カンキツの耐寒性に及ぼす水ストレスの影響¹

山田 寿²・向井啓雄・杉浦 明・苫名 孝³

京都大学農学部 606 京都市左京区北白川追分町

The Effect of Water Stress on Cold Hardiness in Citrus

Hisashi YAMADA, Hiroo MUKAI, Akira SUGIURA and Takashi TOMANA

Faculty of Agriculture, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606

Summary

Using pot-grown Wase satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) trees grafted on trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* Raf.) and Natsudaikai (*C. natsudaikai* Hayata) seedlings, the effect of water stress on cold hardiness was examined by withholding water in varying periods of time from fall to winter. Freezing tests were conducted at intervals during the withholding of water to evaluate cold hardiness. Water relations and carbohydrate and proline contents in plant parts were also determined. Almost the same results were obtained with both species and are summarized as follows.

1. Transpiration and leaf water potential of water-stressed trees were always lower than in non-stressed (irrigated) ones, though those characters in the non-stressed trees declined gradually from November to January.

2. Freezing tests done in November and December revealed that water stress given beforehand increased cold hardiness. However, freezing tests in January, when even non-stressed trees were already hardened sufficiently by natural low temperature, demonstrated that the trees stressed from October or November on were less hardy compared to non-stressed controls, though the trees stressed from December on were somewhat hardier.

3. Water stress increased proline contents in leaves, stems and roots while it reduced starch contents. Total sugar contents in November and December in the trees stressed earlier were higher than in non-stressed ones. However in January, sugar contents in the leaves and stems of the trees stressed from October or November on were lower than in the trees non-stressed or stressed from December on. These sugar changes were closely related to the changes in cold hardiness.

4. In conclusion, it is suggested that under relatively warm temperature conditions from fall to early winter, water stress induces cold hardening, but that in mid-winter when the trees have been naturally hardened, any beneficial effect of water stress given beforehand is diminished or even becomes detrimental.

緒 言

カンキツは多くの温帯植物と同様に、秋から冬にかけての気温の低下に伴い、樹体が水分欠乏状態となり、徐々に耐寒性を獲得する(4)。また、その耐寒性増大の過

程には気温ばかりでなく地温も重要な役割を果たしており、秋季の低地温処理がカンキツの樹体の水ストレスを強め、耐寒性をいっそう増大させることを前報(16)で明らかにした。

植物に水ストレスを与える主要因としては温度環境の他に当然のことながら土壤水分が挙げられる。Yelenosky(19)は土壤乾燥による水ストレス処理がカンキツの過冷却の程度を高めるとともに耐凍性をも増大させたことを報告している。この他にも、カンキツについては

¹ 1986年9月27日受理

本報告の概要は昭和61年度園芸学会春季大会で発表された。

² 現在 新潟大学農学部

³ 現在 近畿大学附属農場

土壌水分と耐寒性との関係を調査した報告はいくつかあるが、鉢植えの個体を用いた実験及び圃場実験ともに、土壌乾燥に伴う水ストレスが耐寒性を増大させたとの報告(3, 18) と逆に低下させたとの報告(5, 13, 21) の両方が認められる。このように相反する結果が生じた原因として、土壌乾燥処理の期間や強さの相違が考えられるが、その他に乾燥処理時の温度条件が異なるために樹体が低温によって獲得している耐寒性の程度が異なり、そのことが水ストレスの効果に影響を及ぼしている可能性も考えられる。

そこで本研究では、これらの点を明らかにするために土壌乾燥の開始時期と期間が時期別のカンキツの耐寒性に及ぼす影響を調査するとともに、これらの処理に伴う樹体の水分状態や体内成分の変化と耐寒性の変化との関係について検討した。

材料及び方法

実験は2シーズンについて行い、1982～83年には内

Fig. 1. Duration of water withholding (—) and date of freezing test (x).

径 30 cm の素焼鉢に植え付けて育成したカラタチ台3年生‘宮川早生’を用い、1983～84年には内径12 cmのプラスチックポットに植え付けた8～10か月齢の‘川野なつだいだい’実生を用いた。

実験は両シーズンとも簡易ビニールハウス内で行い、10月15日、11月15日、12月15日の各日からそれぞれ土壌乾燥処理を開始し、11月中旬と12月中旬、1月中旬に凍結処理して各時期の耐寒性を調査した(第1図)。土壌乾燥処理は葉のしおれが認められるまで無灌水とし、以後はそのストレスを維持する程度に少量ずつ灌水した。

両品種とも凍結処理の前日に落葉率を調査するとともに、葉の水ポテンシャルをプレッシャー・チェンバー法(7)で測定し、さらに‘川野なつだいだい’では蒸散抵抗と蒸散速度をスーパーポロメーターLI-1600C(Li-Cor社製)で測定した。

これらの測定の後、一部の個体を解体して葉、茎、根の各部に分け、凍結乾燥後、前報(16)と同様の方法で全糖、でんぷん、プロリンの含量をそれぞれ測定した。

凍結処理の方法はほぼ前報(16)と同様であり、凍結処理温度は‘宮川早生’では11月と12月が -6° 、 -8° 、 -10°C 、1月が -8° 、 -10° 、 -12°C のそれぞれ3段階とし、‘川野なつだいだい’では11月が -5° と -7°C 、12月と1月が -6° と -8°C の各2段階とした。

‘宮川早生’では凍結処理後、簡易ビニールハウスにもどし、十分に灌水し、3週間後に葉の枯死率を調査し、さらに翌春には茎の枯死率と春枝伸長量を調査した。一方、‘川野なつだいだい’では凍結処理後、氷点下になが

Table 1. Effect of water withholding on leaf abscission and water relations of Natsudaikai seedlings.

Treatment*	Leaf abscission (%)	Leaf water potential (bars)	Diffusive resistance (s/cm)	Transpiration ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{s}$)
November 14 [‡]				
Control	0	$-10.4 \pm 1.1^{\text{y}}$	$10.0 \pm 0.7^{\text{y}}$	$0.73 \pm 0.05^{\text{y}}$
A	17	-31.4 ± 0.8	46.1 ± 6.2	0.17 ± 0.02
December 14 [‡]				
Control	0	-17.6 ± 1.6	15.7 ± 1.6	0.55 ± 0.06
B	7	-52.0 ± 3.3	38.7 ± 3.4	0.20 ± 0.02
C	1	-62.6 ± 5.3	47.8 ± 7.1	0.18 ± 0.03
January 14 [‡]				
Control	0	-26.8 ± 3.1	18.6 ± 1.3	0.38 ± 0.02
D	13	-38.1 ± 1.6	41.4 ± 3.7	0.16 ± 0.02
E	15	-41.2 ± 1.0	28.5 ± 3.6	0.23 ± 0.03
F	0	-43.4 ± 1.5	22.8 ± 2.4	0.28 ± 0.03

[‡] Date of measurement

^y Mean $\pm$ SE

* For explanation of treatments see Fig.1

Fig. 2. Effect of water stress on concentrations of total sugars, starch and proline in leaves, stems and roots of Natsudaikai seedlings.

らない程度に保温したビニールハウスに移して十分に灌水し、3週間後に葉と茎の枯死率を調査した。

結 果

1. 土壌乾燥処理が落葉及び植物体の水分状態に及ぼす影響

‘川野なつだいだい’実生の結果を第1表に示した。10月15日から乾燥区(A, B, D)及び11月15日からの乾燥区(C, E)で若干落葉が認められた。また、土壌乾燥処理に伴い葉の水ポテンシャルが大きく低下するとともに蒸散抵抗が増大し、蒸散速度が低下した。しかし、対照区においても11月から1月にかけて気温の低下に伴い葉の水ポテンシャルが低下し、蒸散が減少したため、土壌乾燥処理区と対照区との差は徐々に小さくなった。

‘宮川早生’においても、データを示さなかったが10月15日からの乾燥区で新葉の48~65%が落葉した。また、土壌乾燥処理区では対照区に比べて葉の水ポテンシャルが著しく低下した。

2. 土壌乾燥処理が組織別の全糖、でんぷん、プロリン含量に及ぼす影響

‘川野なつだいだい’実生の結果を第2図に示した。全糖含量は11月と12月の調査では、葉、茎、根のいずれの組織とも対照区よりも土壌乾燥区(A, B, C)で高かったが、1月の調査においては、根では11月や12月と同様の傾向が認められたものの、葉と茎では対照区的全糖含量が気温の低下に伴って急増したのに対し、10月15日からの乾燥区(D)及び11月15日からの乾燥区(E)では増加せず、むしろ対照区や12月15日からの乾燥区(F)よりも低くなった。

対照区の葉のでんぷん含量は全糖含量とは逆に11月、12月、1月と気温の低下に伴い急速に減少した。また、土壌乾燥処理区のでんぷん含量は11月や12月からの乾燥区(C, E, F)の茎では対照区よりもやや高かったものの、その他の組織及び処理区では対照区よりも顕著に低かった。

プロリン含量はいずれの組織及びいずれの時期におい

ても 10 月や 11 月からの乾燥区 (A, B, C, D, E) が対照区よりも著しく高かったが, 12 月 15 日からの乾燥区 (F) は根では対照区より高かったものの, 葉と茎では低かった。

‘宮川早生’のデータは示さなかったが以下に結果の概要を述べる。葉と茎の全糖含量の変化は‘川野なつだいたい’とはほぼ同様であったが, 1 月の調査で対照区よりも顕著に低かったのは 10 月からの乾燥区 (D) だけであり, 他の乾燥区 (E, F) と対照区とはほぼ同じ含量を示した。また, でんぷん含量は土壌乾燥処理によって顕著に低下した。一方, プロリン含量は 10 月 15 日から 11 月及び 12 月までの乾燥区 (A, B) で対照区より著しく高かったものの, その他の処理区では‘川野なつだいたい’の場合ほど顕著な増加は認められなかった。

3. 土壌乾燥処理が耐寒性に及ぼす影響

各時期の各凍結温度における‘川野なつだいたい’の葉と茎の枯死率を第 2 表に示した。11 月及び 12 月の調査では, いずれの凍結処理温度においても土壌乾燥区 (A, B, C) が対照区よりも葉及び茎の枯死率が低かった。しかし, 対照区においても十分に耐寒性が強まった 1 月の調査では, 対照区よりも顕著に枯死率の低い区は見られず, しかも 10 月や 11 月からの長期にわたる乾燥区 (D, E) では概して対照区よりもやや枯死率が高くなる傾向があった。また, 12 月からの乾燥区 (F) は対照区と比べて葉の枯死率は高かったものの, 茎の枯死率は低かった。

‘宮川早生’の葉と茎の枯死率及び翌春の春枝伸長量と第 4 表にそれぞれ示した。11 月及び 12 月の調査で第 3 表は, 10 月 15 日からの乾燥区 (A, B) の -6°C 凍

結処理区において乾燥が強過ぎたことが原因と思われる枯死があったため, 対照区や -8° , -10°C 区などよりも枯死率が高くなったが, -6°C 以外の凍結区では対照区に比べて土壌乾燥区 (A, B, C) で茎の枯死率が顕著に低かった。また, -8°C や -10°C の凍結処理を受けた区では, 土壌乾燥区に比べて傷害の大きかった対照区で春枝の伸長量も著しく低下した。一方, 1 月の凍結処理では, ‘川野なつだいたい’の場合と同様に 10 月や 11 月からの乾燥区 (D, E) が対照区よりもやや枯死率が高い傾向が見られたのに対し, 12 月からの乾燥区 (F) は対照区よりも茎の枯死率が低くなった。また, 春枝伸長量についても処理区 D と E は対照区や処理区 F と比べて小さ

Table 2. Effect of water stress on freeze injury of Natsudaikai seedlings.

Treatment ^y	Leaf kill (%)				Stem kill (%)			
	-5°C	-6°C	-7°C	-8°C	-5°C	-6°C	-7°C	-8°C
November 15 ^z								
Control	50		99		3		83	
A	8		89		0		63	
December 15 ^z								
Control		25		75		3		62
B		0		47		0		22
C		2		69		0		17
January 15 ^z								
Control		1		37		0		10
D		1		20		5		15
E		10		60		0		15
F		0		66		0		2

^z Date of freezing treatment

^y For explanation of treatments see Fig.1.

Table 3. Effect of water stress on freeze injury of Wase satsuma mandarin trees.

Treatment ^y	Leaf kill (%)						Stem kill (%)			
	-6°C	Old leaves -8°C -10°C	-12°C	-6°C	New leaves -8°C -10°C	-12°C	-6°C	-8°C	-10°C	-12°C
November 15 ^z										
Control	78	100	100	21	100	100	26	76	100	
A	100	100	100	75	100	92	29	18	30	
December 15 ^z										
Control	100	100	100	1	39	100	1	2	47	
B	100	100	100	78	77	63	15	1	8	
C	94	100	100	0	44	95	0	1	4	
January 15 ^z										
Control		94	100	100	0	85	100	0	11	72
D		100	100	100	83	96	93	7	11	100
E		100	100	100	10	61	100	1	3	100
F		84	100	100	1	85	94	0	7	42

^z Date of freezing treatment

^y For explanation of treatments see Fig.1.

Table 4. Effect of water stress and freezing treatment on growth in the following spring in Wase satsuma mandarin trees.

Treatment [†]	Total spring flush length (m)			
	-6°C	-8°C	-10°C	-12°C
	November 15 [‡]			
Control	3.5	0.3	—	
A	2.8	1.4	1.6	
	December 15 [‡]			
Control	2.4	3.3	0.7	
B	3.5	2.6	1.4	
C	3.5	3.6	3.0	
	January 15 [‡]			
Control		3.4	2.2	0.7
D		1.8	1.7	—
E		2.8	1.7	—
F		3.4	2.3	1.2

[‡] Date of freezing treatment[†] For explanation of treatments see Fig.1.

く、対照区と処理区Fは-8°Cと-10°C区ではほぼ等しかったが、-12°C区では処理区Fの方が春枝の伸長が優れた。

考 察

常緑果樹であるカンキツは低地温のため吸水が抑えられている冬季にも気象条件によっては葉からの蒸散が行われる(8)ため、秋から冬にかけての気温や地温の低下に伴い水ポテンシャルが徐々に低下する(9)。一方、樹体の耐寒性はこの時期に次第に増大するため、樹体の水分状態と耐寒性との間に密接な関係があると考えられる。従って、温度以外では樹体の水分状態に最も影響の強い土壌水分を制限することによる水ストレスは耐寒性に関して低温の代替効果あるいは低温との相加的な効果を持つ可能性があることが予想される。

実際、いくつかの植物では土壌乾燥による水ストレスが耐寒性を増大させたとの報告が見られる(2, 11, 14)。カンキツに関しても同様の研究が行われている(3, 5, 13, 18, 21)が、結果は必ずしも一致しておらず、いまだに不明な点も多い。

本実験において、カラタチ台‘宮川早生’及び‘川野なつたいだい’実生の灌水区では11月から12月、1月と気温の低下に伴い葉の水ポテンシャルが徐々に低下し、‘川野なつたいだい’では蒸散も徐々に減少した。これに対して、土壌乾燥処理区ではいずれの時期においても灌水区に比べて水ポテンシャルが著しく低下し、蒸散もかなり抑制された。これらの処理区について凍結処理後の枝葉の枯死率や翌年の春枝の伸長などから耐寒性を

比較すると、11月や12月にはそれ以前からの土壌乾燥処理によって灌水区よりも耐寒性が強くなったが、灌水区が自然の低温により十分に耐寒性を獲得した1月になると10月や11月からの長期間に亘る乾燥処理区ではむしろ灌水区よりも耐寒性は劣るくらいであった。従って、土壌乾燥に伴う水ストレスは耐寒性に関して低温の代替効果を持つものの、低温との相加的な効果はあまり大きくないものと推察された。

土壌乾燥時の温度に関して、Yelenosky(19)はグレープフルーツを用いた実験において、ハードニングを誘導し得ない高温条件(昼温31°C/夜温22°C)では水ストレスによってハードニングが促進されるが、低温(昼温21.1°C/夜温10°Cを1週間+15.6°C/4.4°Cを2週間)によってハードニングされている場合には水ストレスの効果はほとんどなくなり、3処理区(高温+水ストレス、低温、低温+水ストレス)の耐寒性はほぼ等しくなったことを認めている。しかし、彼の用いた低温条件は本実験のビニールハウス内では12月に入るまでに十分受けており、しかも12月の調査では土壌乾燥処理の耐寒性増大効果を認めていることから若干の相違が認められる。この点に関しては水ストレスの強さや供試した材料の種の違いなどが影響しているのかもしれない。

また、水ストレスの強さに関連して、本実験では予備実験の結果(データは示さず)をもとに非常に強い水ストレスを与えたために一部の個体では茎の乾燥死や再灌水による落葉誘導(1)などが認められたが、強い水ストレスよりも弱い水ストレスの方が耐寒性増大に効果があるとの報告(17)もあり、今後さらに検討が必要と思われる。

組織中の糖やプロリンの増加及びでんぶんの減少がカンキツの低温による耐寒性増大に関与しているとの報告は多い(10, 20, 22, 23)。また、著者らは低地温処理によるカンキツやアボカドの耐寒性増大過程においても同様の成分変化が認められることを明らかにした(16)。一般に、水ストレスも組織中の糖やプロリンを増加させることが知られている(6, 12, 19)が、本実験においても11月や12月にはそれ以前からの土壌乾燥処理によって葉、茎、根の各組織の全糖とプロリン含量が増加し、でんぶん含量が減少する傾向が認められた。しかしながら、灌水区の個体自然のが低温遭遇によってでんぶんを糖化し、糖含量を高めた1月には土壌乾燥処理区と灌水区との間の差は顕著でなくなった。しかも、10月からの乾燥区あるいは11月からの乾燥区などの長期にわたる土壌乾燥処理区では1月における葉と茎の全糖含量が灌水区や他の土壌乾燥区よりも低くなる傾向さえ認められ、これらの変化に伴い耐寒性も相対的に弱くなった。

これら長期の土壤乾燥区で糖含量が低下したのは水ストレスに伴う光合成の低下、特に 10 月からの乾燥区では落葉による光合成の場の減少のためにでんぶんの貯えが十分でなかったことによると思われる。この点に関しては、ハードニング時に摘葉処理した場合に、摘葉割合が大きいほど茎の耐寒性が低下したことから、耐寒性増大過程での葉の重要性を示唆した報告(17) も見られる。

また、プロリンが耐寒性に果たす役割については細胞の浸透濃度の増加の他に膜の安定化などの作用が推察されている(15) が、まだ正確な作用機序は明らかになっていない。本実験では土壤乾燥処理に伴い組織中のプロリン含量は著しく増加し、11 月や 12 月の調査では糖とともに耐寒性との関連が認められたものの、1 月の調査では耐寒性の程度と必ずしも一致しなかった。これらのことから、プロリンの作用を浸透濃度の面から考察すると、糖に比べて組織中の量も少なく、その役割は相対的にやや小さいように思われた。

摘 要

土壤乾燥の開始時期(10, 11, 12 月)と期間(1~3 か月)がカラタチ台‘宮川早生’と‘川野なつだいたい’実生の時期別(11, 12, 1 月)の耐寒性に及ぼす影響を調査するとともに、組織内の成分変化との関連について検討した。

1. 灌水区においては 11 月から 1 月にかけて徐々に蒸散が減少するとともに葉の水ポテンシャルが低下したが、土壤乾燥処理区ではいずれの時期においても灌水区よりも蒸散が少なく、水ポテンシャルも低かった。また、10 月 15 日及び 11 月 15 日から土壤乾燥を開始した区で落葉が認められた。

2. 11 月や 12 月にはそれ以前からの土壤乾燥処理によって葉、茎、根の各組織の全糖とプロリン含量が増加する傾向が認められたが、1 月には 10 月 15 日からの乾燥区あるいは 11 月 15 日からの乾燥区で灌水区よりも葉と茎の全糖含量が低かった。しかし、‘川野なつだいたい’の各組織のプロリン含量は 1 月においてもこれらの乾燥区で高かった。一方、でんぶん含量はいずれの時期とも土壤乾燥区で低い傾向が認められた。

3. 11 月や 12 月までの土壤乾燥処理は耐寒性を増大させたが、1 月までの処理では 12 月 15 日からの乾燥区で茎の枯死率が灌水区よりもやや低かったものの、10 月 15 日及び 11 月 15 日からの乾燥区では灌水区よりも耐寒性が弱かった。

4. 本実験の結果から、比較的気温が高くまだ十分に耐寒性を獲得していない時期には土壤乾燥処理はある程度低温の代替効果を持ちカンキツの耐寒性を増大させる

が、自然の低温により十分に耐寒性が強まると乾燥の効果は低下し、土壤乾燥が長期にわたった場合にはかえって耐寒性を低下させることが明らかとなった。また、これらの耐寒性の変化と葉や茎の糖含量の変化とが密接に関係していることが示唆された。

引用文献

1. ADDICOTT, F. T. and J. L. LYON. 1973. Physiological ecology of abscission. p. 85—124. In: T. T. KOZLOWSKY (ed.) *Shedding of plant parts*. Academic Press, New York and London.
2. CHEN, P., P. H. LI and C. J. WEISER. 1975. Induction of frost hardiness in red-osier dogwood stems by water stress. *HortScience* 10: 372—374.
3. DAVIES, F. S., D. W. BUCHANAN and J. A. ANDERSON. 1981. Water stress and cold hardiness in field-grown citrus. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 106: 197—200.
4. 小中原 実・酒井 昭. 1967. カンキツの寒害防除に関する研究(第 1 報). 温州ミカンの耐凍性、浸透濃度および糖含量の季節的変動. 園学雑. 36: 170—178.
5. KOO, R. C. J. 1981. The effect of fall irrigation on freeze damage to citrus. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 94: 37—39.
6. LEVY, Y. 1980. Field determination of free proline accumulation and water-stress in lemon trees. *HortScience* 15: 302—303.
7. 町田 裕・間苧谷 徹. 1974. 果樹の葉内水分不足に関する研究(第 1 報). Pressure chamber による温州ミカン葉の water potential の測定法について. 園学雑. 43: 7—14.
8. MAOTANI, T. and Y. MACHIDA. 1976. Studies on leaf water stress in fruit trees. II. Relationship between climatic factors and leaf water potential of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) trees during the winter. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 44: 360—366.
9. 間苧谷 徹・町田 裕. 1976. 果樹の葉内水分不足に関する研究(第 5 報). ウンシュウミカンの葉の水ポテンシャル及び葉内水蒸気拡散抵抗の時期別推移について. 園学雑. 45: 261—266.
10. PURVIS, A. C. and G. YELENOSKY. 1982. Sugar and proline accumulation in grapefruit flavedo and leaves during cold hardening of young trees. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 107: 222—226.
11. 澤野 稔. 1975. クリ樹の凍害防止に関する基礎的研究. 東京農業大学学位論文.
12. 鈴木 鉄男・橋爪 光一・高木 敏彦・岡本 茂. 1981. 温州ミカン樹における水ストレスが果実、葉中の糖、有機酸、アミノ酸、ABA 含量に及ぼす

- 影響, 静岡大農学部研究報告. 31: 9—20.
13. SYVERTSEN, J. P. and M. L. SMITH, Jr. 1982. Water relations of freeze defoliated citrus trees. *The Citrus Industry* 63: 20—23.
 14. WILDUNG, D. K., C. J. WEISER and H. M. PELLET. 1973. Temperature and moisture effects on hardening of apple roots. *HortScience* 8: 53—55.
 15. WITHERS, L. A. and P. J. KING. 1979. Proline: A novel cryoprotectant for the freeze preservation of cultured cells of *Zea mays* L. *Plant Physiol.* 64: 675—678.
 16. 山田 寿・向井啓雄・宇都宮直樹・杉浦 明・苦名 孝. 1985. カンキツ及びアボカドの耐寒性に及ぼす低地温の影響. *園学雑.* 53: 419—426.
 17. YELENOSKY, G. 1975. Cold hardening in citrus stems. *Plant Physiol.* 56: 540—543.
 18. YELENOSKY, G. 1978. The effect of withholding water on cold hardiness of 'Valencia' orange and 'Star Ruby' grapefruit trees in controlled freeze. *Proc. Fla. Sta. Hort. Soc.* 91: 18—20.
 19. YELENOSKY, G. 1979. Water-stress-induced cold hardening of young citrus trees. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104: 270—273.
 20. YELENOSKY, G. 1979. Accumulation of free proline in citrus leaves during cold hardening of young trees in controlled temperature regimes. *Plant Physiol.* 64: 425—427.
 21. 吉村 不二男・大野 芳信・川北 高資・松野 克義. 1963. カンキツの寒害(第3報). 二, 三の凍結および融解処理と樹体の寒害発生との関係. *園学雑.* 32: 149—156.
 22. YOUNG, R. 1969. Cold hardening in 'Red-blush' grapefruit as related to sugars and water soluble proteins. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 94: 252—254.
 23. YOUNG, R. 1969. Cold hardening in citrus seedlings as related to artificial hardening conditions. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 94: 612—614.