

秋播小麦の雪腐病抵抗性と耐凍性育種

IV. 電気伝導度法による秋播小麦の 耐凍性選抜

天野 洋一

秋播小麦の耐凍性検定方法として、古く Dexter et al. (1932)³⁾が提唱した電気伝導度法を実際の耐凍性選抜に適用する方法について検討した。訓子府で11月中旬まで低温順化された小麦は、-11.5°C から凍結被害が現われ、-18°C 以下になると強品種にも被害が増大した。最適な-15°C の凍結温度では、0.5~2.0g のサンプルで十分検定が可能であった。冠部凍結法との間には $r=0.87^{**} \sim 0.93$ ($n=8$)、 0.768^{***} ($n=24$) と高い相関が認められた。交雑材料を用いた実験の電気伝導度は組合せ間、系統間に有意性が顕著にみられ、"Moscow 1" を親とする組合せからだけ、"Moscow 1" 並の耐凍性系統が 5% の頻度で認められた。個体選抜では極強品種 "Valujevskaja" 並のものが冠部凍結法から 5%，電気伝導度法から 15% 認められた。両方法の関係は $r=0.704^{***}$ ($n=103$) と有意に高く、耐凍性個体のスクリーニングにも有効な方法と考えられた。

緒 言

秋播小麦は、秋から冬にかけて気温の低下に伴って、低温順化 (Cold acclimation) するが、極度の低温に襲われると細胞は死滅する。細胞内凍結を生じて細胞が破壊されたり、細胞質内容物が脱水されて原形質膜が復帰できなくなるためである⁹⁾。死滅した状態では、原形質膜は半透性を失い、細胞から多くの溶質が流出する⁵⁾。Dexter et al. (1932)³⁾は細胞が凍害を受けるほど、細胞質中の電解質の流出が多くなることに着目し、電気伝導度 (Electric Conductivity 以下 E.C. という) の測定により植物の凍害程度を判定することを考案した。彼等は E.C. の測定を小麦、アルファアルファ、トマト、キャベツに適用し⁴⁾、その後多くの研究者によりイネ科作物をはじめ、木本類に至るまで多くの植物に適用されている^{5,17)}。E.C. 法は小さいサンプルでも検定が可能であり、被害程度を客観的な数字で判定できるという利点の一方で、新鮮な

サンプルを萎凋する前に迅速に凍結処理する必要があり、できる限り同一ステージの同一部位をサンプリングする必要がある。そのため、一般に小麦の耐凍性検定は、自然状態の圃場検定かあるいは人為的な凍結処理においても、被害度あるいは LT₅₀ (集団の 50% が枯死する温度) の測定が行われる⁹⁾。しかし、E.C. 法によれば、同一個体に対して凍害のほかに別の処理を施すことが可能であり、例えば雪腐病の接種検定が同時に試みられている。本研究は E.C. 法の適用条件を明らかにするとともに耐凍性の系統および個体選抜に有効かどうかを検討したものである。

材料および方法

1. 供試材料

E.C. 測定および耐凍性検定に供試した品種、系統および個体は、いずれも北見農試圃場で 1982 年 9 月 16~18 日に系統栽培直播法により播種した材料で、次の三種よりなる。

品種比較 : Fig. 1 の 8 品種 (耐凍性強品種, "Valujevskaja", "Moscow 1"; 耐凍性中品種, "ホロシリコムギ", "ムカコムギ"; 耐凍性弱品

種, "P.I.173438", "C.I.14106", "Ibis", "Gaines") および Fig. 2 の 24 品種。

系統選抜: F_5 世代の 3 組合せ計 467 品種および系統 ("Moscow 1" / "ホロシリコムギ", 185 系統 および 両親 2 品種; "ホロシリコムギ" / "ムカコムギ", 161 系統 および 両親 2 品種; "C.I.14106" / "ホロシリコムギ", 115 系統 および 両親 2 品種。

個体選抜: F_3 世代, 訓交 1050, "ホロシリコムギ" / "P.I.173438" // "Valujevskaja" / "ホロシリコムギ" 100 個体 および 両親各 10 個体。

2. 凍害程度の測定

E.C. 値と冠部凍結法による被害度を測定した。E.C. 値の測定には次の処理を行ったサンプルを用いた。

11 月中旬から 12 月上旬にかけて, 5 ~ 6 葉期に達したコムギをほ場より抜き取り, 1 ~ 2 葉を除く新鮮な同一部位の茎葉を所定量とり, そのサンプルを適度に湿らせた濾紙上におき, 低温で凍結処理する。凍結処理は低温恒温室を用い, 室温から徐々に所定の温度に下げ, 16 時間程凍結処理した後, 徐々に室温に戻す。融解したサンプルを脱イオン水 40ml 中に浸漬し, 5 °C の恒温室で 24 時間電解質を溶出させる。その溶液の E.C. 値を電気伝導度計で測定した。また冠部凍結法による耐凍性検定を同時期に, 天野・尾関 (1981)¹⁾ の方法に準じ, 処理温度を -15.0 °C と設定して実施した。

供試材料と処理区別を次の Table 1 に示した。

Table 1. Materials and methods of the test

Test	No. of materials	Rep.	Sampling		Temperature	Measure Items
			part	weight		
Varieties A	8	3~6	Stem, Leaf	g 1	11.12~11.25 -11.5~-22.0	E.C., Degrees (Crown Fr.)
Varieties B	24	3	Stem + Leaf	2	12.10 -15.0	E.C.
Line Selection 467	2	"	"	1	11.25~12.5 -15.0	E.C.
Individual Sel. 103	1	"	"	0.5	11.29 -15.0	E.C., Degrees

実験結果

1. 凍結処理温度と電気伝導度 (E.C.)

耐凍性の異なる 8 品種の葉部と茎部について、それぞれ -11.5, -13.5 および -15.0 °C の 3 段階で処理し、さらに葉部のみを -18.0, -20.0, および -22.0 °C の 3 段階、合計 6 段階の温度で凍結処理を行い E.C. 値を測定した。また同一材料を用いて、-15.0 °C で冠部凍結法により耐凍性を検定した。これらの E.C. 値と被害度を Table 2 に示す。

調子府における 11 月中旬の平均気温は 3.3 °C、最低気温は -1.6 °C で、小麦はよくハードニングされるようになる。この時期の E.C. 値を Table 2 で見ると、-11.5 °C で凍害が現われはじめる。すなわち無被害個体の E.C. 値の 6 ~ 15 $\mu\text{V}/\text{cm}^2/1\text{g}$ に比較して、電解質の溶出が認められる。-15.0 °C では "Valujevskaja", "Moscow 1" の強品種にも少し被害が現われ、"Ibis", "Gaines" の弱品種ではかなりの被害が発生する。-18.0 °C になると

強品種でもほとんどが凍死の状態となる。

葉部と茎部を比較すると、-11.5 °C および -13.5 °C では茎部の E.C. 値が葉部より高く、葉部より茎部において凍結被害が早く現われる。しかし、-15.0 °C になると、中～弱品種では葉部の被害が大きくなる。いずれの温度段階においても、各品種の葉部と茎部の E.C. 値の関係はきわめて密接であった ($r=0.867^{**} \sim 0.953^{***}$)。

凍結各処理の分散分析の結果は、いずれの処理においても品種間に高い有意性が認められた。しかし、-15.0 °C 以上と -18.0 °C 以下では品種の反応が異った。すなわち、-11.5, -13.5 および -15.0 °C の相互間には、とくに茎部において高い相関が認められ ($r=0.812^{**} \sim 0.952^{***}$)、また -18.0, -20.0 および -22.0 °C の相互にも高い相関が認められるが ($r=0.863^{**} \sim 0.970^{***}$)、-15.0 °C 以上と -18.0 °C 以下の間には何ら有意な相関は認められなかった ($r=-0.218 \sim 0.677$)。-18.0 °C 以下で -20.0 °C の E.C. 値が最も低いが、

Table 2. Varietal differences in E.C. value under some freezing treatment temperature and degree of injury based on crown freezing method

Varieties	E.C. value ($\mu\text{V}/\text{cm/g}$)										Degree of Freezing injury %	
	-11.5°C		-13.5°C		-15°C		-18°C		-20°C			
	leaf	stem	leaf	stem	leaf	stem	leaf	leaf	leaf	leaf		
Valujevskaja	24ab*	71a*	158abc*	184ab*	210a*	199ab**	738cde**	645a**	872c**	8a		
Moscow 1	18a	72ab	143a	168a	220ab	197a	667abc	643a	845bc	18a		
Horoshiri	31bcd	89abcd	196e	217abcde	290abc	206abc	681abcd	629a	836bc	59b		
Muka	26abc	77abc	143a	197abc	330cd	206abc	701cd	622a	843bc	51b		
P.I.173438	35bcd	107cde	173cd	209abcd	370cde	223d	592a	578a	787ab	91c		
C.I.14106	38d	115de	151ab	214abcde	380de	242e	602ab	562a	754a	81c		
Ibis	53e	135e	216f	315f	500f	287f	757cde	640a	854bc	92c		
Gaines	34bcd	105bcd	250g	289f	520f	280f	825e	657a	862c	88c		
Mean	32	96	179	224	350	230	695	622	832	61		
F test	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**		
LSD(5%)	11	11	58	51	88	15	88	49	61	15		
C.V. %	29	6	25	13	21	5	10	6	5	27		

Note: * ; Classification based on Duncan's multiple range test at 5% level.

** ; Significant at 1% level.

Sampling date; -11.5°C-Nov.16, -13.5°C-Nov.18, -15.0°C-Nov.25, -18.0°C-Nov.15, -20.0°C-Nov.25, -22.0°C-Nov.12.

サンプリング時期が遅いほどE.C.値が減少する傾向がうかがえた。-18.0°C以下になると“P.I.173438”と“C.I.14106”的E.C.値は他の品種より低い値を示し、明らかに異なる反応を示した。

2. E.C.値と冠部凍結法による被害度

葉部・茎部とともに-11.5, -13.5および-15.0°Cの凍結処理におけるE.C.値は、冠部凍結法による被害度と密接な関係を示し ($r = 0.872^{**} \sim 0.934^{***}$), とくに-15.0°Cの葉部において品種間の分散が最大となり、被害度の相関が最も高かった。これに対し、-18.0°C以下の場合は被害度との相関はいずれも有意とならなかった ($r = -0.034 \sim -0.449$)。

-15.0°Cと-20.0°Cの葉部のE.C.値と冠部凍結法での被害度の関係をFig. 1に示した。

被害度に基づいた8品種の耐凍性は3群に分かれ、前報¹⁾の結果ときわめてよく一致するが ($r=0.981^{***}$), 耐凍性弱の4品種中“P.I.173438”と“C.I.14106”的E.C.値は“Ibis”と“Gaines”より有意に低かった。

前報¹⁾で検討した耐凍性既知の24品種について、地上部全体を対象に-15.0°Cで凍結処理した時のE.C.量を測定すると、E.C.値は“Lietescens

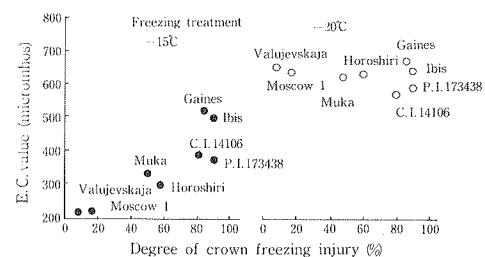


Fig. 1. Relation between E.C. value under freezing treatment at -15°C and -20°C and degree of crown freezing injury

329”的85micromhosから“北見18号”的945micromhosまで広い変異があり、品種間差異は顕著であった。Fig. 2によると冠部凍結法による被害度と一致しない品種もいくつか認められるが、E.C.値と被害度の間には $r=0.768^{***}$ の有意に高い相関があり、E.C.値は耐凍性の程度をおおむね良く示すものと判断された。

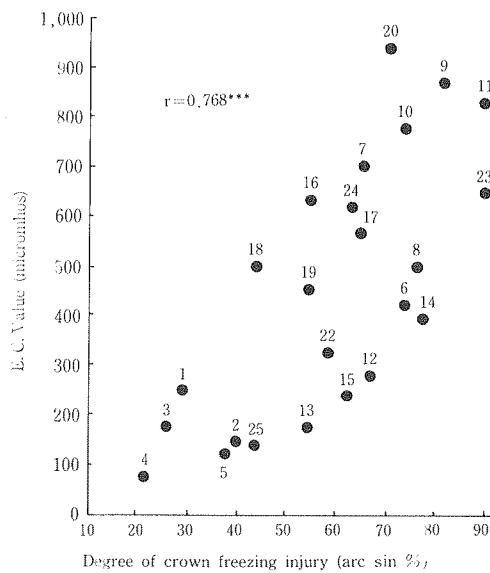


Fig. 2. Relation between E.C. value and Degree of crown freezing injury in typical 24 varieties

Note: 1, USSR 40604; 2, Moscow 1; 3, Valujevskaja; 4, Lietescens 329; 5, Iohardi; 6, Minturki; 7, C.I. 14106; 8, P.I. 172582; 9, P.I. 173438; 10, Gaines; 11, Ibis; 12, Akasabishirazu 1; 13, Norin 8; 14, Norin 62; 15, Hokkai 48; 16, Hokuei; 17, Kitami 1; 18, Kitami 2; 19, Kitami 3; 20, Kitami 18; 22, Horoshiri; 23, Takune; 24 Kitakei 628; 25, Kitakei 840.

3. 系統選抜への適用

F_5 世代の3組合せの育成系統の選抜にE.C.測定を用いたものの分散分析結果をTable 3に示した。系統間、組合せ間および各組合せ内の系統間のいずれにおいても有意性が認められた。

Table 3. Means and variances for E.C. value ($\mu\text{V}/\text{cm/g}$)

Source of variation	df	Mean	Variance
Between blocks	1		27169**
Between lines	466	435	9613**
Between crosses	2		489095**
Moscow 1/Horoshiri	186	393	8813**
Horoshiri/Muka	162	438	4475**
C.I.14106/Horoshiri	116	497	9802**
Error	467		2445

Note: LSD(5%), 97; C.V., 11.4%

組合せ間では、“Moscow 1”/“ホロシリコムギ”と“C.I.14106”/“ホロシリコムギ”的間に有意差があり、“ホロシリコムギ”/“ムカコムギ”はそれの中間であった。“ホロシリ”/“ムカ”的分散は他の2組合せより小さく、分布幅はL.S.D.の2倍にすぎなかったが、他の2組合せは3倍に及んだ(Fig. 3)。またTable 3から広義の遺伝率は次のように推定された。

“Moscow 1” / “ホロシリ”	56.7%
“ホロシリ” / “ムカ”	29.3%
“C.I.14106” / “ホロシリ”	60.0%

Fig. 3.は各組合せとも連続分布を示すが、中間親に比較して分布に偏りがみられ、E.C.値の大きい方、すなわち耐凍性弱の方向に多くの系統が分布した。“Moscow 1”/“ホロシリ”的組合せからのみ、“Moscow 1”並かそれに近い耐凍性の系統が認められ、“ホロシリ”/“ムカ”からは両親を上廻る系統が見出された。しかし、“C.I.14106”/“ホロシリ”的組合せは特に弱い系統の頻度が高かった。

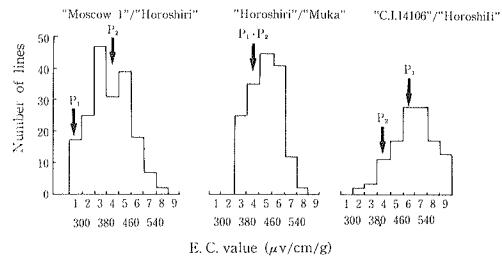


Fig. 3. Frequency distributions of lines in three crosses for E.C. value

4. 個体選抜への適用

F_3 世代、訓交1050 (“ホロシリ”/“P.I.173438”//“Valujevskaja”/“ホロシリ”)の個体および両親3品種を用いて、E.C.測定と冠部凍結法による耐凍性検定を行った。結果をFig. 4に示した。

F_3 100個体は、被害度が0~100%の広い分布を示し、“Valujevskaja”と“P.I.173438”がそのほぼ両端に位置した。E.C.値も100~550micromhosと広く分布したが、“Valujevskaja”と“P.I.173438”は“ホロシリ”に近づいていた。冠部凍結法では、“ホロシリ”に比較して強固体の分布幅が広いが、弱個体では狭い。すなわち、-15.0°Cの温度処理では、冠部凍結法で弱個体の評価が不充

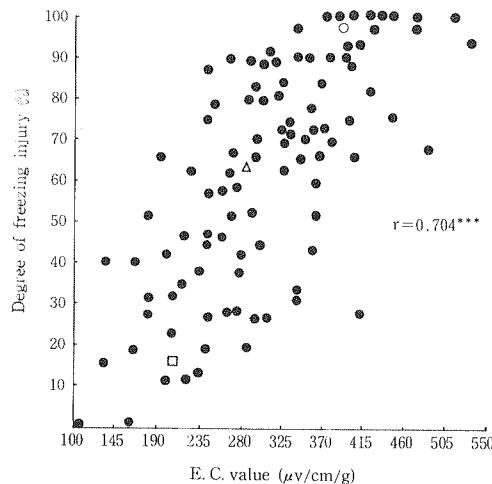


Fig. 4. Relation between degree of injury of crown freezing and E.C. value in 100 plants of F₃, Horoshiri/P.I. 173438//Valujevskaja/Horoshiri.

Note: E.C. value of control varieties are as follows; △ Horoshiri, 285±39; □ Valujevskaja, 208±23; ○ P.I.173438, 394±25

分であった。一方、E.C.測定による方法は両親の超越個体の出現が多すぎる傾向であった。しかしながら総じてE.C.値と被害度の間には高い正の関係が認められ、相関係数はr=0.704***であった。

以上、耐凍性既知の品種、中期世代の系統および初期世代の個体でのE.C.法の実験を通してみると、遺伝率がやや低い傾向であったこと、したがって選抜系統での次代検定でその有効性を確認して正しく評価する必要があるが、E.C.法と冠部凍結法との相関から判断して、耐凍性の系統および個体選抜にE.C.法は適用が可能と考えられた。

論 議

小麦の凍害は秋季から冬季の気象環境と、小麦の生育ステージにより大きく異なる^{7,14)}。そのため品種の耐凍性も、気象条件と生育ステージの違いによって異なる反応がみられ、品種間の強弱が逆転する場合もみられる⁹⁾。したがって、一般的に耐凍性は多くの要因が関与する量的形質とする見方が支配的である^{9,16)}。しかし、Marshall and Kolb (1982)¹¹⁾の実験結果のように、実験精度を高めた一定の環境と生育の条件下では、遺伝的差異は極

めて明瞭に現われ、耐凍性はたかも単因子支配に近い様相を呈する。そのため耐凍性に関与する種々の環境条件と生育ステージを個別に用いて、耐凍性を検定して、それらを総合化して判定するのが理想と考えられる。

しかし一般には凍害常発地における圃場での検定を年次を重ねて実施する方法がとられている。Fowler et al. (1981)⁸⁾は圃場での6年間の検定結果から、代表的36品種の強弱をField survival Index (F.S.I)で判定した。さらに凍害に関与する多くの形質を調査し、F.S.Iとの相互関係を検討した結果、ハードニングの進んだ時期でのLT₅₀がr=0.95で最も高く、F.S.Iの大半が説明された。Roberts and Grant (1968)¹⁴⁾によれば、小麦は4~6葉期に最も耐凍性が高まり、その時期での検定が最もシャープに現われ、圃場での検定結果に近い。ソビエトでもこのステージでのLT₅₀の凍害検定が使われている⁶⁾。実際の凍害は、もっと環境条件や生育ステージが種々のレベルで発生するものだが、一般には、ハードニングの進んだ時期での凍結処理で検定するのが標準とされるであろう。

本報告の実験は、いずれも北見地方での低温順化の進んだ11月中旬から12月上旬にかけての検定であり、小麦の生育ステージは5~6葉期のものであった。その時期の道内育成品種を中心とした秋播小麦のLT₅₀は-15°C前後の凍結温度とみられ、温度を変えたE.C.測定の実験結果からも、-15°Cが最も検定に良好な温度とみられた(Table 2.)。

小麦の部位による凍結温度に対する抵抗力の差は、葉位、茎および根で異なり、Limin and Fowler (1985)¹⁰⁾の結果ではLeaf 1, Leaf 2, Crown 1, Crown 2, Rootsと葉の新鮮度でLT₅₀の異なることが示されている。本実験結果でも、茎部は葉部に比較して、温度が下がるにつれて電解質の溶出割合が高まる傾向であった。しかし、電解質の量は茎部は葉部に比較して少ないとみられた。進藤・望月 (1972)¹⁵⁾によると、E.C.の電解質はK₂OとMgOが主体とみられており、幼苗期の小麦の無機成分でも天野・長内 (1983)²⁾および高橋 (1950)¹³⁾により判断すると、K₂O, SiO₂, P₂O₅が多いと推察される。-22.0°CにおけるE.C.値と秋季のK₂O, SiO₂, P₂O₅との相関係数を11品種・系

統 (Table 1 の 8 品種に "タクネコムギ", "北系 628", "北系 840" を加える) について求めると, K_2O , 0.788**; P_2O_5 , 0.709*; SiO_2 , 0.407であり, K_2O および P_2O_5 と E.C. 値との関連が強かった。耐雪性品種 "P.I.173438" および "C.I.14106" は他の 9 品種・系統に比べ電解質も少なく, $-18^{\circ}C$ 以下の温度における E.C. 値が低かった。したがって, 品種により E.C. 値が過少に評価されることもあるが, 強・中・弱での大きなグループ分けの系統および個体選抜には影響は比較的少ないものと判断された。

E.C. 検定に供試するサンプル量として, Dexter (1956)⁵⁾ は 0.9g, 進藤・望月¹⁵⁾ は 2~3 g, 能代 (1981)¹²⁾ は 3~5 g の茎葉を使用している。本実験では 0.5 から 2.0 g まで用いて検定したが, 量的には少ない量でも問題はなかった。

Dexter (1956)⁵⁾によれば, E.C. 法は冠部凍結法による被害度の検定に比べ, 重量測定が必要なこと, サンプルは新鮮できれいでなくてはならず, 切除後は迅速に凍結処理をしなくてはならない等の厄介な点が多く, 一般的には余り使われていないという。本実験で検討した結果でも, 上記の点は重要なポイントで, それを充分配慮しないで実施した予備調査ではデータが不整一となった。本実験では、①古葉を除く新鮮な小麦の同一部位ができる限り使う, ②茎葉切除は低温下で多人数により迅速に実施することを心がけた。

以上の結果, E.C. 検定による耐凍性の検定は, 実施にあたって配慮すべき点が他の検定法より多いが, 有効な方法と考えられた。本法を用いると, サンプル量が少なくて済むため, その個体を他の検定に同時に供試することが可能である。道内の秋播小麦の越冬性には耐凍性の他, 雪腐病抵抗性が重要であり, 同時に検定して選抜する方法は合理的と考えられる。本実験の系統選抜の材料に対して, 同時に雪腐大粒菌核病の検定も実施した。なお今後は, E.C. 法を活用した耐凍性選抜と雪腐病抵抗性選抜を同時に個体選抜段階で実施し, 効果をあげることが期待される。

謝 辞: 本研究のとりまとめにあたり, 前上川農業試験場長長内俊一博士には, 種々のご指導をいただきとともに懇切なるご校閲をいただいた。ここに深く謝意を表す。

引用文献

- 天野洋一, 尾関幸男, "秋播小麦の雪腐病抵抗性と耐凍性育種, I. 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 (1981).
- 天野洋一, 長内俊一, "秋播小麦の雪腐病抵抗性と耐凍性育種, III. 低温順化に関する品種の生態的特性と抵抗性との関係", 北海道立農試集報, 50, 83-97 (1983).
- Dexter, S.T., Tottingham, W.E.; Graber, L.F. "Investigation of the hardness of plants by measurement of electrical conductivity". Plant Physiol. 7, 63-78 (1932).
- Dexter, S.T. "Effect of several environmental factors on the hardening of plants". Plant Physiol. 8, 123-139 (1933).
- Dexter, S.T. "The evaluation of crop plants for winter hardiness". Advan. Agron. 8, 203-239 (1956).
- Dorofeev, V.F. "Evaluation of material for frost and drought resistance in wheat breeding". IBP. No. 2 Camb. Univ. Press. 1975, p.211-222.
- Fowler, D.B.; Carles, R.J. "Growth, development, and cold tolerance of fall-acclimated cereal grains". Crop Sci. 19, 915-922 (1979).
- Fowler, D.B., Gusta, L.V., and Tyler, N.J. "Selection for winterhardiness in wheats III. Screening methods". Crop Sci. 21, 896-901 (1981).
- Levitt, J. "Responses of plants to environmental stresses. Vol. 1 Chilling, freezing and high temperature stresses, 2nd ed". Academic Press. New York. 1980.
- Limin, A.E.; Fowler, D.B. "Cold-hardiness response of sequential winter wheat tissue segments to differing temperature regimes" Crop Sci. 25, 838-843 (1985).
- Marshall, H.G.; Kolb, F.L. "Individual crown selection for resistance to freezing stress in winter oats". Crop Sci. 22, 506-510 (1982).
- 能代昌雄, "牧草の耐凍性に関する研究, II. 二, 三の凍結条件と凍結の発生および増大との関係". 日草誌, 27, 253-258 (1981).
- 小田桂三郎, "麦の生理, 生態" 作物体系 II, 養賢堂, 東京, 1963.
- Roberts, D.W.A.; Grant, M.N. "Changes in cold hardiness accompanying development in winter wheat". Can. Plant Sci. 48, 369-

- 376 (1966).
- 15) 進藤武郎, 望月 太. "ペレニアルライグラスの耐寒性の検定, 選抜に関する研究, I, 電気伝導度による耐寒性検定のための測定条件の吟味". 山梨県農試報告. 16, 107-174 (1972).
- 16) Stushnoff, C.; Fowler, D.B.; Bluele-Babel, A. "Crop Breeding. A contemporary basis. V. Breeding and selection for resistance to low temperature". Pergamon Press. 1984, p.115-136.
- 17) Wilner, J. "Relative and absolute electrolytic conductance tests for frost hardiness of apple varieties". Can.J. Plant Sci. 40, 630-637 (1960).

Winter Wheat Breeding for Resistance to Snow Mold and Cold Hardiness

IV. Selection and evaluation of cold hardiness based on electric conductivity measurements in winter wheat cross

Yoichi AMANO*

Summary

Common methods for the determination of freezing injury have been indicated by either percentage of survival or estimated degrees of injury based on the general appearance of plants, the apparent amount of killing of foliage, or the vigor of renewed growth. In order to provide an objective technique for measuring injury the electric conductivity (E.C.) method was proposed by Dexter et al. (1932). In this method, the concentration of electrolytes in the extracted solution from freezing plants is measured by E.C. meter. And this method for the determination of freezing injury has been particularly convenient in obtaining detailed results of cold hardiness. The objective of this experiment was to evaluate the usefulness of E.C. method for selection of lines and individuals with cold hardiness in winter wheat breeding. Results obtained are summarized as follows;

When wheat plants were hardened enough till the middle of November at Kunneppu, Hokkaido, a distinct indication of freezing injury begins to appear at -11.5°C and increases till -18.0°C in hardy varieties. It was recognized that the freezing treatment at -15.0°C was optimum and a small amount of sample, 0.5–2.0g, used in this test shows satisfactory results. Correlation coefficient between the degree of injury by crown freezing method and E.C. value in well known varieties of cold hardiness was high, $0.87^{**} - 0.93^{***}$ ($n=8$) and 0.77^{***} ($n=24$).

Differences between crosses and lines in E.C. value were statistically significant in an experiment of comparison between lines for cold hardiness. In this experiment 5 percent of hardy lines equal to "Moscow 1" were recognized from the cross with "Moscow 1". And 15 percent of hardy plants equal to "Valujevskaia" were recognized by E.C. method, while 5 percent were recognized by crown freezing method in an individual selection experiment. Correlation coefficient between both values measured by each method was highly significant, 0.70^{***} ($n=103$).

Therefore it was thought that E.C. method should be helpful for the screening of hardy wheat lines or individual plants in wheat breeding program for cold hardiness.

*Hokkaido Prefectural Kitami Agricultural Experiment Station, Kunneppu, Hokkaido, 099-14. Japan