

# トマト(*Lycopersicon esculentum*)と*L.peruvianum*との体細胞雑種の耐低温性およびウイルス病抵抗性

誌名	園藝學會雜誌
ISSN	00137626
巻/号	602
掲載ページ	p. 329-335
発行年月	1991年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## トマト (*Lycopersicon esculentum*) と *L. peruvianum* との 体細胞雑種の耐低温性およびウイルス病抵抗性

坂田好輝・西尾 剛\*・成河智明\*\*・門馬信二

野菜・茶業試験場 514-23 三重県安芸郡安濃町大字草生 360

Cold and Disease Resistance of Somatic Hybrids between Tomato (*Lycopersicon  
esculentum*) and *L. peruvianum*

Yoshiteru Sakata, Takeshi Nishio, Tomoaki Narikawa and Shinji Monma

National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea, Ano, Mie 514-23

### Summary

Cotyledon mesophyll protoplasts of tomato 'Ponderosa' were fused with mesophyll protoplasts from true leaves of *L. peruvianum*, using polyethyleneglycol (PEG) solution and the fusion products cultured in vitro. Somatic hybrids were selected by morphological characteristics of shoots which differentiated on the calli. Ribosomal DNA of the selected plants was analysed and four plants were confirmed to be somatic hybrids. Pollen viabilities of four somatic hybrids were 78.3, 62.2, 60.2, and 36.2%, respectively; the hybrids were all self-fertile. The seedlings of tomato 'Ponderosa', *L. peruvianum*, and the offsprings of two somatic hybrids were used in growth analysis under low temperature condition. Relative growth rates of the somatic hybrids under low temperature regimen were less than that of *L. peruvianum* but greater than that of 'Ponderosa'. This investigation demonstrated that the character of cold tolerance was introduced from *L. peruvianum* to the somatic hybrids. The offsprings of the somatic hybrids also showed resistance to tobacco mosaic virus and tomato spotted wilt virus.

### 緒 論

温帯におけるトマト (*Lycopersicon esculentum*) の生産において、求められる特性の一つに耐低温性の向上がある。耐低温性には、低温伸長性、低温着果性、低温肥大性などのさまざまな要因が複雑にからんでいる。耐低温性の向上のためには、それぞれの要因を解決していく必要があるが、差し当たっては低温伸長性の向上が第一に求められるものと考えられる。低温伸長性に優れるトマト近縁野生種として *L. hirsutum*, *L. chilense* および *Solanum lycopersicoides* が知られている(17)。これらの中でトマトとの交配が容易なものは *L. hirsutum* で、残りの *L. chilense* などは胚培養などを用いることが必要であり、さらに正逆交配は困難である。

近年細胞融合関連の研究の進展は著しく、トマトと

近縁野生種との組み合わせによる雑種獲得に限っても数多く報告されている(5, 10, 11, 13, 15)。それらは近縁野生種が有する耐病性等のストレス耐性をトマトに付与することを目的として、細胞融合を行ったものがほとんどである。ところが、得られた体細胞雑種植物のストレス耐性について言及している報告はない。

本研究では、トマトと低温伸長性を持つ *L. peruvianum* との体細胞雑種植物を獲得し、*L. peruvianum* の有する低温下での伸長性が雑種植物に導入され、後代において発現されるか否かについて検討を行った。さらに、雑種植物の TMV および TSWV 抵抗性についての検討も併せ行った。

### 材料および方法

#### 1. プロトプラスト単離

トマト近縁野生種 *L. peruvianum* (野菜・茶業試験場、育3研、整理番号 LS 1089) およびトマト'ポンデローザ'を MS 培地(12)に無菌播種し、25℃、16時間日長、2,000 lx で育成した。播種後約 16 日目の'ポンデ

1990年1月18日 受理。

\* 現在：農業生物研究所放射線育種場。

\*\*現在：北海道農業試験場。

ローザの子葉および *L. peruvianum* の本葉を 1/2 倍の MS 培地の無機塩、1/1 倍の MS 培地の有機物、0.5 mg/liter ベンジルアデニン (BA), 1 mg/liter 2,4-D, 0.3 M ショ糖をそれぞれ含む前処理用培地 (pH 5.8) 中で、それぞれ約 1 mm 幅に切り、そのまま 1 時間浸漬した。プロトプラスト単離酵素液として 0.5% セルラーゼ「オノズカ」YC (ヤクルト, 日本), 0.1% ペクトリアーゼ Y-23 (盛心製薬, 日本), CPW 塩 (3), 0.4 M マンニトール, pH 5.8 を用いた。最初の 30 分は 29°C, 60 spm で、後半 150 分は 29°C, 40 spm の速さで振とうしてプロトプラストを単離した。70  $\mu$ m のナイロンメッシュで濾過し、0.4 M のマンニトールを含む CPW 塩液 (CPW 液) で 2 回洗い、10 $^6$  プロトプラスト/ml になるように CPW 液で密度を調整した。

## 2. 細胞融合

トマトおよび *L. peruvianum* のプロトプラスト懸濁液をそれぞれ等量混合し、6 cm $\phi$  のプラスチックシャーレに 0.1 ml 滴下した。プロトプラストがシャーレ底面に沈むのを待って、33% PEG (分子量 4,000), 10% DMSO, 1/2 倍 MS 無機塩を含む融合液 (pH 5.6) 0.1 ml をプロトプラスト懸濁液の周囲に落とし、プロトプラスト同士を凝集させた。25 分後、50 mM 塩化カルシウム, 50 mM グリシン, 0.4 M マンニトールを含む洗い液 (pH 10.5) を 0.1 ml プロトプラスト懸濁液および融合液の混合液の周囲に滴下し、細胞融合を促した。10 分後、3 ml の CPW 液でそれぞれ 2 回プロトプラストを洗った。

## 3. 培養条件

0.4 M ブドウ糖を含む 0.08% アガロース (タイプ VII; Sigma, USA) 液と、1/2 倍 MS 無機塩 (硝酸アンモニウムは 200 mg/ml に変更) に 2 倍濃度の 8 p (8) 培地の有機物, 2 mg/liter NAA, 1 mg/liter BA, 0.2 mg/liter ブラシノライド (日産化学, 日本), 2% ショ糖および 0.4 M ブドウ糖を含む YE-72 培地とを等量混合し、シャーレ当たり 3 ml 入れ、29°C 暗黒条件下で培養した。

培養開始から 10 日目、栄養分の補給と培地の浸透圧を降下させるために NAA 1 mg/liter, BA 0.5 mg/liter, ショ糖 2% を添加した MS 培地 (pH 5.8) をシャーレ当たり 1 ml ずつ添加するとともに、25°C, 300 lx, 16 時間日長に培養条件を変更した。その後 3~4 日毎に 3 回、1.5 ml の同培地を添加した。培養開始から 1 か月後、1~2 mm に生長したカルスをゼアチン 1.0 mg/liter, NAA 0.5 mg/liter, ショ糖 2% および

寒天 0.8% をそれぞれ添加した MS 寒天培地に移植し、照明を 2,000 lx に変更した。

再分化してきた茎葉の中で形態的に雑種と思われるものをホルモンフリーの MS 培地に移植し、発根を促した。順化を終えた植物は、形態的な特性の調査のために温室で生育させた。開花時に手による振動を与え、自家受粉を促した。

## 4. リボゾーマル DNA (rDNA) の分析

3~4 g の葉を牛血清アルブミンを 0.1% 添加した 20 ml の KA バッファー (7 mM EDTA, 50 mM Tris-HCl (pH 8.0)), 0.35 M ショ糖 5 mM  $\beta$ メルカプトエタノール) 中で磨砕し、3 重のミラクロスでろ過後、ろ液を遠心 (4°C, 100 G, 10 分) し、核の沈澱物を得た。沈澱物に 20 ml の KA バッファーを加え、再懸濁した後、遠心 (4°C, 100 G, 10 分) した。沈澱物に 2 ml の KB バッファー (20 mM EDTA, 50 mM Tris-phosphate (pH 8.0)) と 20 mg の N-ラウロイルサルコシネートナトリウムを加え、室温で 15 分処理後、さらにプロティナーゼ K を 0.2 mg 添加し、室温で 4 時間反応させた。2.2 g の塩化セシウムと少量のエチジウムブロマイドを溶かし込み、超遠心 (15°C, 120,000 G, 36 時間) による平衡密度勾配を用いて核 DNA を抽出した。イソアミルアルコールでエチジウムブロマイドを、さらに塩化セシウムを TE バッファー (1 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl (pH 8.0)) を用いた透析により、それぞれ除去した後、エタノール沈澱により核 DNA を精製した。

それぞれの植物の核 DNA を制限酵素 BamHI によりメーカー指定の方法で処理した後、0.7% アガロースを担体として、TPE バッファー (2 mM EDTA, 80 mM Tris-phosphate (pH 8.0)) 中で電気泳動し、Southern の方法 (16) により、ナイロンメンブレンに転写した。

イネの rDNA (17 s とスペーサー領域) が組み込まれたプラスミド pRR 217 (18) をマルチプライムラベリングキット (アマシャムジャパン, 日本) を用いて  $^{32}$ P でラベルし、これをプローブとしてナイロンメンブレンに転写した DNA とハイブリダイズさせた。ナイロンメンブレン上に残った余分なプローブを洗い落とした後、オートラジオグラフィを行った。

## 5. 低温伸長性の評価

雑種植物 (株番号 No.2 および 7) の自殖種子を材料として用いた。生育の揃った苗を確保するため、必要株数の 2 倍量を育苗した。温室で約 1 か月育苗し、トマトの地上部生体重量が 0.7~1 g に達したときに低温処

理を開始した。22°/12℃(明期12時間)、20,000 lx で2日間前処理を行った後、それぞれ25°/15℃(明期12時間)、15°/8℃、15°/4℃、20,000 lx 条件下で生育させた。2週間後地上部を切り取り、10株合計の葉面積および乾物重(DW)を測定した。

相対生長率(RGR)は以下の式により算出した。

$$RGR = \frac{\ln(\text{処理後のDW}) - \ln(\text{処理前のDW})}{\text{処理の日数}}$$

## 6. ウイルス病抵抗性

雑種植物(株番号No.1, 2, 6, および7)の自殖種子を材料として用いた。温室内で育苗し、本葉2~4枚展開したところでタバコモザイクウイルス(TMV)、トマト黄化えそウイルス(TSWV)をそれぞれ常法に従い、カーボランダムを用いて汁液接種した。TMVは野菜・茶業試験場保存のTMVのストレイン0, 1, 2および1-2を用いた。TSWVは藤沢一郎氏(東北農業試験場)によりピーマンから分離された系統を用いた。

## 結 果

### 1. 雑種植物の形態特性

得られた50以上のカルスが不定芽を分化したが、*L. peruvianum*の葉の形態を示した茎葉、*L. peruvianum*と類似しているが栽培トマトの形態も併せ持つ茎葉、さらに、トマトの形態を示した茎葉に分かれた。多くの茎葉は、前者二つの*L. peruvianum*と同様もしくは類似の形態を示した。それらのうち、*L. peruvianum*と類似しているがトマトの形態も併せ持つ茎葉、およびトマトの形態を示した茎葉を、それぞれ発根させた後、順化、鉢上げした。最終的に鉢上げに至った個体は8

個体で、順化に移した個体全体の2割程度であり、順化は困難であった。

茎葉が分化したときに外観上雑種と思われた植物の形態的な特性を第1表に示した。株番号No.3, 4, 5および8の葉、花房および果実などのすべての形態は*L. peruvianum*型であった。一方、No.1, 2, 6および7の葉は、トマトと*L. peruvianum*の中間的な形態を示し、それぞれの花は*L. peruvianum*型であった。アセトカーミンによる染色性によって花粉粘性を調査した結果、それぞれ62.2, 78.3, 36.2, 60.2%であった。自然状態では結実はまれであったが、手で振動を与えれば良く着果した。また、それぞれの果実はトマトと*L. peruvianum*の中間よりやや小さい大きさで、成熟果色は黄色であった。No.1と2の果実形態はほとんど同一であったが、No.6および7は、それぞれ成熟果色の濃淡、が



Fig. 1. Flower of somatic hybrid (No. 2) in greenhouse.

Table 1. Characters of putative somatic hybrids.

Material	Leaf shape	Flower shape	Fruit		Fruit color		Seed	
			Size (mm)	Stripe	Immature	Mature	Size (mm)	Color
No. 1	med <sup>z</sup>	per <sup>y</sup>	18	○	green	yellow	3.5	dark brown
No. 2	med	per	18	○	green	yellow	3.7	dark brown
No. 3	per	per	—	—	—	—	—	—
No. 4	per	per	15	○	green	green	3.2	dark brown
No. 5	per	per	16	○	green	green	1.7	dark brown
No. 6	med	per	17	○	green	yellow	3.2	dark brown
No. 7	med	per	18	○	green	yellow	2.7	dark brown
No. 8	per	per	10	○	green	green	2.0	dark brown
<i>L. peruvianum</i>	per	per	13	○	green	green	1.9	dark brown
Ponderosa	esc <sup>x</sup>	esc	>40	×	green	pink	4.0	light brown

<sup>z</sup> Intermediate type between *L. peruvianum* and tomato.

<sup>y</sup> *L. peruvianum* type.

<sup>x</sup> *L. esculentum* type.

くの形態などにおいて異なった。No. 2 の花を第 1 図に、トマト、*L. peruvianum* および雑種植物の果実を第 2 図に示した。No. 1, 2 および 6 の種子はトマトと *L. peruvianum* の中間で、No. 7 の種子はそれらよりやや小型であった。No. 1, 2, 6 および 7 の種子色は濃い茶色であった。

## 2. 雑種性の確認

イネの核 rDNA をプローブとしたサザーンハイブリダイゼーションにより雑種性を確認した。第 3 図に示されるように、トマトには六つの主なバンド (1.0 Kb, 1.3 Kb, 2.8 Kb, 3.8 Kb, 4.6 Kb および 5.9 Kb) が認められ、一方、*L. peruvianum* には七つの主なバンド (1.0 Kb, 1.3 Kb, 2.8 Kb, 3.8 Kb, 5.9 Kb, 7.3 Kb および 7.7 Kb) が認められた。No. 1, 2, 6 およ

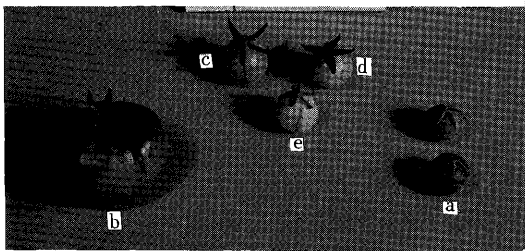


Fig. 2. Fruits of somatic hybrids and their parents, showing their relative sizes. The letters represent individual plants: a) *L. peruvianum*, b) 'Ponderosa', c), d) and e) are somatic hybrids Nos. 2, 6 and 7, respectively.

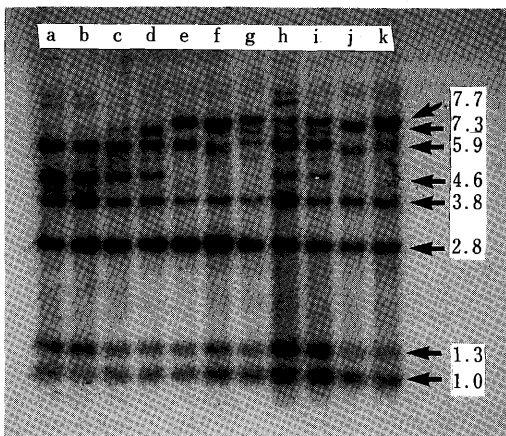


Fig. 3. Autoradiograph of Bam HI digested DNAs probed with pRR217 showing heterogeneity among putative hybrids. The letters indicate individual restriction fragment length polymorphism (RFLP) patterns; size of major fragments is given in kilobases. a) The RFLP pattern of *L. esculentum* var. *cerasiforme*, b) 'Ponderosa', c) No. 1, d) No. 2, e) No. 3, f) No. 4, g) No. 5, h) No. 6, i) No. 7, j) No. 8, k) *L. peruvianum*.

び 7 は、トマト由来の 4.6 Kb と、さらに *L. peruvianum* 由来の 7.3 Kb および (または) 7.7 Kb の、双方の親に由来するバンドを有しており、雑種であることが確認された。No. 3 と 8 は、*L. peruvianum* と同様なバンドパターンを示した。No. 4 には *L. peruvianum* のバンドに 5.6 Kb が加わっており、また、No. 5 には *L. peruvianum* のバンドに 5.4 Kb と 6.8 Kb のバンドの追加が認められ、それぞれに変異が生じたことが示された。

## 3. 低温伸長性の評価

低温処理により各品種、系統とも RGR は低下したが、その傾向には差が認められた (第 4 図)。25°/15℃ 区における RGR は 'ポンデローザ' および *L. peruvianum* ではそれぞれ 10.5, 14.0%/day で、体細胞雑種植物の No. 2, No. 7 ではそれぞれ 12.7, 10.7%/day であった。15°/8℃ 区では、'ポンデローザ' で 6.6%/day と低温による大きな生育抑制が認められた。一方、*L. peruvianum* では 8.8%/day と比較的高い値を示し、低温伸長性に優れることが示された。No. 2, No. 7 では *L. peruvianum* の値よりもさらに大きく、それぞれ 9.9, 9.4%/day であった。夜温をさらに 4℃ 下げた 15°/4℃ 区では 'ポンデローザ' で 5.7%/day であり、25°/15℃ 区に比べ、ほぼ半減した。これに対し、*L. peruvianum* では 8.5%/day の高い RGR を示した。No. 2 は 7.2%/day で、*L. peruvianum* と 'ポンデローザ' との間であった。また、

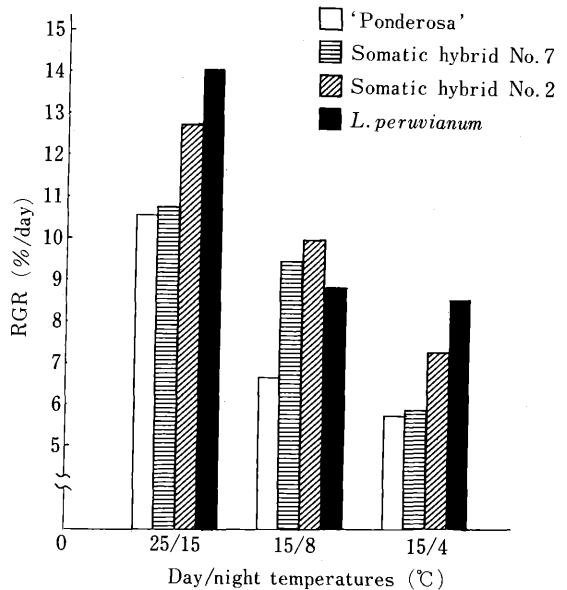


Fig. 4. The influence of different day/night temperature ranges on the relative growth rates (RGR) of 'Ponderosa', *L. peruvianum*, and their somatic hybrids Nos. 2 and 7.

Table 2. Result of TMV resistance.

Material	TMV strain											
	0			1			2			1-2		
	- <sup>z</sup>	m <sup>y</sup>	M <sup>x</sup>	-	m	M	-	m	M	-	m	M
Ponderosa	0	0	6	0	0	6	0	1	5	1	4	1
No. 2 (self)	6	0	0	0	0	5	0	0	6	1	2	3
No. 7 (self)	3	0	3	0	3	3	0	0	6	0	3	3
<i>L. peruvianum</i>	5	0	1	0	1	5	0	0	6	0	0	6

<sup>z</sup> No symptom.<sup>y</sup> Slight mosaic.<sup>x</sup> Clear mosaic.

No. 7は5.8%/dayで、'ポンデローザ'よりわずかに上回った。これらのことから、少なくともこの範囲の低温条件では *L. peruvianum* の持つ伸長性が体細胞雑種に付与されたことが明らかになった。

#### 4. ウィルス病抵抗性

雑種植物の自殖によって得られた実生苗を以下の2種のウィルス病抵抗性検定に用いた。TMVは、4系統（ストレイン0, 1, 2および1-2）を用いて、雑種植物の抵抗性遺伝子型を検討した。第2表に示されるように、No. 2の自殖系統はストレイン1, 2および1-2に対してはり病性を示したが、ストレイン0に対しては全株抵抗性を示した。一方、No. 7の自殖系統は、ストレイン1, 2および1-2に対してはり病性を示したが、ストレイン0に対してはり病性個体と抵抗性個体とが1対1で分離した。一方の融合親である *L. peruvianum* の抵抗性についても一部で分離が認められた。

TSWV接種の結果を第3表に示した。雑種親の'ポンデローザ'は、接種ミスと思われる1個体を除いて90%の個体が発病した。また一方の *L. peruvianum* では、1株にえそ斑点が認められたが、他の株はすべて無病徴であり、抵抗性を示した。雑種植物のNo. 1, 2, 6および7は、僅かにり病性株を分離したものの強度の抵抗性を示した。この結果より、細胞融合による雑種植物においても *L. peruvianum* の持つ高度なTSWV抵抗性が導入されていることが明らかになった。

#### 考 察

トマトにおける耐低温性は、さまざまなレベル、例えば、低温下での種子発芽、生存、生長、花粉形成、花粉発芽、光合成、細胞および遺伝子など、で解析が行われている(14)。それらの中で、わが国におけるトマト栽培で最も必要とされる耐低温性とは、茎葉、果実を含めた低温下での生長の優れることと考えられる。

Table 3. Result of TSWV resistance.

Material	Symptom			
	- <sup>z</sup>	M <sup>y</sup>	N <sup>x</sup>	NW <sup>w</sup>
Ponderosa	1	0	0	9
No. 1 (self)	9	0	0	1
No. 2 (self)	6	0	0	1
No. 6 (self)	4	1	0	1
No. 7 (self)	5	1	0	0
<i>L. peruvianum</i>	10	0	1	0

<sup>z</sup> No symptom.<sup>y</sup> Mosaic.<sup>x</sup> Necrosis.<sup>w</sup> Necrosis and wilt.

低温伸長性の優れる近縁野生種として、*L. hirsutum* や *L. chilense* および *Solanum lycopersicoides* 等が知られ、それらのうち、*L. hirsutum* はトマトとの交雑が容易なため研究材料としてしばしば用いられるが、他の種について言及した報告は少ない。本研究で用いた近縁野生種 *L. peruvianum* が耐低温性を示したという報告は少ないが、著者ら(1989, 未発表)は平均最低気温4.1℃の低温条件区と平均最低気温9.4℃の対照区における幼苗の生育比を検討したところ、*L. peruvianum* は低温伸長性に優れる種の一つであるという結果を得ている。また、本研究で得られた *L. peruvianum* や体細胞雑種が示した低温伸長性に関する結果も *L. peruvianum* が低温伸長性の育種素材として有望であることを示した。

*L. peruvianum* は低温伸長性とともによりTMVをはじめとするいくつかの病害に対して耐病性を示すことが知られている(17)。本研究では *L. peruvianum* の持つ低温伸長性をプロトプラストを利用した細胞融合という形で導入することを目指したが、それと同時に耐癌性についても導入されている可能性があるため、得ら

れた雑種についてウイルス病抵抗性の検定を行った。TMV ストレイン 0 に対する抵抗性検定の結果、No. 2 はり病性を示す個体が認められず、また一方、No. 7 ではり病性個体と抵抗性個体が 1 対 1 に分離していた。これらのことから、No. 2 は Tm/Tm の遺伝子型を持つ *L. peruvianum* と +/+ の‘ボンデローザ’とが融合したことが、また、No. 7 では Tm/+ の遺伝子型の *L. peruvianum* と +/+ の‘ボンデローザ’とが融合したことが推定された。

Tm 遺伝子の TMV に対する抵抗性は不十分であり、実際トマト品種は TMV に対する抵抗性遺伝子として Tm-2 または Tm-2<sup>a</sup> 遺伝子を持つことが必須とされる。山川ら (1987) は *L. peruvianum* を素材として、TMV 抵抗性 (Tm-2) 等を有する中間母本安濃 3 号、同 4 号および 5 号を育成したが、今回細胞融合に用いた *L. peruvianum* の系統は Tm-2 遺伝子を保有していなかったため、体細胞雑種に高度な TMV 抵抗性を付与するためには Tm-2 または Tm-2<sup>a</sup> 型の遺伝子を持つ系統との交配が必要であると考えられる。

TSWV 抵抗性トマトとしては、ハワイで育成された *L. pimpinellifolium* に由来する抵抗性を持つ‘Pearl Harbor’ (9)、『Kewalo’ (4)、『アルゼンチンの‘Rey de los Tempranos’、『Manzana’ (7) などがある。しかし、それらは TSWV のすべてのストレインに対して抵抗性を示すわけではなく、より安定したトマトの生産のためには、多くのストレインに対して安定した抵抗性を示す品種の育成が必要とされている。トマトおよびその近縁野生種の中で TSWV に対して最も高度な抵抗性を示す種として、*L. peruvianum* があり (1)、その抵抗性は複数のストレインに対して安定している (6)。*L. peruvianum* の TSWV 抵抗性育種への利用は Peto seed Co. (USA) の 1 例が知られているだけである (2)。現在、TSWV の被害が世界的に広まっており、*L. peruvianum* の高度抵抗性素材としての利用は、重要な意味を持つものと考えられる。

本研究において、近縁野生種 *L. peruvianum* とトマトとの体細胞雑種作出法が確立され、さらに *L. peruvianum* の耐低温性およびウイルス病抵抗性が、細胞融合法の利用によりトマトに導入する可能性が拓かれた。ここで得られた体細胞雑種をトマトに戻し交配し、トマトの育種への利用を検討中である。

### 摘 要

トマト近縁野生種 *L. peruvianum* の持つ低温伸長性を細胞融合法を利用してトマトに導入し、トマトの耐

低温性を向上させることを目的として本試験を行った。

*L. peruvianum* の本葉由来プロトプラストとトマト‘ボンデローザ’の子葉由来プロトプラストとをポリエチレングリコール (PEG) 融合液を用いて細胞融合させた。再分化してきた莖葉の形態により体細胞雑種植物と思われるものを選抜した。

リボゾーマル DNA (rDNA) による分析の結果、4 株が体細胞雑種であることが確認された。花粉稔性はそれぞれ 62.2、78.3、36.2、60.2% で、すべて自殖可能であった。

体細胞雑種の自殖した 2 系統と、雑種親である‘ボンデローザ’および *L. peruvianum* とを温室で育苗後、25°/15°C (明期 12 時間)、15°/8°C、15°/4°C の三つの温度処理を行い、処理前と 2 週間後にそれぞれ地上部の新鮮重、乾物重を測定した。体細胞雑種系統の相対生長率 (RGR) はトマトと *L. peruvianum* との中間またはトマト以上の値を示し、*L. peruvianum* の持つ低温伸長性が体細胞雑種系統において発現していることが示された。

なお、ウイルス病抵抗性検定の結果、*L. peruvianum* の持つ TMV と TSWV に対する抵抗性は雑種植物に導入されていることが確認された。

謝 辞 本実験を実施するにあたって、名古屋大学農学部平井篤志助教授および杉浦智美女史には多大な指導と助言を賜ったことをここに記して感謝致します。

### 引用文献

- Best, R. J. 1968. The tomato spotted wilt virus. *Advances in Virus Research* 13: 65-146.
- Cho, J. J., R. F. Mau, T. L. German, R. W. Hartmann, L. S. Yudin, D. Gonsalves and R. Provvidenti. 1989. A multidisciplinary approach to management of tomato spotted wilt virus in Hawaii. *Plant Disease* 73: 375-383.
- Freason, E. M., J. B. Power and E. C. Cocking. 1973. The isolation, culture and regeneration of petunia leaf protoplasts. *Div. Biol* 33: 130-137.
- Gilbert, J. G., J. S. Tanaka and K. Y. Takeda. 1974. ‘Kewalo’ Tomato. *HortScience* 9: 481.
- Handley, L. W., R. L. Nickels, M. W. Caneron, P. P. Moore and K. C. Sink. 1986. Somatic hybrid plants between *Lycopersicon esculentum* and *Solanum lycopersicoides*. *Theor. Appl. Genet.* 71: 691-697.
- 飛驒健一・成河智明・門馬信二. 1989. 抵抗性系統の検索 p.50-54. 農林水産技術会議事務局編. トマト黄化えそ病の防除に関する研究. 研究成果 214.

7. Holmes, F. L. 1948. Resistance to spotted wilt. *Phytopathology* 38 : 467-473.
8. Kao, K. N. and M. R. Michyluk. 1975. Nutritional requirements for growth of *Vicia hirsutana* cells and protoplasts at very low population density in liquid media. *Planta* 126 : 105-110.
9. Kikuta, K., J. W. Hendrix and W. A. Frazir. 1945. Pearl Harbor, a tomato variety resistant to spotted wilt in Hawaii. Circular 24. University of Hawaii Agricultural Experiment Station.
10. Kinsara, A., S. N. Patnaik, E. C. Cocking and J. B. Power. 1986. Somatic hybrid plants of *Lycopersicon esculentum* Mill. and *Lycopersicon peruvianum* Mill. *J. Plant Physiol.* 125 : 225-234.
11. Melchers, G., M. D. Sacristan and A. A. Holder. 1978. Somatic hybrid plants of potato and tomato regenerated from fused protoplasts. *Carlsberg Res. Commun.* 43 : 206-218.
12. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15 : 473-479.
13. O'Connell, M. A. and M. R. Hanson. 1987. Regeneration of somatic hybrid plants formed between *Lycopersicon esculentum* and *L. pennellii*. *Theor. Appl. Genet.* 75 : 83-89.
14. Patterson, B. D. 1988. Genes for cold resistance from wild tomatoes. *HortScience* 23 : 747, 794.
15. Shepard, J. F., D. Bidney, T. Barsby and R. Kemble. 1983. Genetic transfer in plants through interspecific protoplast fusion. *Science* 219 : 683-688.
16. Southern, E. M. 1975. Detection of specific sequences among DNA fragments perareded by electrophoresis. *J. Mol. Biol.* 98 : 503-517.
17. Stevens, M. A. and C. M. Rick. 1986. Genetics and breeding. p.35-109. In : J. G. Atherton and J. Rudick (eds.). *The tomato crop*. Chapman and Hall Ltd, London.
18. Takaiwa, F., K. Oono, Y. Iida and M. Sugiura. 1985. The complete nucleotide sequence of rice 25S·rRNA gene. *Gene* 37 : 255-259.
19. 山川邦夫・安井秀夫・望月竜也・飛驒健一・小餅昭二. 1987. *Lycopersicon peruvianum* L. から栽培トマトへの病害抵抗性の導入. I. 根腐萎凋及びトマトモザイクウイルス抵抗性を導入した新品種'龍玉'などの育成. *野菜茶試研報*, A1 : 1-37.