

石榴冻害及抗寒评价研究进展

焦其庆¹, 冯立娟¹, 尹燕雷^{1*}, 崔洪涛²

¹山东省果树研究所, 山东泰安271000

²泰安市园林管理局, 山东泰安271000

摘要: 冻害是制约北方石榴产业发展的重要因素之一。近年来, 石榴抗寒性的研究取得了较大的进展。本文从石榴冻害原因、冻害形成机制、抗寒性鉴定、品种评价、抗寒生理和分子机制以及防寒措施等方面进行了系统归纳和总结, 同时对今后石榴抗寒性重点研究领域提出了展望。

关键词: 石榴; 抗寒性; 品种鉴定; 抗寒机制

石榴(*Punica granatum* L., $2n=2x=16, 18$)是桃金娘目石榴科(Punicaceae)或千屈菜科(Lythraceae)石榴属(*Punica*)落叶灌木或小乔木, 原产于伊朗、阿富汗等中亚地区。汉武帝时传入中国, 在我国已有2 100多年栽培历史(曹尚银和侯乐峰2013)。到目前为止, 全世界范围内有1 000多个石榴品种及野生型品种(Lansky和Newman 2007)。国家石榴种质资源圃(山东枣庄)已收集、保存国内外品种资源289份(苑兆和和招雪晴2014)。据统计, 全国石榴种植面积大约12万 hm^2 , 年产量约150万t, 栽培面积和产量均超过了伊朗, 居世界第1位(李红珍2015)。其中, 截止2016年, 山东石榴种植面积约为1.18万 hm^2 , 产量达13.82万t(王鹏2017)。

我国石榴种植产业属于粗放型, 大部分产区尚未形成系统的栽培管理模式, 石榴抗寒性较差、难以抵御极端天气, 冬季休眠期能耐 -16°C 以上的低温, 在 -17°C 时会出现冻害, -20°C 时大部分已冻死(杨雪梅等2014)。由于气候异常、倒春寒等现象频发, 给石榴种植业造成了极大损失。国内山东(田加才等2017; 胡园春等2013)、河南(随少峰等2013; 李明婉2010)、河北(张长禄2011)、陕西(柏永耀2003)、北京(李剑雄2018)等以及国外伊朗(Soloklui等2012)等地均有石榴冻害报道。冻害已经成为制约北方石榴种植业生产发展的重要因素之一, 采取哪些措施将冻害降到最低, 是目前石榴生产亟需解决的问题。本文对石榴冻害发生原因、抗寒性鉴定、品种抗寒性评价、抗寒生理、抗寒分子机制以及抗寒措施等方面进行综述, 以期为今后石榴抗寒性的深入研究、抗寒种质的筛选、抗寒生物技术的应用提供科学依据。

1 冻害产生原因

石榴发生冻害的原因主要包括内因和外因。前者包括品种、树势、繁殖方法等因素, 后者包括气温、地形地势、栽培技术等(王庆军等2017)。内因方面, 外埠引进品种与本地传统主栽品种抗寒性差异较大, 相同品种树势强弱与抗冻性有密切相关性(田加才等2017)。同时, 树势强弱又受上年度树体产量、栽培方式、整形修剪和肥水管理影响, 合理施肥、培壮树体能提高抗冻性。不同繁殖方式的石榴树抗冻性也存在差异, ‘突尼斯软籽’抗寒砧木嫁接研究表明, 嫁接繁殖苗比扦插繁殖苗抗冻性要高(范春丽等2014)。外因方面, 最直接外部环境因素是气温, 主要有寒流降温、连续低温、霜冻、“倒春寒”等。冻害发生最为严重的时期, 一是秋末冬初, 石榴尚未进入休眠期, 而寒流降温, 植物来不及得到抗寒锻炼, 突然受冻而死; 二是冬末春初, 石榴刚刚开始萌动, “倒春寒”天气带来气温剧变给植株造成冻害。最低气温和低温持续时间直接影响冻害发生程度(李敏2013)。石榴冻害产生与绝对低温、降温幅度、持续时间以及低温的骤然来临等因素有关, 其中剧烈降温和“倒春寒”是造成冻害的主要外部因素。

2 冻害形成机制

石榴树尤其是幼树因其皮层较薄、髓腔较大、

收稿 2018-09-20 修定 2019-03-11

资助 山东省农业良种工程(2017LZN023)、山东省重点研发计划(2018GNC111009)和山东省果树研究所青年科研基金(2018KY04)。

* 通讯作者(yylei66@sina.com)。

木质层疏松等原因自身抗寒性差(李曦2018),在剧烈降温和“倒春寒”等环境条件下极易造成石榴冻害,受冻部位主要集中在根茎部、主干韧皮部及枝梢;冻害后韧皮部、木质部、皮层凹陷。最易冻伤的是主干韧皮部,若韧皮部全变黑,树皮会开裂;若还未失绿,则树不会死亡。回暖后,枝端叶芽能正常萌发,但由于水分养分循环系统破坏,叶片不久就会萎蔫枯死。冻害较重时,枝条表现脱水干缩,木质部变褐,叶芽基被冻死,开春后无法发芽。而最严重的是根茎部冻害,受损的根茎部变褐,皮层和木质层分离,上下养分疏通受阻,韧皮部颜色由正常的黄白色变为黑褐色,并伴有黑色的纵向线状或丝状物,树梢干枯,来年春季地表以上树体全部死亡(毕润霞等2018)。石榴冻害和冻旱(抽条)往往混合发生,冻旱是由低温和干旱双重原因造成,但是冻害和冻旱有着明显症状区别。冻害造成树干形成层变褐,尤其树干枝桠处极易遭受冻害,抽条是枝干的表皮失水皱缩,木质部皮层由绿色变为黄白色,木质部干枯死亡;冻害是由于冬季的极端低温造成的,从冬季到春季逐渐发展和加重,而抽条不是发生在冬季严寒时期,而是发生在乍暖还寒、气温回升、干燥多风的早春时节(刘英胜2017)。石榴冻害主要是环境低温造成组织或细胞结冰引起的伤害,原生质体结构受到不同程度破坏,疏导组织受损,代谢紊乱,最终树体死亡。

3 抗寒性鉴定方法

目前植物抗寒性鉴定方法主要包括露地栽培鉴定法、寒冻灾害调查法、人工模拟天气寒冻法(整株寒冻法、离体器官寒冻法)和数学模拟法等。也有研究者通过组织褐变法、生理生化指标测定法、同工酶谱法、电阻抗图谱法等对果树抗寒性进行鉴定。石榴品种抗寒性鉴定方法主要采用离体器官寒冻法。电导法属于离体器官寒冻法,在测试电导率的同时,还往往结合Logistic方程计算,预测植物抗寒性(徐呈祥2014)。张艳侠等(2015)认为电导法是评价石榴抗寒性最可行的方法;同时,毕润霞等(2015)研究得出电导法评价石榴抗寒性最佳条件为枝条切片厚度为0.5 cm、振

荡90 min、煮沸15~20 min。刘贝贝等(2018)通过对7种不同抗寒性评价方法对比也得出与张艳侠同样的结论。宋尚伟等(2012)采用电导法和组织褐变法相结合判断石榴品种抗寒性。王庆军等(2015)认为植物受到低温胁迫后,其生理代谢过程变化错综复杂,孤立的某一指标很难反映植物抗寒性机理。他采用Fuzzy数学中的隶属函数法对石榴各个抗寒性指标的隶属函数值进行累加,求取平均数以评定抗寒性。这种综合性的评价方法能够克服单个指标的片面性,使评定结果更全面地反映树种的抗寒能力。赵丽娜等(2018)强调综合评价还需结合田间试验,才能更好地评价石榴的抗寒性。随着研究不断地深入,石榴抗寒性评价方法逐步得到丰富和完善,通过抗寒指标测定、组织观察、数学模拟结合田间试验综合评价的方法,抗寒结论准确性将得到大幅提高。应用电导法配以Logistic方程估算植物的低温半致死温度,比较抗寒性差异,在多种植物上得到应用(刘建等2009;刘艳萍等2012)。就目前研究报道此法也是石榴抗寒性最可行的评价方法。

4 抗寒性生理研究

石榴品种抗寒性生理方面研究主要集中在对电导率、可溶性糖、脯氨酸(proline)、可溶性蛋白质(soluble protein)、丙二醛(malonaldehyde, MDA)含量及过氧化氢酶(catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)活性等生理指标测定;生理生化指标测定也是石榴抗寒性评价的方法之一。生理研究主要是以不同品种枝条为试材,采用人工模拟低温环境进行低温处理后测定相关指标。Soloklui等(2018)研究发现石榴抗寒性与可溶性糖的关联性要大于脯氨酸,随低温胁迫加剧,电导率、脯氨酸、MDA整体呈上升趋势,罗华等(2018)、王庆军等(2015, 2018)、张艳侠等(2015)也得到了相同的结果。脯氨酸随低温胁迫加剧呈现先升后降趋势(刘贝贝等2017, 2018;赵丽娜等2018),可能与低温胁迫超出品种耐受程度有关。王新宇等(2017)研究‘突尼斯软籽’石榴低温耐受程度发现SOD、POD、CAT三大保护酶活性均有随胁迫时间的延

长呈先升高后下降的变化趋势。张艳侠等(2015)研究发现在低温胁迫下, SOD活性均呈现先升后降趋势, 分析应该是该石榴品种失去抵御低温的能力所致。石榴抗寒生理研究重点围绕酶活性及相关蛋白测定, 因人为操作因素和酶活性极不稳定原因往往造成实验数据的不可靠, 实验结果有偏差。但就目前研究报道石榴在耐受范围内的低温胁迫下, 随胁迫增加, 电导率、脯氨酸、可溶性蛋白质、MDA、CAT、SOD等生理指标都呈现上升趋势, 该结论得到研究者一致认可。通过这些石榴抗寒生理研究数据为准确衡量判定低温胁迫程度提供参考依据, 下一步还要综合考虑各种生理指标在离体情况下测定对实验数据的影响, 各种生理生化指标与石榴抗寒性关联程度大小也有待深入研究。

5 品种抗寒性评价

石榴不同品种抗寒性差异研究报道较多, 目前研究主要分为两种方式, 一种是将品种抗寒性强弱进行排序, 另一种是将品种抗寒性按照不同等级进行划分。罗华等(2018)、姚方等(2016)、刘霞等(2015)、张艳侠等(2015)按照不同品种抗寒性强弱差异进行排序(表1), 在参评品种中‘峰城抗寒1号’、‘豫大籽’、‘峰城三白甜’抗寒性较强, ‘蜜榴’、‘以色列Y’、‘突尼斯软籽’抗寒性较弱。王庆军等(2015, 2018)、杨雪梅等(2014)、刘贝贝等(2017)主要按照不同等级标准将品种抗寒性进行划分(表1)。国外研究石榴品种遗传物质对抗寒性影响亦有报道, Soloklui等(2018)研究品种遗传控制对石榴抗寒性的影响, 抗寒性强的双亲组合产生的后代抗寒性强, 不同杂交组合产生抗寒性也有规律可循, 因此提高后代抗寒性可通过特定组合的常规育种来实现。石榴品种抗寒性差异在砧木上的研究报道较少, 范春丽等(2014)以‘河阴酸石榴’、‘红皮石榴’、‘白石榴’3种地方石榴品种为砧木, 分别于80和120 cm高处枝接‘突尼斯软籽’石榴, 研究砧穗组合的抗寒性。结果表明, 以‘河阴酸石榴’为砧木嫁接的抗寒性最强, 高位120 cm处嫁接的砧穗组合的存活率均高于80 cm处的存活率。石榴品种抗寒性与品种来源有关, 理论上来自寒

冷地区的品种抗寒性应较强, 但部分品种也出现例外。如从种源地考虑, ‘新疆和田甜’应属于抗寒性强的品种, 但刘霞等(2015)研究发现, 其半致死温度为 -8.8°C , 属于抗寒性弱的品种, 这可能与其在新疆长期匍匐栽植、整株埋土越冬的栽培方式有关。虽然不同石榴品种抗寒性研究较多, 并且这些研究往往集中在几个或者几十个相关品种之间差异的比较, 主要借助离体石榴枝条的耐寒性进行对比评价, 而缺少大田抗寒试验验证。具体抗寒等级的划分目前也没有统一公认的详细标准, 还在借鉴廖景容等(2005)、张卫星等(2006)、相昆等(2011)划分标准。目前研究石榴抗寒性差异选取的品种数量较少, 对石榴群体的抗寒性进行划分可能有失偏颇, 下一步应进一步增加品种数量, 开展系统研究提出适宜评价石榴自身群体抗寒性的等级划分标准。

6 抗寒分子机理

目前, 果树抗寒分子机理的研究主要集中在低温胁迫下诱导基因的表达, 以及基因在逆境信号传导、转录以及转录后调节等方面。常采用基因工程方法克隆出抗寒基因再连上强启动子或冷诱导启动子通过转基因手段导入植物中, 获得转基因植株, 进而提高植株抗寒性。植物抗寒性涉及众多基因, 根据其作用方式简单概括为调控基因和功能基因。调控基因主要通过调控抗寒基因的表达、寒冷信号传导等过程来提高植物的耐寒性, 包括编码转录因子(transcription factors, TFs)、蛋白激酶和与磷酸肌醇代谢有关的酶基因等(张燕燕2010), 功能基因是提高植物抗寒性直接相关的基因, 如编码抗冻蛋白(antifreeze protein, AFP)、水通道蛋白、渗透调节蛋白基因等。AFP能有效提高植物抗寒性, 首先在动物中被发现, 随后逐渐在植物中研究。CBF (CRT/DRE binding factor)转录因子在转录水平上对抗寒基因表达进行调节(田介云等2018)。以CBF转录因子为核心的低温信号通路已有深入研究, 在柑橘、苹果、梨、葡萄等其他果树上都有报道。石榴抗寒分子机制研究报道目前主要集中在抗寒基因遗传转化体系优化方面。赵玉洁(2017)以‘突尼斯软籽’石榴组培苗子叶、叶

表1 石榴品种抗寒性评价

Table 1 Evaluation of cold resistance of pomegranate cultivars

品种数量/个	评价方法	抗寒性排序(强→弱)	抗寒级别	参考文献
9	隶属函数法评价结果与LT ₅₀ 结果一致	‘峰城抗寒1号’>‘秋艳’>‘青丽’>‘峰城三白甜’>‘峰城大青皮甜’>‘桔艳’>‘红绣球’>‘晶榴’>‘蜜榴’	—	罗华等(2018)
8	隶属函数法评价	‘豫大籽’>‘以色列3号’>‘突尼斯软籽’>‘以色列1号’>‘以色列2号’>‘中农红’>‘以色列 M’>‘以色列 Y’	—	姚方等(2016)
12	电导法评价	‘峰城三白甜’>‘峰城青皮岗榴’>‘临潼净皮甜’>‘宁津青皮酸’>‘峰城复瓣白’>‘宁津三白酸’>‘太行红’>‘峰城大青皮甜’>‘峰城青皮马牙甜’>‘峰城大红皮甜’>‘新疆和田甜’>‘突尼斯软籽’	—	刘霞等(2015)
5	隶属函数法评价结果与LT ₅₀ 结果一致	‘峰城三白甜’>‘宁津三白酸’>‘峰城大红皮甜’>‘新疆和田甜’>‘突尼斯软籽’	I: ‘峰城三白甜’; II: ‘宁津三白酸’; III: ‘新疆和田甜’、‘峰城大红皮甜’; V: ‘突尼斯软籽’。分级标准: 相昆等(2011)	张艳侠等(2015)
3	隶属函数法评价	‘峰城三白甜’>‘宁津三白酸’>‘突尼斯软籽’	II: ‘峰城三白甜’; III: ‘宁津三白酸’; IV: ‘突尼斯软籽’。分级标准: 廖景容等(2005)	王庆军等(2015)
24	隶属函数法评价结果与LT ₅₀ 结果一致	—	II: ‘峰城抗寒1号’、‘峰城单瓣粉红酸’、‘泰安三白甜’、‘泰山红’、‘青丽’、‘洛阳白马寺重瓣白’、‘秋艳’、‘峰城抗寒2号’; III: ‘峰城重瓣粉红甜’、‘峰城大青皮甜’、‘潍坊青皮’、‘桔艳’、‘皖黑1号’、‘峰城三白甜’、‘红绣球’、‘峰城重瓣白花酸’、‘蜜榴’、‘峰城多刺’、‘晶榴’、‘峰城青皮大籽2号’、‘美国重瓣红皮酸’、‘峰城重瓣玛瑙’、‘峰城抗寒3号’; IV: ‘突尼斯软籽’。分级标准: 廖景容等(2005)	王庆军等(2018)
4	隶属函数法	‘牡丹’>‘皮亚曼’>‘泰山三白’>‘泰山红’	III: ‘牡丹’、‘皮亚曼’; IV: ‘泰山三白’、‘泰山红’; 分级标准: 廖景容等(2005)	杨雪梅等(2014)
80	LT ₅₀ 评价	—	最抗寒: ‘新疆红皮’ (LT ₅₀ : -12.54°C); 最不抗寒: ‘突尼斯软籽’ (LT ₅₀ : -7.51°C)	刘贝贝等(2017)

‘—’表示抗寒性强弱未排序, 抗寒等级未划分。

片、上胚轴和下胚轴为外植体, 利用农杆菌介导法进行*ICE1*基因遗传转化研究, 获得大量抗性愈伤组织和少量抗性芽; 但抗性芽中未检测到目的基因。郭晓丽(2013)利用根癌农杆菌介导的遗传转化体系, 将*CBF*、*ICE1*、*ICE2*三个基因转入‘突尼斯软籽’石榴中, 以期获得抗寒石榴新种质。刘贝贝(2018)通过qRT-PCR分析*PgCBF1*在‘突尼斯软籽’石榴根、茎、叶、花、果皮、种子中的组织表达

量, 结果表明*PgCBF1*在各组织中表达量没有显著差异; 进一步研究在拟南芥中过表达*PgCBF1*对下游冷胁迫应答基因(*COR15A*、*COR15B*、*RD29A*、*RD29B*、*RD22*、*COR47*)转录水平的影响, 发现冷胁迫下, 下游相关基因转录水平明显上调, 过表达拟南芥上调幅度大于野生型。余曦瑶等(2015)在新疆野扁桃中利用染色体步移法得到了*AlsCBF*翻译起始位点上游的启动子序列, 研究验证表明该

启动子具有非生物胁迫诱导型启动子的功能。桃 *PpCBFI* 基因在苹果中的异位表达可增加其耐冻能力, 抑制生长, 推迟春芽萌发(Wisniewski等2015); 而最新研究发现, 在桃树开花期施用适当浓度外源水杨酸可缓解花器官冻结, 这一作用是通过调节 *PpCBFI* 基因的表达模式实现(Zhang等2017)。其他果树上 *CBF* 基因研究为石榴 *PgCBF* 抗寒性功能探究提供理论基础。随着石榴基因组测序数据的公布, 下一步将借助序列数据, 利用基因编辑等技术, 重点在抗寒功能基因和调控基因的转录组学、蛋白质组学等方面加大研究力度, 探明石榴抗寒分子机理。

7 防范冻害措施

石榴冻害对果农造成巨大经济损失, 前人在预防石榴冻害以及灾后补救措施方面进行了大量研究工作(李敏2013; 董春阳等2016; 王庆军等2017; 赵乾2017; 李曦2018)。预防冻害主要从园址选择、品种选择、栽培管理等方面进行。园址尽量选择地势平坦、背风向阳、光照充足、排水良好的地块, 尽量避免冷空气聚集的低洼谷地。品种多选抗寒性强和多批次花的品种, 尽量选取抗寒砧木的嫁接苗。栽培管理上通过加强水肥管理、整枝修剪和病虫害防治等措施增强树体抗冻能力。此外还有树干涂白及包扎, 树盘、树干培土防寒, 烟熏增温, 灌溉防冻, 设施栽培等技术措施; 喷施寒克、天达-2116和芸苔素481等植物冻害保护剂显著提高石榴树细胞液浓度及细胞膜韧性, 促使花芽饱满, 增加水分含量, 增强树体和花芽的抗冻能力, 也有落叶前喷施多效唑提高抗冻性的研究报道。

8 展望

低温作为主要的非生物胁迫之一, 是影响果树生长发育、限制产量和分布的关键环境因素。因此, 研究植物响应低温信号的分子机制, 对提高果树的耐寒性, 进而提高产量及品质具有重要的科学意义。国内外专家学者在石榴品种抗寒性鉴定和评价、抗寒性生理生化、防寒措施等领域做了大量研究, 尤其在品种抗寒性差异比较以及低

温胁迫后细胞膜系统、抗氧化系统及渗透压调节物质变化方面进行详细的分析, 并取得一定的成绩, 为石榴抗寒遗传育种提供理论依据。石榴抗寒性鉴定方法不少, 但缺少一种公认通用的真实可靠、便捷高效、易于操作的方法。石榴基因组测序工作已经完成, 生物信息学的不断发展, 为抗寒性研究提供了大量数据信息。在抗寒基因筛选、表达、转化以及抗寒信号转导、网络调控等分子应答机制方面还有很大的研究空间, 伴随着基因工程和分子生物学技术的不断提高和广泛应用, 利用代谢组学、基因组学、转录组学、蛋白质组学以及生物信息学开展石榴抗寒机制研究也将取得可喜进展。抗寒分子机制研究在模式植物及其他果树上有一定的研究基础, 尤其在 *CBF* 转录因子作为核心的低温信号通路方面。下一步可以利用模式植物抗寒性研究所取得的进展, 借鉴分子生物学研究新技术和新方法, 结合石榴基因组测序数据, 重点对 *CBF* 转录因子在低温胁迫信号传递过程中调控抗寒相关基因的表达方面进行深入研究, 沿着 *CBF* 调控网络来探索石榴抗寒分子机制, 为从分子水平解决石榴冻害问题奠定理论基础。

参考文献(References)

- Bai YY (2003). The law of distribution of pomegranate freezing injury in Lintong. *Northern Horticulture*, (6): 38–39 (in Chinese) [柏永耀(2003). 临潼石榴冻害分布规律. *西北园艺*, (6): 38–39]
- Bi RX, Hao ZX, Hou LF, et al (2015). Evaluation on cold resistance of pomegranate by conductivity method. *Shandong Agric Sci*, 47 (2): 38–41 (in Chinese with English abstract) [毕润霞, 郝兆祥, 侯乐峰等(2015). 电导法评价石榴抗寒性方法的探讨. *山东农业科学*, 47 (2): 38–41]
- Bi RX, Ma M, Luo H, et al (2018). The prevention and remedial measures of pomegranate after freezing injury in the city of Zaozhuang. *Mod Agric Sci Technol*, (17): 90–92 (in Chinese) [毕润霞, 马敏, 罗华等(2018). 枣庄市石榴冻害预防及冻后补救措施. *现代农业科技*, (17): 90–92]
- Cao SY, Hou LF (2013). *Chinese Fruit Trees. Pomegranate Volume*. Beijing: China Forestry Press, 15–16 (in Chinese) [曹尚银, 侯乐峰(2013). *中国果树志. 石榴卷*. 北京: 中国林业出版社, 15–16]
- Dong CY, Huang XL, Zuo MJ, et al (2016). Protective measures against freezing injury of 'Meng Yang Hong' pomegranate in autumn and winter. *Mod Agric Sci Technol*, (18): 84 (in Chinese) [董春阳, 黄晓霖, 左明杰等(2016).

- 蒙阳红石榴秋冬季冻害防护措施. 现代农业科技, (18): 84]
- Fan CL, Zhao Q, Qu JZ (2014). Cold rootstock grafting effect of Tunisia soft seeds pomegranate. *Deciduous Fruits*, 46 (4): 16–17 (in Chinese) [范春丽, 赵奇, 曲金柱(2014). 突尼斯软籽石榴的抗寒砧木嫁接效果. 落叶果树, 46 (4): 16–17]
- Guo XL (2013). Transformation of Tunisia soft-seed pomegranate with cold resistance gene mediated by *Agrobacterium tumefaciens* (dissertation). Zhengzhou: Henan Agricultural University (in Chinese with English abstract) [郭晓丽(2013). 根癌农杆菌介导的抗寒基因转化突尼斯软籽石榴研究(学位论文). 郑州: 河南农业大学]
- Hu YC, Yang LX, Liu JQ, et al (2013). Preliminary report of the effects of meteorological factors on freeze injury of pomegranate trees. *Practical For Technol*, (2): 37–39 (in Chinese) [胡园春, 杨列祥, 刘建清等(2013). 气象因子对石榴树冻害影响的初报. 林业实用技术, (2): 37–39]
- Lansky EP, Newman RA (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J Ethnopharmacol*, 109 (2): 177–206
- Li HZ (2015). The development of pomegranate industry in Huaiyuan county of Anhui province (dissertation). Hefei: Anhui Agricultural University (in Chinese with English abstract) [李红珍(2015). 安徽怀远石榴产业发展研究(学位论文). 合肥: 安徽农业大学]
- Li JX (2018). Investigation and analysis of pomegranate freezing injury in Fangshan district of Beijing. *Xiandai Horticult*, (4): 7–8 (in Chinese) [李剑雄(2018). 北京房山地区石榴冻害调查分析. 现代园艺, (4): 7–8]
- Li M (2013). The happening and prevention of the cold and drought in Tunisia soft seeds pomegranate (dissertation). Taian, Shandong: Shandong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [李敏(2013). 突尼斯软籽石榴冻旱的发生与预防(学位论文). 山东泰安: 山东农业大学]
- Li MW (2010). Sudden drop of temperature on pomegranate caused by freezing injury and protection. *Bull Agric Sci Technol*, (11): 167–169 (in Chinese) [李明婉(2010). 骤然降温对石榴造成的冻害及防护. 农业科技通讯, (11): 167–169]
- Li X (2018). Cause of formation and anti-freezing measures of soft seeds pomegranate freezing injury in western Henan. *Mod Agric Sci Technol*, (14): 95–97 (in Chinese) [李曦(2018). 豫西地区软籽石榴冻害成因及防冻措施. 现代农业科技, (14): 95–97]
- Liao JR, Zheng ZY, Zhang WX, et al (2005). Comparing analysis of drought resistance and yield potential in different hybrid maize varieties. *J Anhui Agric Sci*, 33 (1): 7–10 (in Chinese with English abstract) [廖景容, 郑中阳, 张卫星等(2005). 玉米不同杂交组合抗旱性、丰产性的研究. 安徽农业科学, 33 (1): 7–10]
- Liu BB (2018). Screening cold-tolerant cultivars of pomegranate and analyzing the function of *PgCBF1* transcription factor (dissertation). Zhengzhou: Zhengzhou Fruit Tree Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese with English abstract) [刘贝贝(2018). 石榴抗寒品种筛选及转录因子*PgCBF1*功能分析(学位论文). 郑州: 中国农科院郑州果树研究所]
- Liu BB, Chen LN, Niu J, et al (2017). Comparison of cold resistance in 80 *Punica granatum* using relative electrical conductivity method and Logistic equation. *J Fruit Sci*, 34: 127–133 (in Chinese with English abstract) [刘贝贝, 陈利娜, 牛娟等(2017). 电导法协同Logistic方程评价80个石榴品种的抗寒性. 果树学报, 34: 127–133]
- Liu BB, Chen LN, Niu J, et al (2018). Selection of methods for evaluation on cold tolerance of six pomegranate varieties. *J Fruit Sci*, 35 (1): 66–73 (in Chinese with English abstract) [刘贝贝, 陈利娜, 牛娟等(2018). 6个石榴品种抗寒性评价及方法筛选. 果树学报, 35 (1): 66–73]
- Liu J, Xiang DY, Chen JB, et al (2009). Low temperature LT_{50} of three eucalyptus seedlings with electrical conductivity method and Logistic equation. *Guangxi For Sci*, 38 (2): 76–81 (in Chinese with English abstract) [刘建, 项东云, 陈建波等(2009). 应用Logistic方程确定三种桉树的低温半致死温度. 广西林业科学, 38 (2): 76–81]
- Liu X, Hou LF, Hao ZX, et al (2015). Evaluation of cold resistances of 12 *Punica granatum* cultivars by conductivity method. *Nonwood For Res*, 33 (3): 150–153 (in Chinese with English abstract) [刘霞, 侯乐峰, 郝兆祥等(2015). 以电导法评价12个石榴品种的抗寒性. 经济林研究, 33 (3): 150–153]
- Liu YP, Zhu YL, Kang XY, et al (2012). Cold resistance determination of different type *Magnolia grandiflora* with synergistic electrical conductivity method and Logistic equation. *J Cent South Univ For Technol*, 32 (10): 69–71 (in Chinese with English abstract) [刘艳萍, 朱延林, 康向阳等(2012). 电导法协同Logistic方程确定不同类型广玉兰的抗寒性. 中南林业科技大学学报, 32 (10): 69–71]
- Liu YS (2017). The cause reason for freezing damage and remedial measures of pomegranate. *Hebei Fruits*, (2): 31–32 (in Chinese) [刘英胜(2017). 石榴冻害的原因及预防措施. 河北果树, (2): 31–32]
- Luo H, Hao ZX, Chen Y, et al (2018). Evaluation on cold resistance of new pomegranate varieties (germplasm). *China Fruits*, (1): 51–54 (in Chinese) [罗华, 郝兆祥, 陈颖等(2018). 石榴新品种(种质)抗寒性评价. 中国果树, (1): 51–54]

- Soloklui AAG, Ershadi A, Fallahi E (2012). Evaluation of cold hardiness in seven Iranian commercial pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. Hort Sci, 47 (12): 1821–1825
- Soloklui AAG, Gharaghani A, Oraguzie N, et al (2018). Heritability and combining ability for cold hardiness from partial dialleles in Iranian pomegranate cultivars. Hort Sci, 53 (4): 427–431
- Song SW, Liu CH, Zhang FM, et al (2012). Study on cold resistance of some varieties of pomegranate. J Henan Agric Univ, 46 (2): 143–146 (in Chinese with English abstract) [宋尚伟, 刘程宏, 张芳明等(2012). 不同石榴品种抗寒性的研究. 河南农业大学学报, 46 (2): 143–146]
- Sui SF, Wang YG, Zhang YA (2013). Analysis and research on the disaster of soft seed pomegranate in Xingyang city of Henan province. Beijing Agric, (27): 26–27 (in Chinese) [随少峰, 王玉岗, 张友安(2013). 低温冻害对河南省荥阳市软籽石榴成灾的分析与研究. 北京农业, (27): 26–27]
- Tian JC, Li JL, Yin YL, et al (2017). Analysis of pomegranate freezing injury in Zaozhuang of Shandong province in 2015. Deciduous Fruits, 49 (1): 57–58 (in Chinese) [田加才, 李甲梁, 尹燕雷等(2017). 2015年山东枣庄石榴冻害情况分析. 落叶果树, 49 (1): 57–58]
- Tian JY, Wei AZ, Liu YL, et al (2018). Research progression cold resistance of kernel apricot. J Northwest For Univ, 33 (1): 174–178 (in Chinese with English abstract) [田介云, 魏安智, 刘玉林等(2018). 仁用杏抗寒性研究进展. 西北林学院学报, 33 (1): 174–178]
- Wang P (2017). Study on the supply side reform of fruit industry in Shandong province (dissertation). Taian, Shandong: Shandong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [王鹏(2017). 山东果品产业供给侧改革研究(学位论文). 山东泰安: 山东农业大学]
- Wang QJ, Bi RX, Ma M, et al (2017). Causes and preventive measures of pomegranate freezing injury in North China. China Fruits, (2): 76–79 (in Chinese) [王庆军, 毕润霞, 马敏等(2017). 我国北方地区石榴冻害的发生原因及预防措施. 中国果树, (2): 76–79]
- Wang QJ, Hao ZX, Hou LF, et al (2015). Analysis on cold resistance of three pomegranate cultivars under cold stress. Northern Hort, (2): 18–22 (in Chinese with English abstract) [王庆军, 郝兆祥, 侯乐峰等(2015). 低温胁迫下三个石榴品种的抗寒性分析. 北方园艺, (2): 18–22]
- Wang QJ, Luo H, Zhao LN, et al (2018). Evaluation on cold resistance of 24 pomegranate cultivars. Shandong Agric Sci, 50 (1): 50–54 (in Chinese with English abstract) [王庆军, 罗华, 赵丽娜等(2018). 24个石榴品种的抗寒性评价. 山东农业科学, 50 (1): 50–54]
- Wang XY, Hu QX, Feng MC, et al (2017). Study on low temperature tolerance of ‘Tunisian Soft-seeded’ pomegranate varieties. Tianjin Agric Sci, 23 (10): 76–80 (in Chinese with English abstract) [王新宇, 胡青霞, 冯梦晨等(2017). ‘突尼斯软子’石榴品种低温忍耐程度研究. 天津农业科学, 23 (10): 76–80]
- Wisniewski M, Norelli J, Artlip T (2015). Overexpression of a peach *CBF* gene in apple: a model for understanding the integration of growth, dormancy, and cold hardiness in woody plants. Front Plant Sci, 6: 85
- Xiang K, Zhang MY, Xu Y, et al (2011). Cold-tolerance of walnut cultivars: a comprehensive evaluation. Chin J Appl Ecol, 22 (9): 2325–2330 (in Chinese with English abstract) [相昆, 张美勇, 徐颖等(2011). 不同核桃品种耐寒特性综合评价. 应用生态学报, 22 (9): 2325–2330]
- Xu CX (2014). Progress on identification and test methods of plant cold hardiness. Guangdong Agric Sci, (16): 50–54 (in Chinese with English abstract) [徐呈祥(2014). 植物抗寒性鉴定与测试方法研究进展. 广东农业科学, (16): 50–54]
- Yang XM, Yuan ZH, Yin YL, et al (2014). Comprehensive evaluation on cold resistance of different pomegranate cultivars. Shandong Agric Sci, 46 (2): 46–51 (in Chinese with English abstract) [杨雪梅, 苑兆和, 尹燕雷等(2014). 不同石榴品种抗寒性综合评价. 山东农业科学, 46 (2): 46–51]
- Yao F, Wang N, Cao SY, et al (2016). Comprehensive evaluation on cold resistance of different pomegranate cultivars. J For Environ, 36 (3): 373–379 (in Chinese with English abstract) [姚方, 王宁, 曹尚银等(2016). 不同软籽品种石榴抗寒性综合评价. 森林与环境学报, 36 (3): 373–379]
- Yu XY, Li J, Yao ZP, et al (2015). Cloning and transient expressing the promoter of *AlsCBF* gene *Amygdalus ledebouriana* schlechte in Xinjiang. Mol Plant Breed, 13 (6): 1214–1222 (in Chinese with English abstract) [余曦瑶, 李疆, 姚正培等(2015). 新疆野扁桃CBF基因启动子克隆及瞬时表达分析. 分子植物育种, 13 (6): 1214–1222]
- Yuan ZH, Zhao XQ (2014). Advances in research on pomegranate germplasm resources. China For Sci Technol, 28 (3): 1–7 (in Chinese) [苑兆和, 招雪晴(2014). 石榴种质资源研究进展. 林业科技开发, 28 (3): 1–7]
- Zhang BB, Guo L, Song ZZ, et al (2017). Effect of salicylic acid on freezing injury in peach floral organs and the expressions of *CBF* genes. Biol Plant, 61 (4): 622–630
- Zhang CL (2011). Causes and preventive measures of pomegranate freezing injury. Hebei Fruits, (2): 55–56 (in Chinese) [张长禄(2011). 石榴冻害发生原因及预防措施. 河北果树, (2): 55–56]
- Zhang WX, Zhao Z, Bai GX, et al (2006). Studies on drought resistance and yield potential in different hybrid maize. J Maize Sci, 14 (1): 94–98 (in Chinese with English ab-

- stract) [张卫星, 赵致, 柏光晓等(2006). 玉米不同抗旱杂交组合的抗旱性和丰产性研究. 玉米科学, 14 (1): 94–98]
- Zhang YX, Luo H, Hou LF, et al (2015). Cold resistance evaluation of five pomegranate varieties. *Acta Agric Zhengjiangensis*, 27 (4): 549–554 (in Chinese with English abstract) [张艳侠, 罗华, 侯乐峰等(2015). 五个石榴品种的抗寒性评价. 浙江农业学报, 27 (4): 549–554]
- Zhang YY (2010). Studies on screening cold resistant genes of *Hevea brasiliensis* using cDNA array (dissertation). Haikou: Hainan University (in Chinese with English abstract) [张燕燕(2010). 利用cDNA阵列筛选橡胶树抗寒相关基因的研究(学位论文). 海口: 海南大学]
- Zhao LN, Wang QJ, Chen Y, et al (2018). Evaluation on cold resistance of four ornamental pomegranate. *J Shandong For Sci Technol*, (1): 20–22 (in Chinese with English abstract) [赵丽娜, 王庆军, 陈颖等(2018). 4个观赏石榴品种抗寒性评价. 山东林业科技, (1): 20–22]
- Zhao Q (2017). Effect of different cold-proof measures on pomegranate and preliminary study on it's facility cultivation environment (dissertation). Zhengzhou: Henan Agricultural University (in Chinese with English abstract) [赵乾(2017). 石榴不同防寒措施的效果对比及设施栽培环境研究初探(学位论文). 郑州: 河南农业大学]
- Zhao YJ (2017). Establishment of genetic transformation system and transformed *ICE1* gene into 'Tunisia Soft-seed' pomegranate (dissertation). Zhengzhou: Henan Agricultural University (in Chinese with English abstract) [赵玉洁(2017). '突尼斯软子'石榴遗传转化体系建立及转化 *ICE1* 基因的研究(学位论文). 郑州: 河南农业大学]

Research progress on evaluation of freezing injury and cold resistance of pomegranate

JIAO Qi-Qing¹, FENG Li-Juan¹, YIN Yan-Lei^{1,*}, CUI Hong-Tao²

¹Shandong Institute of Pomology, Taian, Shandong 271000, China

²Taian Landscape Administration Bureau, Taian, Shandong 271000, China

Abstract: Freezing injury is one of the important factors affecting the development of pomegranate industry in the north of China. In recent years, great progress was obtained on the cold resistance of pomegranate. In this review, the reasons and formation mechanisms of freezing injury, identifications of cold resistance, cultivars valuation, mechanisms of cold resistance and measures of cold prevention in pomegranate were systematically summarized. The future research fields of pomegranate cold resistance were prospected.

Key words: pomegranate; cold resistance; species identification; cold resistance mechanism

Received 2018-09-20 Accepted 2019-03-11

This work was supported by Shandong Provincial Agricultural Seeds Project (2017LZN023), the Provincial Key Research and Development Program of Shandong (2018GNC111009), and the Youth Scientific Research Fund Project of Shandong Institute of Pomology (2018KY04).

*Corresponding author (yylei66@sina.com).