

膨大期干旱对温州蜜柑品质形成的影响及复水后树体水分吸收转运规律

周 铁¹, 潘 斌², 李菲菲³, 马小川¹, 汤孟婧¹, 廉雪菲¹, 常媛媛¹,
陈岳文¹, 卢晓鹏^{1,*}

(¹湖南农业大学园艺学院, 国家柑橘改良中心长沙分中心, 长沙 410128; ²怀化职业技术学院, 湖南怀化 418000;
³湖南省科学院园艺研究所, 长沙 410128)

摘 要: 以温州蜜柑膨大期果实为材料, 设置基质相对含水量为 40%、30%和 20%的 3 个胁迫处理, 研究干旱对果实品质形成特点和柠檬酸调控相关转录因子表达模式变化; 利用氘水(D₂O)示踪法明确柑橘干旱复水后的水分吸收运输和分配规律。温州蜜柑果实膨大期干旱严重抑制果实外在品质的形成, 干旱胁迫 10 d 后, 果实横径、纵径、单果质量均显著下降, 40 d 时各处理横、纵径较对照减少 18.33%~23.82%, 单果质量降低 45.17%~48.67%, 各干旱处理间无显著差异。各处理干旱胁迫 40 d 时果实可溶性固形物显著增加 47.7%~59.3%, 果糖升高 63.25%~78.77%, 但蔗糖和葡萄糖增量不大, 处理间糖组分差异不大。对照果实柠檬酸含量随生长发育逐渐递减, 但干旱胁迫 20 d 后果实中柠檬酸含量显著上升, 最高约为对照的 2 倍, 苹果酸显著高于对照 14.70%~33.82%, 干旱处理间酸组分含量差异不大。干旱胁迫下, 调控柠檬酸积累的转录因子基因 *CitPH3* (*WRKY*)、*CitPH4* (*MYB*) 和 *CitANI* (*bHLH*) 表达量显著上调。复水后, 温州蜜柑根系在 4~8 h 迅速吸水, 主茎和多年生茎内的 D₂O 含量在 24 h 达到最高, 果实在 24~48 h 吸水量趋于稳定。本试验中, 干旱持续时长对果实品质形成的影响较大, 干旱程度影响较小; 干旱胁迫下 *CitPH3*、*CitPH4*、和 *CitANI* 上调表达促进了柠檬酸积累, 可能是导致柑橘果实酸化的重要原因; 果实膨大期持续干旱后, 需维持 24~48 h 土壤湿润水分才能较大量运达果实。

关键词: 柑橘; 果实膨大期; 干旱; 果实品质; 基因表达; 水分转运; 复水; D₂O

中图分类号: S 666

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2022) 01-0011-12

Effects of Drought Stress at Enlargement Stage on Fruit Quality Formation of Satsuma Mandarin and the Law of Water Absorption and Transportation in Tree After Re-watering

ZHOU Tie¹, PAN Bin², LI Feifei³, MA Xiaochuan¹, TANG Mengjing¹, LIAN Xuefei¹, CHANG Yuanyuan¹, CHEN Yuewen¹, and LU Xiaopeng^{1,*}

(¹National Center of Citrus Improvement Changsha, College of Horticulture and Landscape, Hunan Agriculture University, Changsha 410128, China; ²Huaihua Vocational and Technical College, Huaihua, Hunan 418000; ³Hunan Horticultural Research Institute, Changsha 410128, China)

Abstract: Using Satsuma mandarin fruits at enlargement stage as the material, three stress treatments

收稿日期: 2021-06-10; **修回日期:** 2021-12-14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31872044); 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-26)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: x1678@hunau.edu.cn)

with the substrate relative water content 40%, 30% and 20% were set. Afterward, fruit quality changes and expression patterns of transcription factors regulating citrate accumulation were studied under drought conditions. Using deuterium water (D_2O) tracer method, the law of water transportation and distribution in citrus tree after re-watering could be cleared. Drought stress at fruit enlargement stage inhibited fruit growth and fruit size severely. After ten days drought stress, fruit transverse diameter, longitudinal diameter and single fruit weight decreased significantly. After constant drought for 40 days, fruit diameter in treatment groups decreased by 18.33% to 23.82% comparing to the control and single fruit weight decreased by 45.17% to 48.67%. No significant difference was found in fruit size between different drought-treatment groups. After 40 days of drought stress in each treatment, fruit total solid soluble increased significantly by 47.7% to 59.3% and fructose increased drastically by 63.25% to 78.77%, but sucrose and glucose in fruit did not change. No significant difference was found in fruit sugar components between different drought-treatment groups. Citrate content in control fruits decreased gradually with fruit development, but that increased significantly after 20 days drought stress with 1 fold higher to control at the peak. Fruit malate content was higher than that in control by 14.70% to 33.82% after drought stress. No significant difference was found in fruit acid components between different drought-treatment groups. Transcription factors *CitPH3* (*WRKY*), *CitPH4* (*MYB*) and *CitANI* (*bHLH*) which regulate citrate accumulation in citrus fruit expressed with up-regulation under drought stress. After rehydration, citrus roots absorbed water quickly in four to eight hours. Deuterium water content in main stems and perennial stems reached the highest in 24 hours. The water absorption of the fruit tended to be stable during 24 to 48 hours. In this experiment, drought duration affects fruit quality significantly while drought degree does slightly. The up-regulated expression of *CitPH3*, *CitPH4*, and *CitANI* under drought stress promotes the accumulation of citric acid, which may be an important reason for the acidification of citrus fruits. Orchard soil being moist for 24 to 48 hours after continuous drought is necessary for water reaching fruit massly.

Keywords: citrus; fruit enlargement stage; drought; fruit quality; gene expression; water transportation; re-watering; D_2O

水分是影响柑橘果实品质形成的重要因素。中国南方地区降水分布不均（谷洪波和刘芷好，2016），特别是在7—9月夏秋季节性干旱现象严重，此时正值柑橘果实膨大的关键时期，对果实产量和品质影响极大（Ballester et al., 2011；孙系巍 等，2015）。明确柑橘树体水分吸收转运规律，探明其对干旱胁迫的生理响应和适应性机制，对推动节水农业和产业的可持续发展具有重要意义。柑橘果实膨大期是果实生长发育的重要时期，对水分响应最为敏感（李鸿平等，2019），季节性干旱日益成为柑橘产量不稳定的重要因素（马文涛，2007）。适度干旱对果树的生长发育和果实品质均有调控作用（Ballester et al., 2011；邹以强，2017），而重度干旱下植物正常的水分代谢和光合作用受阻，影响同化物质的积累，果实的生长速率下降，导致果实体积、单果质量、产量下降（武阳 等，2012；李昱鹏 等，2019）。干旱还会导致果皮细胞壁代谢相关成分含量的降低，使果皮增厚，外观品质下降（李娟 等，2008）。柠檬酸是柑橘果实中主要的有机酸，环境胁迫影响柑橘果实酸度变化，柠檬酸随果实正常的生长成熟表现出先升高后降低的积累模式（Albertini et al., 2006），低温环境下柚柑果实柠檬酸含量显著上升40%~90%（Lin et al., 2016），干旱胁迫下柑橘果实中柠檬酸含量显著升高，使果实酸化、内在品质下降（Hutton et al., 2007）。逆境下柠檬酸高量积累是一个复杂的过

程, 受多个基因和各种因素的影响 (卢晓鹏 等, 2018), 最新研究表明柠檬酸降解 GS (谷氨酰胺合成酶) 途径中的 *CitAco3*、*CitIDH1* 和 *CitGSI* 基因表达水平与柠檬酸含量变化密切相关 (马雨尘, 2020)。Lu 等 (2016) 通过分析柠檬酸含量差异较大的‘大红甜橙’和‘冰糖橙’柑橘转录组数据发现, bHLH35、NAC7、bHLH113 等转录因子参与柠檬酸积累过程。Li 等 (2017) 证实转录因子 CitWRKY1 和 CitNAC62 通过激活 *CitAco3* 的转录参与柑橘果实柠檬酸的降解。近期的研究表明, *CitANI* 表达与柑橘果实酸含量密切相关, *CitPH4* (MYB) 和 *CitPH3* (WRKY) 与 *CitANI* 互作和协同工作, 实现对柑橘果实酸的调控 (Li et al., 2015; Butelli et al., 2019; Strazzer et al., 2019; Wang et al., 2021)。中国南方柑橘产区夏秋干旱频繁, 轻度干旱与严重干旱对树体发育、果实产量品质形成的影响不同。季节性干旱到什么程度对柑橘果实产量和品质会产生不利影响? 干旱后浇水多少才能缓解严重干旱? 针对上述问题, 研究不同干旱水平对温州蜜柑果实品质的影响, 利用同位素示踪法探寻复水后水分在各个器官中的吸收分配规律, 以期揭示柑橘适应干旱胁迫的程度, 为夏秋季季节性干旱早期制定简单、有效、节水的灌水策略提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料和干旱处理

试验于 2018 年在国家柑橘改良中心长沙分中心 (湖南, 长沙) 温室大棚中进行。以栽植于容量为 11.7 L 塑料盒中 2 年生枳砧‘橘湘早’温州蜜柑 (*Citrus unshiu* Marc.) 为材料, 栽培基质为锯木屑、河沙和草炭 (体积比 2:1:0.5)。根据中国南方柑橘产区干旱发生规律, 于果实膨大期即 7 月下旬至 9 月上旬进行干旱处理。设置 3 个不同干旱程度, 即基质相对含水量为 40%、30%、20%, 记为 RWC 40%、30%、20%, 以相对含水量维持在 60% ~ 80% 为对照。使用 TDR-300 便携式土壤水分监测仪 (Spectrum technologies, 美国) 监控水分含量, 每日早晨 8 时统一补水, 确保相对含水量稳定。处理过程中树体长势良好, 叶片略为翻卷, 但未出现落叶、枯叶等情况。采用单因素单株小区设计, 每个处理 12 次重复。分别于干旱胁迫 0 d (7 月 25 日)、10 d (8 月 5 日)、20 d (8 月 15 日)、30 d (8 月 25 日)、40 d (9 月 5 日)、50 d (9 月 15 日) 各采集果实 3 ~ 5 个, 3 次生物学重复。测定单果质量、纵径、横径、皮厚等外观品质, 可溶性固形物 (TSS, 数字式折射仪, ATAGO, 日本)、柠檬酸、苹果酸、蔗糖、葡萄糖、果糖含量 (孙系巍 等, 2017) 等内在品质。部分果实样品迅速分离果肉并置于液氮中速冻, -80 °C 冰箱保存, 用于基因表达量分析。

1.2 同位素氘水复水试验设计及各器官中丰度分析

试验于 2018 年在国家柑橘改良中心长沙分中心 (湖南, 长沙) 实验室进行。根据南方季节性干旱特点, 于 8 月中旬开始试验。盆栽基质完全浇透水后自然干旱, 至降到基质最大持水量的 30%、10%, 利用 TDR-300 便携式土壤水分监测仪监控水分含量, 及时补水。分别维持 3 d, 然后于上午 8 时浇 1 L 的 0.1% 氘水 (D_2O), 即基质含水量达到 60% 以上。试验采用单因素单株小区设计, 每个处理 3 次重复, 浇水后 2、4、8、24 和 48 h 取样。样品分为 6 部分——①根: 根颈以下所有的地下部分的根; ②主茎: 根颈到第二主枝部位的主茎; ③多年生枝: 第一和第二主枝和两年生侧枝; ④一年生枝: 当年生春梢和夏梢; ⑤叶片: 当年生营养枝顶端往下第 2 ~ 3 片叶; ⑥果肉: 剔除果皮后的果肉。各部分样品迅速装入样品瓶中, -20 °C 冷藏密封保存待测。

采用真空蒸馏提取方法 (刘文茹 等, 2012) 提取柑橘各器官内氘水。用 MAT253 同位素比率

质谱仪测试水样品中氢同位素值。其中，氢同位素采用锌反应法（Coleman et al., 1982），测定结果以相对于标准平均大洋（SMOW）标准的千分差表示。

1.3 基因表达分析

采用 TransZol Plant 试剂盒提取果肉总 RNA，用超微分光光度计（IMPLEN Nanophotometer P-330，德国）测定 RNA 的纯度与浓度，并用琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 质量。逆转录采用两步法：先将提取的总 RNA 用 DNase I 酶（TaKaRa）进行纯化，再用 iScript cDNA Synthesis Kit 试剂盒（Bio-Rad）进行逆转录反应。参考 Strazzer 等（2019）的引物序列进行 *CitPH3*（*WRKY*）、*CitPH4*（*MYB*）、*CitANI*（*bHLH*）的 real-time PCR 分析，以 *Actin* 作内参基因。real-time PCR 扩增程序为：95 ℃ 预变性 5 min，再进行 40 个循环的 95 ℃ 变性 15 s，62 ℃ 退火 30 s，72 ℃ 延伸 20 s；72 ℃ 延伸 3 min，16 ℃ 保存。试验中每个处理设置 3 个生物学重复。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对温州蜜柑果实外在品质的影响

由表 1 可知，温州蜜柑果实膨大期干旱 10 d 后果实膨大受到明显抑制，果实直径和单果质量显著减小，分别较对照显著减小 12.94%~20.97%和 27.88%~42.10%；干旱胁迫 40 d 时各处理横、纵径较对照减少 18.33%~23.82%，单果质量降低了 45.17%~48.67%。对照和各处理果形基本不变，果形指数均维持在 0.8 左右。果实大小和单果质量在处理间无显著差异。

表 1 基质相对含水量处理对温州蜜柑果实外在品质的影响
Table 1 Effect of relative water content of substrate on the external quality of Satsuma mandarin

胁迫天数/d Days of drought stress	基质相对含水量/% Relative water content of substrate	横径/mm Transverse diameter	纵径/mm Longitudinal diameter	单果质量/g Fruit weight	果形指数 Shape index
0	60~80（对照 Control）	48.24 ± 1.19 a	40.50 ± 0.98 a	52.24 ± 2.99 a	0.83 ± 0.02 a
	40	48.68 ± 2.29 a	40.88 ± 1.71 a	52.45 ± 5.09 a	0.84 ± 0.03 a
	30	47.81 ± 3.28 a	39.90 ± 4.46 a	50.47 ± 13.25 a	0.80 ± 0.02 a
	20	47.30 ± 3.85 a	39.99 ± 2.46 a	50.99 ± 10.79 a	0.83 ± 0.02 a
10	60~80（对照 Control）	51.22 ± 2.35 a	42.98 ± 2.20 a	58.03 ± 7.97 a	0.83 ± 0.01 a
	40	44.69 ± 3.19 b	36.32 ± 3.30 b	41.85 ± 10.29 b	0.88 ± 0.04 a
	30	42.54 ± 2.99 bc	35.47 ± 1.78 b	38.18 ± 6.91 b	0.83 ± 0.08 a
	20	40.48 ± 3.47 c	35.66 ± 1.71 b	33.64 ± 6.94 b	0.87 ± 0.05 a
20	60~80（对照 Control）	52.05 ± 1.29 a	42.27 ± 1.06 a	62.03 ± 5.85 a	0.79 ± 0.03 a
	40	46.44 ± 2.59 b	39.04 ± 1.98 b	45.61 ± 7.62 b	0.76 ± 0.07 a
	30	43.94 ± 2.01 c	35.64 ± 2.24 b	39.87 ± 4.75 b	0.83 ± 0.06 a
	20	43.32 ± 1.43 c	35.24 ± 2.21 b	37.65 ± 3.43 b	0.83 ± 0.04 a
30	60~80（对照 Control）	53.96 ± 2.98 a	44.03 ± 1.65 a	72.06 ± 10.42 a	0.82 ± 0.02 a
	40	44.92 ± 2.05 b	37.44 ± 2.91 bc	44.14 ± 5.20 b	0.82 ± 0.06 a
	30	42.69 ± 3.14 c	35.19 ± 2.27 b	41.90 ± 5.87 b	0.79 ± 0.07 a
	20	43.14 ± 2.37 c	35.45 ± 2.16 bc	40.10 ± 8.13 b	0.84 ± 0.06 a
40	60~80（对照 Control）	55.25 ± 3.41 a	44.73 ± 2.90 a	76.99 ± 13.7 a	0.79 ± 0.01 a
	40	44.17 ± 1.99 b	36.53 ± 2.52 b	42.21 ± 5.02 b	0.82 ± 0.03 a
	30	42.38 ± 3.91 b	35.77 ± 3.95 b	39.95 ± 10.09 b	0.86 ± 0.13 a
	20	42.09 ± 3.52 b	34.21 ± 4.62 b	39.52 ± 9.20 b	0.82 ± 0.13 a

注：± 后数值表示标准误，不同处理间各项数值对应的不同字母表示差异显著。P < 0.05。
Note: The numerical value behind “±” means standard error (SE). Different letters on the numerical value within different treatments mean significant difference (P < 0.05).

由图 1 可知, 干旱胁迫后果实体积变小的同时汁胞明显变小, 而对照果实汁胞饱满, 有尾汁胞比例大于无尾汁胞, 这种差异随干旱胁迫程度的加剧表现更为明显。

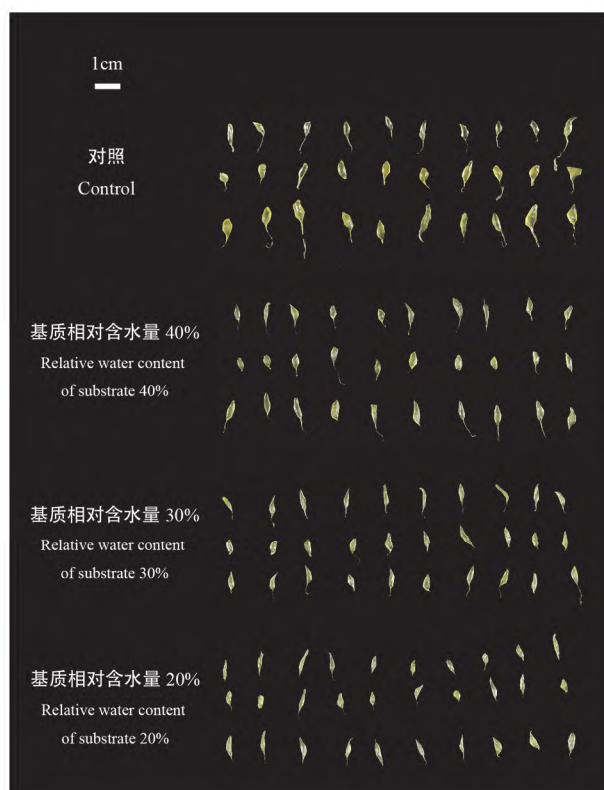


图 1 不同基质含水量处理 40 d 时温州蜜柑的汁胞形态

Fig. 1 Juice sac morphology of Satsuma mandarin treated with different substrate relative water content for 40 days

2.2 不同程度干旱胁迫对温州蜜柑果实内在品质的影响

处理 20 d 内, 对照和干旱胁迫处理组果实中可溶性固形物 (TSS) 均快速上升, 处理组稍高于对照; 处理 30 ~ 40 d, 对照果实中 TSS 含量略有下降, 而处理组 TSS 含量持续升高并显著高于对照; 40 d 时各处理果实 TSS 含量较对照增加 47.7% ~ 59.3%, 各处理间差异不大; 各处理 TSS 含量升高趋势一致 (图 2, A)。干旱胁迫后果实果糖剧烈升高, 蔗糖和葡萄糖增量不大。随干旱时间的延长果实蔗糖含量逐渐降低, 干旱胁迫 30 d 时处理组蔗糖含量显著低于对照, 但 40 d 时有所上升, 其中基质相对含水量 20% 的处理显著高于其他处理 (图 2, B)。对照与各处理果实发育过程中葡萄糖呈先升高后降低的积累模式, 10 d 时均达最高, 20 d 时处理显著高于对照, 40 d 时处理和对照的差异较小 (图 2, C)。试验过程中对照果实果糖含量维持在 $9.70 \sim 14.14 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$, 随干旱胁迫时间延长果糖含量逐渐升高, 40 d 时较对照升高约 63.25% ~ 78.77% (图 2, D)。处理间果实中蔗糖、果糖和葡萄糖含量随干旱时间延长差异逐渐减小。

温州蜜柑果实膨大期对照的柠檬酸含量持续下降, 干旱胁迫后含量增加, 干旱胁迫严重抑制果实中柠檬酸的下降, 20 d 后各处理均显著高于对照; 30 d 时基质相对含水量 30% 和 20% 处理达到最高 (14.87 和 $16.61 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$); 40 d 时, 基质相对含水量 40% 处理达到最高 ($12.85 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$), 较对照增长近 1 倍 (图 2, E)。温州蜜柑果实苹果酸含量较低, 持续干旱 40 d 时各处理中均显著高于对照 ($14.70\% \sim 33.82\%$), 而处理之间差异不大 (图 2, F)。

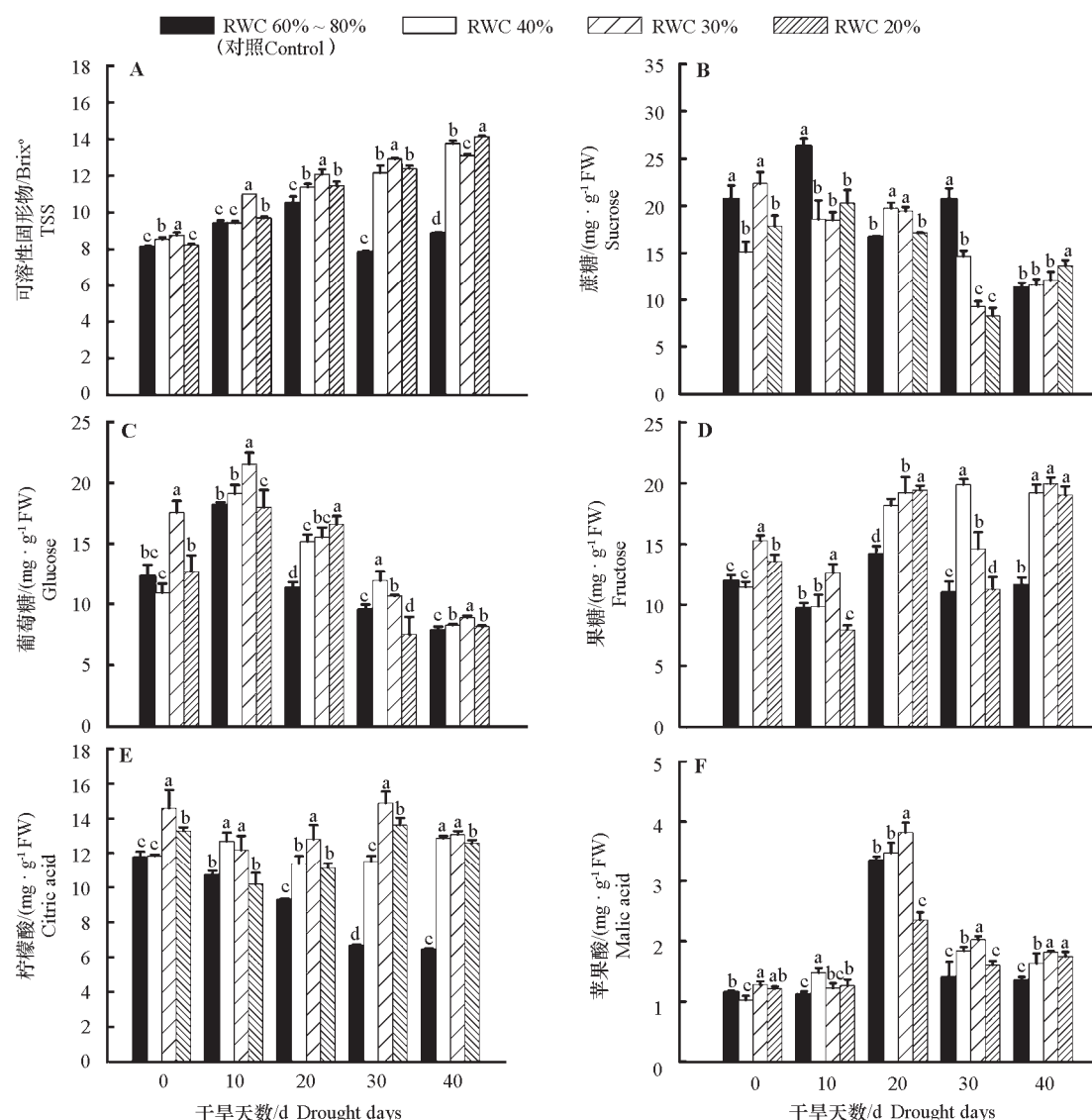


图 2 不同基质相对含水量 (RWC) 处理对温州蜜柑果实内在品质的影响

Fig. 2 Effects of different substrate relative water content (RWC) treatments on internal quality of Satsuma mandarin

2.3 干旱胁迫对柠檬酸调控相关转录因子基因表达的影响

较长期干旱后柠檬酸调控相关转录因子基因表达量均显著上调, 处理间差异不大。随柑橘果实发育, *CitANI* 在对照果实中的表达量呈现下降趋势, 而处理组维持较高水平。干旱胁迫 10 d 时处理组 *CitANI* 表达量显著低于对照, 20 d 后显著高于对照 (38.74%~77.48%), 40 d 时约为对照的 3 倍左右。处理间 *CitANI* 表达量无显著差异 (图 3)。

对照果实中 *CitPH3* 和 *CitPH4* 的表达有下降趋势; 干旱胁迫 30 d 时, *CitPH3* 响应干旱, 表达量开始显著高于对照, 40 d 时 *CitPH3* 约为对照的 3 倍; *CitPH3* 和 *CitPH4* 在处理间无显著差异 (图 3)。

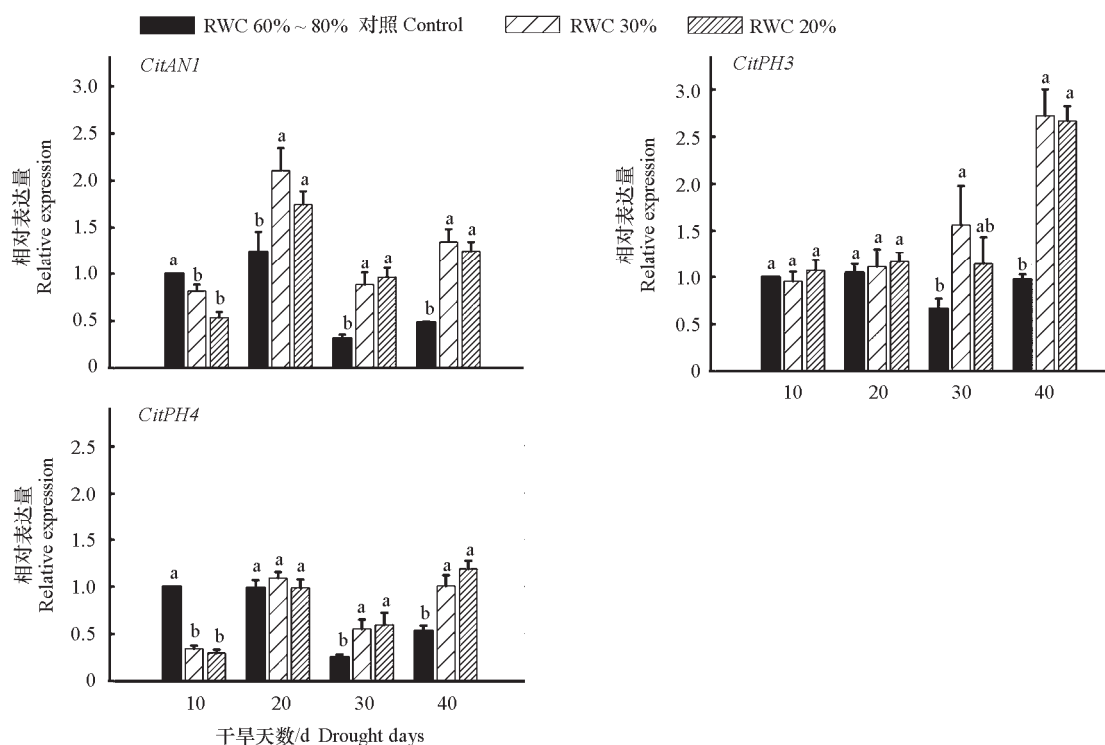


图3 不同基质相对含水量 (RWC) 处理对 *CitANI*、*CitPH3* 和 *CitPH4* 表达的影响
Fig. 3 Effect of different substrate relative water content (RWC) treatments on *CitANI*, *CitPH3* and *CitPH4* genes

2.4 干旱复水 (D_2O) 后温州蜜柑树体水分吸收和分配规律

干旱复水后柑橘根系迅速吸收水分, 但水分进入果实缓慢, 不同干旱程度、不同组织部位水分转运规律有差异 (图 4)。

对照根系 2 ~ 48 h 吸收水分较少且稳定; 干旱处理复水 2 h 根系大量吸收水分, 基质相对含水量 30% 的处理根系 δD 值在 8 h 达最高 (为对照的 1.5 倍), 之后稳定; 基质相对含水量 10% 的处理 4 h 时达最高 (为对照的 2.1 倍), 之后稳定 (图 4, A)。

对照主茎内前 4 h 吸收 D_2O 较少; 8 h 后稳定, 略有上升; 基质相对含水量 30% 和 10% 的处理复水后 D_2O 快速上升, 24 h 达到最高, 之后趋于稳定; 24 h 时分别是对照的 1.7 和 2.3 倍 (图 4, B)。灌氘水 2 ~ 8 h 对照多年生枝条 δD 值略有降低, 8 h 后快速上升, 基质相对含水量 30% 和 10% 处理均在 24 h 达最高, 约为对照的 2 倍; 基质相对含水量 30% 的处理在 2 h 内 D_2O 即运达多年生枝, 而基质相对含水量 10% 的处理稍滞后 (图 4, C)。复水后对照与基质相对含水量 10% 的处理一年生枝内 δD 值持续上升且二者相近; 基质相对含水量 30% 的处理则在 24 h 达到最高, 且维持在较高水平。基质相对含水量 10% 处理下, 吸收转运较慢, 4 h 才检测到 D_2O (图 4, D)。

叶片中 D_2O 丰度持续上升, 对照和基质相对含水量 30% 的处理 D_2O 水平较低, 8 h 内升高较快, 48 h 时各处理间差异较小 (图 4, E)。

D_2O 在对照果实中吸收转运较慢, 丰度较低; 干旱复水 2 ~ 8 h 内, 各处理的 D_2O 丰度较低且无明显差异; 8 ~ 24 h, 果实内 δD 值均开始迅速增加。各处理间, 基质相对含水量 10% 处理则持续上升, 48 h 时达到最高, 约为对照的 5 倍; 基质相对含水量 30% 处理前 24 h 与基质相对含水量 10%

的处理一致，之后变化不大（图 4，F）。

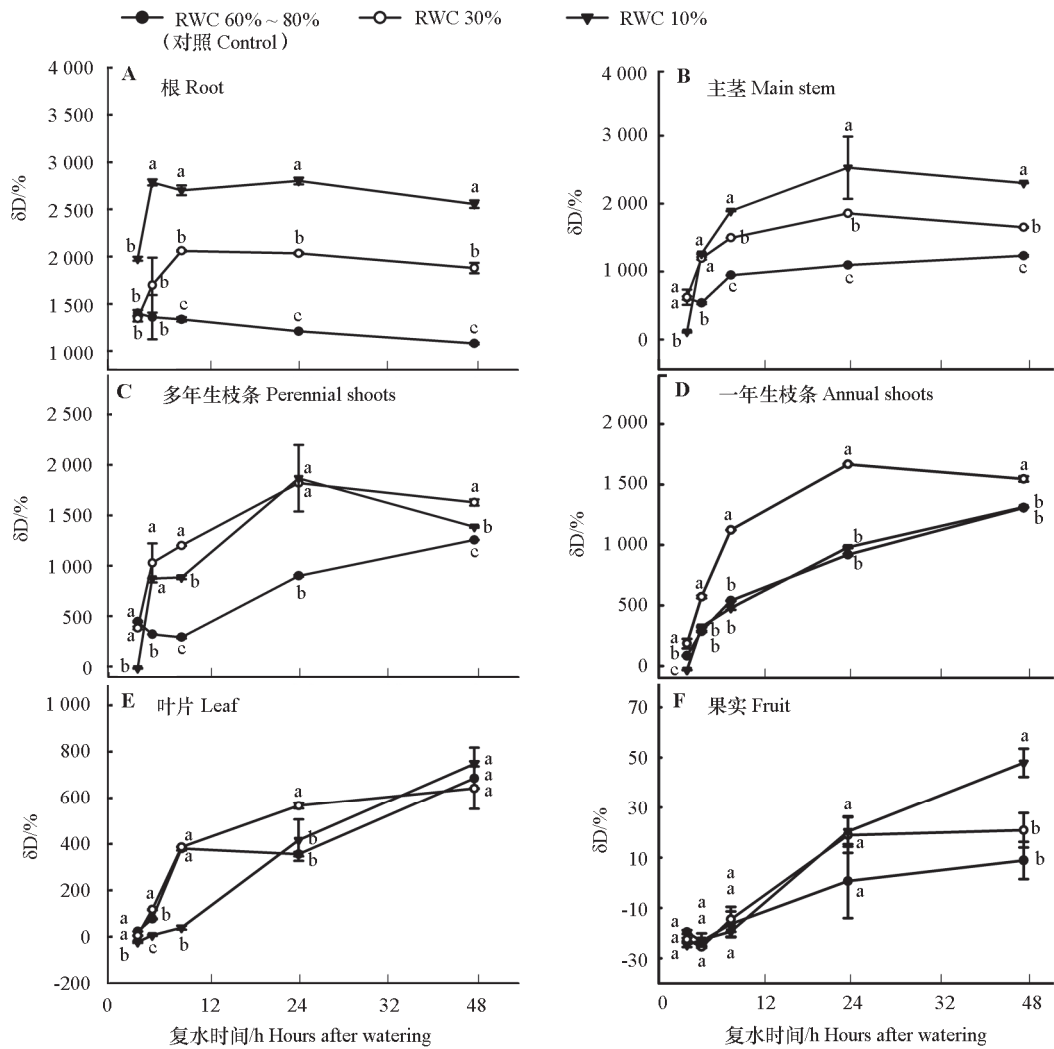


图 4 不同基质相对含水量 (RWC) 处理温州蜜柑植株复水 (D_2O) 后不同器官氘水丰度变化
Fig. 4 Changes of deuterium water abundance in different organs of Satsuma mandarin treated with different substrate relative water content after re-watering (D_2O)

3 讨论

果实不同生育阶段遭受干旱胁迫后，其反应表现不一，果实细胞分裂对干旱胁迫具有很强的忍受能力，而果实细胞的膨大受干旱胁迫的影响极大(李绍华, 1993)。研究证实苹果(王元基, 2017)、核桃(牛选明, 2018)、桃(Crisostol et al., 1994)等果实膨大期干旱显著抑制果实的膨大。脐橙果实膨大期土壤相对含水量 55% 时，果实横径、纵径、单果质量与对照无差异，当降到 35%~45% 时，则显著下降(陈瑛 等, 2017)。柑橘果实体积变小的直接原因是果实膨大期正值汁胞液泡化阶段(谢远玉 等, 2009)，水分不足影响汁胞膨大。本研究中发现温州蜜柑果实膨大期在基质相对含水量 20%~40% 的干旱胁迫下果实体积均迅速下降，不同程度干旱胁迫间差异不显著，胁迫 40 d 后单果

质量较对照下降约 45.17% ~ 48.67%。由上述结果及生产经验推测, 夏秋季节柑橘果实膨大期土壤相对含水量 50% 以下即产生干旱胁迫, 干旱持续时间对果实大小和产量影响较大, 而干旱程度影响较小。

柑橘果实膨大期干旱较其他时期更易影响果实内在品质 (Pérez-Pérez et al., 2014)。克里曼丁橘果实膨大期 (6—10 月) 缺水, 果实葡萄糖、果糖增加而蔗糖显著降低 (Navarro et al., 2009); 椪柑在维持土壤相对含水量 40% 干旱后果实果糖、葡萄糖和总糖升高, 而蔗糖同样降低 (张规富, 2015)。本研究中基质含水量 40% 以下干旱胁迫同样显著抑制了温州蜜柑果实内蔗糖积累, 而果糖和葡萄糖含量显著高于对照, 不同程度干旱处理间无显著差异, 表明果实膨大期干旱持续时间对果实糖组分积累影响较大, 而干旱程度影响较小。干旱胁迫直接影响果实柠檬酸的降低, 椪柑持续干旱 60 d 时, 柠檬酸含量较对照升高约 1.5 倍 (Sakamoto & Okuchi, 2007; 林琼, 2015); 潘斌等 (2019) 对温州蜜柑果实膨大期进行干旱处理, 成熟时总酸和柠檬酸比对照高约 30%。肖玉明等 (2014) 对糖酸的浓缩效应和浓度变化进行了比较, 干旱胁迫下果实体积减小, 糖酸浓度显著升高, 而糖单果含量却显著降低, 酸的单果含量显著上升, 果实品质下降。本研究中对对照果实的柠檬酸随果实发育呈递减趋势, 而处理组柠檬酸含量在干旱 20 d 后持续维持在较高水平, 干旱处理间柠檬酸差异较小。对照和处理苹果酸差异不大。因此, 果实膨大期干旱主要影响柠檬酸的积累, 并且干旱持续时间对酸积累影响较大。

液泡是柑橘果实有机酸主要积累场所, 汁胞中液泡 pH 可决定柑橘果实的酸度 (Miller et al., 1996)。bHLH (*CitANI*)、MYB (*CitPH4*)、WRKY (*CitPH3*) 通过调控 H⁺-ATPase 酶活性介导柠檬酸进入液泡进而促进液泡酸化 (Francesca et al., 2006)。本研究中对对照果实正常发育柠檬酸含量逐渐降低, 果实 *CitANI*、*CitPH4* 和 *CitPH3* 的表达量总体呈降低趋势, 与果实柠檬酸积累减少一致; 干旱处理下 *CitANI*、*CitPH4* 和 *CitPH3* 均出现不同程度的上调, 且不同干旱程度下各基因表达量无显著差异, 这显然与干旱处理果实柠檬酸含量剧烈升高密切相关。因此, 柑橘果实膨大期干旱后果实柠檬酸含量显著升高, 其中柠檬酸调控转录因子上调表达是主要原因, 超过一定阈值的干旱程度均可诱导柠檬酸贮藏加剧。

水分通过蒸腾拉力和渗透压从果树根部向上运输 (祁亚淑 等, 2015)。史建君和郭江峰 (2003) 研究了氙水在水稻生态系统中的迁移与分布, 表明氙水能迅速被植物吸收, 并在一定时间内氙水含量达到最大值, 以后逐渐下降。魏钦平等 (2012) 采用氙水示踪研究局部灌溉下苹果幼树水分运转特性显示, 1/4 根域灌溉 (亏缺灌水) 下根系中氙水丰度在 4 h 达最高, 地上部位的主干、中心干、1 年生枝、新梢和叶片中氙水丰度逐渐上升在 24 h 达最高。本研究在柑橘干旱胁迫后浇氙水示踪试验结果表明, 水分通过根系转运至主干、枝梢、叶片再到果实; 故离根系越远的器官中丰度也越低。柑橘根系能迅速感知干旱并吸收水分, 在 4 ~ 8 h 氙水丰度达到最高; 主茎和多年生茎 24 h 最高, 而 1 年生茎叶中持续积累; 果实 8 ~ 24 h 水分开始运达果实并积累, 24 ~ 48 h 吸水总量逐渐趋于饱和。由此, 树体吸收水分后会优先供应水分最先经过的组织, 满足需求后转运至下一级器官; 根据氙水在果实积累的情况推测, 夏秋连续干旱的土壤遇水后要维持 24 ~ 48 h 湿润才能缓解果实的干旱。

4 结论

果实膨大期干旱持续时间是制约温州蜜柑果实品质形成的关键因子, 土壤相对含水量在 20% ~ 40% 时对温州蜜柑果实品质的影响基本一致。干旱胁迫下柠檬酸调控转录因子基因 *CitPH3*、*CitPH4*

和 *CitANI* 上调表达引起的柠檬酸积累是果实酸化的主要原因。持续干旱后土壤需维持 24 ~ 48 h 充分湿润, 水分才能大量运达果实。

References

- Albertini M V, Carcouet E, Pailly O, Gambotti C, Luro F, Berti L. 2006. Changes in organic acids and sugars during early stages of development of acidic and acidless citrus fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (21): 8335 - 8339.
- Ballester C, Castel J, Intrigliolo D S, Castel J R. 2011. Response of Clementina de Nules citrus trees to summer deficit irrigation. Yield components and fruit composition. *Agricultural Water Management*, 98: 1027 - 1032.
- Butelli E, Licciardello C, Ramadugu C, Durand-Hulak M, Celant A, Recupero G R, Froelicher Y, Martin C. 2019. Noemi controls production of flavonoid pigments and fruit acidity and illustrates the domestication routes of modern citrus varieties. *ScienceDirect*, 29 (1): 158 - 164.
- Chen Ying, Zou Ying, Yang Wen, Li Jiu-hao. 2017. Effects of regulated deficit irrigation on navel orange growth and quality. *Water Saving Irrigation*, (9): 38 - 42. (in Chinese)
- 陈 瑛, 邹 颖, 杨 文, 李就好. 2017. 不同调亏处理对脐橙果实生长和品质的影响. *节水灌溉*, (9): 38 - 42.
- Coleman M L, Shepherd T J, Durham J J, Rouse J E, Moore G. 1982. Reduction of water with zinc for hydrogen isotope analysis. *Analytical Chemistry*, 54 (6): 993 - 995.
- Crisosto C H, Johnson R S, Luza J G, Crisosto G M. 1994. Irrigation regimes affect fruit soluble solids concentration and rate of water loss of 'O'Henry' peaches. *Hortscience A Publication of the American Society for Horticultural Science*, 29: 1169 - 1171.
- Gu hong-bo, Liu Zhi-yu. 2016. Time regularity analysis and trend prediction of agricultural drought disaster in Hunan Province. *Journal of Hunan University of Science and Technology (Social Science Edition)*, 19 (5): 110 - 116. (in Chinese)
- 谷洪波, 刘芷好. 2016. 湖南农业旱灾的时间规律分析及重灾年份预测. *湖南科技大学学报 (社会科学版)*, 19 (5): 110 - 116.
- Francesca Q, Walter V, Arthur K, Cornelis S, Joseph M, Ronald K. 2006. PH4 of Petunia is an R2R3 MYB protein that activates vacuolar acidification through interactions with basic-helix-loop-helix transcription factors of the anthocyanin pathway. *The Plant Cell*, 18 (5): 1274 - 1291.
- Hutton R J, Landsberg J J, Sutton B. 2007. Timing irrigation to suit citrus phenology: a means of reducing water use without compromising fruit yield and quality? *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 47: 71 - 80.
- Li Hong-ping, Chen Yu-xin, Cui Ning-bo, Gao Wei. 2019. Effects of water deficiency on fruits growth, yield and water use efficiency of citrus. *Water Saving Irrigation*, (12): 6 - 11. (in Chinese)
- 李鸿平, 陈昱辛, 崔宁博, 高 维. 2019. 水分亏缺对柑橘果实生长、产量和水分利用效率的影响. *节水灌溉*, (12): 6 - 11.
- Li Juan, Chen Jie-Zhong, Hu You-li, Zhou Bi-yan, Yao Qing, Hu Zhi-qun. 2008. Effect of water stress on cell wall structure and metabolism of citrus peel. *Acta Ecologica Sinica*, (2): 486 - 492. (in Chinese)
- 李 娟, 陈杰忠, 胡又厘, 周碧燕, 姚 青, 胡志群. 2008. 水分胁迫对柑橘果皮细胞壁结构与代谢的影响. *生态学报*, (2): 486 - 492.
- Li S, Yin X R, Wan W L, Liu X F, Chen K S. 2017. Citrus *CitNAC62* cooperates with *CitWRKY1* to participate in citric acid degradation via up-regulation of *CitAco3*. *Journal of Experimental Botany*, 68 (13): 3419 - 3426.
- Li S J, Liu X J, Xie X L, Sun C D, Grierson D, Yin X R, Chen K S. 2015. *CrMYB73*, a PH-like gene, contributes to citric acid accumulation in citrus fruit. *Scientia Horticulturae*, 197: 212 - 217.
- Li Shao-hua. 1993. The response of sensitive periods of fruit tree growth, yield and quality to water stress and water-saving irrigation. *Plant Physiology Communications*, (1): 10 - 16. (in Chinese)
- 李绍华. 1993. 果树生长发育、产量和果实品质对水分胁迫反应的敏感期及节水灌溉. *植物生理学报*, (1): 10 - 16.
- Li Yu-peng, Li Yuan-nong, Chen Peng-peng. 2019. Effects of different covering methods and regulating deficiency models on yield and quality of Lizard. *China Rural Water Conservancy and Hydropower*, (3): 112 - 118. (in Chinese)
- 李昱鹏, 李援农, 陈朋朋. 2019. 不同覆盖方式与调亏模式对梨枣产量及品质的影响. *中国农村水利水电*, (3): 112 - 118.
- Lin Q, Qian J, Zhao C N, Wang D L, Liu C R, Wang Z D, Sun C D, Chen K S. 2016. Low temperature induced changes in citrate metabolism

- in Ponkan (*Citrus reticulata* Blanco cv. Ponkan) fruit during maturation. PLoS ONE, 10: 1 - 16.
- Lin Qiong. 2015. Regulation of citrus fruit acidity by genes related to citrate metabolism and transportation[Ph. D. Dissertation]. Hangzhou: Zhejiang University.
- 林 琼. 2015. 柠檬酸代谢及转运相关基因对柑橘果实酸度的调控机制[博士论文]. 杭州: 浙江大学.
- Liu Wen-ru, Shen Ye-jie, Peng Xin-hua, Chen Xiao-min. 2012. Comparisons of azeotropic and vacuum distillation on water extraction efficiency of soil and plant and stable isotope analysis of extracted water. Chinese Journal of Ecology, 31 (7): 1870 - 1875.
- 刘文茹, 沈业杰, 彭新华, 陈效民. 2012. 提取方式对土壤和植物水分提取率的影响及其氢氧同位素分析. 生态学杂志, 31 (7): 1870 - 1875.
- Lu X P, Cao X J, Li F F, Li J, Xiong J, Long G Y, Cao S Y, Xie S X. 2016. Comparative transcriptome analysis reveals a global insight into molecular processes regulating citrate accumulation in sweet orange *Citrus sinensis*. Physiologia Plantarum, 158: 463 - 482.
- Lu Xiao-peng, Li Fei-fei, Xie Shen-xi. 2018. Citrate accumulation in citrus fruit: a molecular perspective. Journal of Fruit Science, 35 (1): 118 - 127. (in Chinese)
- 卢晓鹏, 李菲菲, 谢深喜. 2018. 柑橘果实柠檬酸积累调控基因研究进展. 果树学报, 35 (1): 118 - 127.
- Ma Wen-tao. 2007. The drought resistance of different citrus rootstock seedlings[M. D. Dissertation]. Guiyang: Guizhou University. (in Chinese)
- 马文涛. 2007. 不同柑橘实生砧木的抗旱性[硕士论文]. 贵阳: 贵州大学.
- Ma Yu-cheng. 2020. Transcriptional regulation of citric acid degradation GS pathway in citrus fruits[M. D. Dissertation]. Hangzhou: Zhejiang University. (in Chinese)
- 马雨尘. 2020. 柑橘果实柠檬酸降解 GS 途径转录调控研究[硕士论文]. 杭州: 浙江大学.
- Mller M L, Irkens-Kiesecker U, Rubinstein B, Taiz L. 1996. On the mechanism of hyperacidification in lemon Comparison of the vacuolar H^+ -ATPase activities of fruits and epicotyls. Journal of Biological Chemistry, 271 (4): 1916 - 1924.
- Navarro J M, Pérez-Pérez J G, Romero P, Botía P. 2009. Analysis of the changes in quality in mandarin fruit, produced by deficit irrigation treatments. Food Chemistry, 119 (4): 1591 - 1596.
- Niu Xuan-ming. 2018. Effect of drought stress on the fruit quality of thin-skinned walnut. Shandong Forestry Science and Technology, 48: 61 - 63. (in Chinese)
- 牛选明. 2018. 干旱胁迫对薄皮核桃果实品质的影响. 山东林业科技, 48 (5): 61 - 63.
- Pan Bin, Li Fei-fei, Wen Bin, Xiong Jiang, Ma Xiao-chuan, Tang Chao-lan, Liu Lian, Li Zhe-hang, Lu Xiao-peng, Xie Shen-xi. 2019. Effect of drought stress at different development stages on fruit quality formation in Satsuma Manda. Journal of Fruit Science, 36: 729 - 737. (in Chinese)
- 潘 斌, 李菲菲, 文 斌, 熊 江, 马小川, 唐超兰, 刘 恋, 李泽航, 卢晓鹏, 谢深喜. 2019. 不同果实发育期干旱胁迫对温州蜜柑果实品质形成的影响. 果树学报, 36 (6): 729 - 737.
- Pérez-Pérez J G, Robles J M, Botía P. 2014. Effects of deficit irrigation in different fruit growth stages on 'Star Ruby' grapefruit trees in semi-arid conditions. Agricultural Water Management, 133: 44 - 54.
- Qi Ya-shu, Zhu Lin, Xu Xing. 2015. A review of applications of stable isotopes of hydrogen and oxygen for researches of soil water absorption of plants. Agricultural Science Research, 36 (4): 51 - 57. (in Chinese)
- 祁亚淑, 朱 林, 许 兴. 2015. 氢氧稳定同位素在植物水分提升机理研究上的应用. 农业科学研究, 36 (4): 51 - 57.
- Sakamoto T, Okuchi S. 2007. Effects of drought and moist soil condition in summer and autumn on the acid change of Satsuma orange fruits. Eng Gakkai Zasshi, 39: 107 - 114.
- Shi Jian-jun, Guo Jiang-feng. 2003. Behavior of HTO in simulated rice-water-soil ecosystem. Journal of Applied Ecology, (2): 269 - 272. (in Chinese)
- 史建君, 郭江峰. 2003. 氚水在模拟水稻—水—土壤生态系统中的行为. 应用生态学报, (2): 269 - 272.
- Strazzer P, Spelt C E, Li S, Bliet M, Federici C T, Roose M L, KOES R, Quattrocchio F M. 2019. Hyperacidification of *Citrus* fruits by a vacuolar proton-pumping P-ATPase complex. Nature communications, 10 (1): 744.
- Sun Xi-wei, Long Gui-you, Li Fei-fei, Lu Xiao-peng. 2017. Study on the changes of organic acid and amino acid content during fruit development of Dahong Sweet Orange and Bingtang Orange. Hunan Agricultural Sciences, (1): 26 - 29, 33. (in Chinese)

- 孙系巍, 龙桂友, 李菲菲, 卢晓鹏. 2017. 大红甜橙和冰糖橙果实发育过程中有机酸和氨基酸含量变化研究. 湖南农业科学, (1): 26 - 29, 33.
- Sun Xi-wei, Tang Dan, Li Feng, Long Gui-you, Deng Zi-niu, Li Na. 2015. Effects of main meteorological factors on fruit quality of Bingtang Sweet Orange. Hunan Agricultural Sciences, (5): 77 - 80. (in Chinese)
- 孙系巍, 汤 丹, 李 峰, 龙桂友, 邓子牛, 李 娜. 2015. 主要气象因子对冰糖橙果实品质的影响. 湖南农业科学, (5): 77 - 80.
- Wang L, Huang Y, Liu Z A, He J X, Jiang X L, He F, Lu Z H, Yang S Z, Chen P, Yu H W, Zeng B, Ke L J, Xie Z Z, Larkin R M, Jiang D, Ming R, Buckler E S, Deng X X, Xu Q. 2021. Somatic variations led to the selection of acidic and acidless orange cultivars. Nature Plants, 7 (7): 954 - 965.
- Wang Yuan-ji. 2017. Effects of drought on apple quality and its relationship with sugar metabolism [M. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 王元基. 2017. 干旱对苹果品质的影响及其与糖代谢的关系 [硕士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Wei Qin-ping, Liu Song-zhong, Zhang Qiang, Wang Xiao-wei, Liu Jun. 2012. Characteristics of water transportation for apple trees submitted by partial root zone irrigation. China Agricultural Sciences, 45 (12): 2530 - 2536. (in Chinese)
- 魏钦平, 刘松忠, 张 强, 王小伟, 刘 军. 2012. 苹果幼树根域局部灌溉的水分运转特性. 中国农业科学, 45 (12): 2530 - 2536.
- Wu Yang, Wang Wei, Lei Yan-wu, Hang Xing-fa, Zhao Zhi, Ma Ying-jie. 2012. Effects of regulated deficit irrigation on the growth and fruit yield of pear trees in mature age under drip irrigation. Journal of Agricultural Engineering, 28 (11): 118 - 124. (in Chinese)
- 武 阳, 王 伟, 雷廷武, 黄兴法, 赵 智, 马英杰. 2012. 调亏灌溉对滴灌成龄香梨果树生长及果实产量的影响. 农业工程学报, 28 (11): 118 - 124.
- Xiao Yu-ming, Lu Xiao-peng, Huang Cheng-neng, Xiong Jiang, Li Jing, Xie Shen-xi. 2014. Effects of water stress on the fruit quality of citrate and the expression of genes related to metabolism of citric acid. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 40 (3): 281 - 287. (in Chinese)
- 肖玉明, 卢晓鹏, 黄成能, 熊 江, 李 静, 谢深喜. 2014. 水分胁迫对温州蜜柑果实品质及柠檬酸代谢相关基因表达的影响. 湖南农业大学学报 (自然科学版), 40 (3): 281-287.
- Xie Yuan-yu, Lai Xiao-Hua, Chen Ying, Guo Meng-sheng, Lai Hua-rong, Yan Xiang. 2009. Relations between the fruit's growth of citrus and the eco-meteorological conditions. Journal of Huazhong Agricultural University, 28 (2): 222 - 225. (in Chinese)
- 谢远玉, 赖晓桦, 陈 颖, 郭萌生, 赖华荣, 严 翔. 2009. 柑橘果实生长与生态气象条件的关系. 华中农业大学学报, 28 (2): 222 - 225.
- Zhang Gui-fu. 2015. The effects of water stress on fruit quality and citric acid metabolism related gene expression of *Citrus* [Ph. D. Dissertation]. Changsha: Hunan Agricultural University. (in Chinese)
- 张规富. 2015. 水分胁迫对宽皮柑橘果实品质及柠檬酸代谢相关基因表达的影响 [博士论文]. 长沙: 湖南农业大学.
- Zou Yi-qiang. 2017. Analysis of the effects of regulated deficit irrigation on the growth and fruit quality of wine grapes. Modern Gardening, (6): 14. (in Chinese)
- 邹以强. 2017. 调亏灌溉对酿酒葡萄生长及果实品质的影响分析. 现代园艺, (6): 14.