

イタリアンライグラス(*Lolium multiflorum* Lam.)の耐凍性検 定法の開発と冬期間の耐凍性の推移

誌名	日本草地学会誌
ISSN	04475933
著者	田瀬, 和浩 小林, 真
巻/号	42巻1号
掲載ページ	p. 73-78
発行年月	1996年4月

イタリアンライグラス (*Lolium multiflorum* Lam.) の 耐凍性検定法の開発と冬期間の耐凍性の推移

田瀬和浩・小林 真*

北陸農業試験場水田利用部 (943-01 新潟県上越市稲田 1-2-1)

* 現在: 国際農林水産業研究センター沖縄支所 (907 沖縄県石垣市真栄里川良原 1091-1)

Hokuriku National Agricultural Experiment Station, Inada, Joetsu, Niigata, 943-01 Japan

* Present address: Okinawa Subtropical Station, Japan International Research Center for
Agricultural Sciences, Ishigaki, Okinawa, 907 Japan

受付日: 1995年6月8日/受理日: 1996年1月8日

Synopsis

Kazuhiro TASE and Makoto KOBAYASHI (1996): Development of Screening Technique for Freezing Tolerance in Italian Ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) and Changes of Freezing Tolerance in Cultivars during Winter. *Grassland Science* 42, 73-78.

This study was carried out to establish suitable screening technique of freezing tolerance in Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) with the method modified in terms of freezing treatments of the artificial screening technique for cold hardiness developed by FULLER and EAGLES (1978).

Scheme of screening technique of freezing tolerance for Italian ryegrass was as follows: The seedlings were raised in a growth cabinet at day/night temperature of 20/15°C with 16 h photoperiod for 4 weeks. Raised seedlings at the 3-4 leaf stage were hardened for 14 days in a growth cabinet at 2°C with 8 h photoperiod. Following hardening, the seedlings were subjected to 5 freezing treatments where the temperature was lowered to the fixed temperature of -4 to -12°C at 2°C intervals at a cooling rate of 1°C/h followed by 16 h plateaus and thawed at heating rate of 2°C/h, maintained at 2°C for 24 h. After freezing treatment, seedlings were maintained for 3 weeks under the same condition as the growing condition. Then, plant mortality was recorded and LT₅₀ (Lethal temperature for 50% kill of plants) was estimated by the probit analysis. This technique was applied to assess the change of freezing tolerance during winter.

Key words: Freezing tolerance, *Lolium multiflorum* Lam., LT₅₀, Screening technique.

緒 言

積雪地におけるイタリアンライグラス (*Lolium multiflorum* Lam.) の越冬性の改良方法としては、耐雪性を中心

本報告の一部は、第47回発表会(1992年9月)及び第80回育種学会講演会(1991年10月)において発表した。

とした圃場選抜を雪腐病被害度、再生力及び早春の草勢等を指標に行なうのが一般的である。また圃場試験における毎年の気象条件の不安定さを克服するために、雪腐病の人工接種法による耐雪性の簡易検定法も確立され、これらを応用していくつかの積雪地向きの耐雪性品種が育成されてきている。しかし、既報¹⁶⁾に示したとおり北陸地域のような積雪地帯においては積雪のために植物体が0°C以下の低温にほとんど曝されることがなく、耐寒性の圃場選抜は行なえず、これまでに育成された耐雪性品種は耐寒性に優れないことが明らかになった。今後、寒冷な地域にイタリアンライグラスの栽培範囲を拡大するためには耐寒性の強化が不可欠であり、そのためには、まず耐寒性の主要因である耐凍性を制御環境下で安定的に評価することが必要である。

耐凍性の検定法としては、主に1940年代より小麦や牧草において数多くの研究が行なわれ、一温度水準一定時間の凍結処理後の生存個体率により評価する検定法^{14,17-19)}とLD₅₀(Lethal dose temperature for 50% kill of plants)値を指標として評価する検定法^{7,15)}が開発された。前者は一定水準の耐凍性個体を選抜することには適するが、品種間差異の検出や耐凍性の経時的変化等を明らかにするには不適当であり、現在では主に後者が広く用いられている。

本報では、既にFULLER and EAGLES⁷⁾によってペレニアルライグラス (*Lolium perenne* L.) の幼苗を対象に開発されたLD₅₀値を用いる耐凍性の検定法を、イタリアンライグラスの幼苗に適用可能なように改良すると共に、その検定法を用いて積雪地におけるイタリアンライグラス品種の冬期間の耐凍性の推移を評価したので報告する。なお近年、研究者によってはLD₅₀と同じ意味でLT₅₀(Lethal temperature for 50% kill of plants)という略語が多く用いられており、本報告においても以下LT₅₀を用いる。

材料および方法

1. 耐凍性検定法(試験1)

国内で育成された主要なイタリアンライグラスの11品種を供試した(表3のNo.1, 3, 5, 7, 10-12, 15-18)。このう

ち「ミュキアオバ」と「ワセアオバ」は北陸農業試験場（以下北陸農試と略す）で育成された積雪地向きの耐雪性品種である。各々の品種をシードリングケース（15×6×10 cm）に1シードリングケース当たり16個体、4反復で播種し、人工気象室（20°C/15°C、16/8時間、16時間日長）で約30日間育苗した。育苗土壌はクレハ園芸培土を用いた。耐凍性検定法の流れは図1に示してあり、幼植物が3-4葉期に達した時点で2°C、8時間日長で14日間のハードニングを行ない、その後、直ちに植物体全体の凍結処理を行なった。凍結処理温度は-4、-6、-8、-10、-12°Cの5水準、凍結処理時間は8、12、16、24時間の4水準とした。凍結処理後、育苗条件と同じ条件で3週間再生させ、生存個体率を調査した。また各凍結処理時間ごとに凍結処理温度5水準の生存個体率データを用いてプロビット法によってLT₅₀値を求めた。なお、凍結処理方法は2°Cで2時間平衡化した後、冷却速度1°C/時間の割合で所定温度まで下げ、所定時間を保った後に、融解時の加温速度を2°C/時間として2°Cまで加温し、24時間保った。

2. 冬期間の耐凍性の推移（試験2）

1991年9月18日に試験1の11品種に導入品種等の7品種を加え、計18品種（表3）を条間70 cm、播幅10 cm、畦長

1.0 mの3反復で北陸農試圃場に播種した。10月から翌年の3月までの各月の中旬に圃場から植物体を掘り取り、根際より茎葉部5 cm、根部3 cmの部分を残して調整し、水洗後アルミフォイルに包み、-2~-12°Cまで2°C間隔の温度水準で各々16時間の凍結処理を行ない、その後は試験1と同様の方法によりLT₅₀値を求めた。各処理温度におけるサンプル数は1品種20個体の3反復とした。

結 果

1. 耐凍性検定法（試験1）

各凍結処理条件における供試11品種の生存個体率とLT₅₀値の平均値及び変異幅を表1に示した。各凍結処理条件における生存個体率の供試品種の平均値は、凍結処理温度が低くなるに従って、また凍結処理時間が長くなるに従って低くなった。このうち凍結処理温度の方が生存個体率に顕著に影響しており、-4°Cの場合どの凍結処理時間においても全品種が100%生存したが、-12°Cの場合ではほとんどの品種が枯死した。特に凍結処理温度が-10°Cの場合に急激な生存個体率の低下が認められた。生存個体率の品種による変異幅は、凍結処理時間が12、16及び24時間で、いずれも凍結処

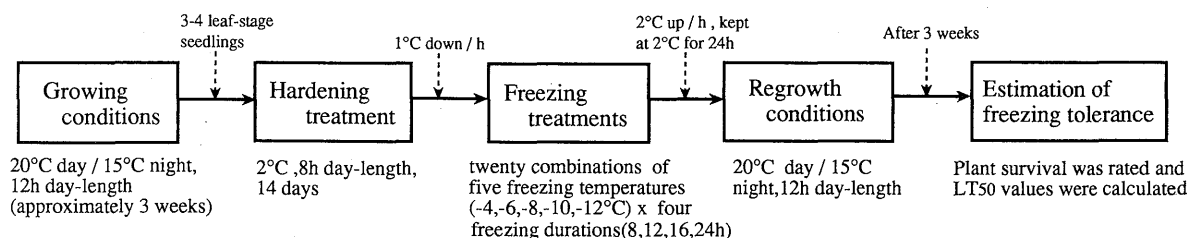


Fig. 1. Scheme of artificial screening technique for freezing tolerance in Italian ryegrass.

Table 1. Average percentages of plant survivals and average LT₅₀ values of 11 Italian ryegrass cultivars after various freezing treatments.

Freezing temperature (°C)	Hours of freezing			
	8	12	16	24
-4	100.0 ^{a)} (100.0-100.0) ^{b)}	100.0 (100.0-100.0)	100.0 (100.0-100.0)	100.0 (100.0-100.0)
-6	99.8 (98.4-100.0)	98.3 (90.9-100.0)	97.7 (89.8-100.0)	87.9 (57.8-100.0)
-8	95.8 (78.4-100.0)	65.2 (33.2-93.5)	62.8 (22.2-88.6)	49.8 (23.9-75.9)
-10	71.3 (57.3-89.9)	12.0 (0.5-32.2)	4.3 (0.0-12.1)	0.1 (0.0-0.7)
-12	6.6 (0.0-21.3)	0.1 (0.0-0.6)	0.0 (0.0-0.0)	0.0 (0.0-0.0)
LT ₅₀ ^{c)}	-10.3 ^{d)} (-9.3--10.8) ^{b)}	-8.4 (-7.4--9.2)	-8.1 (-7.3--8.8)	-7.5 (-6.4--8.2)

^{a)} Average percentage of plant survivals.

^{b)} Range (minimum - maximum).

^{c)} Lethal temperature for 50% kill of plants.

^{d)} Average LT₅₀ value.

理温度が -8°C の供試品種の生存個体率の平均値が50%程度の区において大きかった。

各凍結処理時間での供試品種の LT_{50} 値の平均値は、8時間の凍結処理を行なった場合に -10.3°C 、24時間の凍結処理を行なった場合に -7.5°C と、凍結処理時間が長くなるに従って高くなった。 LT_{50} 値の品種による変異幅は、いずれの凍結処理時間においても 1.5°C 前後であった。

これらの各凍結処理条件における各品種の生存個体率及び LT_{50} 値と既報¹⁶⁾で述べた家畜改良センター長野牧場圃場での耐寒性試験における越冬後の生存個体率との間の単相関係数を表2に示した。一温度水準一定時間による凍結処理後の生存個体率と圃場試験における耐寒性の評価としての生存個体率との間には、 -8°C 、16時間処理においてのみ 0.63^* (*は5%水準で有意)の相関関係が認められた。また LT_{50} 値と圃場試験における生存個体率との間には、凍結時間16時間処理においてのみ 0.74^{**} (**は1%水準で有意)の高い相関関係が認められた。この関係は図2に示してあり、「エース」、「ヒタチアオバ」の LT_{50} 値は各々 -8.8°C 、 -8.7°C と高く耐凍性に優れ、一方、「ミナミワセ」、「サクラワセ」のそれは各々 -7.5°C 、 -7.3°C と低く耐凍性に劣ることが認められた。

2. 冬期間の耐凍性の推移

北陸農試圃場においてサンプリングしたイタリアンライグラスの10月から3月までの冬期間の LT_{50} 値の推移を表3に示した。供試品種の LT_{50} 値の平均値は、10月の -3.6°C から急激に低下し、12月に最も低い -9.3°C となり、その後は緩やかに上昇した。この耐凍性の推移はどの品種についても同様に認められた。各月における LT_{50} 値の品種による変異幅は、11月から徐々に大きくなり、12月には $-7.1\sim-11.3^{\circ}\text{C}$ と最も大きくなり、その後は徐々に小さくなった。最も耐凍性が増大した12月の LT_{50} 値に基づき耐凍性の強弱を $-7.0\sim-7.9^{\circ}\text{C}$ の耐凍性の低い品種群、 $-8.0\sim-8.9^{\circ}\text{C}$ のやや低い品種群、 $-9.0\sim-9.9^{\circ}\text{C}$ のやや高い品種群及び -10°C 以下の高い品種群に分類することができる。耐凍性の低い品種群には

Table 2. Correlation coefficients between percentage of plant survivals^{a)} in cold hardiness field trial and either of LT_{50} value or percentage of plant survivals after various artificial freezing treatments.

Freezing temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Hours of freezing			
	8	12	16	24
-4	0.00	0.00	0.00	0.00
-6	0.40	0.23	0.53	0.42
-8	0.24	0.29	0.63*	0.46
-10	0.38	0.51	0.57	0.50
-12	0.41	0.54	0.00	0.00
LT_{50} ^{b)}	0.43	0.56	0.74**	0.49

a) Refer to page 63-67 in this journal, 42, 1996.

b) Refer to the note^{c)} of Table 1.

*, **: Significant at 5% and 1% levels, respectively. Percentages were transformed to arcsin values for purpose of analysis.

「サクラワセ」、「ミナミワセ」の2品種が、やや低い品種群には「Gulf」、「ワセユタカ」などの4品種が、やや高い品種群には「Otsaat-Landsberg」、「フジオオバ」などの7品種が、そして高い品種群には「エース」、「Tur」などの5品種が属した。また各月における各品種の相対的な耐凍性の強弱をみると、どの品種も11月及び1月においては、ほとんど12月の耐凍性の強弱と類似していたが、2月、3月においてはその様相は異なり極めて耐凍性の変動が大きく、耐凍性の高い品種群の「Tur」は耐凍性が低下し、また耐凍性のやや高い品種群の「ミユキアオバ」は耐凍性が高くなり、逆に「Imperial」は低くなった。耐凍性がやや低い品種群あるいは低い品種群においては、2月に「Magnolia ryegrass」の耐凍性が相対的に高まったが、それ以外の極端な変動は認められず、耐凍性は低い傾向のままであった。また10月の相対的な耐凍性の強弱は、12月の耐凍性の強弱と極めて異なり明瞭な傾向は認められなかった。倍数性との関係でみると、耐凍性の低い品種群及びやや低い品種群は全て2倍体品種であったが、それ以外の耐凍性の高い品種群には2倍体、4倍体のどちらの品種も存在し、倍数性による明瞭な違いは認められなかった。

耐凍性の変化は気温と密接に関係していることが他の牧草等で示されており^{5,12,14)}、この関係をみるために冬期間の各月における供試品種の LT_{50} 値の平均値と日最低気温及び積雪量を図3に示した。12月までは日最低気温が低下するに従って LT_{50} 値も低下することが認められた。しかし、それ以後日最低気温の低下がみられたものの LT_{50} 値の低下は認められず、むしろ最も日最低気温が低下した2月には LT_{50} 値が高まり、耐凍性の低下が認められた。

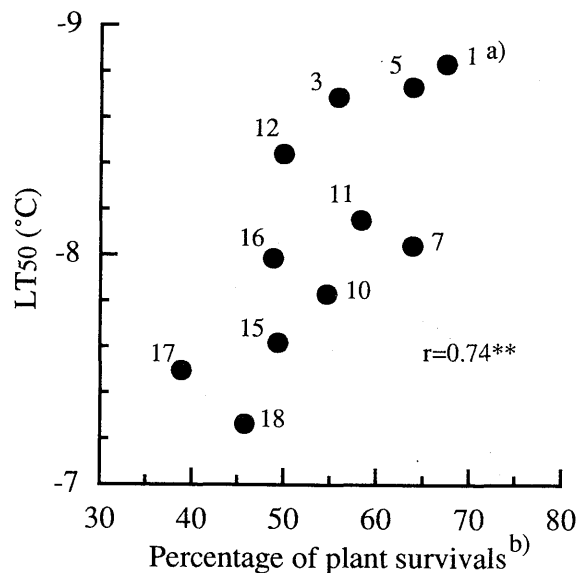


Fig. 2. Relation between percentage of plant survivals in cold hardiness field trial and LT_{50} value of 11 Italian ryegrass cultivars.

a) Numbers are the same as those in Table 3.

b) Refer to the note of Table 2.

** : Significant at 1% level.

Table 3. Changes in $LT_{50}^a)$ value of 18 cultivars of Italian

Degree of freezing tolerance ^{b)}	No.	Cultivar	Origin	Ploidy
High freezing tolerance	1	Ace	Japan	4x
	2	Tur	Poland	2x
	3	Waseaoba	Japan	2x
	4	Tetila-Barenza	Netherlands	4x
	5	Hitachiaoba	Japan	4x
Slightly high freezing tolerance	6	Otsaat-Landsberg	Germany	2x
	7	Fujiooba	Japan	4x
	8	Niigatakei	Japan	2x
	9	Imperial	Sweden	2x
	10	Miyukiaoba	Japan	4x
	11	Futaharu	Japan	4x
	12	Haruaoba	Japan	2x
Slightly low freezing tolerance	13	Gulf	USA	2x
	14	Magnolia ryegrass	USA	2x
	15	Waseyutaka	Japan	2x
	16	Minamiaoba	Japan	2x
Low freezing tolerance	17	Minamiwase	Japan	2x
	18	Sakurawase	Japan	2x
Average				
Range (min.-max.)				

a) Refer to the note^{c)} of Table 1.

b) Classified according to LT_{50} values in December.

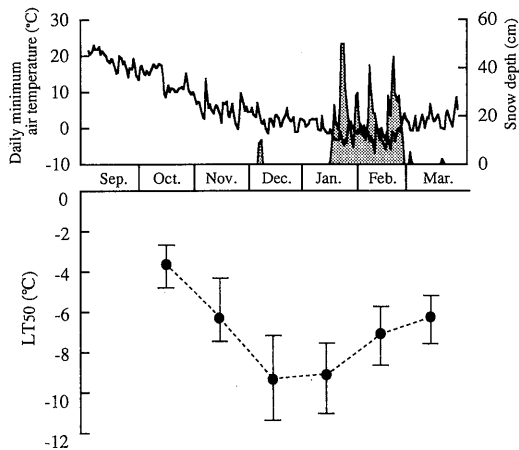


Fig. 3. Changes of average LT_{50} value of 18 Italian ryegrass cultivars, daily minimum air temperature and snow depth during the 1991-92 winter at Hokurjku National Agricultural Experiment Station.

□: Range (minimum and maximum of LT_{50}).

■: Snow depth. —: Daily minimum air temperature.

考 察

ライグラス類における耐凍性の研究は、英国の Welsh Plant Breeding Station において精力的に行なわれ、

LORENZETTI ら¹⁴⁾ によりペレニアルライグラスの幼苗を対象に、一温度水準一定時間 (-8°C , 72 時間処理) の凍結処理による耐凍性の検定法が開発された。この方法はイタリアンライグラスやオーチャードグラス (*Dactylis glomerata* L.) の幼苗の耐凍性の検定にも適用された^{1,3,10,11)} が、耐凍性程度が類似した強品種間や弱品種間の差異の検出には適していなかった。本報告で用いた FULLER and EAGLES⁷⁾ のペレニアルライグラスにおける LD_{50} 値を指標とする耐凍性の検定法はその欠点を補い、供試個体数を多く必要とするものの、より高い精度で耐凍性の差異を検出でき、同様の手法がコムギ (*Triticum aestivum* L.) や他の牧草においても広く用いられている^{2,4,6)}。

耐凍性検定の精度向上に関する要因としては、幼苗の生育条件、ハードニング条件、凍結処理条件及び被害の評価方法などが関与すると考えられている¹³⁾。このうち本報告で改良を加えた点は凍結処理条件についてであり、それ以外の部分については、これまでのライグラス類の耐凍性の研究からほぼ妥当であると考えられている検定条件を踏襲している^{7,8)}。この FULLER and EAGLES⁷⁾ の用いた凍結処理方法は、一定の冷却割合で直線的に温度を下げ、予め決めてある複数の所定温度に達した時点で試料を取り出し、解凍するものである。例えば、 -16°C まで $1^{\circ}\text{C}/\text{時間}$ の割合で冷却する間に、 -4°C 位から 2°C 間隔で試料を取り出し、一定の加温割合で解凍後、生存個体率を調査するというものである。そのため、 -16°C まで下がる約 20 時間 (-4°C まで下げるのに数時間

ryegrass during the 1991-92 winter in the snowfall area.

Month					
Oct.	Nov.	Dec.	Jan.	Feb.	Mar.
-4.0(°C)	-7.1	-11.3	-10.2	-7.3	-7.5
-3.7	-7.4	-10.8	-10.9	-6.3	-6.1
-3.9	-6.9	-10.2	-10.8	-8.3	-6.4
-3.5	-6.8	-10.1	-9.3	-8.3	-7.5
-3.7	-6.9	-10.0	-9.3	-8.5	-6.4
-3.3	-6.8	-9.8	-9.3	-7.2	-6.4
-3.7	-6.5	-9.8	-9.3	-7.6	-6.5
-4.4	-6.9	-9.7	-9.5	-7.7	-6.7
-2.6	-6.4	-9.6	-9.3	-6.0	-5.4
-3.4	-6.4	-9.6	-9.1	-7.7	-6.8
-4.7	-6.0	-9.3	-9.2	-6.6	-5.6
-3.8	-6.5	-9.1	-9.0	-6.7	-6.6
-2.9	-5.9	-8.7	-8.0	-6.8	-5.1
-3.1	-5.4	-8.4	-8.4	-7.2	-5.7
-3.5	-5.4	-8.3	-8.5	-6.1	-5.4
-3.5	-5.5	-8.2	-8.6	-6.0	-5.8
-3.4	-4.3	-7.8	-7.5	-5.7	-5.8
-3.4	-4.9	-7.1	-7.7	-5.7	-5.7
-3.6	-6.2	-9.3	-9.1	-7.0	-6.2
(-2.6- -4.7)	(-4.3- -7.4)	(-7.1- -11.3)	(-7.5- -10.9)	(-5.7- -8.5)	(-5.1- -7.5)

必要)の間に7回試料を取り出さなければならず、時間的に極めて拘束される方法である。また、所定の温度に達した時点で順次取り出すとはいっても、株の大きい材料や分けつの多い材料の場合には、必ずしも全体が同じ凍結温度条件になっていない可能性も考えられる。さらにほとんどの場合、耐凍性程度が未知の材料について検定を行なうために、より低温まで広範囲に凍結する必要があるが、耐凍性が低い材料の場合には無駄な凍結温度水準が多くなる可能性がある。また逆に、耐凍性が極めて高い材料が含まれている場合には設定した最低温度水準では評価できないこともある。

そこで本報告ではこれらの問題点を改良するために、イタリアンライグラスのような極めて耐凍性の低い草種の場合には、凍結処理温度は勿論のこと、凍結処理時間も耐凍性の評価に重要な影響を及ぼすものと考え、イタリアンライグラスの幼苗を複数の凍結時間及び温度水準で各々凍結処理し、各凍結時間ごとの生存個体率データを用いてLT₅₀値の算出を試み、最適な凍結処理方法を検討した。その結果、表2に示したように凍結処理時間を16時間とし、-4°Cから-12°Cまでの2°C間隔の複数の凍結処理温度で各々凍結処理を行ない、LT₅₀値を求めることで評価できることが明らかになった。この方法は幼苗はもちろんのこと、それ以外の成植物や分けつの多い個体の場合でも、各凍結処理温度で16時間の凍結処理を行うので、材料全体が同じ凍結処理温度、低温ストレスを受け、耐凍性の能力を的確に評価できるものと考えられる。またプログラムフリーザーに試料を入れさえすれば、

ある温度ごとに試料を取り出す必要がなく時間的に拘束されることがない。プログラムフリーザーの性能としては、16時間も凍結処理を行うので、-15°C位まで冷却できる能力があれば、イタリアンライグラスの遺伝的に多様な材料を十分検定できるものと考えられる。また例えば-10°C、16時間の凍結処理で全てが枯死してしまうならば、それ以上の温度で凍結処理を実施し、LT₅₀値の算出を行えばよく、無駄のない適切な凍結処理温度の設定も可能と考えられる。しかし、フリーザーが1台しかない場合は、予め播種時期をずらして供試材料の育成を行なう必要がある。なお、一温度水準一定時間の凍結処理方法としては、-8°C、16時間の凍結処理において有意な相関関係が認められたことから、前述のような弊害はあるものの供試材料の個体数が少なくLT₅₀値が求められない場合などに、耐凍性の予備的な評価として有効であると考えられる。

一般に越冬作物は秋から冬にかけての低温・短日条件により耐凍性を増す(ハードニング)ことが知られている。ペレニアルライグラスの場合は日長よりも低温が影響し、約5-7°Cの閾値温度以下の低温条件により効率よくハードニングが行なわれると考えられている⁸⁹⁾。表3及び図3にみられるように、10月から12月にかけての各品種のLT₅₀値の低下は、11月上旬頃より日最低気温が約5°Cに低下したことにより、ハードニングが効果的に生じたものと考えられる。しかし、耐凍性は植物体が成長するに伴ってもある程度増大することから、このLT₅₀値の低下に、低温、短日条件で誘導され

るハードニングとは別に、どの程度そのような効果が含まれているかは、今後検討する必要がある。なお、全期間のうちで最も低温となった 2 月に LT₅₀ 値が高くなり、耐凍性の低下がみられた原因としては、この頃の材料は積雪条件下にあり、雪腐病菌の侵害や植物体の呼吸による貯蔵養分の消耗等により植物体が衰弱し、耐凍性が低下したものと推察される。また 10 月の各品種の相対的な耐凍性の強弱が 12 月のそれと異なった原因は、供試品種の LT₅₀ 値の平均値が極めて高いことから明らかなように、この時期においてはハードニングが十分なされておらず、各品種の越冬性に関する能力が高まっていなかったためであると考えられる。なお、一般に圃場条件下での耐凍性の評価は、気象変動により極めて不安定で困難であるが、11 月から 1 月の各月における LT₅₀ 値を指標とした相対的な耐凍性の強弱が、既報¹⁶⁾の耐寒性の圃場試験による品種間差と類似した傾向を示していることから、この検定法は幼苗だけでなく圃場において成長した植物体を材料としても十分使用可能であると考えられる。検定期間としては試験年の気象条件にもよるが、本報告のように 9 月中旬の播種であれば 11 月中旬から根雪前までに行なう必要があり、特に LT₅₀ 値の品種による変異幅の広い 12 月が最適であると考えられる。

以上、イタリアンライグラスの耐凍性検定法としては、3-4 葉期の幼苗を 2°C、8 時間日長で 14 日間ハードニング処理し、凍結処理時間を 16 時間とし、複数の凍結温度水準で各々凍結処理した後に生存個体率を調査し、LT₅₀ 値を求めることで評価できることが明らかになった。また、その方法は圃場におけるイタリアンライグラス品種の冬期間の耐凍性の推移を評価する上でも有効な手法であることが認められた。

謝 辞

本稿を取りまとめるにあたって、ご校閲をいただいた北陸農業試験場江柄勝雄飼料作物研究室長に心から謝意を表します。また試験を実施するにあたり、ご協力いただいた北陸農業試験場業務科職員の方々に感謝致します。

引用文献

- 1) 阿部二郎 (1980) オーチャードグラスの耐寒性検定法. 日草誌 26, 255-258.
- 2) ANDREWS, C. J. and B. E. GUDLEIFSSON (1983) A comparison of cold hardiness and ice encasement tolerance of timothy grass and winter wheat. *Can. J. Plant Sci.* 63, 429-435.
- 3) 荒木 博 (1985) オーチャードグラスの耐寒性並びに雪腐黒色小粒菌核病抵抗性の幼苗検定法に関する研究. 北海道農試研報 143, 105-114.
- 4) CLOUTIER, Y., L. PELLETIER and R. MICHAUD (1990) Development of a test for freezing tolerance in young alfalfa seedlings. *Can. J. Plant Sci.* 70, 307-310.
- 5) COOPER, J. P. (1964) Climatic variation in forage grasses. I. Leaf development in climatic races of *Lolium* and *Dactylis*. *J. Appl. Ecol.* 1, 45-61.
- 6) FOWLER, D. B., L. V. GUSTA and N. J. TYLER (1981) Selection for winterhardiness in wheat. III. Screening methods. *Crop Sci.* 21, 896-901.

- 7) FULLER, M. P. and C. F. EAGLES (1978) A seedling test for cold hardiness in *Lolium perenne* L. *J. Agric. Sci., Camb.* 91, 217-222.
- 8) FULLER, M. P. and C. F. EAGLES (1980) The effect of temperature on cold hardening of *Lolium perenne* seedlings. *J. Agric. Sci., Camb.* 95, 77-81.
- 9) FULLER, M. P. and C. F. EAGLES (1981) Effect of temperature on cold dehardening of *Lolium perenne* L. seedlings. *J. Agric. Sci., Camb.* 96, 55-59.
- 10) HIDES, D. H. (1978) Winter hardiness in *Lolium multiflorum* Lam. II. The effect of defoliation and nitrogen application as assessed by low temperature response in a controlled environment. *J. Brit. Grassland Soc.* 33, 175-179.
- 11) HIDES, D. H. (1979) Winter hardiness in *Lolium multiflorum* Lam. III. Selection for improved cold tolerance and its effect on agronomic performance. *Grass and Forage Science* 34, 119-124.
- 12) HUMPHREYS, M. O. and C. F. EAGLES (1988) Assessment of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) for breeding. I. Freezing tolerance. *Euphytica* 38, 75-84.
- 13) LARSEN, A. (1978) Freezing tolerance of grasses. Methods for testing in controlled environments. *Meldingen fra Norges Landbrukshogskole* 57, 1-56.
- 14) LORENZETTI, F., B. F. TYLER, J. P. COOPER and E. L. BREESE (1971) Cold tolerance and winter hardiness in *Lolium perenne*. *J. Agric. Sci., Camb.* 76, 199-209.
- 15) POMEROY, M. K. and D. B. FOWLER (1973) Use of lethal dose temperature estimates as indices of frost tolerance for wheat cold acclimated under natural and controlled environments. *Can. J. Plant Sci.* 53, 489-494.
- 16) 田瀬和浩・小林 真 (1996) イタリアンライグラス (*Lolium multiflorum* Lam.) の越冬性の評価. *Grassl. Sci.* 42, 63-67.
- 17) WEIBEL, R. O. and K. S. QUISENBERRY (1941) Field versus controlled freezing as a measure of cold resistance of winter wheat varieties. *J. Amer. Soc. Agron.* 33, 336-343.
- 18) WIT, F. (1952) Techniques of breeding cold resistant grasses and clovers. *Proc. 6th Int. Grassl. Congr.*, 1607-1612.
- 19) ZECH, A. C. and A. W. PAULI (1960) Cold resistance in three varieties of winter wheat as related to nitrogen fractions and total sugar. *Agron. J.* 52, 334-337.

要 旨

田瀬和浩・小林 真 (1996) : イタリアンライグラス (*Lolium multiflorum* Lam.) の耐凍性検定法の開発と冬期間の耐凍性の推移. *Grassland Science* 42, 73-78.

イタリアンライグラス (*Lolium multiflorum* Lam.) の耐凍性検定法を開発するために、既に FULLER and EAGLES (1978) によりベレニアルライグラス (*L. perenne* L.) の幼苗を対象に開発された LT₅₀ 値を指標とする耐凍性検定法の凍結処理方法に改良を加え検討を行なった。その結果、イタリアンライグラスの耐凍性検定法としては 3-4 葉期の幼苗を 2°C、8 時間日長で 14 日間ハードニング処理し、凍結処理時間を 16 時間とし、複数の凍結温度水準で各々凍結処理した後に生存個体率を調査し、LT₅₀ 値を求めることで評価できることが明らかになった。また、この検定法を用いて積雪地におけるイタリアンライグラス品種の冬期間の耐凍性の推移について評価を行なった。

キーワード : イタリアンライグラス, LT₅₀, 耐凍性.