

两个石榴品种对低温的生理生化响应

黄梦真¹, 柴亚倩¹, 关思慧¹, 杨元玲¹, 宋娟³, 唐诚^{1*}, 杨磊², 刁明^{1*}

(¹石河子大学农学院, 特色果蔬栽培生理与种质资源利用兵团重点实验室, 新疆石河子 832003; ²新疆农业科学院园艺作物研究所, 乌鲁木齐 830000; ³新疆农业大学林学与风景园林学院, 乌鲁木齐 830000)

摘要: 【目的】研究不同低温胁迫处理下, 两个石榴品种枝条生理指标的动态响应差异, 旨在揭示不同石榴品种的抗寒特性。【方法】以新疆主栽区的‘叶城酸’石榴(耐寒性强)和引种的‘突尼斯软籽’石榴 1a 生枝条为试验材料, 采用人工模拟低温环境的方法, 观测经低温胁迫后各石榴品种在不同低温条件(-4°C、-6°C、-8°C、-10°C、-12°C)不同持续时间(6 h、12 h、18 h、24 h、30 h、36 h、42 h、48 h)下枝条相对电导率、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性、过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性、过氧化物酶(Peroxidase, POD)可溶性蛋白、可溶性糖等生理指标的变化情况, 以确定不同石榴品种在各种低温条件下的最长耐受时间。【结果】随着胁迫温度的下降, ‘突尼斯软籽’和‘叶城酸’1年生枝条的相对电导率、SOD活性、CAT活性、POD活性、可溶性蛋白含量、可溶性糖含量均呈上升趋势; 同一低温下SOD活性、CAT活性、POD活性、可溶性蛋白含量随着低温持续时间延长呈现先升高后下降趋势, 相对电导率和可溶性糖含量均呈上升趋势。随着胁迫温度的降低, ‘突尼斯软籽’和‘叶城酸’对低温的忍耐时间缩短。‘突尼斯软籽’幼苗在-4°C下能忍受48 h以上的低温胁迫, -6°C下能忍受36 h, -8°C下能忍受30 h, -10°C下能忍受18 h, -12°C下能忍受12 h, 而‘叶城酸’幼苗在-4°C和-6°C下能忍受48 h以上的低温胁迫, -8°C下能忍受42 h的低温胁迫, -10°C下忍受36 h, -12°C下忍受30 h。【结论】‘叶城酸’的抗寒性显著强于‘突尼斯软籽’, 抗寒机制主要是枝条的抗氧化和渗透调节能力强。研究结果为其他地区的石榴引种、栽培和推广应用提供参考和依据。

关键词: 石榴; 抗寒性; 低温胁迫; 抗氧化酶

中图分类号: S665.4 文献标志码: A 文章编号: 1009-9980(2024)06-0001-08

Physiological and biochemical response of two pomegranate cultivars to low temperature

HUANG Mengzhen¹, CHAI Yaqian¹, GUAN Sihui¹, Yang Yuanling¹, SONG Juan³, TANG Cheng^{1*}, Yang Lei², Diao ming^{1*}

(¹College of Agriculture, Shihezi University, Shihezi 832003, Xinjiang, China; ²Institute of Horticultural Crops, Xinjiang Academy of Agriculture Sciences, Urumqi 830000, Xinjiang, China; ³College of Forestry and Landscape Architecture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830000, Xinjiang, China)

Abstract: 【Objective】The study investigated the dynamic response variations in physiological indices of two different varieties of pomegranate branches subjected to various low temperature stress treatments, with the aim of elucidating the cold resistance traits of the 'Tunisia soft-seed' pomegranate. 【Methods】Using 'Yecheng Sour Pomegranate' (cold-resistant) from the main planting area in Xinjiang and the introduced 'Tunisia Soft-seed' pomegranate 1a branches as experimental materials, an artificial simulation of low-temperature environment was employed. The relative conductivity of branches, activities of Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Peroxidase (POD), soluble proteins, soluble sugars, were observed after low-temperature stress under different conditions (-4°C, -6°C, -8°C, -10°C, -12°C) and durations (6 h, 12 h, 18 h, 24 h, 30 h, 36 h, 42 h, 48 h). Use branches with a freezing time of 0 hours at room temperature as a

收稿日期: 2024-01-29

接受日期: 2024-04-03

基金项目: 新疆生产建设兵团重大科技项目(2021AB015)

作者简介: 黄梦真, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为设施园艺。E-mail: 3291716112@qq.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail: diaoming@shzu.edu.cn; E-mail: tangcheng1983@163.com

control. Perform physiological and biochemical analysis on the sample after thawing for 8 hours. The determination of conductivity should be carried out immediately. For the determination of other indicators, the branches should be flash-frozen in liquid nitrogen after marking and then placed in a -80°C freezer for measurement and retrieval as needed. When conducting branch measurements, select the tough bark part of the branch and perform three repeated measurements. The relative conductivity is measured using the conductivity method. The activity of superoxide dismutates (SOD) was measured using the photochemical reduction method of nitrogen blue tetrazole (NBT). The peroxidase (POD) activity was measured using the guaiacol method. The activity of catalase (CAT) was measured by UV absorption method. The soluble protein content was determined using the Coomassie Brilliant Blue method. The soluble sugar content was determined by the anthrone colorimetric method. This aimed to determine the longest tolerance duration of different pomegranate varieties under various low-temperature conditions. **【Results】** This study used the annual branches of 'Tunisian Soft-seed' pomegranate and 'Yecheng Acid Pomegranate' as experimental materials to study the changes in relative conductivity, SOD activity, POD activity, CAT activity, soluble protein content, and soluble sugar content during the dormancy period, under different low temperature treatments and durations. The correlation analysis of various physiological indicators was conducted, and the following conclusions were drawn:(1) Under different temperature and low temperature stresses, as the temperature decreases, the changes in physiological and biochemical indicators of 'Tunisian Soft-seed' pomegranate and 'Yecheng Acid Pomegranate' are basically consistent, but the rate and magnitude of changes are different. As the temperature decreases, the relative conductivity, SOD activity, POD activity, CAT activity, and soluble protein and soluble sugar content of the annual branches of the two varieties of pomegranate all show an upward trend. From the perspective of the entire low-temperature stress process, the relative conductivity value, soluble protein content, and soluble sugar content of 'Tunisian Soft-seed' pomegranate were higher than those of 'Yecheng Acid pomegranate' to varying degrees under five low-temperature stress treatments, while the SOD activity, POD activity, and CAT activity were lower to varying degrees than those of ' Yecheng Acid pomegranate'. Moreover, the relative conductivity value, soluble protein content, and soluble sugar content increased more than those of 'Yecheng Acid pomegranate', while the increase in SOD activity, POD activity, and CAT activity was smaller than that of 'Citric Acid pomegranate'.(2) Under different time stresses, with the extension of time, the overall trend of physiological and biochemical indicators of the two pomegranate varieties is basically the same, but the rate and speed of change vary among different varieties. With the prolongation of stress time, the relative conductivity value and soluble sugar content show an upward trend; SOD activity, POD activity, CAT activity, and soluble protein content showed a trend of first increasing and then decreasing. From the perspective of the entire low-temperature stress process, the relative conductivity value of 'Tunisian Soft Seed' pomegranate is small, with low SOD activity, POD activity, and CAT activity. The content of soluble protein and soluble sugar is low, and the peak time of SOD activity, POD activity, and CAT activity appears earlier.(3) Based on the analysis of all physiological indicators, the 'Tunisian Soft-seed' pomegranate can withstand low temperature stress for more than 48 hours at -4°C , 36 hours at -6°C , 30 hours at -8°C , 18 hours at -10°C , and 12 hours at -12°C . However, 'Yecheng Acid Pomegranate' can withstand low temperature stress for more than 48 hours

at -4 °C and -6 °C, 42 hours at -8 °C, 36 hours at -10 °C, and 30 hours at -12 °C. The cold resistance of 'Ye Cheng Acid Pomegranate' is stronger than 'Tunisia Soft-seed' pomegranate. Provide reference basis for further promotion and application of cold prevention measures for the two varieties. 【 Conclusion 】 Pomegranate seedlings of 'Tunisia soft-seed ' could tolerate low temperature stress for more than 48 h at -4 °C, 36 h at -6 °C, 30 h at -8 °C, 18 h at -10 °C, and 12 h at -12 °C. Whereas 'Ye Cheng sour pomegranate' seedlings could tolerate low-temperature stress for more than 48 h at -4 °C and -6 °C, 42 h at -8 °C, 36 h at -10 °C, and 30 h at -12 °C. 'Ye Cheng sour pomegranate' was more cold-resistant than 'Tunisia Soft-seed' pomegranate. The cold resistance of 'Ye Cheng Acid Pomegranate' is stronger than that of 'Tunisia Soft-seed' pomegranate. The cold resistance mechanism is mainly due to the strong anti-oxidation and osmotic regulation ability of branches. The results provide reference and basis for the introduction, introduction, cultivation and popularization of pomegranate in other areas.

Key words: Pomegranate ; Cold resistance; Low temperature stress; Antioxidant enzymes

石榴 (*Punica granatum* L.) 为石榴科 (Punicaceae) 石榴属 (*Punica* L.)^[1] 亚热带植物, 喜温畏寒, 耐贫瘠, 适宜在温暖气候条件下生长^[2], 在低温气候条件下容易发生冻害, 冻害原因包括但不限于寒潮降温、持续低温、霜冻及“倒春寒”等^[3], 当温度低于-15 °C 时, 石榴易遭受冻害, 而-19 °C 是其露地越冬的临界低温^[4]。‘突尼斯软籽’石榴早熟、籽粒大、色泽鲜艳、籽粒软, 深受消费者欢迎, 但是该品种抗寒性弱, 幼苗在气温-10 °C 以下易受冻^[5]。近几年, 中国北方石榴主产区在冬季出现异常低温的情况时有发生, 导致石榴种植业损失惨重, 中国石榴生产与发展的制约因素之一在于其耐寒性^[6], 因此如何采取切实有效的措施以降低冻害损失, 已成为石榴生产亟需解决的难题。

国内外学者针对石榴抗寒生理特性进行了大量研究, Soloklui 等^[7]认为随着低温胁迫的加剧, 石榴的抗寒性与可溶性糖之间的相关性显著高于脯氨酸, 同时其电导率、MDA 含量以及脯氨酸含量均呈上升趋势。唐海霞等^[8]从生理、形态和解剖方面结合田间越冬率对 3 种抗寒差异显著的石榴品种进行越冬期抗寒性研究, 结果发现‘突尼斯软籽’抗寒性最差, 田间越冬率为 0。雷梦瑶等^[9]将 4 个石榴品种枝条在 4 °C ~ -15 °C 下低温下处理 24 h, 结合渗透调节物质及抗氧化酶等指标, 运用隶属函数法对石榴枝条抗寒性进行综合评价。罗华等^[10]通过模拟低温胁迫环境, 测定 0 °C ~ -20 °C 低温处理下 1 年生休眠枝条的电导率随温度的变化情况, 配合 Logistic 方程计算 LT₅₀, 综合 MDA、Pro 含量变化, 评价 9 个石榴新品种的抗寒性。王庆军等^[11]对 24 个石榴品种进行了抗寒性综合评价, 研究发现‘突尼斯软籽’石榴的半致死温度最高, 达到了-7.95 °C, 且其抗寒能力最差。

目前, 对石榴各品种的抗寒性已进行了较全面的研究, 但研究采用的温度梯度过大, 进而影响试验精确度, 而石榴在低温环境中所能承受的低温胁迫持续时长往往被忽视。针对新疆石榴在生产过程中所遇到的实际问题, 本试验以休眠期的 1 年生‘突尼斯软籽’和‘叶城酸’枝条为试验材料, 通过观察不同低温胁迫条件下, 两个品种不同时间枝条生理指标变化, 确定不同石榴品种在各种低温条件下的最长耐受时间, 以便为其他地区的石榴引种、栽培和推广应用提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为 2a 生扦插繁育的‘突尼斯软籽’和‘叶城酸’ (对照), 均于 2022 年 12 月采自石

河子大学农学院的试验站温室，选取同一休眠时间、直径 1-2cm 之间的粗度一致、无机械损伤和无病害的 1a 生枝条，收集完毕后，迅速用湿润的纱布将其包裹并放入塑料袋中，然后迅速带回实验室进行备用，测定指标在新疆生产建设兵团特色果蔬栽培生理与种质资源利用兵团重点实验室完成。

1.2 试验设计

将两个品种的枝条分别置于-4℃、-6℃、-8℃、-10℃、-12℃（5 个温度梯度）的低温培养箱中，每隔 6 h 取出一组，每个温度各取 8 组（6 h、12 h、18 h、24 h、30 h、36 h、42 h、48 h）每个处理 24 根枝条，以在室温条件下受冻时间为 0 h 的枝条作为对照。解冻 8 h 后对样品进行生理生化分析。电导率的测定应立即进行，对其他指标的测定，枝条经标记后用液氮速冻，再置于-80℃冰箱内，根据需要进行测量和取用。在进行枝条测定时，选择枝条的韧皮部，并对其进行 3 次重复测定。

1.3 相关生理指标的测定方法

相对电导率采用电导法测定（邹琦）^[12]；超氧化物歧化物（SOD）活性利用氮蓝四唑（NBT）光化还原的方法进行测定；过氧化物酶（POD）活性采用愈创木酚法测定；过氧化氢酶（CAT）活性采用紫外光吸收法测定；可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法；可溶性糖含量采用蒽酮比色法。

1.4 数据处理与分析

使用 Microsoft Excel 2010 软件进行了数据统计和图表绘制。

2. 结果与分析

2.1 不同低温处理对石榴枝条相对电导率的影响

植物受冻害后，部分细胞破裂使电解质渗出，可以间接表示出受损细胞占比。细胞膜受损程度随温度下降而增大，导致膜透性增加，甚至细胞死亡，而电导率则逐渐趋于稳定^[13]。如图 1 所示，随温度下降，2 个石榴品种相对电导率均呈逐渐升高趋势，这说明温度下降破坏细胞膜通透性，促进电解质渗透使相对电导率增加。同一低温胁迫下，两种石榴的相对电导率随胁迫时间延长而上升到 48h 时达到最大值。-12℃时相对电导率值都达最大值 70%左右，表明该温度对石榴膜系统破坏最严重，电解质外渗较多。与‘叶城酸’相比，‘突尼斯软籽’相对电导率值整体偏高，说明‘突尼斯软籽’遭受了严重的低温损伤，抗寒能力较差。在-4℃和-6℃低温胁迫下，‘突尼斯软籽’一年生枝条相对电导率 36 h 前基本不变，36 h 后明显上升，48h 到达最大值，分别为 54.73%、58.26%；-8℃处理下 30 h 时的电导率值最高，为 62.48%，36 h 后变化不明显；-10℃处理下 12 h 之前上升幅度变化较大，18 h 时达到最大值 65.02%，24 h 后变化不明显，48 h 到达最大值 67.65%；-12℃处理下 12 h 之前相对电导率急剧上升至 69.19%后基本不变。‘叶城酸’一年生枝条相对电导率值在-4℃低温胁迫下基本不变，48 h 到达最大值 49.03%；-6℃和-8℃处理下 42 h 后明显上升，48 h 分别到达最大值 55.55%、61.84%；-10℃处理下 18 h 前缓慢上升，30 h 时后急剧升高，36 h 达到最大值 66.54%后基本不变；-12℃处理下缓慢上升至 30 h 最大值 70.54%后基本不变。‘叶城酸’的相对电导率值增幅均低于‘突尼斯软籽’。

由此可见‘突尼斯软籽’在-4℃下能忍受 48 h 以上的低温胁迫，-6℃下能忍受 36 h 的低温胁迫，-8℃下能忍受 30 h，-10℃下能忍受 18 h，-12℃下忍受 12 h。‘叶城酸’在-4℃和-6℃下能忍受 48 h

以上的低温胁迫，-8℃下忍受 42 h，-10℃下忍受 36 h，-12℃下忍受 30 h。

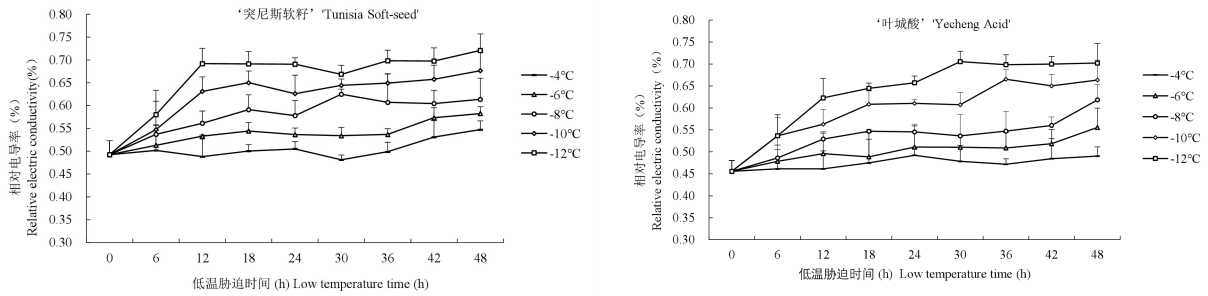


图 1 不同低温胁迫中 2 个品种石榴枝条相对电导率的变化

Figure 1 Changes of relative electrical conductivity of branches of two varieties of pomegranate under different low temperature stress

2.2 不同低温处理对石榴枝条 SOD 活性变化的影响

作为细胞内主要的抗氧化酶，SOD 在叶绿体、线粒体和细胞质中广泛分布，成为植物抗氧化系统的首要屏障。SOD 能消除细胞内多余的超氧根阴离子 (O_2^-)，促进 O_2^- 歧化生成 H_2O_2 和 O_2 ，通过降低细胞膜脂质的过氧化水平，有效地保护细胞膜不受自由基伤害，保持植物活性氧代谢的稳定^[14]。如图 2 所示，两个石榴品种在低温胁迫下，SOD 活性随温度的下降而先上升后下降。-4℃低温胁迫下‘突尼斯软籽’枝条 SOD 值变化不明显，42 h 时到达最大值 $138.90 U \cdot g^{-1}$ ；在-6℃、-8℃、-10℃和-12℃处理下，分别在 36 h、30 h、18 h 以及 12 h 出现 SOD 活性最高峰值，分别为 $178.32 U \cdot g^{-1}$ 、 $209.76 U \cdot g^{-1}$ 、 $222.87 U \cdot g^{-1}$ 、 $269.05 U \cdot g^{-1}$ ，这表明，低温已经启动了石榴体内的冻害防御机制，促使植株开始主动合成大量的 SOD，以消除低温产生的自由基和活性氧。随后，SOD 活性不可逆转地下降，可能由于低温打破石榴冻害防御机制而使植物清除自由基能力降低，动态平衡失调而呈现危害，并最终打破机体代谢平衡^[15]。而‘叶城酸’枝条在-4℃、-6℃、-8℃、-10℃和-12℃处理下，分别在 48 h、42 h、42 h、36 h 以及 30 h 出现 SOD 活性最高峰值，分别为 $174.19 U \cdot g^{-1}$ 、 $193.99 U \cdot g^{-1}$ 、 $228.67 U \cdot g^{-1}$ 、 $234.68 U \cdot g^{-1}$ 、 $281.53 U \cdot g^{-1}$ 。SOD 活力的大小能反应植物对冷逆境反应的强度，在相同低温逆境条件下，‘突尼斯软籽’SOD 活力始终低于‘叶城酸’，表明‘叶城酸’的抗寒性更强。

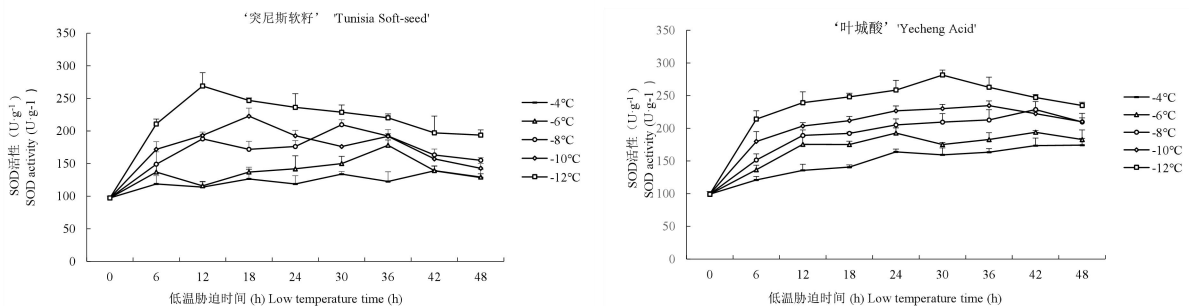


图 2 不同低温胁迫中 2 个石榴品种枝条 SOD 活性变化

Figure 2 Changes of SOD activity in branches of 2 pomegranate varieties under different low temperature stress

2.3 不同低温处理对石榴枝条 POD 活性变化的影响

POD 是广泛存在于植物体内的氧化还原酶，其作用在于维持细胞结构的完整性，增强细胞的抗衰老能力以及对抗不良影响的影响^[6]。如图 3 所示，两个石榴品种枝条中 POD 活性的变化趋势大致相同，都遵循“单峰”的变化曲线，即先增加后减少。‘突尼斯软籽’枝条在-4℃、-6℃、-8℃、-10℃和-12℃处理下，分别在 42 h、36 h、30 h、18 h 以及 12 h 出现 POD 活性最高峰值，分别较对照高出 31.95%、51.66%、56.37%、57.26%、61.23%，后缓慢下降，这与 SOD 活性变化协同，表明持续低温可引起植物体内超氧自由基和其它活性氧升高，石榴枝条 POD 活性在低温持续一定时间后不可逆转下降，石榴枝条表皮皱缩失水，表明受到冷害^[17]。‘叶城酸’枝条在-4℃、-6℃及-8℃-处理下，均在 42 h 出现 POD 活性最高峰值，分别较对照高出 44.55%、49.27%、61.36%；在-10℃、-12℃处理下分别在 36 h、30 h 出现 POD 活性最高峰，分别较对照高出 63.68%、65.44%。‘叶城酸’POD 活性总体高于‘突尼斯软籽’，在相同低温胁迫下，POD 活性峰值出现相对更晚，这说明‘叶城酸’的抗寒性强于‘突尼斯软籽’。

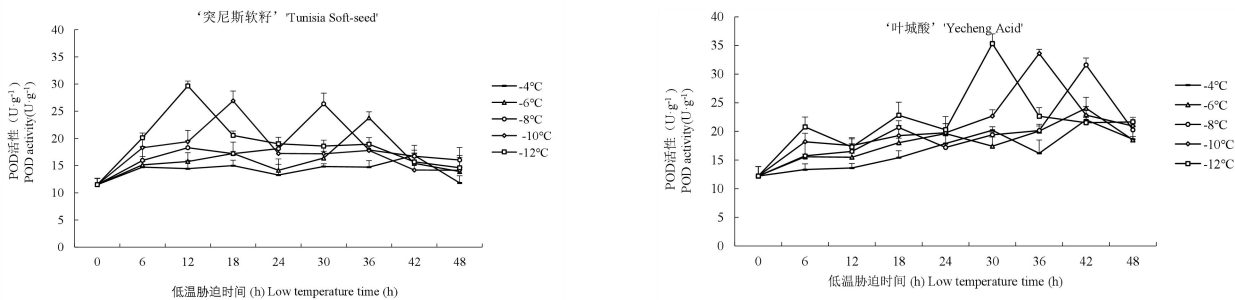


图 3 不同低温胁迫中 2 品种石榴枝条 POD 活性变化

Figure 3 Changes of POD activity in two varieties of pomegranate branches under different low temperature stress

2.4 不同低温处理对石榴枝条 CAT 活性变化的影响

作为一种专门去除 H_2O_2 的保护酶，CAT 活性与植物的抗逆性息息相关，当 H_2O_2 积累时会引发破坏性氧化反应，而 CAT 与 SOD 的协同作用则可有效去除植物体内的 H_2O_2 ，避免其对植物细胞膜系统造成破坏^[18]。如图 4 所示，不同低温胁迫中‘突尼斯软籽’枝条 CAT 活性的变化趋势一致，都是“单峰”曲线变化，呈先升高后降低的趋势，与 SOD 及 POD 活性变化相似，-4℃和-6℃处理下 CAT 活性最高值均出现在 42 h，较对照分别高出 64.72%、66.99%。-8℃、-10℃、-12℃处理下 CAT 活性最高峰值分别出现在 30 h、18 h 和 12 h，温度越低越先出现峰值，分别较对照高出 72.49%、74.14% 以及 74.39%，随后 CAT 活性明显降低，说明枝条已经受到严重冻害。在-8℃、-10℃和-12℃的低温胁迫下，‘叶城酸’枝条 CAT 活性变化呈“单峰”曲线变化，CAT 活性最高值峰分别出现在 42 h、36 h 和 30 h，分别较对照高出 76.79%、77.63% 以及 79.89%，在-4℃和-6℃低温胁迫下，42 h 前 CAT

活性缓慢上升, 42 h 后急剧增加, 48 h 达到最大值, 且分别较对照高出 65.25%和 76.07%。‘叶城酸’ CAT 值整体高于 ‘突尼斯软籽’, 且在相同低温胁迫下, CAT 活性峰值出现较晚, 说明 ‘叶城酸’ 的抗寒性强于 ‘突尼斯软籽’。

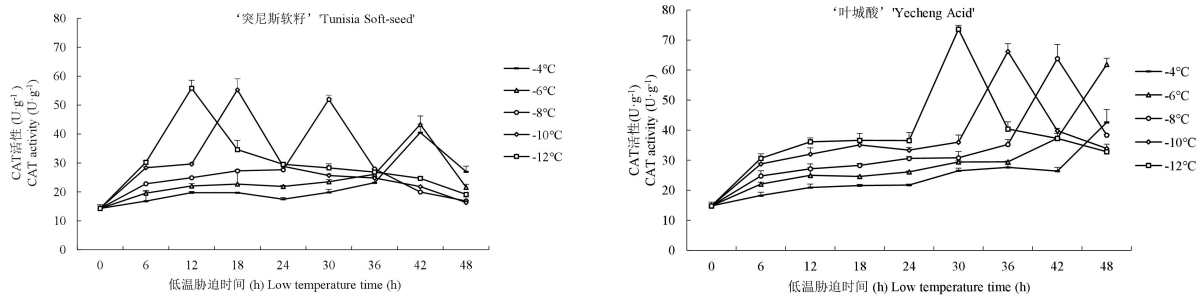


图 4 不同低温胁迫中 2 品种石榴枝条 CAT 活性变化

Figure 4 Changes of CAT activity in branches of 2 varieties of pomegranate under different low temperature stress

2.5 不同低温处理对石榴枝条可溶性蛋白含量变化的影响

植物的抗寒性与其可溶性蛋白含量密切相关, 在低温条件下, 通过激活相关蛋白质的合成, 提高胞内束缚水含量, 达到降低冰点、避免细胞冻结造成细胞脱水死亡^[19]。如图 5 所示, 随着胁迫温度的降低, ‘突尼斯软籽’ 和 ‘叶城酸’ 枝条可溶性蛋白含量均表现上升的趋势, 但在相同低温处理中, 随着处理时间的增加, 其可溶性蛋白质的含量逐渐降低。‘突尼斯软籽’ 枝条在 -4°C、-6°C、-8°C、-10°C、-12°C 处理下, 可溶性蛋白含量分别在 42 h、36 h、30 h、18 h、12 h 有显著增加, 分别为 45.73 mg·g⁻¹、47.51 mg·g⁻¹、49.92 mg·g⁻¹、50.15 mg·g⁻¹、51.68 mg·g⁻¹, 与对照相比分别升高了 18.08%、21.12%、24.96%、25.30%、27.52%, 可见, 在低温条件下, 石榴中可溶性蛋白质的快速合成对植物具有一定的保护作用, 后又缓慢降低, 说明此时部分细胞结构及生理功能可能损坏, 蛋白合成系统受到损害, 蛋白质合成受阻^[20]。‘叶城酸’ 枝条在 -4°C、-6°C、-8°C、-10°C、-12°C 低温处理下, 可溶性蛋白含量分别在 48 h、48 h、42 h、36 h、30 h 有显著增加, 分别为 41.47 mg·g⁻¹、44.06 mg·g⁻¹、47.22 mg·g⁻¹、47.81 mg·g⁻¹、48.45 mg·g⁻¹, 与对照相比分别升高了 11.97%、18.52%、23.97%、24.91%、25.90%。‘叶城酸’ 可溶性蛋白含量总体及增幅均低于 ‘突尼斯软籽’。

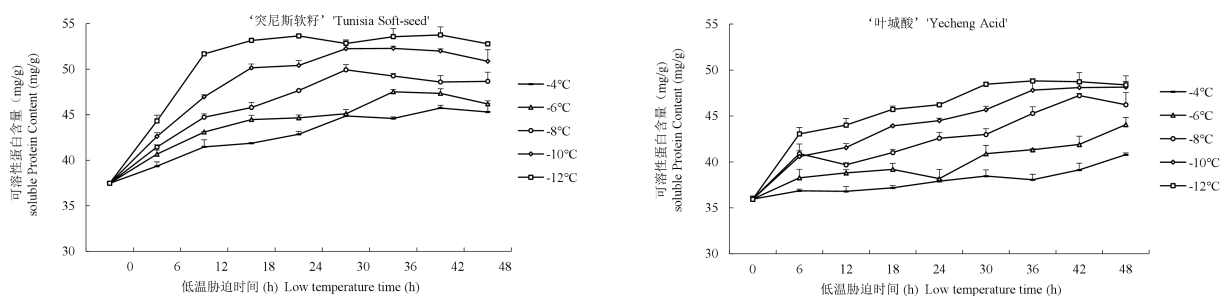


图 5 不同低温胁迫中 2 品种石榴枝条可溶性蛋白活性变化

Figure 5 Changes of soluble protein activity in branches of 2 varieties of pomegranate under different low temperature stress

2.6 不同低温处理对石榴枝条可溶性糖含量变化的影响

在植物抵抗寒的生理过程中，可溶性糖能够增加细胞的渗透浓度，降低水势并增强其保水功能，从而使冰点降低。此外，可溶性糖还能保护细胞内的原生质体、线粒体和细胞膜上的敏感性耦联因子^[21]。如图 6 所示，‘突尼斯软籽’和‘叶城酸’枝条可溶性糖含量均随胁迫温度降低和时间延长而升高，在-4℃、-6℃、-8℃、-10℃、-12℃处理下，‘突尼斯软籽’可溶性糖含量较对照分别显著升高了 45.33%、54.98%、53.47%、59.36%、64.50%，‘叶城酸’可溶性糖含量较对照分别显著升高了 39.32%、50.41%、54.68%、53.95%、58.44%。结果表明，‘突尼斯软籽’可溶性糖含量增长幅度大于‘叶城酸’，在低温胁迫下，总体可溶性糖含量显著高于‘叶城酸’。

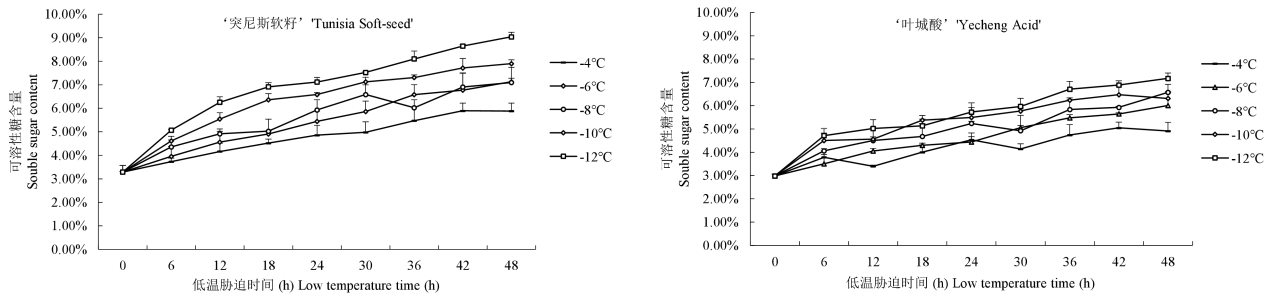


图 6 不同低温胁迫中 2 品种石榴枝条可溶性糖含量变化

Figure 6 Changes of soluble sugar content in branches of 2 varieties of pomegranate under different low temperature stress

3 讨论

3.1 相对电导率与抗寒性

植物受到低温胁迫时，其后果之一是细胞膜透性增加，溶液在细胞内不断向外渗透，从而引起细胞导电性的变化^[22]。基于细胞外渗液导电性的差异确定膜透性，进而推测膜损伤程度及抗寒强度，是植物抗寒性检测最经典的实验方法，所以相对电导率可以作为植物抗寒性评价的一个可靠指标^[23]。低温对植株的损伤程度可以通过电导率大小来反映，抗寒能力强的植株损害较小，且其相对电导率的改变较慢，并且可以恢复到正常水平。相反，抗寒能力弱的植株受害更严重，其相对导电性改变也更快，更难恢复^[24]。‘突尼斯软籽’与‘叶城酸’在低温下，其相对电导率随低温胁迫程度的加剧以及低温持续时间的延长而变化趋势一致，且两者都有升高的趋势，‘突尼斯软籽’电导率含量变化幅度较大，表明其细胞膜的损伤程度较严重，抗寒能力较弱。这与王庆军等^[1]研究结果一致，24 种石榴在低温胁迫下的相对电导率与对照温度处理相比均有所上升，但上升幅度不同，其中相对电导率值最高的‘突尼斯软籽’抗寒性最差。

3.2 保护酶与抗寒性

植物受低温胁迫后会释放出大量的活性氧自由基。植物在抵御低温胁迫时，会启动活性氧清除机制，阻止脂质过氧化作用，提高细胞膜的稳定性，缓解甚至消除低温对植株的危害^[25]。超氧化物歧化酶（SOD）是植物体内最重要的一道防御屏障，可催化 O_2^- 歧化为 H_2O_2 。为了适应低温环境，植物的代谢系统需要提高 SOD 活性，以增强其抗寒能力；当植物的耐寒能力达到极限时，其保护酶合成系统将被破坏，从而导致 SOD 活性的降低。POD 酶和 CAT 酶均能有效地去除 H_2O_2 生成的水分，3 种酶的协同作用将自由基含量控制在较低水平，降低了对植株的毒性^[26]。根据本研究结果，‘突尼斯软籽’和‘叶城酸’SOD、POD、CAT 活性在不同温度低温胁迫和时间胁迫处理下均表现为先上升后下降，这表明在一定程度上，石榴可通过增强其保护性酶的活性来抵抗低温胁迫，但当其超出这个阈值时，其防卫机制将被打破，从而降低其保护性酶的活性。这和关思慧^[27]等对石榴低温处理后抗氧化酶活性变化趋势的研究结果一致。在适当低温范围内，植物可通过增加抗氧化酶活性来维持细胞稳态，然而持续低温则会导致抗氧化酶活性降低，石榴细胞的自由基生产和代谢平衡被破坏。‘叶城酸’SOD、POD 和 CAT 酶活性增幅较大，说明在低温环境中表现出极强细胞抗氧化能力，与‘突尼斯软籽’相比，‘叶城酸’抗寒性更好，这与徐功勋等^[28]人的研究结果相一致，抗寒性越强的品种其抗氧化酶活性越高，响应低温的速度越快。王磊等人^[29]在石榴耐冻性研究中也发现石榴可通过激活抗氧化酶活性的方式使植株获得更高的抗寒性。

3.3 渗透调节物质与抗寒性

可溶性糖是植物的一种渗透调节物质，与植物的抗寒能力有着紧密的联系。在抗寒生理过程中，植物积累的可溶性糖能够增加细胞内的液体浓度，降低冰点，从而维持细胞内的渗透压平衡，同时也有助于维持细胞膜的正常功能。可溶性糖对线粒体及细胞膜上的偶联因子具有保护作用，是一种很好的保护剂。此外，可溶性糖还是一种有效的抗冻剂。低温锻炼后植物体内可溶性糖含量高于未经低温锻炼的植物^[30]。SOLOKLUI A A G 等研究结果表明可溶性糖是研究石榴耐寒性最好的指标^[31]。本研究发现，‘突尼斯软籽’和‘叶城酸’可溶性糖含量随着温度降低和胁迫时间增加而增加，在低温胁迫条件下，可溶性糖积累使其细胞内的液体含量升高，从而增强了持水性能和对低温的耐受力。‘叶城酸’可溶性糖含量增幅小于‘突尼斯软籽’，低温胁迫下枝条细胞组织可溶性糖含量小范围增加可减少膜内细胞低温损伤，这与刘贝贝等^[32]人的研究结果一致。

植物的抗寒性与其可溶性蛋白质之间存在着密切的联系。一方面，随着气温的降低，植株的可溶性蛋白质含量也随之升高；另一方面，随着抗寒性的增强，植株中可溶蛋白的质量分数也随之增加^[33]。可溶性蛋白质具有维持低渗透压、抑制离子吸收、保护细胞结构等功能。研究发现，随低温胁迫时间的延长，‘突尼斯软籽’和‘叶城酸’可溶性蛋白含量呈先升高后降低的变化趋势。低温胁迫后期因蛋白质合成系统遭到破坏而使可溶性蛋白含量降低，从而阻碍了蛋白质的正常合成，这与杨雪梅等^[34]人的研究结果一致。

通过耐寒机制的探究对引种和栽培新品种都具有十分重要的科学和实践意义，但其中涉及的调控机制有待进一步研究。今后将结合抗寒基因的鉴定、转录调控等方面对本研究中得到的结论进一步的验证，为新疆地区石榴栽培和应用提供有效的数据支撑和理论参考。

4 结论

综上所述, ‘突尼斯软籽’在-4℃下能忍受48 h以上的低温胁迫,-6℃下能忍受36 h的低温胁迫,-8℃下能忍受30 h,-10℃下能忍受18 h,-12℃下能忍受12 h。而‘叶城酸’在-4℃和-6℃下能忍受48 h以上的低温胁迫,-8℃下能忍受42 h的低温胁迫,-10℃下忍受36 h,-12℃下忍受30 h。因此,‘突尼斯软籽’抗寒性弱于‘叶城酸’,抗寒机制主要是枝条的抗氧化和渗透调节能力强。

参考文献 References:

- [1] 刘威, 刘博, 蔡卫佳, 王昊, 陈芬, 谭军.国内软籽石榴栽培品种及研究进展[J].北方农业学报, 2020, 48(04): 75-82.
LIU Wei, LIU Bo, CAI Weijia, WANG Hao, CHEN Fen, TAN Jun. Research progress of cultivars of soft-seed pomegranate in domestic[J]. Journal of Northern Agriculture, 2020, 48(04): 75-82.
- [2] 罗华, 郝兆祥, 侯乐峰, 王庆军, 马敏.国内外软籽石榴研究进展[J].山东农业科学, 2017, 49(4): 157-163.
LUO Hua, HAO Zhao, HOU Lefeng, WANG Qingjun, MA Min. Research Progress of Soft-seed Pomegranate Domestic and Foreign[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2017, 49(4): 157-163.
- [3] 侯乐峰, 郭祁, 郝兆祥, 罗华.我国软籽石榴生产历史、现状及其展望[J].北方园艺, 2017, (20)196-199.
HOU Lefeng, GUO Qi, HAO Zhaoxiang, LUO Hua. History of soft-seeded pomegranate production in China, current situation and its outlook[J]. Northern Horticulture, 2017, (20)196-199.
- [4] 焦其庆, 冯立娟, 尹燕雷, 崔洪涛.石榴冻害及抗寒评价研究进展[J].植物生理学报, 2019, 55(04): 425-432.
JIAO Qiqing, FENG Lijuan, YIN Yanlei, CUI Hongtao. Progress in the evaluation of frost damage and cold resistance in pomegranate[J]. Plant Physiology Journal, 2019, 55(04): 425-432.
- [5] 李全景, 安广池, 段宝敏, 崔云鹏, 王倩, 胡园春.秋末石榴冻害气象预测预警模型的构建[J].山东林业科技, 2023, 53(02): 34-38.
LI Quanjing, AN Guangchi, DUAN Baomin, CUI Yunpeng, WANG Qian, HU Yuanchun. Construction of Meteorological Forecast and Early Warning Model for Pomegranate Freezing Injury in Late Autumn[J]. Shandong Forestry Science and Technology, 2023, 53(02): 34-38.
- [6] 邹红婷.软籽石榴栽培技术[J].云南农业, 2020(11): 58-60.
ZOU Hongting. Cultivation technology of soft-seeded pomegranate[J]. Yunnan Agriculture, 2020(11): 58-60.
- [7] Soloklui AAG, Gharaghani A, Oraguzie N, et al (2018). Heritability and Combinig Ability for Cold Hardiness from Partial Dialleles in Iranian Pomegranate Cultivars[J/OL]. HortScience, 53(4):427-431.
- [8] 唐海霞, 杨雪梅, 冯立娟, 朱峰, 周继磊, 尹燕雷. 3个石榴品种越冬抗寒性及生理差异分析[J].园艺学报, 2023, 50(07): 1563-1573.
TANG Haixai, YANG Xuemei, FENG Lijuan, ZHU Feng, ZHOU Jilei, YIN Yanlei. Analysis of Freezing Tolerances and Physiological Differences of Three Pomegranate Cultivars During the Overwintering[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2023, 50(07): 1563-1573.
- [9] 雷梦瑶, 高小峰, 白清敏, 邓珂, 左卫芳, 李玉英.不同品种石榴枝条的抗寒性评价[J].河南农业科学, 2023, 52(06): 120-130.
LEI Mengyao, GAO Xiaofeng, BAI Qingmin, DENG Ke, ZUO Weifang, LI Yuying. Evaluation of Cold Resistance of Pomegranate Branches from Different Varieties[J]. Henan Agricultural Science, 2023, 52(06): 120-130.
- [10] 罗华, 郝兆祥, 陈颖, 孟健, 王庆军, 赵丽娜, 侯乐峰.石榴新品种(种质)抗寒性评价[J].中国果树, 2018(01): 51-54.

- LUO Hua, HAO Zhaoxiang, Chen Ying, MENG Jian, WANG Qingjun, ZHAO Lina, HOU Jiefeng. Evaluation of cold resistance of new pomegranate varieties (germplasm)[J]. *China Fruit Tree*, 2018(01): 51-54.
- [11] 王庆军, 罗华, 赵丽娜, 陈颖, 王艳芹, 王玉海, 郝兆祥. 24个石榴品种的抗寒性评价[J]. *山东农业科学*, 2018, 50(01): 50-54+59.
- WANG Qingjun, LUO Hua, ZHAO Lina, CHEN Ying, WANG Yanqin, WANG Yuhai, HAO Zhaoxiang. Evaluation on Cold Resistance of 24 Pomegranate Cultivars[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2018, 50(01): 50-54+59.
- [12] 邹琦. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- ZOU Qi. Principles and techniques of plant physiology and biochemistry experiments [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [13] 曹燕燕, 葛昌斌, 齐双丽, 廖平安, 黄杰, 王君, 李雷雷, 乔冀良, 张振永. 不同冬小麦品种(系)拔节期低温胁迫生理反应及抗寒性评价[J]. *江苏农业科学*, 2022, 50(17): 59-66.
- CAO Yanyan, GE Changbin, QI Shuangli, LIAO Pingan, HUANG Jie, WANG Jun, LI Leilei, QIAO Jiliang, ZHANG Zhenyong. Physiological Responses to Low-temperature Stress and Evaluation of Cold Resistance of Different Winter Wheat Varieties (lines) during Nodulation[J]. *Jiangsu Agricultural Science*, 2022, 50(17): 59-66.
- [14] 黄祥, 楚光明, 徐迎春, 王雪莲, 杨梅花. 2种睡莲不同部位对低温胁迫的生理响应及抗寒性评价[J]. *江苏农业科学*, 2022, 50(09): 128-134.
- HUANG Xiang, CHU Guangming, XU Yingchun, WANG Xuelian, YANG Meihua. Physiological Response to Low Temperature Stress and Evaluation of Cold Resistance of Different parts of two Water Lilies[J]. *Jiangsu Agricultural Science*, 2022, 50(09): 128-134.
- [15] 孙艳, 李敏敏, 韩斌, 尹勇刚, 赵胜建, 郭紫娟. 六个葡萄品种根系抗寒性鉴定及综合评价[J]. *北方园艺*, 2021(17): 30-37.
- SUN Yan, LI Minmin, HAN Bin, YIN Yonggang, ZHAO Shengjian, GUO Zijuan. Identification and Comprehensive Evaluation of Root Cold Resistance of Six Grape Varieties[J]. *Northern Horticulture*, 2021(17): 30-37.
- [16] 黄一波, 汪结明, 李瑞雪, 向言词, 宋禹, 颜玲玉. 7种木莲属植物抗寒性评价及其生理机制[J]. *热带亚热带植物学报*, 2021, 29(05): 519-529.
- HUANG Yibo, WANG Jieming, LI Ruixue, XIANG Yanci, SONG Yu, YAN Lingyu. Evaluation of Cold Resistance and Physiological Mechanism of Seven Manglietia Species[J]. *Journal of Tropical Subtropical Botany*, 2021, 29(05): 519-529.
- [17] 井俊丽, 刘铭潇, 高美娜, 徐继忠, 张学英, 周莎莎. 不同苹果中间砧枝条在越冬期间的生理特性变化及抗寒性比较[J]. *河北农业大学学报*, 2022, 45(04): 25-31.
- JING Junli, LIU Mingxiao, GAO Meina, XU Jizhong, ZHANG Xueying, ZHOU Shasha. Comparison of physiological characteristics and cold resistance of branches of different apple interstocks during overwintering[J]. *Journal of Hebei Agricultural University*, 2022, 45(04): 25-31.
- [18] 位杰, 张琦, 林彩霞, 蒋媛. 不同梨品种(系)叶片解剖结构及其与抗寒性的关系[J]. *河南农业科学*, 2021, 50(08): 103-112.
- WEI Jie, ZHANG Qi, LIN Caixia, JIANG Yuan. Relationship between Cold Tolerance and Leaf Structure of Different Pear Varieties (Strains)[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2021, 50(08): 103-112.
- [19] 贾金辉, 徐凌, 刘慧纯, 蔡智军, 田晓玲, 张海涛. 8个酿酒葡萄品种的抗寒性比较[J]. *中国果树*, 2021(07): 39-44.
- JIA Jinhui, XU Ling, LIU Huichun, CAI Zhijun, TIAN Xiaoling, ZHANG Haitao. Comparison of cold resistance of eight wine grape varieties[J]. *China Fruit Tree*, 2021(07): 39-44.

- [20] 舒启琼, 罗小波, 李飞, 罗充.马铃薯抗寒研究进展[J].植物生理学报, 2021, 57(06): 111-117.
SHU Qiqiong, LUO Xiaobo, LI Fei, LUO Chong. Research progress on cold resistance of potato[J]. Plant Physiology Journal, 2021, 57(06): 111-117.
- [21] 韦霞霞, 李玉梅, 李彦彪, 郭艳兰, 贾进, 马宗桓, 毛娟, 陈佰鸿.葡萄抗寒性与韧皮部糖分及内源激素积累的相关性[J].西北农业学报, 2021, 30(03): 386-394.
WEI Xi Xia, LI Yumei, LI Yanbiao, GUO Yanlan, JIA Jing, MA Zonghuan, MAO Juan, CHEN Baihong. Correlation of cold resistance of grapes with sugar and endogenous hormone accumulation in bast[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2021, 30(03): 386-394.
- [22] 陈登文, 王飞, 高爱琴, 李嘉瑞.休眠期间低温累积对杏枝芽生理生化的影响[J].西北植物学报, 2000(02): 212-217.
CHEN Dengwen, WANG Fei, GAO Aiqin, LI Jiarui. Effect of chilling accumulation on physio-biochemical of shoots and buds of apricot during dormant stage[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2000(02): 212-217.
- [23] 段景秀, 侯禄晓, 暴会会, 汪雪梅, 郑昊吉, 祝光涛, 郭磊.低温胁迫对马铃薯幼苗抗寒相关生理指标的影响[J].云南师范大学学报(自然科学版), 2022, 42(05): 20-26.
DUAN Jingxiu, HOU Lixiao, BAO Huihui, WANG Xuemei, ZHENG Haoji, ZHU Guangtao, GUO Lei. Effects of low-temperature stress on physiological indexes related to cold resistance in potato seedlings[J]. Journal of Yunnan Normal University(Natural Sciences Edition), 2022, 42(05): 20-26.
- [24] 安常蓉, 韦小丽, 叶嘉俊, 王明丹, 田肖箫.低温胁迫对闽楠幼苗形态及生理特性的影响[J].西部林业科学, 2018, 47(03): 96-101-106.
AN Changrong, WEI Xiaoli, YE Jiajun, WANG Mingdan, TIAN Xiaoxiao. Effect of Low Temperature on Morphology and Physiology Characteristics of Phoebe bournei Seedlings[J]. Journal of West China Forestry Science, 2018, 47(03): 96-101-106.
- [25] 章希娟, 许玲, 魏秀清, 陈志峰, 余东, 许家辉.不同防寒措施对莲雾抗寒性的影响[J].中国南方果树, 2019, 48(05): 24-27.
ZHANG Xijuan, XU Ling, WEI Xiuqing, CHEN Zhifeng, YU Dong, XU Jiahui. Effects of different cold protection measures on cold resistance of Lotus corniculatus[J]. Southern China Fruit Tree, 2019, 48(05): 24-27.
- [26] 梁锁兴, 孟庆仙, 石美娟, 罗钢铁, 王贵珠.平欧榛枝条可溶性蛋白及可溶性糖含量与抗寒性关系的研究[J].中国农学通报, 2015, 31(13): 14-18.
LIANG Suoxing, MENG Qingxian, SHI Meijuan, LUO Gangtie, WANG Guizhu. Research on Relationship Between Cold-Resistance and Soluble Protein and Sugar of Corylus heterophylla × Corylus avellana Branches[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(13): 14-18.
- [27] 关思慧, 柴亚倩, 杨元玲, 刘慧英, 郝庆, 刁明.低温胁迫对石榴光合特性和抗氧化能力的影响[J].中国农学通报, 2024, 40(03): 66-75.
GUAN Sihui, CHAI Yaqian, YANG Yuanling, LIU Huiying, HAO Qing, DIAO Ming. Effects of Low Temperature Stress on Photosynthetic Characteristics and Antioxidant Capacity of Pomegranate[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2024, 40(03): 66-75.
- [28] 徐功勋, 周佳, 吕德国, 秦嗣军.4个苹果品种的抗寒性评价[J].果树学报, 2023, 40(04): 669-679.
XU Gongxun, ZHOU Jia, LV Deguo, QIN Sijun. Cold resistance evaluation of four apple varieties[J]. Journal of Fruit Science, 2023, 40(04): 669-679.
- [29] Lei Wang, Sa Wang, Ruiran Tong, Sen Wang, Jianan Yao, Jian Jiao, Ran Wan, Miaomiao Wang, Jiangli Shi,

- Xianbo Zheng. Overexpression of PgCBF3 and PgCBF7 Transcription Factors from Pomegranate Enhances Freezing Tolerance in Arabidopsis under the Promoter Activity Positively Regulated by PgICE1[J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(16): 9439.
- [30] 张基德, 李玉梅, 陈艳秋, 李莉. 梨品种枝条可溶性糖、脯氨酸含量变化规律与抗寒性的关系[J]. *延边大学农学报*, 2004, (04): 281-285.
- ZHANG Jide, LI Yumei, Chen Yanqiu, LI Li. Relationship between the change pattern of branch soluble sugar and proline content and cold resistance of pear varieties[J]. *Journal of Agronomy, Yanbian University*, 2004, (04): 281-285.
- [31] SOLOKLUI A A G, ERSHADI A, FALLAHI E. Evaluation of Cold Hardiness in Seven Iranian Commercial Pomegranate (*Punica granatum L.*) Cultivars[J/OL]. *HortScience*, 2012, 47(12): 1821-1825.
- [32] 刘贝贝, 陈利娜, 牛娟, 李好先, 张杰, 曹尚银. 6个石榴品种抗寒性评价及方法筛选[J]. *果树学报*, 2018, 35(01): 66-73.
- LIU Beibei, CHE Lina, NIU Juan, LI Haoxian, ZHANG Jie, CAO Shangyin. Selection of methods for evaluation on cold tolerance of six pomegranate varieties[J]. *Journal of Fruit Science*, 2018, 35(01): 66-73.
- [33] 刘兴禄, 王红平, 孙文泰, 董铁, 牛军强, 马明. 5个砧木苹果枝条的抗寒性评价[J]. *果树学报*, 2021, 38(08): 1264-1274.
- LIU Xinglv, WANG Hongping, SUN Wentai, DONG Tie, NIU Junqiang, MA Ming. Cold resistance evaluation of the shoots of 5 apple rootstocks[J]. *Journal of Fruit Science*, 2021, 38(08): 1264-1274.
- [34] 杨雪梅, 苑兆和, 尹燕雷, 冯立娟, 招雪晴. 不同石榴品种抗寒性综合评价[J]. *山东农业科学*, 2014, 46(02): 46-51.
- YANG Xuemei, WAN Zhaohe, YIN Yanlei, FENG Lijuan, ZHAO Xueqing. Comprehensive Evaluation on Cold Resistance of Different Pomegranate Cultivar[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2014, 46(02): 46-51.