

伏令夏橙后期落果期间蛋白质、 氨基酸含量变化

刘孝仲 赖毅 龙钦贤 蒋禄元 许生吉

(中国农业科学院柑桔研究所)

提 要

冬季大量落果从9℃开始。落果和蛋白质、氨基酸含量有密切关系。落果高峰处于蛋白质急剧分解过程,蛋白质降解愈多,落果数量愈大。低温引起蛋白质降解,每次较大的降温,都带来严重的落果。落果期间叶片中氨基酸有17种。几次落果高峰前,波动较大的有天门冬氨酸,谷氨酸、亮氨酸。唯有脯氨酸相反,在两次落果高峰中达到最高。氨基酸、蛋白质和冬季落果间有从属关系。蛋白质、氨基酸总趋势一致,但波动交错相反。氨基酸先于蛋白质积累,当蛋白质积累,氨基酸下降。蛋白质下降,导致大量落果。冬季落果期间正是花芽分化过程,花芽各器官形成高峰与落果高峰有一致趋势,花芽形成消耗大量的氨基酸、蛋白质,是低温以外影响落果的又一因素^[1]。

前 言

伏令夏橙 (*Citrus sinensis* Osbeck.) 果实生长发育期相当长,有的地区后期落果(落大果)严重,造成生产上的威胁,引起落果的原因很复杂。中亚热带及其以北的地区,冬季低温是引起落果的主要原因之一,四年来我们对低温与冬季落果的关系,作了系统观察,弄清了导致落果的临界温度。但低温引起一系列生理变化,如代谢减缓,蛋白质水解,氮素营养水平降低,从而影响生长素合成和低温落果均有密切关系。Бодриковская, Н. Л. (1956) 指出缺氮时加重幼果脱落^[3]。Addicott & Lynch (1955) 认为在脱落前氮素含量减少为其脱落的内因之一^[4]。大量落果总是氮素水平低的情况下出现的,夏橙体内的氮大部分以蛋白质、氨基酸等形态存在,低温导致氮素贫乏,带来大量落果,为弄清低温落果与蛋白质、氨基酸的关系,我们进行了试验。

材 料 和 方 法

试验在重庆北碚(中亚热带)本所伏令夏橙园145株成年树上进行。冬季落果从1977~1981年连续观察四年,每年从10月份开始3天检一次落果(全园总计),系统观察落果原因,果园内安装银川产自记温度计一台分别统计。从1978~1981年连续三年10天一次,在固定的10株树上,选树冠四周中部的春梢叶片,用凯氏法测定全氮及蛋白质,三年共64次。用氨基酸分析仪测定氨基酸,前处理干叶样用盐酸水解蛋白质,三年共取

样64次,测定各种氨基酸1135个。蛋白质、氨基酸样品大多数由中国农业科学院代测。

试验结果

(一) 落果原因

落果原因很复杂,绝大多数是低温引起的,也有干旱及强辐射引起的,还有病虫害引起的。低温落果是后期落果的主流,如1979~1980年全国总产量18,452斤,落果总数4988.6斤,占总产量的27.03%。其中低温引起的落果,多集中在冬季和早春,常在11月绝对最低气温降至10℃以下,9℃时开始,11月至翌年3月间,占低温落果的95.27%,最多的集中在12月至翌年2月,占低温落果的84.62%(表1)。由低温引起的落果占落果总数的51.92%。说明低温落果在伏令夏橙中是举足轻重的,12月至翌年2月是关键。低温落果在我国北热带和南亚热带都不存在或很轻。

表1 低温落果分月统计 单位:个

11月		12月		1月		2月		3月		总计	
落果数	%	落果数	%	落果数	%	落果数	%	落果数	%	落果数	%
265	2.47	1812	16.92	1709	15.96	5542	51.74	876	8.18	10,204	95.27

落果多在10月份开始,秋季气温尚高,一开始出现的落果多为裂果和虫害引起的,也有病害引起的落果,12月至翌年2月为低温引起的落果,3月以后,随着气温上升,多由虫害和病害引起,尤其炭疽病和褐色蒂腐病在高温下比较突出,这些原因本文不予讨论。

(二) 落果高峰和低温

整个落果过程中,有三次集中的落果高峰(图1、2),每次落果高峰前均有一次降温过程,如1979~1980年落果从10月初开始,第一次高峰前11月20日绝对最低气温降至8.2℃,第一次落果高峰在11月21日~12月29日,其中以12月10日最高,落果848个,占落果总数4.86%,第二次落果高峰前1月5日,绝对最低气温降至6.5℃,第二次高峰从1月11日~31日,以21日最高,落果1186个,占落果总数6.79%。第三次落果高峰在2月11日~3月1日,是全程中最大的一次高峰,这次落果高峰前,2月9日气温降至-2.5℃,落果最多,2月11日落果1649个,占落果总数9.44%,2月21日落果5405个,占30.96%,这20天共落果7054个,占落果总数的40.40%。

(三) 落果期间全氮、蛋白质含量变化

植株的氮素水平与落果有密切关系(图1),以1979~1980年为例。当第一次落果高峰11月11日开始,11月20日降温到8.2℃,到12月1日达到顶点,落果848个,占落果总数的4.86%。高峰前蛋白质从11月11日~11月21~12月1日连续20天下降1.65%~1.56%~1.51%,高峰以后蛋白质开始回升,12月11日达到1.62%。全氮11月11日~11月21日从1.56%降至1.51%,12月1日(落果高峰期)回升到1.62%。11月21日~12月1日达到第一次落果高峰,说明高峰前蛋白质是逐步下降的,全氮与蛋白质交错相反,

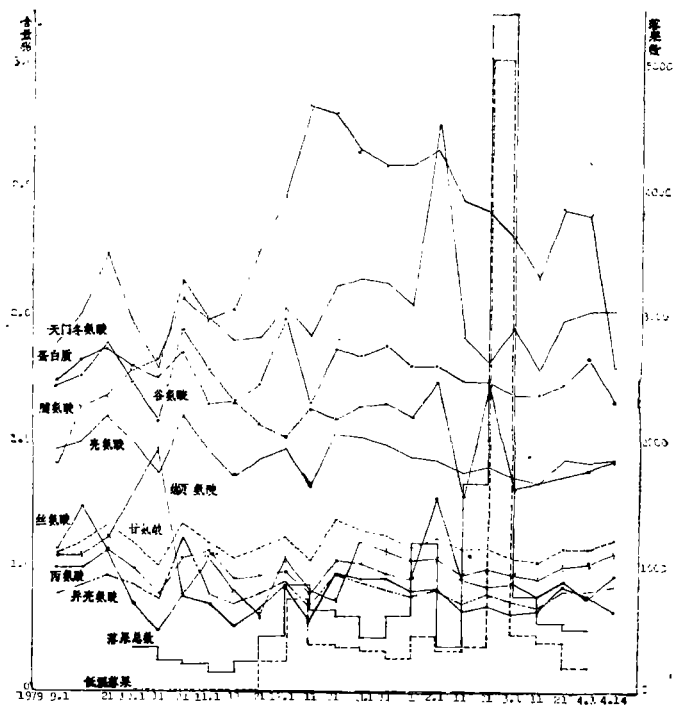


图1 伏令夏橙冬季落果期间蛋白质氨基酸含量变化 (1979~1980年)

这个高峰过去蛋白质有所积累。第二次落果高峰从1月11日开始至21日达到顶点, 1月5日气温降到 6.5°C , 1月11日落果606个, 21日为1186个, 分别占落果总数的3.47%及6.79%。蛋白质由1月11日的1.64%降到1月21日的1.59%。全氮则相反, 由1月11日的1.59%上升到21日的1.73%。高峰后蛋白质有较高的回升, 2月1日回升到1.73%。全氮在蛋白质回升的同时大幅度降至1.26%。第三次落果高峰(全年最大)前, 2月9日气温降至 -2.5°C , 2月11日~21日落果7054个, 占落果总数40.40%, 其中2月11日为1649个, 占落果总数9.44%, 2月21日落果5405个, 占落果总数30.96%。在落果高峰前, 蛋白质急剧下降, 2月1日~11日由1.73%降至1.26%, 下降幅度最大, 落果也最多, 高峰后蛋白质有较大的回升, 2月21日回升到1.7%, 全氮与蛋白质相反, 2月1日~11日由1.26%上升到1.7%, 说明三次落果高峰前蛋白质均处于分解过程, 蛋白质降解愈多落果愈多。全氮作为蛋白质的组分, 总趋势和蛋白质一致; 波相却交错相反。

(四) 落果期间氨基酸含量变化

落果期间氨基酸含量变化(图1、2), 较高含量的氨基酸有天门冬氨酸、脯氨酸、谷氨酸、亮氨酸。中等含量的有甘氨酸、赖氨酸、精氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、丝氨酸、缬氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸。含量较低的有组氨酸、蛋氨酸、胱氨酸。

1. 高含量的氨基酸(图1、2), 如1979~1980年天门冬氨酸在第一次落果高峰前1979年10月21日~11月11日, 连续20天下降, 10月21日为2.13%, 10月31日为1.98%, 11月11日为1.89%, 刚进入落果高峰前10天, 天门冬氨酸开始回升, 然后大量落果, 天

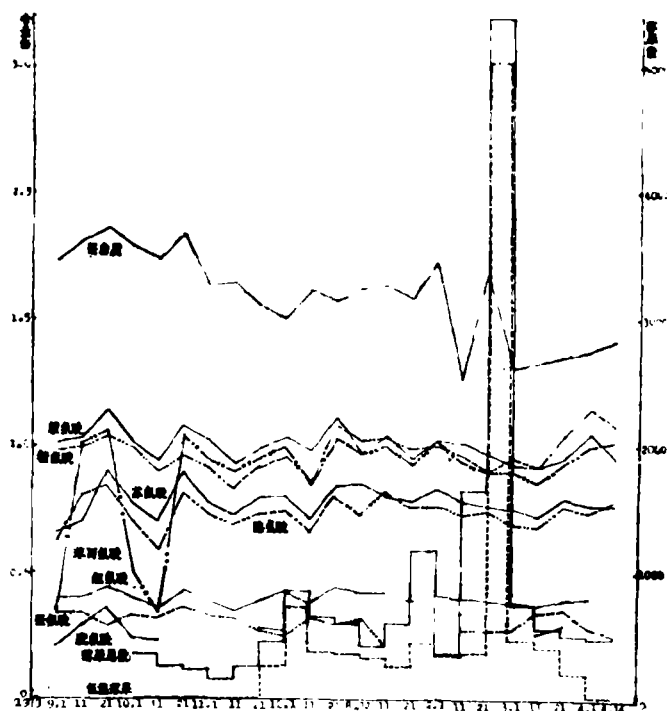


图2 伏令夏橙冬季落果期间蛋白质氨基酸含量变化 (1979~1980年)

天门冬氨酸较大下降正是蛋白质较大回升的同时。谷氨酸、亮氨酸、和天门冬氨酸有一致趋势，谷氨酸波幅大于天门冬氨酸，含量次于天门冬氨酸，亮氨酸波幅与天门冬氨酸近似，含量低于天门冬氨酸，也次于谷氨酸。脯氨酸呈相反趋势，从第一次落果高峰开始到结束，整个过程均急剧上升，与三种氨基酸和蛋白质均相反。说明在不利条件下（低温）脯氨酸总是急剧上升。第二次落果高峰1月11~21日，天门冬氨酸由12月29日的2.15%，两次连续下降至1月11日的2.13%，1月21日2.04%以后，1月31日天门冬氨酸大幅度急剧回升，达到全过程的最高点2.76%，2月11日又急剧降至1.91%，比回升前还低，然后进入第三次落果高峰（最大高峰），也就是说天门冬氨酸在高峰前有一次最大的积累和消耗过程，这次高峰在2月21日，落果5405个，占落果总数的30.96%，此后天门冬氨酸保持低水平波动，落果急剧减少，3月30日落果减到低水平，仅505个，占落果总数2.89%，天门冬氨酸开始回升达1.98%。第二次落果高峰前蛋白质与天门冬氨酸趋势一致。第三次落果高峰前天门冬氨酸，急剧持续下降20天，蛋白质急剧下降10天，在落果最大高峰前有较大的回升，落果达最大高峰又大幅度急速下降，与此同时天门冬氨酸有所回升。此后天门冬氨酸和蛋白质均交错相反。说明天门冬氨酸为蛋白质合成所必须，落果高峰处于蛋白质急剧分解过程。谷氨酸在第二次落果高峰前10天下降，即1980年1月11~21日，高峰期保持平稳，第三次落果高峰前10天再下降，这一点和天门冬氨酸在第三次落果高峰前有一次最大的积累和消耗不同，说明谷氨酸在蛋白质合成中起着重要作用，最大落果高峰11月21日后，谷氨酸10天下降，也和天门冬氨酸、蛋白质动态相反，可见谷氨酸作为原始氨基酸，不仅在蛋白质合成，在转化为天门冬氨酸中，

均起重要作用。亮氨酸在第二次落果前持续下降,第三次落果前又下降,下降后有低回升,三次落果高峰后又持续下降和谷氨酸近似。可见两次落果期间亮氨酸亦为消耗状态。脯氨酸在第一次落果高峰前下降,进入第一次落果高峰前下降,第一次高峰后持续上升,第一次落果高峰后到第二次高峰前,持续30天下降,落果后有低回升,第三次落果高峰前20天,再持续下降,落果高峰后继续下降,这次落果接近尾声时有较大的回升。脯氨酸、天门冬氨酸和蛋白质间均有相反趋势。

2. 中等含量的氨基酸(图1、2)。甘氨酸在第一次落果开始前20天连续下降,进入高峰的20天回升,高峰后再下降。异亮氨酸在第一次落果开始前20天持续下降,进入高峰的20天回升,高峰后再下降,和甘氨酸一致。丝氨酸也和甘氨酸近似。缬氨酸在第一次落果开始前20天连续下降,进入高峰后20天回升,高峰后再下降,都和甘氨酸一致。只有第一次落果开始前20天,上升和下降幅度很大,仅次于苯丙氨酸,波相也和其它氨基酸相反。丙氨酸第一次落果开始前10天上升,10天下降,与其他氨基酸不同,作为原始氨基酸的丙氨酸,有转化为其它氨基酸的可能。苯丙氨酸这一段近似甘氨酸,但9~10月上升和下降幅度,是所有中等氨基酸中最大的。

中等含量的氨基酸与蛋白质波动相反,第一次落果开始前20天(10月21日),各种氨基酸连续20天下降后,到落果高峰前20天持续回升。蛋白质相反第一次落果开始前20天(10月21日~11月11日),下降仅10天,后10天平稳,仅略回升,落果高峰前20天,蛋白质处于连续急剧降解过程。高峰后氨基酸下降时,蛋白质又回升,总是波动相反,说明中等含量的氨基酸,作为蛋白质的组分,随蛋白质合成而减少,蛋白质分解而增加,总趋势一致,波相交错相反。第二次落果高峰前连续30天下降的有甘氨酸、丙氨酸、异亮氨酸,连续20天下降的有缬氨酸、苏氨酸,前10天下降的有精氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸,然后回升,回升最高的是丙氨酸。下降30天的氨基酸与蛋白质相反。第二次落果前,蛋白质是20天上升,10天下降,说明中等含量的氨基酸在落果前的含量和蛋白质合成降解均有密切关系,与第一次落果期一致,落果前蛋白质总是成降解状态。第三次落果(最大)高峰2月21日前,连续20天下降的氨基酸有丙氨酸(降幅最大)、赖氨酸、精氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸。落果高峰前20天或10天下降,后10天稍回升,高峰后又连续20天下降的有甘氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、酪氨酸。高峰后10天下降的有丝氨酸。蛋白质在落果高峰前20天急剧下降,10天后又急剧回升,高峰后又急剧下降,以后又稍回升,波幅大于所有的中等氨基酸。由于落果高峰最大,因此蛋白质波动最大,落果高峰前降解幅度也特大,蛋白质和赖氨酸、精氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸、丙氨酸波相相反。可见氨基酸仍随蛋白质波动,蛋白质降解导致落果。

3. 低含量的氨基酸(图2)。组氨酸和甘氨酸波动近似,第一次落果即10月21日~12月1日40天内,落果开始前20天下降,落果高峰前20天上升,但含量低波动不大和蛋白质相反。落果从开始到高峰的40天中,蛋氨酸连续下降,和蛋白质波动近似,与组氨酸相反。胱氨酸仅在第一次落果高峰前下降。第二次落果高峰组氨酸和精氨酸近似,但含量低,第二次落果高峰前10天下降较多,第三次落果高峰前后20天组氨酸均缓步下降,蛋氨酸在高峰前10天及高峰期保持平稳,高峰后有所上升。

分析和讨论

(一) 伏令夏橙冬季落果对产量影响很大,是生产上的严重问题之一,在中、北亚热带伏令夏橙的冬季落果主要是低温引起,冬季落果的临界温度,据四年观察在 10°C 以下,从 9°C 开始,每次落果高峰前均有一次降温过程。落果数和温度下降幅度呈正相关,如1980年2月9日气温降至 -2.5°C ,落果数占落果总数的40.40%,在全过程中最多。 10°C 以下伏令夏橙生理过程受到干扰,代谢机能受阻。温度继续下降,新陈代谢遭到破坏,酶促反应从平衡状态变为不平衡状态,碳水化合物,氮化物等分解加强,合成受阻^[2],生长素含量下降,果柄离区细胞中胶层被分解,造成大量落果。据我们观察,从低温伤害到果实脱落,需要7~10天以上。

(二) 气温降到 9°C 时,我们看到,叶绿素遭到破坏,10月以后伏令夏橙抽出的晚秋梢(冬梢)不能正常转绿,正常叶片绿色退淡,果实虽未成熟而急速转黄。在 0°C 以上的低温中,对寒冷敏感的热带、亚热带作物的细胞器如叶绿体,内质网,线粒体等都受到不同程度的影响,叶绿体对低温反应最敏感^[3]。植物组织从 25°C 移到 10°C 时,叶绿体发生膨胀现象,首先出现在直接被光照射的叶子表面细胞的叶绿体。在低温中叶绿体、内囊体从分散排列状态变成凝集在一起^[4]。据我们观察蛋白质降解最多的时候,也是叶色转黄,果实转黄或橙最快,最深的时候,蛋白质降解与叶绿素破坏有密切关系。从而使光合作用急速下降。Young认为温度降到冰点以上,柑桔光合作用就停止了^[5]。合成极度减少,甚至停止,分解加强,落果急剧增加。

(三) 落果和氮素营养有密切关系,四年观察落果高峰均处于蛋白质急剧分解过程,蛋白质降解愈多,落果数量愈大,蛋白质含量和落果成负相关。而低温导致氮素贫乏,Wallace指出 $18\sim 24^{\circ}\text{C}$ 根及地上部分吸氮最多, 9°C 时根已停止生长,仍可吸收氮, $7\sim 8^{\circ}\text{C}$ 吸收能力大大减弱^[6]。每次大量落果都是在低温后蛋白质急剧分解过程中出现的,如1980年2月9日绝对最低气温 -2.5°C ,蛋白质由2月上旬的1.73%降至中旬的1.26%,2月中、下旬落果7054个,占落果总数的40.40%。莱维特(1969年)冷害情况下,蛋白质水解速度比正常情况增加4.9倍,这些蛋白酶参与的生化反应,受到相应的干扰,使营养水平迅速下降到严重地步,导致果实脱落。

(四) 冬季落果期间,氨基酸仍保持17种,高含量的有天门冬氨酸、谷氨酸、亮氨酸、脯氨酸。如天门冬氨酸含量在1.75~2.76%间,中等含量的有甘氨酸、赖氨酸、丙氨酸、缬氨酸、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、酪氨酸,如甘氨酸为1.02~1.16%,较低含量的有组氨酸、蛋氨酸、胱氨酸,如组氨酸在0.39~0.44%,三年一致,和花芽分化过程一致。

(五) 几次落果高峰前蛋白质和氨基酸都有较大的波动,如2月21日最大落果高峰前一个月积累最高,消耗最大的是天门冬氨酸,落果高峰前20天积累最高,下降最多,从2.76%降至1.91%,谷氨酸和亮氨酸,下降波动稍缓,落果高峰期间,天门冬氨酸和谷氨酸波相是相反的。

(六) 脯氨酸在两次落果高峰中都最高,两次落果高峰均在低温中。Paris.A.C,

1981年报道葡萄柚在夜温最低时,脯氨酸含量最高,果皮最大抗寒力的时候,也是脯氨酸最高的时候^[7]。脯氨酸总是在不利条件下,落果最多时最高。

(七) 氨基酸、蛋白质和冬季落果间有从属关系,氨基酸和蛋白质总趋势是一致的,但波相交错相反,氨基酸先于蛋白质积累,当蛋白质积累,氨基酸下降,蛋白质下降,出现大量落果。可见氨基酸作为蛋白质的组分,参与蛋白质合成,蛋白质急剧降解,导致大量落果,这和我们在花芽分化中花的各器官形成趋势一致。

(八) 花芽分化过程消耗大量的氨基酸、蛋白质是导致落果的又一因素。冬季落果和花芽分化过程是同时的,在冬季落果期间,大量分化花原基、萼片、花瓣、雄蕊、雌蕊,消耗大量的氨基酸和蛋白质,试验结果表明冬季落果和花芽分化之间,蛋白质、氨基酸含量变化趋势是一致的。如1979~1980年第一次花原基形成高峰在12月1日~11日,高峰前蛋白质急剧下降,蛋白质下降前先是天门冬氨酸、谷氨酸等下降,与花原基形成的同时,带来第一次落果高峰。第二次落果高峰在1月21日~31日,正值萼片形成高峰,第三次落果高峰正是雄蕊形成的第二个高峰,蛋白质、氨基酸含量变化规律近似。落果高峰和花芽各器官形成高峰一致,说明冬季落果除了低温影响外,与大量形成花芽有关,花的各部分器官形成,消耗氨基酸、蛋白质很多,致使树体氮素营养贫乏,加剧了对低温受害的敏感性。干涉到养分分配问题。

(九) 氮素贫乏影响激素合成,生长素形成和氨基酸、蛋白质关系密切,生长素吲哚乙酸的前体是色氨酸。结合生长素是吲哚乙酸和蛋白质的结合体。因此当蛋白质急剧降解,生长素合成受阻。Addicott & Lynch缺氮生长素合成减弱^[4]。在生长素降低的同时,脱落酸和乙烯含量急剧增加,乙烯在离区内诱导细胞壁降解酶类(包括果胶酶,纤维素酶等)形成,使细胞膜中的果胶质及薄壁细胞中的纤维素分解,从而破坏中胶层,使果实脱落。

(十) 落果期间组氨酸含量偏低,可能与植株在落果的同时进行大量的花芽分化有关,组氨酸作为细胞核的重要组成成分,大量消耗于核蛋白的合成,落果高峰前20天,组氨酸持续下降,组氨酸含量低,对稳果不利。

伏令夏橙冬季落果,是一个很复杂的生理问题,还有待进行大量的研究工作。

参 考 文 献

- [1] 刘孝仲等: 伏令夏橙花芽分化期间蛋白质氨基酸含量变化,《园艺学报》,(2)1984: 85-92.
- [2] 黄晓钰: 热带亚热带作物的冷害,《植物生理学通讯》(1)1982: 30-31.
- [3] Бодникова, Н. Л.: 《华南农业科学》, 1956: (3) 35-40.
- [4] Addicott, F. T. & Lynch, R. S., 1955, Ann. Rev. Plant Physiol. 6: 211-238.
- [5] Young, R., 1968, Proc. First Inter. Citrus Symp Vol I 553-558.
- [6] Wallace, A., 1953, Proc. Amer. Soc. Hort. Sci 61: 89-94.
- [7] Puris, A. C., 1981, Free proline in peel of grapefruit and resistance to Chilling in juy during cold storage Vol 16 No. 2 160-161.
- [8] Kimball, S. L., and Salisbury 1973: Amer. J. Bot. 60: 1026-1033.
- [9] Tayler, A. O., and A. S. Craig 1971: Plant Physiol. , 719-725.

STUDIES ON THE FLUCTUATION OF PROTEIN AND AMINO ACID CONTENTS IN RELATION TO THE VALENCIA FRUIT-DROPPING IN WINTER

Liu Xiaozhong Ly Yen Lo Chinshan Jiang Luyuan Hsu Senji
(Citrus Research Institute, Chinses Academy of Agricultural Sciences)

ABSTRACT

Valencia orange tree started its fruit-dropping at 9°C temperture in winter. Fruit-Drpping was closely related to the protein and amino acid fluctuation. When protein hydrolization reached its peak, serious fruit dropping began. Maxi-mum fruit-dropping was just during the hydrolization period. During the period of Fruit-Dropping seventeen amino acids determined. Aspartic acid, glutamic acid, and leucine decresed at the peak of Fruit-Dropping, while amount of proline increased in an inverse direction.

The general tendency of fluctuation of the protein and amino acids contents coincided with each other, but in inverse direction, the accumulation of amino acids, then its reduction, followed by the accumulation of protein. The reduction of protein content caused serious fruit-dropping.

The tendency of fluctuation of the protein and amino acids contents between the winter Fruit-Dropping and the flower bud differentiation period were coincided.