菌（*Ralstonia solanacearum* K-101株）をPCG液体培地（10gペプトン、1gカザミノ酸および10gグルコースを1ℓの水に溶解した培地）に植菌し、30℃で一晩振盪培養した。培養した青枯病菌は遠心分離（10,000×g、10分、20℃）で集菌し、滅菌水で希釈して接種源とした。

b. 水耕液からの青枯病菌の分離と菌数の測定

青枯病菌を10⁴、10⁶、10⁸細菌/mlとなるように水耕液に加え、30℃で振盪した後、経時的に菌数を測定した。すなわち、水耕液を24時間ごとに採取し、希釈液をTZC[®] 固形培地（上記のPCG培地に50mg/ml塩化トリフェニルテトラゾリウムを1ml添加した培地）上に塗抹して、得られたコロニー数から水耕液中の青枯病菌密度を算出した。

c. 接種試験

上記の栽培法により、第6節葉まで生育させた罹病性トマト（品種ボンデローザ）を用い、接種試験を行った。すなわち、PCG液体培地で振盪培養した青枯病菌を最終菌密度10⁴、10⁶、10⁸細菌/mlとなるように水耕液に加え、トマトの発病状況を接種後14日目まで調査した。

Ⅲ. 結果および考察

筆者らの研究室では、これまで体細胞変異選抜法を用いて、トマト品種福寿2号から青枯病抵抗性系統を選抜し¹⁰⁾、神奈川県園芸試

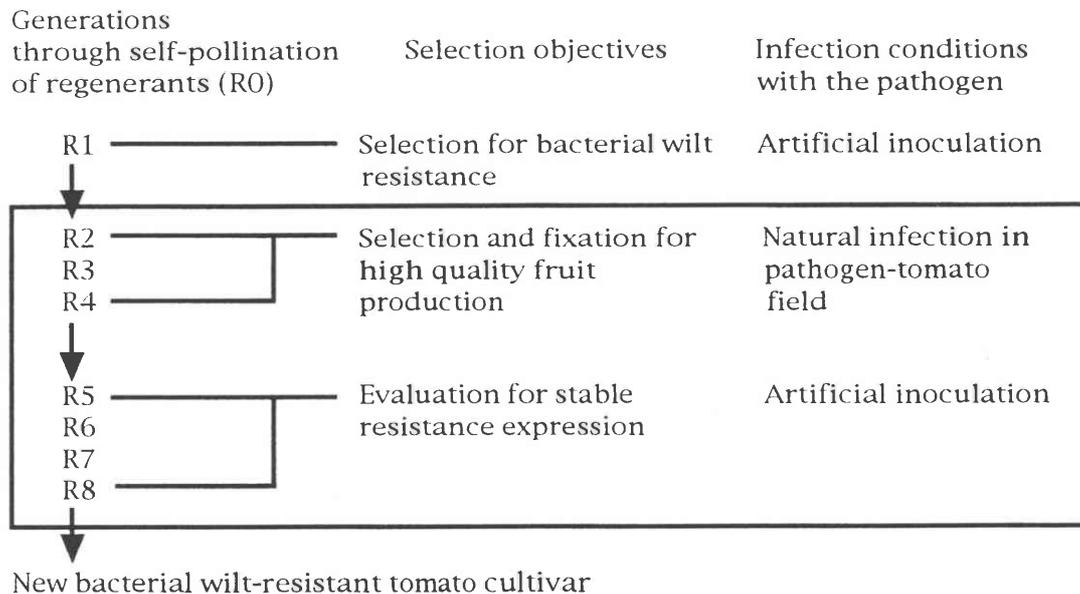


Fig. 1. Breeding program for selection and fixation of fruit productivity and bacterial wilt resistance in the isolated tomato line LNSR-7.

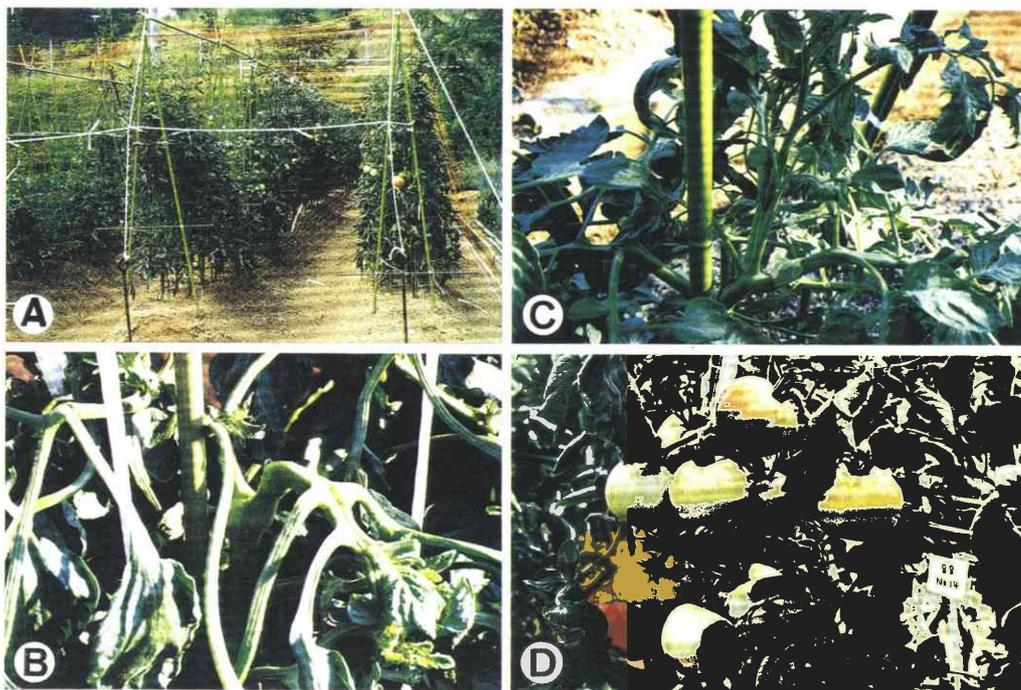


Fig. 2. Test for some commercial qualities of bacterial wilt-resistant line (LNSR-7) obtained from tomato leaf-callus. A, Tomato plants grown in the field for testing some commercial qualities (2 months after transplantation); B, Variant plants lacking top meristem; C, Variant plant formed multiple buds; D, Normal tomato fruits produced by the resistant line (LNSR-7/R7-21)

験場青枯病菌汚染圃場および近畿大学農学部実験圃場において後代検定を実施してきた^{16,17)}。それらの概要をFig. 1に示す。本研究では、このような後代検定の一環として、実際のトマト栽培を想定し、抵抗性選抜系統および市販品種の通常条件下での露地栽培を行うことにした。なお、実用化への栽培試験として抵抗性選抜系統の特性を調査し、優良系統の選抜を目的として、草姿検定ならびに果実の品質特性検定を実施した。

一方、養液栽培においても青枯病は深刻な問題であり¹⁴⁾、その防除法として抵抗性品種の作出が望まれていることから、上記の青枯病抵抗性選抜系統の水耕栽培への導入をめざし、本研究では、水耕栽培における青枯病菌接種条件について検討した。

1. 抵抗性選抜系統の圃場栽培試験

本研究では、体細胞変異によって得られた青枯病抵抗性選抜系統の自殖第5世代から第8世代までを用いたが、自殖後代植物のため、青枯病抵抗性以外の形質についても変異している可能性があると考えられた。そこで、これら選抜系統および市販品種を近畿大学農学部実験圃場で露地栽培し (Fig. 2A)、種々の形質を調査するとともに、草姿ならびに果実の品質特性検定を行った。

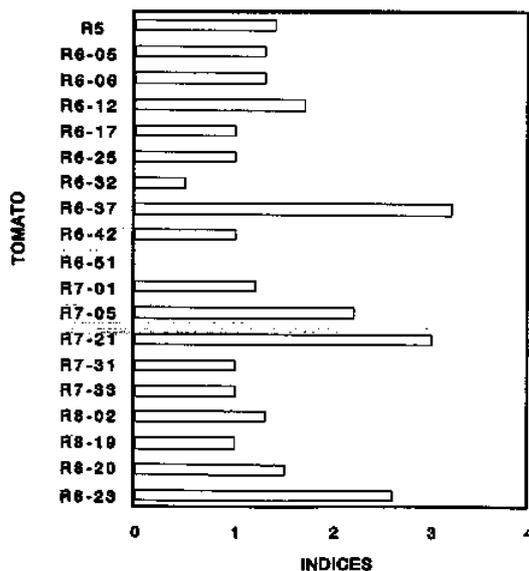


Fig. 3. The index for total assessment of plant quality of selected resistant lines.

1) 抵抗性選抜系統の草姿検定

本実験では、植物の受光体制、草勢、着果状態および果形を総合的に判定するために、生育評価法として各個体に草姿指数を与えた。これは、各個体の立毛状態を評価するものであって、その程度により指数0~4の5段階に分類されるが (Fig. 3)、本法は総括的に各系統の特徴と位置づける上で有効であった⁶⁾。しかしながら、草姿は栽培条件により左右されることが知られており、本実験においても草姿、果実ともに選抜系統のみではなく、市販品種でも、窒素および水分過多の生理障害などが認められた。このうち、最も多く発生したものは裂果と尻腐れ果であり、前者は水分の過剰吸収による果皮と果肉部の発達不均衡、後者は窒素過多によるカルシウムの吸収抑制が原因で発生するとされている¹⁾。選抜系統の中には、生長点の欠失 (Fig. 2B) や多茎出現 (Fig. 2C) といった変異個体も含まれていたが、おおむね市販品種と同等の生育が認められた。これは、組織培養による体細胞変異もしくは得られた再生個体の自殖過程で発生した変異によるものと推測された。しかし、このような状況下でも、R6-37とR7-21の2系統は比較的草姿、果形が良好であって、高い草姿指数が得られたので、実用可能な系統であると判定され、これら2系統を含む草姿指数の上位6系統 (R6-12と37、R7-05と21およびR8-20と23) を優良選抜系統とした。

2) 果実の品質特性検定

果実品質の検定項目である大きさ (縦長・横長)、重量および糖度 (Brix値) をそれぞれ系統別に分類し、平均値を求めた (Table 3)。その結果、選抜系統には果実の大きさや重量において、対照の市販品種より優れた系統が多く認められた (Fig. 2D)。また、果菜類で食味評価の最も重要な要因とされる糖度 (Brix値) は、高品質系統を作出する上で極めて重要な検定項目であることから⁶⁾、本研究においても、収穫した完熟果実の糖度 (Brix値) を調査することとした。その結果、選抜系統の糖度は市販品種とほとんど同等の値を示した (Fig. 4)。しかし、1996年度の果実は摘果したこともあって、1995年度のもの

Table 3. Characteristics of fruits harvested from resistant lines and commercial cultivars

	Length (cm)	Diameter (cm)	Weight (g)	Brix (%)
Resistant lines (LNSR-7)				
R5	5.7	7.2	160.6	5.5
R6-05	6.4	8.6	267.1	5.7
06	6.3	8.4	235.6	5.7
12	5.8	6.9	157.4	5.5
17	5.6	6.4	129.8	5.1
25	5.4	6.5	123.0	5.5
32	6.0	8.3	210.0	4.0
37	6.1	7.8	199.0	5.1
42	4.8	6.5	110.0	4.7
51	5.8	7.7	185.0	4.9
R7-01	5.8	7.5	173.7	6.1
05	5.5	7.1	155.0	5.7
21	5.9	6.6	151.5	5.3
31	5.9	7.3	166.0	5.4
33	-	-	-	-
R8-02	5.3	5.8	95.4	5.2
19	5.8	6.4	131.9	5.9
20	6.0	6.6	152.1	4.4
23	5.3	6.9	140.9	5.6
Commercial cultivars				
Ponderosa	-	-	-	-
Momotaro	4.3	6.1	76.3	5.5
Zuiei	5.0	6.1	100.8	4.8
Kyoryokubaiju	5.2	6.7	144.3	5.1
K70	4.4	5.2	67.9	5.5
Hokinhukuju	5.5	6.2	103.3	5.1
POMODORO ACE DA INSALATA	5.0	6.3	100.0	4.0
POMODORO DA INVERNO A GRAPPOLI	3.7	3.9	21.7	5.2
Red pair	-	-	-	-
Yellow pair	4.3	2.7	16.7	3.6

- Not measured.

と比較すると、大きさ、重量とも上回ったが、糖度においてはその多くが1995年度のものよりも低い傾向を示した。これは、1995年度はハウス栽培であり、また摘果も行わなかったことから収穫果実が小形で、その結果、果肉が充実し糖度が高まったことによると考えられる。これらの項目も草姿と同様、栽培環境要因に影響されるものであるが、本調査においてはR5、R6-05、06、12、25、R7-05およびR8-19と23の8系統がBrix値5.5以上の高い値を示し、優良系統と判定された。

以上のように、本研究では自殖後代植物を栽培し、それらの草姿検定と果実品質特性検定を行い、優良候補系統を選抜した。本実験に使用した抵抗性選抜系統では上記に示したような生育過程での変異が一部の個体でみられたが、草姿および果実品質においておおむね市販品種と同等もしくはそれ以上と判定された。特に、R6-37、R7-05と21およびR8-23の4系統については、総合的な評価において優良候補系統と判定した。また、本実験で採用した生育特性、果実品質特性は、栽培上特

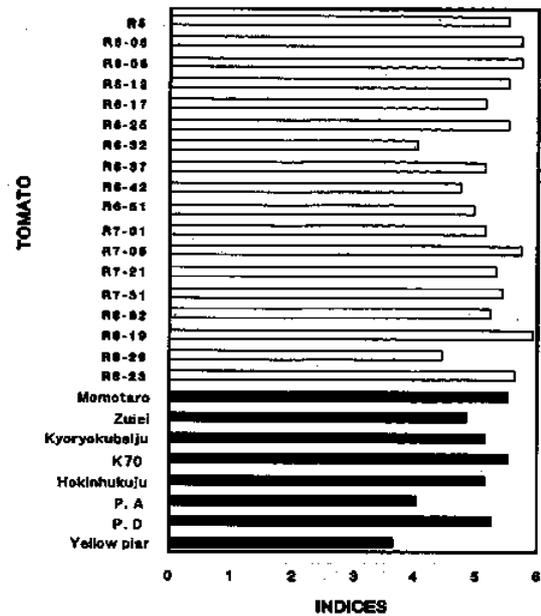


Fig. 4. Brix indices of fruits produced by resistant line (LNSR-7) and commercial cultivars.

に重要と考えられる項目に限っており、必ずしも十分な選抜基準ではないが、現在の市販品種と比較しても劣らぬ特性をもつ系統が選抜されたことは、組織培養技術の利用によるトマトの優良個体選抜が可能であることを示すものと考えられた。その他、本研究は土壌滅菌を行わない通常条件下での栽培であったため、病害虫による被害も認められ、一部の市販品種からは*Fusarium*菌が分離されたが、選抜系統ではその発病が認められず、萎凋病抵抗性について今後の研究が期待される。これまでの選抜により、青枯病抵抗性は安定して後代に受け継がれており、遺伝的にもかなり固定化されているものと考えられるが、今後は、本実験で選抜した優良系統の病害抵抗性以外の形質も安定して後代に受け継がれることを確認することによって、有用なトマト品種の作出に役立てたいと考える。

2. トマトの水耕栽培と青枯病菌の接種試験
 養液栽培は連作による土壌病害の回避を1つの目的として開発されたが、土耕のような病原菌と土壌中の微生物との緩衝作用が少な

いために、病原菌が水中の作物根と接触する機会が極めて大きくなる^{9,10)}。また、養液栽培のうちでも、特に本研究で用いた湛液型水耕栽培では栽培槽内に多量の水耕液を保持し循環するために、1株でも発病すると急速な蔓延により大発生する危険性が高い⁹⁾。このように養液栽培は作物根が水中に露出するため、病原菌の侵入により直接被害を受けるが、反対に人為的な接種には好都合である。そこで本研究では、トマトの養液栽培で発生している病害の1つである青枯病を取り上げ、その抵抗性品種作出と防除法確立のため、罹病性トマト（品種ボンデローザ）を用いて接種検定条件を検討した。

1) トマトの水耕栽培

トマトの水耕栽培に用いた山崎トマト処方では、トマトの成分吸収濃度に合わせて作られた処方では、栽培中の組成バランスの乱れが比較的小さく、硝酸態窒素濃度が電気伝導度 (EC) に比例して推移するので、管理が容易であるなどの利点がある^{11,12)}。また、他のいくつかの水耕液と比較しても、草勢の維持、収量、pHの安定性、EC値による窒素濃度の推定が可能であるなどの点において優れた結果が得られているため¹¹⁾、本実験でもこの処方を使用することとした。

2) 青枯病菌接種試験

a. 水耕液からの青枯病菌の分離と菌数測定
水耕栽培での青枯病菌接種試験を行うにあたり、山崎トマト処方の青枯病菌への影響を知るため、*in vitro*での青枯病菌接種試験を行った。水耕トマトへの接種菌密度と同様に青枯病菌が 10^4 、 10^6 、 10^8 細菌/mlとなるよう山崎処方に添加し、増殖を調べた。その結果、 10^4 および 10^8 細菌/ml処理区では増殖があまりみられなかったが、 10^6 細菌/ml処理区では 10^6 細菌/ml程度まで増殖が認められた (Fig. 5)。これにより、山崎処方は低濃度の青枯病菌は増殖させ、高濃度ではその増殖を抑制するが、接種時の濃度以下には低下させないことが明らかとなったので、実際のトマトの水耕栽培に山崎処方を用いて青枯病菌接種試験を行った。

b. 接種試験

本研究では、水耕栽培で第6節葉まで生育させた罹病性トマト（品種ボンデローザ）の水耕液に、青枯病菌が 10^4 、 10^6 、 10^8 細菌/mlとなるよう添加し、接種試験を行った。それぞれの発病株率はFig. 6に示すように、 10^4 および 10^8 細菌/ml処理区では、接種後2週間を経てもその発病株率が30および70%であったが、 10^6 細菌/ml処理区では、接種2日後から萎凋症状が認められ、9日後には100%の株が発病した (Fig. 7)。このように、本接種法を使用すれば、病原菌密度を変えることによつ

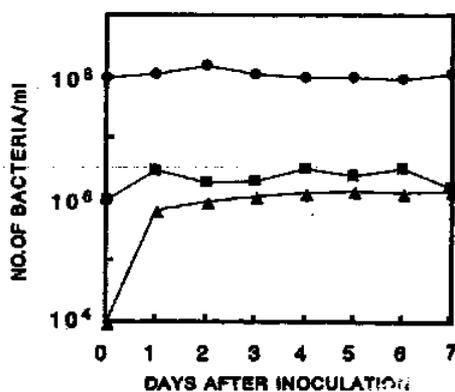


Fig. 5. Multiplication of *Ralstonia solanacearum* K-101 in the Yamazaki's nutrient solution. The solution was inoculated with 1×10^4 (▲), 1×10^6 (■), 1×10^8 (●) cells/ml of *R. solanacearum* K-101, respectively.

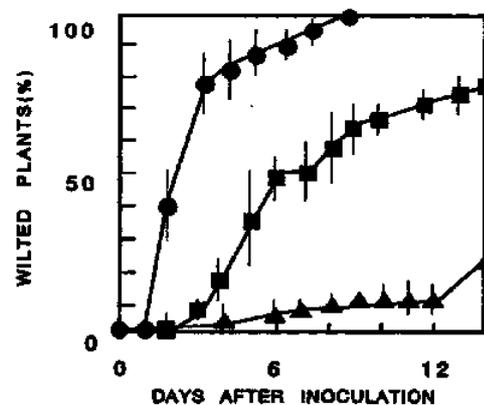


Fig. 6. Increase of wilted tomato plants hydroponically cultured in the Yamazaki's solution inoculated with 1×10^4 (▲), 1×10^6 (■), 1×10^8 (●) cells/ml of *R. solanacearum* K-101, respectively.



Fig. 7. Appearance of wilting in tomato plants grown in a hydroponic culture solution inoculated with 1×10^8 cell/ml of *R. Solanacearum* K-101 (9 days after inoculation).

て、その発病率を容易に制御することが可能であり、抵抗性品種の検定には罹病性トマトが100%発病する菌密度 10^8 細菌/mlの接種が有効であると思われた。

以上のように、本研究では養液栽培での青枯病抵抗性品種作出のための接種条件を確立した。今後は、この条件を用いて土耕栽培で選抜した青枯病抵抗性系統を水耕栽培に導入し、これらが水耕栽培においても青枯病抵抗性を保持するか否かについて検定し、養液栽培での抵抗性品種の育成に貢献したいと考える。

IV. 引用文献

- 1) 新井和夫・甲田暢男. (1981). 各論トマト<生理障害>. (高橋和彦・西泰道編) 原色・施設野菜の生理障害と病害, pp. 75-89. 農山漁村文化協会, 東京.
- 2) Bajaj, Y. P. S. (1990). Somaclonal variation-origin, induction, cryopreservation, and implications in plant breeding, *In* "Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol. 11, Somaclonal Variation in Crop Improvement I" (ed. by Bajaj, Y. P. S.), pp. 3-48, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- 3) Evans, D. A. and Sharp, W. R. (1983). Single gene mutations in tomato plants regenerated from tissue culture. *Science*, 221: 949-951.
- 4) 飯野久栄・大和田隆夫・小沢百合子・山下市二. (1982). 果実類の糖および酸含量と嗜好に関する研究. *食総研報*, 40: 71-77.
- 5) Kelman, A. (1954). The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology*, 44 :693-695.
- 6) 北宜裕・豊田秀吉・清水邦彦・大内成志. (1987). トマト葉外植片カルス再生体およびその自殖後代植物の形質評価と優良個体の選抜. *植物組織培養*, 4: 71-74.
- 7) Larkin, P. J. and Scowcroft, W. R. (1981). Somaclonal variation-a novel source of variability from cellcultures for plant improvement. *Theor. Appl. Genet.*, 60: 197-214.
- 8) 森田偉・手塚信夫. (1986). 養液栽培における病害と対策. *農業および園芸*, 61: 229-235.
- 9) 長江春季. (1974). 養液栽培におけるそ菜主要病害の生態と防除. *農業および園芸*, 49: 1374-1378.
- 10) 小倉寛典. (1982). 水耕栽培に関する諸問題〔7〕—水耕栽培における病害—, *農業および園芸*, 57: 784-790.
- 11) 佐々木皓二. (1982). 養液栽培の現状と問題点 (3) —水耕栽培における培養液処方と2,3の管理技術—. *農業および園芸*, 57: 677-682.
- 12) 佐々木皓二. (1992). 作物別養液栽培

- 技術トマト. (農耕と園芸編集部編) 養液栽培の新技术, pp. 98-102. 誠文堂新光社, 東京.
- 13) 鈴木芳夫. (1992). 培養液管理組成と濃度. (農耕と園芸編集部編) 養液栽培の新技术, pp. 25-30. 誠文堂新光社, 東京.
- 14) 竹内妙子・宇田川雄二. (1994). 養液栽培におけるトマト青枯病の発生生態と防除. 千葉農試研報. 35: 89-99.
- 15) 豊田秀吉. (1990). 野菜の新しい育種技術. (最新バイオテクノロジー全書編集委員会編) 最新バイオテクノロジー全書3. 野菜の組織・細胞培養と育種, pp. 163-188. 農業図書株式会社, 東京.
- 16) Toyoda, H., Kita, N., Kakutani, K., Matsuda, Y., Dogo, M., Kato, Y., Nomura, T., Bingo, M., Tampo, H., Chatani, K., Shimizu, K. and Ouchi, S. (1997). Evaluation of stable resistance expression in self-pollinated progenies of bacterial wilt resistant regenerants obtained from leaf callus of tomato. *Plant Biotechnology*, 14 (2) : 105-110.
- 17) 豊田秀吉・野村毅・松田克礼・道後充恵・加藤靖也・備後美紀・大内成志. (1998). 組織培養系を用いて作出した青枯病抵抗性トマト系統における抵抗性の後代検定. 近畿大農総研報告 6 : 69-72.
- 18) Toyoda, H., Simizu, K., Chatani, K., Kita, N., Matsuda, Y. and Ouchi, S. (1989). Selection of bacterial wilt-resistant tomato through tissue culture. *Plant cell Rept.*, 8: 317-320.
- 19) 山川邦夫. (1978). トマト・ナス青枯病の品種抵抗性. *植物防疫*, 32: 197-200.
- 20) 山崎肯哉. (1966). 礫耕の経過と進路. *農業技術*, 21; 116-119.