

## 柑橘果實之脫落

羅惠萍<sup>1)</sup>

關鍵字：柑橘、脫落、離層、老化、乙烯

**摘要：**脫落(abscission)是描述植物體器官自然脫離活母體的過程。生理脫落的發生過程主要分為3個階段，第1階段為stimulus stage:包含有自然老化或外在因素產生，第2階段為signal stage: auxin 含量降低及乙烯產生，第3階段為response stage: 水解酵素 polygalacturonase 與 cellulase 之產生，最後造成離層產生導致脫落之發生。柑橘屬之果實有2個脫落區域(abscission zone)，在樹枝及果梗之間的脫落區域為AZ-P，另一個則接近花萼的脫落區域為AZ-C (abscission zone-calyx)。Clementine 柑為自交不親和，其落果率高;溫州蜜柑為自然單為結果，著果能力高。在細胞分裂的後期及細胞伸長的初期，溫州蜜柑果實內的GA類似物(GAs)及游離型IAA 含量較高，而結合型ABA 含量也較高。六月落果主要因碳水化合物的短缺產生訊號，此訊息觸發賀爾蒙一連串反應產生ABA、ACC及乙烯。auxin 及乙烯是控制果實脫落的主要賀爾蒙，乙烯誘導控制離層的基因表現，造成細胞壁水解酵素 cellulase 及 polygalacturonase 合成，由於酵素水解細胞壁，最後造成器官的脫落。

### 前 言

#### 一、生理脫落之定義

脫落(abscission)是描述植物體器官自然脫離活的母體之過程。在植物生長期間果實、花、莖、葉及不同的營養器官等可能在不同的生長時期產生脫落的現象(Osborne, 1989; Bleecker and Patterson, 1997; Brown, 1997; Bangerth, 2000; Patterson, 2001; Taylor and the Whitelaw, 2001; Roberts *et al.*, 2002; Drazeta *et al.*, 2004; Else *et al.*, 2004; Alferez *et al.*, 2005; Cin *et al.*, 2005)。

---

1) 國立中興大學園藝學系博士班學生

脫落的現象僅發生在一區域內稱為脫落區域(abscission zone)。植物體器官自然脫落的過程中，首先在脫落區域會發生一連串的生理和生物化學作用，導致撕裂線(一層特殊細胞，稱為離層)兩邊的少數幾排細胞之細胞壁產生分解，最後造成器官的脫落(Burns, 1997; Robers *et al.*, 2002)。

脫落的發生過程主要分為 3 個階段，第 1 階段為 stimulus stage: 包含有自然老化或外在因素產生的刺激作用，例如水分逆境、碳水化合物的短缺或生長調節劑之處理。第 2 階段為 signal stage: 包含有數種內在因素的特徵例如在脫落區域 auxin 含量降低及乙烯產生，第 3 階段為 response stage: 包含核柑酸及特別的蛋白質之合成，例如水解酵素包含有 polygalacturonase 或 cellulase 之產生，最後造成基因表現導致脫落之發生(Tucker *et al.*, 1988; Bonghi *et al.*, 1992; Brown, 1997; Burns, 1997; Burns *et al.*, 1998 Talon *et al.*, 1997; Bonghi *et al.*, 2000; Robers *et al.*, 2002)。

## 二、脫落之研究方法

在脫落的研究中，除了依據不同季節的各個時期，採用整體植株上的脫落器官作為材料外；也採用人工脫落方法，切掉不同的器官後會使其柄部發生脫落。用乙烯也能誘導脫落，現在大多用 1~50  $\mu\text{l/l}$  的乙烯以誘導植物器官的脫落(Sexton and Roberts, 1982)。另一方面可採用離體誘導之方法，所用之培植體是包括離層的近軸端和遠軸端在內的小組織塊。將此小組織塊放入適當之環境中，就會誘導出離層。將葉柄培植體放置於無菌培養基上培養，用乙烯處理(Webster, 1973)；將葉之培植體培養於濕沙中，以 NAA 及 GA 處理(Moline *et al.*, 1972)；用瓊脂與水混合培養大豆花軸，且用加有不同成分的瓊脂處理離層的遠軸端和近軸端，以研究不同條件下對脫落之影響(Oberholster *et al.*, 1991)。

為統一研究的標準，是有必要對離層所處理的不同發育時期進行劃分，以整體植株為研究者多以生長月份為標準；而在人工誘導的脫落系統中，多數以對培植體誘導的時間長短作為標準。培植體在誘導前所處的狀態不同，故該種方法不利於準確地把握離層所處大小的時期。用彈簧秤對不同時期離層處的斷裂力大小(break-strength)進行測量，並根據所測得 BKs 之大小對脫落進行分期，將脫落的時間過程劃分為兩個時期，延遲期(lag phase)與分離期(separation phase)。在延遲期之 BKs 沒有清楚的下降或稍有下降；而在分離期之 BKs 則快速下降，離層細胞與相鄰細胞相比變得脆弱而易破裂，故此方法較能精確地確定離層所處之發育狀態(Campillo and Bennett, 1996)。

## 三、脫落區域之細胞學特徵

在脫落之前，脫落器官的基部會分化出脫落區域(abscission zone)，以後在脫落區域的範圍內進一步分化產生離層(separation layer)和保護層(protection layer)。脫落區域是由 5~50 個小細胞所組成之一個完整的貫穿整個脫落部位的細胞層。其細胞小但大小相近(Eversen and Page, 1993)；細胞質緻密、細胞間隙小，且含有大量的澱粉粒(Gilliland and

Bornman, 1976)並有高度分支的細胞連絲。

脫落產生時，細胞間的彼此分離並非都發生在整個脫落區域中，而是局限於遠軸端的一至數層細胞中，該數層細胞就稱之為離層。由電顯中觀察得知，離層細胞之液泡變小；細胞核變大、變長，並有明顯的核仁物質；多聚核糖體、高爾基體、粗面內質網(Jensen and Valdovinos, 1967)及粒線體明顯增多(Baird, 1984);細胞膜凹陷之發生(Jensen and Valdovinos, 1967)。由其發育過程看，離層形成初期時細胞呈長形(Van-Doorn and Stead, 1997)、細胞內澱粉粒變少；後期細胞變短、澱粉粒增加(Gilliland and Bornman, 1976)，細胞質、液泡和細胞壁物質的體積增加。脫落前遠軸端的細胞內澱粉粒大量減少(Oberholster *et al.*, 1991)。有關澱粉粒的作用有兩種看法:一種是被認為澱粉粒為脫落提供能量(Sexton and Roerts, 1982);另一種則是被認為澱粉粒溶解可降低細胞的溶質勢，進而使細胞壁的膨壓增大，故導致細胞膨脹，細胞間出現空腔(Mackenzie, 1979; Eversen and Page, 1993)。此為脫落提供一種內力(Oberholster *et al.*, 1991)，且可能有利於維管束的斷裂(Jensen and Valdovinos, 1967; Oberholster *et al.*, 1991)。緊接著離層下面會分化出保護層，其對於脫落後暴露出的表面則具有保護作用。但有些植物器官在脫落後並不形成保護層，如大豆複葉之脫落(Moline and Bostrack, 1972)。

#### 四、不同的脫落區域

柑橘屬有 4 個脫落區域(abscission zone)，在葉片及果實分別有 2 個脫落區域。(1)葉片:在枝條及葉柄之間的脫落區域為 branch AZ，葉柄及葉片之間的脫落區域為 laminar AZ。(2)果實:在枝條及果梗之間的脫落為 AZ-P，另一個則接近花萼的脫落區域為 AZ-C(abscission zone-calyx) (Goren, 1993)。大部份柑橘屬於授粉後果實發育的前 8 週脫落產生於 AZ-P，過此時期則發生於 AZ-C，由 AZ-P 轉變到 AZ-C 約有 4 週的轉換期(Burns, 1997; Talon *et al.*, 1997)。當 AZ-A 喪失產生脫落的功能時，觀察此區域的解剖面，發現約 80-100 層小而叢生的冠狀薄壁細胞所組成；此時 AZ-A 以乙烯處理時在近側末端的區域會有細胞分裂、細胞壁變厚及細胞伸長的現象，但不會產生脫落。在脫落的過程，細胞的解剖特徵為，脫落區域的細胞如皮層細胞內外出現澱粉粒，而細胞壁的中膠層及細胞壁合成物產生水解作用，促使細胞壁變厚及體積增大，接著細胞壁降解之後，並在脫落區域產生撕裂線，最後導致器官的脫落(Goren, 1993; Talon *et al.*, 1997)。

## 發育誘導落果之訊號

### 一、老化現象

溫州蜜柑及 Clementine 柑兩種為無種子的寬皮柑，溫州蜜柑為自然單為結果，Clementine 柑為自交不親和，自然著果能力低，常須雜交授粉才能著果。此兩者有 2 個落

果高峰，第 1 個發生在授粉後至花瓣掉落之間，第二個發生在授粉後約 4 週，Clementine 柑著果率僅只 3%，而溫州蜜柑有 23%(Poza, 2001)。該兩種寬皮柑在果實早期發育階段有內生 GA 類似物質(GAs)、游離型及結合型的 IAA 及 IBA 的存在，例如在溫州蜜柑比 Clementine 含有較高量的 GA 類似物質及 GA<sub>3</sub>。在 Clementine 柑的幼果中游離型的 ABA 含量高。當 GAs 含量低及游離型的 ABA 高，造成低單為結果能力低，顯示賀爾蒙型態會影響著果情形(Talon *et al.*, 1990; Zacarias *et al.*, 1995)。在細胞分裂的後期及細胞伸長的初期造成此兩種結果率低的原因為 GAs 含量低，形成結合型 ABA 的能力低，但形成結合型 IAA 的能力高。當柑橘果實內累積較高游離型的 ABA 會降低果實生長及果實老化的現象，促使脫落區域形成離層，造成果實脫落(Ben-Cheikh *et al.*, 1997)。柑橘果實於授粉後 2 週以 1μg/l GA<sub>3</sub> 處理，結果果實內 ABA 的含量比無處理者低，有處理者果重及果徑明顯增加，其落果率約 6 %；而無處理者果實出現老化現象，因此造成較高落果率達 38%(Zacarias *et al.*, 1995)。柑橘果實內 ABA 及 GAs 的平衡可調節果實之發育及落果率的高低(Talon *et al.*, 1997)。「Marshall」無子葡萄柚授粉後 20 天，在老化果實(weak fruit)的 AZ-C 會累積較高的 ABA 及 ABA 類似物質，促使果實早期階段的落果率高，而無老化果實(firm fruit)的 AZ-C 會累積較高的 GA 類似物質，促進果實早期發育(Poza, 2001)。依據文獻的顯示 GA 刺激單為結果，促進種子的物質能轉移至果實中，而乙烯主要的角色是促進果實的脫落(Goren, 1993)。逆境的刺激會促 ABA 的累積，且 ABA 會調節 ACC 及乙烯合成之變化(Gómez-Cadenas *et al.*, 2000)。

## 二、碳水化合物的短缺

柑橘的著果數量是限制產量原因之一，而果實最終的採收數量通常少於開花數量的 5 %。落果主要發生於授粉後或細胞分裂之前期及後期。落果為樹體自我調節承載的代謝機制。柑橘葉片的存在會促進著果率，帶葉花序比無帶葉花序落果率低(Ruiz *et al.*, 2001)。帶葉花序通常提供光和成產物，利用 source-sink 的試驗方式，例如落葉處理、環刻及遮蔭等可以證實。落葉處理促使果實發育前期的落果更加嚴重(Mehouachi *et al.*, 1995)。溫州蜜柑，授粉時去除老葉或新葉，促使果實發育前期(細胞分裂期)的落果率達 60 % 以上(Mehouachi *et al.*, 2000)。在六月落果時(細胞分裂後期)，果實內蔗糖含量低，無帶葉花序於授粉後 21 天，果實中蔗糖濃度低，而六碳糖濃度高，此時落果率高；在幼果發育期間降低蔗糖/六碳糖之比率，會提高落果率(Ruiz *et al.*, 2001)。

生理落果是一般認為樹體之自我調節機制，其是為了避免植物體過多負荷，而可能導致果實在後面之發育階段，有養分缺乏現象之發生(Bangerth, 2000)。其主要是因碳水化合物的短缺而產生訊號，此訊息觸發荷爾蒙一連串反應產生 ABA(abscisic acid)、ACC(1-aminocyclo-propane-1-carboxylic acid)及乙烯(Goren, 1993；Gómez-Cadenas *et al.*, 2000)。「Clausellina」及「Okitsu」寬皮柑，落葉處理減少果實中可溶性糖達 98 %，但卻明顯提高果實中 ABA 及 ACC 含量(Gómez-Cadenas *et al.*, 2000)。在碳水化合物的短缺之下 ABA

可能扮演訊息的角色，調節 ACC 及乙烯的生合成(Goren, 1993)。在自然狀態下光合成產物缺乏時，誘導 ABA 及 ACC 的合成，促使落果之發生為樹體自我調整承載能力的機制(Ruiz *et al.*, 2001)。在華盛頓臍幼果的脫落與碳水化合物有關。當葉片中蔗糖含量低時，促使提供果實發育的碳水化合物供應產生限制及競爭作用，導致落果之發生。'華盛頓'臍橙幼果期碳水化合物供應的限制，可能因果皮中自由糖含量的降低，引發落果的信號(Ruiz *et al.*, 2001)。

### 荷爾蒙之影響

與脫落有關之植物生長調節劑，被接受的主要為乙烯及 auxin 兩者(Uheda and Nakamura, 2000; Dhanalakshmi *et al.*, 2003; Cin *et al.*, 2005)。在植物器官生長、發育與活動旺盛期間，IAA 在其中合成，並不斷向下運輸。而當器官衰老，其合成 IAA 之能力降低，故使得本身 IAA 含量降低而脫落。在開始老化的植物中，葉片中 IAA 的濃度會因葉片在莖上的位置而有顯著差異。由莖上部起向下逐漸減少，而落葉自下部開始逐漸向上進行。在花及果實的脫落過程中，IAA 具有與葉片相似之調節作用；未授粉的花，被蟲咬去種子的果實，都因不能合成 IAA 而脫落，施用生長素能延緩脫落(Brown, 1997)。故可知器官內之 IAA 的含量與脫落的相關性。當遠軸端之 IAA 濃度高於近軸端時，則會抑制脫落；反之，在近軸端之 IAA 濃度高於遠軸端時，則會降低抑制脫落作用，由此說明離層是對於 IAA 之相對濃度梯度敏感，而不是絕對含量敏感(Addicott, 1982)。

當果實脫落區域或果皮含高濃度 IAA 及低濃度 ABA 或其比率高時，此時脫落區域對於促進果實脫落的藥劑反應是不敏感。在 Florida 大部份晚倫西亞果實成熟在 4 月初及 7 月之間，在 2-4 月之間噴施脫落的藥劑可以減輕機械採收的拉扯力量，但當果實 IAA 及 ABA 比率高時，果實脫落區域對於脫落劑並不敏感(Yuan *et al.*, 2001)。成熟的果實脫落部位只發生於 AZ-P，而果實的脫落是與植體內生的賀爾蒙有關，在離層區域內生有效的 auxin 必須降低到一定的門檻，才會促進果實脫落，內生的 IAA 及乙烯是控制果實脫落的主要賀爾蒙(Okuda and Hirabayashi, 1998)。噴施 2,4 dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)可減少採收前的落果(Anthony and Coggins, 1999)。auxin 梯度的改變時，促使脫落區域對於乙烯的作用更敏感，只要低濃度的乙烯即可促使水解酵素的產生，因而加速果實之脫落(Goren, 1993)。果實落果過程，IAA 分配會發生改變，當 TIBA(auxin 轉移抑制物)施用於 peduncle 會加速果實的落果(Okuda and Hirabayashi, 1998)。乙烯是參與脫落的過程的關鍵物質，乙烯藉由增加 cellulase 活性導致細胞壁崩解作用。乙烯促使 auxin 的分解作用，導致游離型的 auxin 減少，結合型的 auxin 增加，並且降低游離型的 auxin 轉移至脫落的區域，因而促進果實的脫落。

茉莉酮酸(JA, jasmonate)已被確定是一種新型的植物荷爾蒙，其參與數種植物之生理

過程，特別是對逆境之反應、老化及葉片之脫落(Gross and Parthier, 1994)。茉莉酮酸甲脂(MJ, methyl-jasmonate)在脫落過程中，會影響脫落區域中的多醣體之代謝(Ueda *et al.*, 1996)、降低細胞壁之機械性(Miyamoto *et al.*, 1997)。柑橘田間使用 MJ，在 10 mM/L 以下，其能引起果實脫落且無生理毒害，但若超過此濃度則會引起葉片脫落(Hartmond *et al.*, 2000)。*'Golen Delicious'*用 BA 及 NAA 處理後有明顯之落果現象(Buban, 2000; Cin *et al.*, 2007)，其落果率分別是 90%及 82%。*'Red Delicious'*用 BA 處理則是 86%落果率，比自然落果 90%稍微降低一些(Cin *et al.*, 2007)。與對照組相比較，施用 BA 與 NAA 並不影響落果之果實大小及繼續生長果實之生長速率(Cin *et al.*, 2007)。施用 BA 後明顯增加中央部位枝條直徑，同時也增加側枝的數量及長度，故推論 BA 刺激落果之原因是枝條與果實彼此競爭，增加代謝庫之能力(Cin *et al.*, 2007)。

### 基因之表現

脫落是一種典型的信號傳遞、放大作用過程，從乙烯的處理到組織的分離，不僅存在由離層外向離層的信號傳遞，還存在離層部位不同類型組織、細胞之間的信號傳遞。PG (polygalacturonase)基因表達可能與脫落的信號傳遞有關，脫落的信號首先被維管束中的某標靶細胞感受，標靶細胞引起包括 TAPG4 基因表達等過程的脫落程式，但維管束的標靶細胞的準確定位及脫落區域次及信號的作用則還需要進一步驗證(Thompson *et al.*, 1994; Hong *et al.*, 2000)。

乙烯能加速植物器官的脫落，其主要在組織開始老化時發揮作用且能刺激酶大量的合成，使細胞壁鬆弛導致細胞膨大變圓(Webster and Leopold, 1972)。在老葉中有乙烯的大量產生並促進脫落的發生。乙烯能誘導 cellulase 和 polygalacturonase 之活性增加(Turker *et al.*, 1988; Aurelio *et al.*, 1996; Brown, 1997; Kazokas and Burns, 1998)。與脫落有關之 BAC 基因(bean abscission cellulose)已被分離出且對其進行序列分析，得知該基因編碼 PI9.5 之 cellulase。其啟動子對乙烯和 IAA 有特異之敏感性，用外源乙烯處理能促進其基因的表現(Kochler *et al.*, 1996)。

茉莉酮酸(JA)對於脫落也有促進作用，它能促進 BAC 基因之表達，增加其 mRNA 的含量，且不依賴於乙烯的存在，而作用方式與乙烯相似(Hall and Horton, 1994; Miyamoto *et al.*, 1997)。乙烯會改變 IAA 正常的代謝途徑，並且分解 IAA 後形成 glucose 1-0-(indole-3-carboxyl)- $\beta$ -D-Glucose (ICALu; 結合型 IAA) (Goren, 1993)。將 ABA 噴施於晚倫西亞脫落區域，可促進 cellulase (endo-1,4- $\beta$ -glucanase)活性提高，導致脫落作用(Talon *et al.*, 1997)。在脫落區域 cellulase 及 polygalacturonase 的基因表現，促進此 2 種水解酵素合成，導致細胞壁的降解，最後產生脫落。

細胞壁水解酵素 cellulase 及 polygalacturonase 基因表現與柑桔及桃果實脫落有關

(Bonghi *et al.*, 1992; Burns *et al.*, 1998)。其在果實脫落過程中扮演重要角色，由於脫落區域水解酵素之作用並拆開細胞壁的多醣類，故造成脫落線上產生撕裂作用，最後導致器官的脫落(Zhong *et al.*, 2001; Wu and Burns, 2003)。晚侖西亞以用乙烯處理花萼的脫落區域，處理 6 小時至 24 小時之間 cellulase 基因及活性明顯表現。臍橙及葡萄柚採收前噴施 2,4-D 可明顯降低採收前的落果(Burns *et al.*, 1998)。晚侖西亞採收前 6 週全園噴施 2,4-D(18mg/L) 者比無未噴施者落果率低，且噴施者之脫落區域 cellulase 活性低於未噴施者(Anthony and Coggins, 1999)。晚侖西亞成熟及非成熟果實的脫落區域以乙烯處理，造成 cellulase 基因 Cel-bl 及 Cle-al 的明顯表現(Kazokas and Burns, 1998)。MdACO1 基因表現已經被證明與脫落有關(Cin *et al.*, 2005)。cytokinin 是扮演促進生長及細胞分裂之角色，其可能增加 ACS 基因之轉錄及穩定性，或是降低 ACO 基因之轉錄量(Brenner *et al.*, 2005)。而在側枝上用 BA 處理果實，則可發現延遲 MdACO1 之上游調節，故可知施用 BA 幾小時後可降低其轉錄量(Cin *et al.*, 2007)。

在植物組織發育改變過程中， $\beta$ -galactosidase 活性及基因表現已被廣泛測得，如種子(Buckeridge and Reid, 1994; Sekimata *et al.*, 1989)、幼苗(Esteban *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2001)、果實(Ali *et al.*, 1995; Carey *et al.*, 1995; De Veau *et al.*, 1993; Kang *et al.*, 1994; Ross *et al.*, 1994; Smith and Gross, 2000; Smith *et al.*, 2002; Tateishi *et al.*, 2001, 2002; Trainotti *et al.*, 2001)。Wu 及 Burns(2004)施用 CMN-pyrazole 及 ethephon 於晚侖西亞後 48 小時，成熟果實脫落區域皆有  $\beta$ -galactosidase mRNA 表現，但只有 ethephon 是表現在葉片脫落區域上。除此之外， $\beta$ -galactosidase mRNA 還表現於雄蕊、完全開放之花瓣及小果上。故推測  $\beta$ -galactosidase 可能不但在脫落過程中，同時也在花朵及小果之早期發育過程中扮演角色。

## 結 論

綜合上述柑橘果實的脫落，首先是在脫落區域同時接受到一個或多個型態的訊號，當接受訊號時會誘導賀爾蒙的產生及變化，例如，IAA 型態的改變及梯度的變化，ABA 及 ACC 的產生，進而促使乙烯的合成。

Auxin 及乙烯是調控脫落區域基因表現與否的主要因子。乙烯是參與脫落的過程的關鍵物質，乙烯藉由增加 cellulase 活性導致細胞壁崩解作用。乙烯促使 auxin 的分解作用，導致游離型的 auxin 減少，結合型的 auxin 增加，並且降低游離型的 auxin 轉移至脫落的區域，因而促進果實的脫落。相對地，當 auxin 降低至一定門檻或轉變為不活化的結合型態時，乙烯就會促使脫落基因的表現，在基因表現時會產生水解酵素如 cellulase 及 polygalacturonase，而此 2 種酵素會將細胞壁水解，當水解之後會形成撕裂線，導致果實脫落(González-Carranza *et al.*, 1998)。

除乙烯及 auxin 之外，茉莉酮酸(JA)對於脫落也有促進作用，FU6 能促進 BAC 基因之

表達，增加其 mRNA 的含量，且不依賴於乙烯的存在，其作用方式與乙烯相似。而在柑桔採收時，可利用茉莉酮酸甲脂(MJ)在 10 mM/l 以下，其能引起果實脫落且無生理毒害，以節省採收時間及人力。相反地，若使用 BA 處理果實，則可發現延遲 *MdACO1* 之上游基因調節，故可知施用 BA 數小時後可降低其轉錄量，進而延緩脫落之時間。

### 參 考 文 獻

- Addicott, F. T. 1982. *Abscission*, Berkeley. Los Angeles. London. University of California Press. pp113-115.
- Alferez, F., S. Singh, A. L. Umbach, B. Hockema, and J. Burns. 2005. Citrus abscission and *Arabidopsis* plant decline in response to 5-chloro-3-methyl-4-nitro-1H-pyrazole are mediated by lipid signaling. *Plant Cell and Env.* 28: 1436–1449.
- Ali, Z. M., S. Armugam, and H. Lazan. 1995.  $\beta$ -galactosidase and its significance in ripening mango fruit. *Phytochem.* 38: 1109–1114.
- Anthony, M. F. and C. W. Coggins. 1999. The efficacy of five form of 2,4-D in controlling preharvest fruit drop in citrus. *Sci. Hort.* 81: 267-277.
- Baird, L. M., M. S. Reid, and B. D. Webster. 1984. Anatomical and physiological effects of silver thiosulfate on ethylene-induced abscission in *Coleus*. *J. Plant Growth Regul.* 3: 217–225.
- Bangerth, F. 2000. Abscission and thinning of young fruit and their regulation by plant hormones and bioregulators. *Plant Growth Regul.* 31: 43–59.
- Ben-cheikh, W., J. Perez-Botella, F. R. Tadeo, M. Talon, and E. Prmo-Mill. 1997. Pollination increases gibberellin levels in developing ovaries of seeded varieties of Citrus. *Plant Physiol.* 114: 557-564.
- Bleecker, A. B. and S. E. Patterson. 1997. Last exit: senescence, abscission, and meristem arrest in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 9: 1169–1179.
- Bonghi, C., N. Rascio, A. Ramina, and G. Casadoro. 1992. Cellulase and polygalacturonase involvement in the abscission of leaf and fruit explants of peach. *Plant Mol. Bio.* 20: 839–848.
- Bonghi, C., P. Tonutti, and A. Ramina. 2000. Biochemical and molecular aspects of fruitlet abscission. *Plant Growth Regul.* 31: 35–42.
- Brenner, W. G., G. A. Romanov, I. Kollmer, L. Burkle, and T. Schmulling. 2005. Immediate-early and delayed cytokinin response genes of *Arabidopsis thaliana* identified by genome-wide expression profiling reveal novel cytokinin-sensitive processes and suggest

- cytokinin action through transcriptional cascades. *Plant J.* 44: 314–333
- Brown, K. M. 1997. Ethylene and abscission. *Physiol. Plant.* 100(3): 567-576.
- Buban, T. 2000. The use of benzyladenine in orchard fruit growing: a mini review. *Plant Growth Regul.* 32: 381–390.
- Buckeridge, M. S. and J. S. Reid. 1994. Purification and properties of a novel  $\beta$ -galactosidase or exo- $\beta$ -(1,4)-galactanase from the cotyledons of germinated *Lupinus angustifolius* L. seeds. *Planta.* 192: 502–511
- Burns J. K. 1997. Citrus fruit abscission. Citrus Research and Education Center.
- Burns, J. K., D. J. Lewandowski, C. J. Nairn, and G. E. Brown. 1998. Endo-1,4- $\beta$ -glucanase gene expression and cell wall hydrolase activities during abscission in Valencia orange. *Physiol. Plant.* 102: 217-225.
- Campillo, E. D. and A. B. Bennett. 1996. Pedicel breakstrength and cellulase gene expression during tomato flower abscission. *Plant Physiol.* 111: 813-820.
- Carey, A. T., K. Holt, S. Picard, R. Wilde, G. A. Tucker, C. R. Bird, W. Schuch, and G. B. Seymour. 1995. Tomato exo-(1,4)- $\beta$ -D-galactosidase. Isolation, changes during ripening in normal and mutant tomato fruit, and characterization of a related cDNA clone. *Plant Physiol.* 108: 1099–1107.
- Cin, V. D., A. Boschetti, A. Dorigoni, and A. Ramina. 2007. Benzylaminopurine application on two different apple cultivars (*Malus domestica*) displays new and unexpected fruitlet abscission features. *Ann. Bot.* 99(6): 1195-1202.
- Cin, V. D., M. Danesin, A. Boschetti, A. Dorigoni, and A. Ramina. 2005. Ethylene biosynthesis and perception in apple fruitlet abscission (*Malus domestica* L. Borkh). *J. Exp. Bot.* 56: 2995–3005.
- Dhanalakshmi, R., T. G. Prasad, and M. Udayakamur. 2003. Is auxin a diffusible signal mediating abscission of recessive sinks? *Plant Sci.* 164: 689–696.
- Drazeta, L., A. Lang, C. Cappellini, A. J. Hall, R. K. Volz, and P. Jameson. 2004. Vessel differentiation in the pedicel of apple and the effects of auxin transport inhibition. *Physiol. Plant.* 120: 162–170.
- Else, M.A., A. P. Stankiewicz-Davies, C. M. Crisp, and C. Atkinson. 2004. The role of polar auxin transport through pedicels of *Prunus avium* L. in relation to fruit development and retention. *J. Exp. Bot.* 55: 2099–2109.
- Esteban, R., B. Dopico, F. J. Muñoz, S. Romo, I. Martín, and E. Labrador. 2003. Cloning of a *Cicer arietinum*  $\beta$ -galactosidase with pectin-degrading function. *Plant Cell Physiol.* 44: 718–725.
- Eversen, K. B. and A. M. Page. 1993. Anatomy of ethylene-induced petal abscission in

- Pelargonium*×*Hortorum*. Ann. Bot. 71: 559-566.
- Gilliland, M. G. and C. H. Bornman. 1976. Ultrastructure and acid phosphate in pedicel abscission of *Hibiscus*. Amer. J. Bot. 63: 925-935.
- Gómez-Cadenas, A., F. R. Tadeo, M. Talon, and E. Primo-Millo. 1996. Leaf abscission induced by ethylene in water-stressed intact seedlings of cleopatra manda requires previous abscisic acid accumulation in roots. Plant Physiol. 112: 401-408
- Gómez-Cadenas, A., J. Mehouchi, F. R. Tadeo, E. Primo-Millo, and M. Talon. 2000. Hormonal regulation of fruitlet abscission induced by carbohydrate storage in citrus. Planta 210(4): 636-643.
- González-Carranza, Z. H., E. Lozoya-Gloria, and J. A. Rober. 1998. Recent developments in abscission: shedding light on the shedding process. Trends Plant Sci. 3: 10-14.
- Goren, H. 1993. Anatomical, physiological, and hormonal aspects of abscission in citrus. Hort. Rev. 15: 33-46.
- Gross, D. and B. Parthier. 1994. Novel natural substances acting in plant growth regulation. J. Plant Growth Regul. 13(2): 93-114.
- Hall, S. J. and R. F. Horton. 1994. Methyl jasmonate and bean leaf abscission. Plant Growth Regul. 14(3): 187-192.
- Hartmond, U., R. Yuan, J. K. Burns, A. Grant, and W. J. Kender. 2000. Citrus fruit abscission induced by methyl-jasmonate. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 125(5): 547-552.
- Hong, S.B., R. Sexton, and M. L. Tucker. 2000. Analysis of gene promoters for two tomato polygalacturonases expressed in abscission zones and the stigma. Plant Physiol. 123: 869-882.
- Jensen, T. E. and J. G. Valdovinos. 1967. Fine structure of abscission zones. III. Cytoplasmic changes in abscising pedicels of tobacco and tomato flowers. Planta. 77: 298-318.
- Kang, I. K., S. G. Suh, K. C. Gross, and J. K. Byun. 1994. N-terminal amino acid sequence of persimmon fruit  $\beta$ -galactosidase. Plant Physiol. 105: 975-979.
- Kazokas, W. C. and J. K. Burns. 1998. Cellulase activity and gene expression in citrus fruit abscission zones during and after ethylene treatment. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 123: 781-786.
- Li, S. C., J. W. Han, K. C. Chen, and C. S. Chen. 2001. Purification and characterization of isoforms of  $\beta$ -galactosidases in mung bean seedlings. Phytochem. 57: 349-359.
- Mackenzie, K. A. D. 1979. The structure of the fruit of the red raspberry (*Rubus idaeus* L.) in relation to abscission. Ann. Bot. 43: 355-362.
- Mehouchi, J., D. J. Iglesias, F. R. Tadeo, M. Agusti, E. Primo-Millo, and M. Talon. 2000. The role of leaves in citrus fruitlet abscission: Effects on endogenous gibberellin levels and carbohydrate content. J. Hort. Sci. Biotech. 75(1): 79-85.

- Mehouachi, J., D. Serna, S. Zaragoza, M. Agusti., M. Talon, and Primo-Millo. 1995. Defoliation increases fruit abscission and reduces carbohydrate levels in developing fruit and woody tissue of *Citrus unshiu*. *Plant Sci.* 107: 189-197.
- Miyamoto, K., M. Oka, and J. Ueda. 1997. Update on the possible mode of action of the jasmonates: Focus on the metabolism of cell wall polysaccharides in relation to growth and development. *Physiol. Plant.* 100(3): 631-638.
- Moline, H. E., C. E. Lamotte, C. Gochnauer, and A. Mchamer. 1972. Further comparative studies of pectin esterase in relation to leaf and flower abscission. *Plant Physiol.* 50: 655-659
- Oberholster, S. D., C. M. Peterson, and R. R. Dute. 1991. Pedicel abscission of soybean: cytological and ultrastructural changes induced by auxin and ethephon. *Can. J. Bot.* 69: 2177-2186
- Okuda, H. 1999. An increase in citrus fruit (Kiyomi tangor) abscission induced by ABA is accompanied by an IAA increase in the abscission zone and ethylene production. *Hort. Sci. Biotech.* 74(4): 422-425.
- Okuda, H. and T. Hirabayashi. 1998. Effect of IAA gradient between the peduncle and branch on physiological drop of citrus fruit (Kiyomi tangor). *J. Hort. Sci. Biotech.* 73(5): 618-621.
- Osborne, D. J. 1989. Abscission. *Crit. Rev. Plant Sci.* 8: 103-129.
- Patterson, S. E. 2001. Cutting loose. Abscission and dehiscence in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 126: 494-500.
- Pozo, L. V. 2001. Endogenous hormonal status in citrus flowers and fruitlets: relationship with postbloom fruit drop. *Sci. Hort.* 91(4): 251-260.
- Roberts, J. A., K. A. Elliott, and Z. H. Gonzales-Carranza. 2002. Abscission, dehiscence, and other cell separation processes. *Ann. Rev. Plant Bio.* 53: 131-158.
- Ross, G.S., T. Wagrzyn, E. A. MacRae, and R. J. Redgwell. 1994. Apple  $\beta$ -galactosidase: activity against cell wall polysaccharides and characterization of a related cDNA clone. *Plant Physiol.* 106: 521-528.
- Ruiz, R., A. Garcia-Luis, C. Monerri, and J. L. Guardiola. 2001. Carbohydrate availability in relation to fruitlet abscission in citrus. *Ann. Bot.* 87(6): 805-812.
- Sekimata, M., K. Ogura, Y. Tsumuraya, Y. Hasimoto, and S. Yamamoto. 1989. A  $\beta$ -galactosidase from radish (*Raphanus sativus* L.) seeds. *Plant Physiol.* 96: 282-292.
- Sexton, R. and J. A. Roberts. 1982. Cell biology of abscission. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33: 133-162.
- Smith, D. L., J. A. Abbott, and K. C. Gross. 2002. Down-regulation of tomato  $\beta$ -galactosidase 4 results in decreased fruit softening. *Plant Physiol.* 129: 1755-1762.

- Smith, D. L. and K. C. Gross. 2000. A family of at least seven  $\beta$ -galactosidase genes is expressed during tomato fruit development. *Plant Physiol.* 123: 1173–1183.
- Talon, M., F. R. Tadeo, W. Ben-Cheikh, A. Gomez-Cadenas, J. Mehouchi, J. Perez-Botella, and E. Primo-Millo. 1997. Hormonal regulation of fruit set and abscission in citrus: classical concepts and new evidence. *Acta Hort.* 463: 209-217.
- Talon, M., L. Zacarías, and E. Primo-Millo. 1990. Hormonal changes associated with fruit set and development in mandarins differing in their parthenocarpic ability. *Planta* 79: 400-406.
- Tateishi, A., H. Inoue, and S. Yamaki. 2002. Cloning and expression of  $\beta$ -galactosidase cDNA related to softening of avocado (*Persea americana*). *J. Japan. Soc. Horti. Sci.* 71: 48–55.
- Tateishi, A., H. Inoue, H. Shiiba, and S. Yamaki. 2001. Molecular cloning of  $\beta$ -galactosidase from Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*) and its gene expression with fruit ripening. *Plant Cell Physiol.* 42: 492–498.
- Taylor, J.E. and C. A. Whitelaw. 2001. Signals in abscission. *New Phytologist* 151: 323–339.
- Thompson, D. S. and D. J. Osborne. 1994. A role for the stele in intertissue signaling in the initiation of abscission in bean leaves (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Physiol.* 105: 341-347.
- Trainotti, L., R. Spinello, A. Piovan, S. Spolaore, and G. Casadoro. 2001.  $\beta$ -galactosidases with a lectin-like domain are expressed in strawberry. *J. Exp. Bot.* 52: 1635–1645.
- Tucker, M. L., R. Sexton, E. D. Campillo, and L. N. Lewis. 1988. Characterization of a cDNA clone and regulation of gene expression by ethylene and auxin. *Plant Physiol.* 88: 1257-1262.
- Ueda, J., K. Miyamoto, and M. Hashimoto. 1996. Jasmonates promote abscission in bean petiole explants: Its relationship to the metabolism of cell wall polysaccharides and cellulase activity. *J. Plant Growth Regul.* 15(4): 189-195.
- Uheda, E. and S. Nakamura. 2000. Abscission of *Azolla* branches induced by ethylene and sodium azide. *Plant Cell Physiol.* 41: 1365–1372.
- Van-Doorn, W. G., and A. D. Stead. 1997. Abscission of flowers and floral parts. *J. Exp. Bot.* 48: 821-837.
- Veau, E. J. I. D., K. C. Gross, D. J. Huber, and A. E. Watada. 1993. Degradation and solubilization of pectin by  $\beta$ -galactosidase purified from avocado mesocarp. *Physiol. Plant.* 87: 279–285.
- Webster, B. D. 1973. Ultrastructural studies of abscission in *Phaseolus*; ethylene effects on cell walls. *Amer. J. Bot.* 60(5): 436-447.
- Wu, Z. and J. K. Burns. 2003. Isolation and characterization of a cDNA encoding a lipid transfer protein expressed in 'Valencia' orange during abscission. *J. Exp. Bot.* 54: 1183-1191.
- Wu, Z. and J. K. Burns. 2004. A  $\beta$ -galactosidase gene is expressed during mature fruit

- abscission of 'Valencia' orange (*Citrus sinensis*). J. Exp. Bot. 55: 1483-1490.
- Yuan, R., U. Hartmond, and W. J. Kender. 2001. Physiological factors affecting response of mature 'Valencia' orange fruit to CMN-Prazole.II. endogenous concentrations of indole-3 acetic acid abscisic acid, and ethylene. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 126(4): 420-426.
- Zacarias, L., M. Talon, W. Ben-Cheikh, M. T. Lafuente, and E. Primo-Millo. 1995. Abscisic acid increases in non-growing and paclobutrazol-treated fruit of seedless mandarins. Physiol. Plant. 95: 613-619.

## Abscission of Citrus Fruits

Hui-Peen Lo <sup>1)</sup>

Key words: Citrus, Abscission, Abscission zones, Senescence, Ethylene

### Summary

Abscission is the term used to describe the process of natural separation of organs from the parent plant. The abscission process can be divided into three major stages. The first stage is stimulus stage : like senescence or carbohydrate shortage. The second stage is signal stage : like reduced auxin and increased ethylene production. The third stage is response stage : production of cellulase and polygalacturonase for degradation of cell wall which cause the abscission to occur. Citrus fruits have 2 abscission zone : AZ-P abscission zone located between the branch and the fruit peduncle and AZ-C abscission zone found the calyx. Clementine is a self-incompatible mandarin which has high percentage of abscission. Satsuma is a natural parthenocarpic variety and high fruit set percentage. The gibberellins(GAs) and free indole-acetic acid (IAA) activities were significantly higher in Satsuma than in Clementine at cell division stage and cell elongation stage, and bound-ABA level was also higher. In June drop period, carbohydrate shortage acts as a signal to induce the production of ABA, ACC and ethylene. Ethylene and IAA are two hormones regulating the timing of abscission. Ethylene induces expression of abscission related genes, such as cell wall degrading enzymes cellulose and polygalacturonase, cause the shedding of organs.

---

1) Graduate student in Ph.D. Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.