

小麦の雪腐病抵抗性の細胞選抜法

阿 部 二 朗

(東北農業試験場)

Selection of Wheat Cells Resistant to Snow Molds

Jiro ABE

(Tohoku National Agricultural Experiment Station)

寒冷積雪地帯においては夏作物の生育に適さない冷温(0~15℃)期間の全生育期間(無霜期間)に対する割合が極めて高い。したがって、この冷温期間にも生育を続ける冬作物の栽培によって農地を有効利用することが穀倉地帯である東北地方の農業振興を図る上で重要となる。そのためには麦類及びイネ科牧草の安定・多収生産を阻害する最大要因と見なされる雪腐病被害防止技術を確立することが必要である。栽培面からは適期播種、薬剤散布が基本技術とされているが、雪腐病抵抗性品種の育成とその利用が最も効果があり、北欧³⁾、カナダ⁷⁾、米国¹⁾と並んで北海道²⁾で積極的に取り組んできている。

しかしながら、本病の特徴である発病と病気の進展が積雪下0℃前後の低温下で非常に緩慢であるので、作物が枯死するまで約3カ月も要する。そのうえ被害の判定が冠部生長組織からの再生茎の萌芽を待つために更に長期間を要することが抵抗性育種上大きなネックとなっている。それに対処するために我々は雪腐病菌の生育適

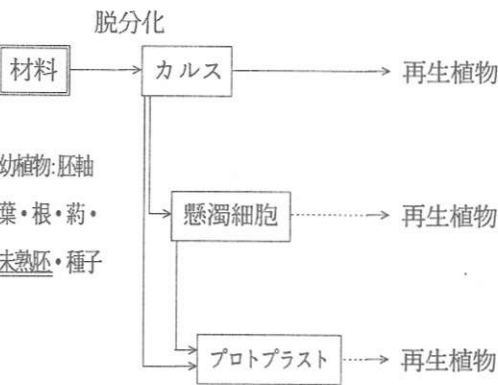
温が10℃以上の常温域にあることに着目して常温接種法を開発して個体レベルでの検定法の改良を図った¹⁵⁾。また同時にバイオテクノロジー分野の急速な進展により細胞レベルでの抵抗性検定が可能となってきたことにも注目した。すなわち、紅色雪腐病菌(*Fusarium nivale*)の属する*Fusarium*属病原菌についても、*F. oxysporum*の病原毒素(培養濾液)やその合成物(フザリン酸)による細胞選抜がアルファルファ⁹⁾、トマト¹⁶⁾、カーネーション⁵⁾において試みられている。紅色雪腐病菌においても1950年代に東北農業試験場で先駆的な試験が実施され、その病原毒素の存在が報告されている¹¹⁾。

ここでは小麦の培養細胞作出方法¹²⁾についてまず述べ、次いで東北地域で褐色小粒菌核病とならんで問題になっている紅色雪腐病を対象として、紅色雪腐病菌からの病原毒素の抽出とその小麦培養細胞に対する処理を行い、細胞レベルにおける抵抗性発現機構の解明と細胞選抜法開発のための基礎的知見を得る目的で現在実施

中の研究¹³⁾について報告したい。

1. 小麦培養細胞の作出

細胞選抜はカルス、懸濁細胞（液体培養），プロトプラスト等を対象にしてなされ，選抜された培養細胞から耐性を有する再生植物の作出を目的とする（図－1）。したがってまず培養細胞系の作出の検討を行うことが必要となる。



図－1 小麦の細胞培養系(－：確立，…：未確立)

培養系の作出に適する部位（組織）についてみると，小麦においても分化の進んでいない部位（幼植物の胚軸，葉，根や，葍，未熟胚，種子）について検討されたが，カルス経由の再生系においては未熟胚が最も適することが認められている^{1,12)}。それで未熟胚からのカルス誘導，カルスからの再生植物の安定作出法の確立を図り，次の段階として長期継代可能な実験系として懸濁細胞の作出，更にプロトプラスト系の確立を目的として研究を進めている。世界的にみても小麦では懸濁細胞¹⁴⁾及びプロトプラスト^{8,10)}から再生植物の作出が報告されているが，まだ後代種子の生産が可能な完全な植物作出の報告には接していない段階がある。しかし他の植物の場合と比較して，その成功も時間の問題と考

えられる。

(1) カルス形成に及ぼす未熟胚の採取時期とカルス誘導培地の影響

東北農業試験場圃場において標準栽培した小麦の7品種を供試した。開花後の経過日数によって4時期（開花後7，10，15，20日目）に採取して，2,4-D 2mg/ℓ，蔗糖2%，gelrite 0.2%を共通に添加した3基本培地（MS，B5，N6）を入れたシャーレ（固形培地）に未熟胚を1処理16～32個移植して，カルス形成率を調査した。開花後7日目ではいずれの品種も培地に関係なくカルスは形成されなかった（表－1）。10日目ではカルス形成に顕著な品種間差異が認められた。ナンブコムギとミヤギノコムギのMS培地区ではカルスが全く形成されなかったが，キタカミコムギはいずれの培地でも80%以上の形成率を示した。このように培地の影響も10日目に認められ，B5とN6培地での形成率がやや優れていた。しかし15日目では農林10号を除く6品種は90%以上の胚がカルスを形成し，特にMS培地区では全ての胚がカルスを形成した。また開花後20日目ではカルス形成はほぼ100%に達しているが，発芽した胚が20～50%ある上に，カルスの成長が劣った（データ省略）。

表－1 材料のステージと培地の種類のカルス形成(%)に及ぼす影響

開花後日数	7日			10日			15日		
	MS	B5	N6	MS	B5	N6	MS	B5	N6
農 林 10 号	0.0	18.8	65.6	81.3	100.0	81.3	62.5		
アオバコムギ	0.0	21.9	15.6	6.3	100.0	100.0	96.9		
キタカミコムギ	—	81.3	87.5	87.5	100.0	100.0	100.0		
ナンブコムギ	0.0	0.0	28.1	6.3	100.0	100.0	100.0		
ハチマンコムギ	0.0	59.4	78.1	53.1	100.0	100.0	100.0		
ミヤギノコムギ	0.0	0.0	0.0	12.5	100.0	100.0	100.0		
ワカマツコムギ	—	59.4	87.5	75.0	100.0	96.9	90.6		

(2) 未熟胚カルスからの個体再分化に及ぼす
培地の影響

カルス形成が最も優れている開花後15日目の
未熟胚より誘導したカルスをグリーンスポット
出現までは2,4-D 2mg/ℓ, 蔗糖2%と gelr-

ite 0.2%, 出現以後は2,4-D freeとして蔗
糖2%と gelrite 0.2%を共通に添加した3基
本培地 (MS, B5, N6) で培養して再生率を調
査した (表-2)。

表-2 コムギ未熟胚カルスからの再分化個体率 (%) に及ぼす培地の影響

培 地	MS			B 5			N 6		
	良	不良	計	良	不良	計	良	不良	計
農 林 10 号	43.8	15.6	59.4	3.8	0.0	3.8	0.0	0.0	0.0
ア オ バ コ ム ギ	25.0	6.3	31.3	6.7	0.0	6.7	9.7	0.0	9.7
キ タ カ ミ コ ム ギ	15.6	6.3	21.9	0.0	0.0	0.0	3.1	3.1	6.3
ナ ン ブ コ ム ギ	6.3	0.0	6.3	3.3	0.0	3.3	0.0	0.0	0.0
ハ チ マ ン コ ム ギ	9.4	25.0	34.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
ミ ヤ ギ ノ コ ム ギ	6.7	6.7	13.3	0.0	0.0	0.0	0.0	6.3	6.3
ワ カ マ ツ コ ム ギ	31.3	15.6	46.9	9.7	3.2	12.9	0.0	6.9	6.9

B5とN6培地で再生個体が得られた品種は7
品種中4品種に過ぎず、その再生率も最高が13
% (ワカマツコムギ, B5培地) であり、両培
地は再分化培地としては不適と判明した。MS
培地では何れの品種も他の培地より高い再生率
を示したが、品種間の変異も顕著に認められた。
すなわち、農林10号とワカマツコムギが50~60
%の再生率を示したが、ナンブコムギは6%で
あった。また、再分化してもその後の生育が不
良であった個体の割合にも変異が認められ、特
にハチマンコムギでその割合が大きかった。

(3) 未熟胚カルスからの個体再生に及ぼすホ
ルモンの影響

ホルモンによって再生率の向上が図られるか
を知るために、コムギ5品種の未熟胚由来のカル
ス (1処理16カルス) をMS基本培地 (蔗糖
2%・gelrite 0.2%添加) に植物ホルモン3
水準処理 (1.2, 4-D 2mg/ℓ 2, NAA
0.1 mg/ℓ + Kinetin 1mg/ℓ 3, N
AA 1mg/ℓ + Kinetin 1mg/ℓ) 加え
た固形培地で培養して、再生率を調査した (表-
3)。

表-3 ホルモンの再分化 (%) に及ぼす影響

品 種	2,4-D 2mg			NAA0.1+Kinetin 1mg			NAA1+Kinetin 1mg/ℓ		
	再生	発根	G. S.	再生	発根	G. S.	再生	発根	G. S.
ナ ン ブ コ ム ギ	3.9	40.7	20.3	1.8	59.2	20.3	1.9	59.2	38.9
ミ ヤ ギ ノ コ ム ギ	5.6	23.9	15.5	0.0	11.8	11.8	0.0	17.6	29.4
ハ チ マ ン コ ム ギ	34.0	36.2	23.4	0.0	25.0	35.0	0.0	20.0	35.0
ア オ バ コ ム ギ	28.6	16.6	7.1	20.0	60.0	20.0	0.0	40.0	50.0
Chinese Spring	66.1	3.2	28.4	42.0	8.0	50.0	58.3	16.6	25.0

注. 再生: 植物体再生 発根: 根のみ分化 G.S.: グリーンスポット形成のみ

標準区（2, 4-D 添加）と比較して、グリーンスポットを形成したカルの割合が NAA と kinetin の組合せ区において増大する傾向は認められたが、再生率の向上効果は認められなかった。またハチマンコムギのように標準区でかなりの再生個体を得られた品種も認められたが、植物ホルモンの種類や量によってどこまで再生率を向上させるかは今後の課題である。またこのようなネガティブなデータも何らかの形で報告することは試験の効率の上から有益であろう。

（4）未熟胚カルの植物体再生率に関する遺伝的変異

カルスからの再生率を3年間調査をしたが、品種間変異が大きく、農林18号とさび系50号が80%を越えたのが最高で、2年間調査してもサキウコムギのみは0%であった。1988年に国の内外より集めた123品種について調査した結果では平均再生率は26%であり、国内品種（30%, 45品種）が外国品種（23%, 78品種）よりやや高かったが、再生率において地域的な差異は明瞭でないと考えられた（図-2）。

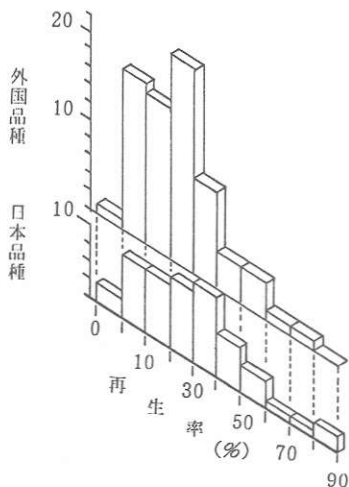


図-2 小麦品種の未熟胚カルスからの再生率の頻度分布（1988）

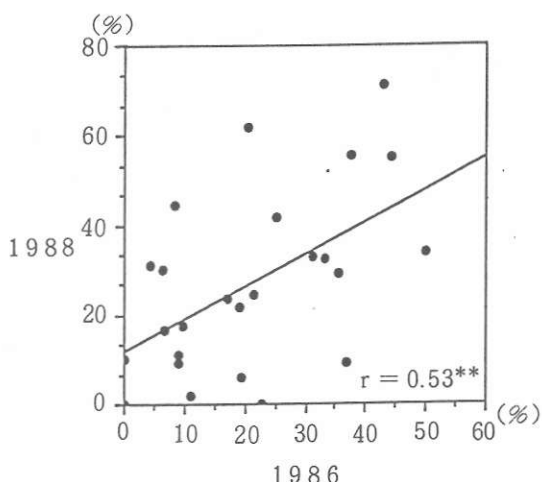


図-3 再生率の年次間相関

2年間を通じて厨川圃場で標準栽培した小麦25品種について再生率を比較したところ、1988年では25品種中6品種再生率が低下しただけで、高い再生率を示した（図-3）。両年間で有意な年次間相関が得られ、植物再生には遺伝的影響が大きいことが認められた。現在再生植物からの未熟胚由来の再生植物を作出して、再生に関与する遺伝子が集積可能かを検討している。またカルスからの再生過程における体細胞変異（somatic variation）についても再生植物を圃場に栽培して調査をしており、稈長などで変異が認められている。

細胞処理を行う上で塊状のカルスよりはもっとばらばらになっている懸濁細胞、更にプロトプラストが適する。それで106品種のカルスを液体培養したところ16系統（15%）継代培養が可能な懸濁細胞が得られたので、以下に示した試験に供試した。

2. 小麦細胞に対する毒性物質の影響 と細胞選抜法の開発

組織培養を利用して耐病性個体作出を試みられている。その方法は培養中に生ずる体細胞変異又は化学的処理（変異誘発剤）や物理的処理（放射線等）により人為的に誘発された変異細胞を、1）病原（菌・ウイルス）や病原毒素を含む培養濾液などによる細胞処理した後に選抜して得られた耐性細胞からの再生植物、又は、2）細胞選抜を加えず再生植物から抵抗性個体を選抜する。Daubによると約10種ほどの病気で、*in vitro*選抜の効果が認められ、また *in vitro*選抜を行わず主として体細胞変異により抵抗性個体が得られた作物として、アルファルファ、セロリー、馬鈴薯、サトウキビ、タバコなどが報告されている⁹⁾。なお、培養中に生ずる体細胞変異を利用して再生植物の選抜のみによっても耐病性個体が得られるが、細胞選抜を加えた方が選抜効率が勝るとされている。

病原菌産生毒素としては宿主特異的毒素（host-specific toxin）と非特異的毒素があり、前者は感染過程において、ある植物を宿主として特定する上で決定的な役割を果たし、宿主となる品種にだけ毒性を示し、感受性を持つ細胞を殺す（*Altenaria* 属・*Helminthosporium* 属等）¹⁰⁾。非特異的毒素は宿主認識には関与しないが、発病過程で病徴発現させ、かつ物質を単離して、植物に与えると病徴（の一部）が発現される。紅色雪腐菌では非特異的毒素を産出するので、それを含む培養濾液を取り扱った。

当初予備試験として、カルスに培養濾液を処理した。カルスは増殖速度が劣る上に塊状のカルス中に濾液が浸透するのに時間を要し、色調の変化から品種間差異の判定が可能になるまで

約100日かかった。それで増殖が速やかで、細かく分離されている懸濁（液体培養）細胞について試験した結果を報告する。

(1) 病原毒性物質の抽出法と処理法の検討

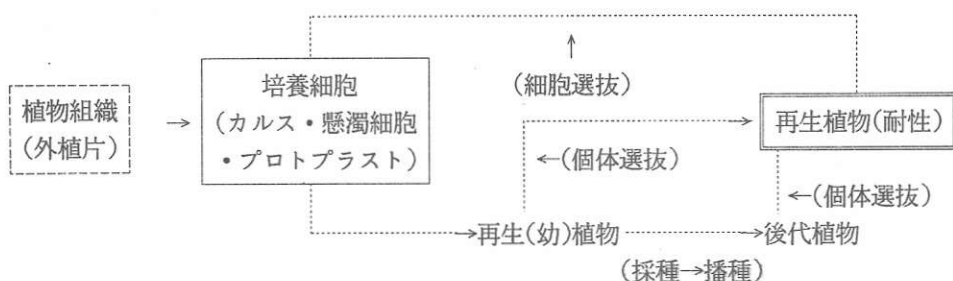
病原毒性物質を含む培養濾液を得るために、紅色雪腐菌の2菌株、FK-1（強）とPS-2（弱）、を表-4に示した4種類の培地で培養して菌体重や濾液 pH の時間的推移を調査して、毒素の抽出に適した培養条件を検討した。Pool 培地では菌は殆ど生育せず、Czapek 培地においてはやや増殖したが、両培地は紅色雪腐菌増殖培地には適さないことが判明した。PDB（ポテトデキストロース液体）培地とWEB（コムギエキス液体）培地では菌の増殖が良好であった。

表-4 コムギ紅色雪腐菌（*Fusarium nivale*）の増殖に及ぼす液体培地の種類の影響

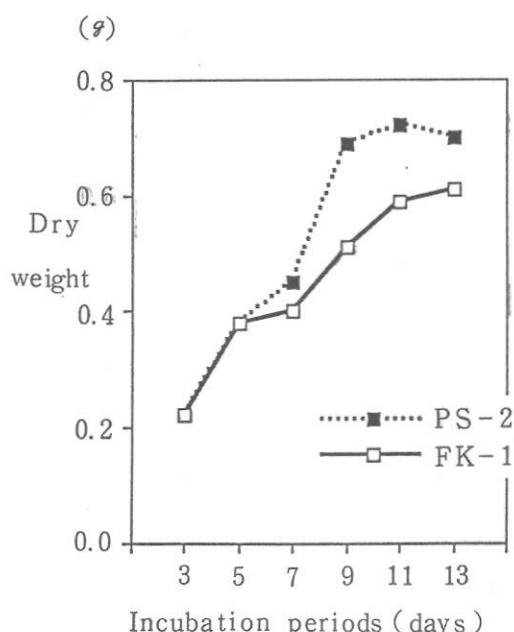
菌 株	培 地			
	PDB	WEB	Pool	Czapek
FK-1	0.40	0.70	0.00	0.12
PS-2	0.45	0.50	0.05	0.22

注. 20℃ 7日間振とう培養後の振とうフラスコ1本当たりの乾燥菌体重(g)

菌体重の時間的推移を2菌株用いて調査したところ、7日目までは両菌株類似した重量の増加傾向を示したが、その後ややPS-2が優ったが、両者とも11日目ではほぼ最高に達した（図-4）。次に濾液中の pH についてみると、5日目から pH は上昇して菌体重と同じく11日目に最大に達した（図-5）。また病原力の強い菌株（FK-1）は弱い菌株（PS-2）より、高い



図－４ 細胞培養系からの耐性植物選抜



図－５ 培養日数と菌体重の変化（PDB 液体培地，20℃暗黒）

pH 値を示したが，病原力と pH との関連を推測するには供試菌株数が不足している。

小麦品種 Fundulea133 の懸濁細胞を供試して紅色雪腐病菌（FK-1）の培養濾液による処理法を検討した（表－５）。濾液濃度は 0.25% でも 13% ほど無処理区に比べて増殖が抑制され，処理効果が認められた。そして培養濾液濃度が

表－５ 紅色雪腐病菌（FK-1）培養濾液濃度が懸濁細胞の増殖に与える影響

	培養濾液濃度(%)					
	0	0.25	1.0	4.0	8.0	16
Fundulea133	100	86.7	78.8	42.3	32.2	43.6

注. MS 液体培地で培養 7 日後の無処理区の生体重を 100 とした相対値

増すに従い増殖が阻害され，4% 以上の濃度では処理の効果は一定となった。したがって，処理濃度として 4～16% が適当と認められた。

(2) 紅色雪腐病菌培養濾液とマイコトキシンによる細胞処理

病原毒素の細胞処理法として培養濾液処理によって成果が得られている例が多い（6-8,15）。なお *F.nivalis* は夏には小麦の赤かび病の病原となり，動物に有害な数種のマイコトキシンを産生する。植物に対する毒性はまだ試験されていない。その一種であるデオキシニバレノール（DON）も参考に供試した。

紅色雪腐病菌の病原力の異なる 2 菌株の培養濾液を小麦 8 品種より得られた懸濁細胞に処理して，処理後 7 日目の生体重について無処理区

との比率を求めた（表－6）。濾液中には病原毒素以外にも病原菌が産生する様々な物質が含まれており、その中でもある種の生理活性物質に対する反応が品種により異なった。Bounty 301, Kasava, Sterna の3品種の懸濁細胞は30－60%も無処理区より増大した。そして東北産3品種は濾液処理効果は認められなかった。このように増殖を促進する物質の存在するにも拘ら

ず、Fundulea 133と Pliska では無処理区の30－40%と大きく抑制された。なお個体レベルでは病原力に差異が認められた2菌株の影響は細胞レベルでは認められなかった。また処理によって増殖が促進された細胞を検鏡したところ、細胞数が増大するより、むしろ個々の細胞が大きくなることが認められている。

表－6 紅色雪腐病菌培養濾液とマイコトキシンの懸濁細胞の増殖に及ぼす影響

品 種	育 成 地	培養濾液（菌株）		抑制効果	マイコトキシン (deoxynivalenol)
		FK－1	PS－2		
Fundulea 133	ルーマニア	30.5	43.3	＋	24.4
Pliska	ブルガリア	43.2	37.6	＋	30.5
サキウコムギ	岩 手	115.6	86.3	±	－
農林6号	岩 手	86.3	100.5	±	－
農林27号	岩 手	－	112.3	±	93.8
Bounty 301	U.S.A.	147.6	146.3	－	73.9
Kasava	ユーゴスラビア	134.2	135.3	－	－
Sterna	ユーゴスラビア	137.8	162.8	－	89.0

注. 処理後 MS 液体培地で培養7日後の生体重について無処理区100としたときの相対値

同じ *F. nivale* から得られたマイコトキシン (DON) を処理したところ、培養濾液で抑制された Fundulea 133 と Pliska は抑制され、培養濾液処理で影響受けなかったかまたは増殖した農林27号、Bounty 301 と Sterna はマイコキシンの影響が少なかった。このことは DON が細胞間の増殖変異を示す原因物質（の一つ）であり、DON の作用を増幅する働きをする特定物質が培養濾液中に存在するということも考えられる。

選抜法確立の上で、個体レベルでの抵抗性が細胞レベルでの抵抗性と平行しているかを検討する必要がある。あいにく暖冬であったために圃場調査では品種間差異が認められなかった。増殖が抑制された品種 (Fundulea 133) と増殖

した品種 (Sterna) について常温接種法により個体レベルでの抵抗性を検定した（表－7）。Sterna は関東品種並の抵抗性であり、それにたいし Fundulea 133 は東北品種では最強のナンブコムギには若干劣るが東北産品種の平均的な抵抗性を示している。すなわちサキウコムギなど3品種と同程度と思われる。今後2品種以外についても個体レベルでの抵抗性を検定して、培養濾液に対する反応との関係を明らかにして研究結果をまとめてゆきたい。

表－7 小麦品種の紅色雪腐病抵抗性

品 種	トヨホコムギ	Sterna	Fundulea-133	ナンブコムギ
LI50*	7.7	8.1	10.4	12.4
抵抗性	弱	弱	中	強

注. * : LI50＝病菌接種後15℃で発病させ、半数の個体が死亡したときの日数

(3) 抵抗性発現に及ぼすハードニングの影響

抵抗性発現機構の解明には個体レベル、組織レベル、細胞レベル、更に分子レベルへと推し進めることが望まれる。ここでは個体レベルでの抵抗性発現に最も大きな影響を有するハードニングについて試験した。図-6に抵抗性の異なる小麦2品種、ナンプコムギ（抵抗性中）・PI 173438（抵抗性強）、における個体レベルでの抵抗性発現に及ぼすハードニングの影響を示した。無ハードニングではむしろナンプコムギが優れているが、ハードニング1週間で両者並び、ナンプコムギは3週間で最大値に達し、圃場条件で獲得した水準に達した。3週間以上のハードニングによってもPI 173438は更に抵抗性を増大させ、5週間のハードニングでは圃場条件で獲得した水準（遺伝的ポテンシャル）には達しなかった。

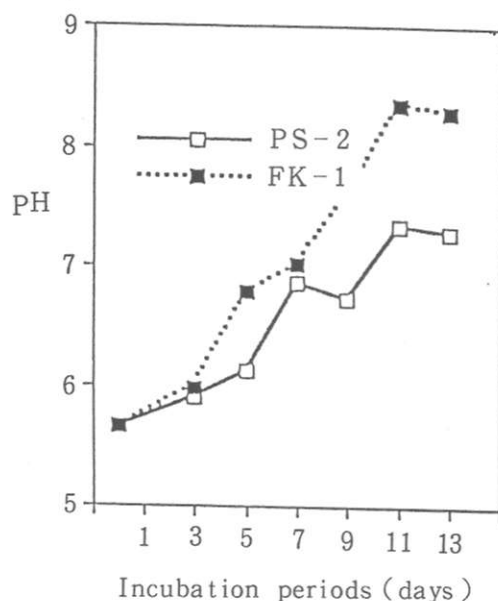


図-6 培養日数とpHの変化（PDB液体培地、20℃暗黒）

以上のように個体レベルでは決定的に重要なハードニングが細胞レベルでも効果が認められるかを調査した（表-8）。1週間ハードニングした場合はPliskaに対するFK-1区が76%と無ハードニング区の43%に比べてハードニングの効果が認められた。しかしFundulea 133についてみると1-2週のハードニングでは効果がみられなかったが、3週間目には83~96%の増殖率を示し、培養濾液処理による増殖抑制効果が極めて軽減することが判明した。細胞レベルではハードニングの効果が認められるのにより長時間要するのか、また懸濁細胞間に個体レベルと類似した差異が認められるのか等を今後究明して、細胞レベルでの抵抗性発現機構解明の端緒としたい。

表-8 ハードニング（5℃暗黒）が懸濁細胞の紅色雪腐病菌培養濾液に対する反応に及ぼす影響

品 種	菌株	ハードニング期間(週)			
		0	1	2	3
Fundulea 133	FK-1	30.5	36.5	36.7	83.4
	PS-2	43.3	36.0	39.0	96.0
Pliska	FK-1	43.2	75.7	-	64.9
	PS-2	37.6	49.9	-	42.8

注. MS液体培地のみで同じ期間ハードニングした無処理区の生体重を100とした相対値

3. 結 び

細胞選抜法を実施する上で不可欠な培養細胞系の安定的作出技術と病菌産生毒素の単離手法が確立されていないため、実用化までは時間を要する。しかし、特に雪腐病を取り上げた理由は二つある。細胞選抜法は時間の節約にはなら

ないともいわれているが、前述したように雪腐病は低温下で病気がゆっくり進展するためや宿主にはハードニングが必要であることなどで、非常に時間を要することから、本法でも時間短縮の効果があるとみられる。更に重要なことは、本病が寒冷積雪地特有であるために、筑波の専

門場所に任せることはできないことである。現在、植物病理、育種分野の研究者もこの問題に目を向けているこの機会を逃さず、バイオテクノロジーの実用化という面から取り組んでゆきたい。

引用文献

- 1) Ahloowalia, B. S. 1982. Plant regeneration from callus culture in wheat. Crop Sci. 22 : 405-410.
- 2) 天野洋一, 尾関幸男, 1981. 秋播小麦の雪腐病抵抗性と耐凍性育種. 1. 検定方法の改善と抵抗性品種分類への適用. 北海道立農試集報 46 : 12-21.
- 3) Arsvoll, K. 1977. Effects of hardening, plant age and development in *Phleum pratense* and *Festuca pratensis* on resistance to snow mold fungi. Meld. Nor. Landbrukshoegsk. 56 : 1-14.
- 4) Bruehl, G.W.; Sprague, R.; Fischer, W.R.; Nagamitsu, M.; Nelson, W.L.; Vogel, O.A. 1966. Snow mold of winter wheat in Washington. Wash. Agric. Exp. Stn. Bull. 667 : 1-21.
- 5) Buiatti, M.; Scala, A.; Bettini, P.; Nascari, G.; Morpurgo, R.; Bogani, P.; Pellegrini, G.; Gimelli, F.; Venturo, R. 1985. Correlations between *in vivo* resistance to *Fusarium* and *in vitro* response to fungal elicitor and toxic substance in carnation. Theor. Appl. Genet. 70 : 42-47.
- 6) Daub, M.E. 1986. Tissue culture and the selection of resistance to pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 24 : 159-186.
- 7) Gaudet, D.A.; Chen, T.H.H. 1987. Effects of hardening and plant age on development of resistance to cottony snow mold (*Coprius psychromorbidus*) in winter wheat under controlled conditions. Can. J. Bot. 65 : 1152-1156.
- 8) Harris, R.; Wright, M.; Byrne, M.; Varnum, J.; Brightwell, B.; Schubert, K. 1988. Callus formation and plantlet regeneration from protoplasts derived from suspension cultures of wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant Cell Rep. 7 : 337-340.
- 9) Hartman, C.L.; McCoy, T.J.; Knous, T.R. 1984. Selection of alfalfa (*Medicago sativa*) cell lines and regeneration of plants resistant to the toxin produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis*. Plant Sci. Lett. 34 : 183-194.
- 10) Hayashi, Y.; Shimamoto, K. 1988. Wheat protoplast culture : embryogenic colony formation

- from protoplasts. Plant Cell Rep. 7 : 414-417.
- 11) Hirai, T. 1956. Studies on the nature of disease resistance in plants. A contribution to the knowledge concerning the mechanism of infection of plants by the weak pathogenic fungi under snow-cover and the nature of disease resistance against fungi or viruses on the basis of the results of host and cyto-chemical observations. Forsch. Geb. Pflanzenkr. 5 : 139-157.
- 12) 伊藤誠治, 阿部二郎. 1990. コムギ未熟胚からのカルスの誘導と植物体の再分化. 東北農試研報 81 (投稿中)
- 13) 伊藤誠治, 中島 隆, 星野次汪, 阿部二郎. 1989. コムギ懸濁培養細胞の増殖に及ぼす *Fusarium nivale* 培養濾液とトキシンの影響. 育種 39 (別2) : 280-281.
- 14) Maddock, S.E. 1987. Suspension and protoplast culture of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant Cell Rep. 6 : 23-26.
- 15) Nakajima, T. ; Abe, J. 1990. A method for assessing resistance to snow molds, *Typhula incarnata* and *Microdochium nivale*, in winter wheat incubated at the optimum growth temperature of fungi. Can. j. Bot. (in press).
- 16) Toyoda, H. ; Tanaka, N. ; Hirai, T. 1984. Effect of the culture filtrate of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* on tomato callus growth and the selection of resistant callus cells to the filtrate. Ann. Phytopath. Soc. Japan 50 : 53-62.
- 17) 上野民夫. 1986. 農作物を枯らす宿主特異的毒素の開明. サイエンス 16(8) : 72-83.