

低温对桂花‘状元红’叶肉细胞超微结构的影响

尤 扬^{1,2} 王贤荣^{1*} 张晓云²

(¹南京林业大学生物与环境学院, 南京 210037; ²河南科技学院园艺园林学院, 新乡 453003)

摘要 为探讨北引桂花(*Osmanthus fragrans*)在低温胁迫下叶肉细胞超微结构的变化, 揭示桂花于低温胁迫下细胞结构变化规律, 该研究以3年生桂花品种‘状元红’(*O. fragrans* ‘Zhuangyuan Hong’)为试材, 分别于一系列低温下处理, 经制样切片后, 用透射电子显微镜观察叶肉细胞超微结构的变化。结果表明: 常温(20~25 °C)处理时, 各细胞器超微结构正常; 5 °C低温处理时, 叶绿体有轻微膨大现象, 线粒体结构正常; 0 °C处理时叶绿体内嗜锶体增多, 叶绿体肿胀加剧, 线粒体数量增加, 淀粉粒出现亮暗相间的轮纹; -10 °C处理时, 细胞器降解。在同一低温胁迫下不同细胞的叶绿体敏感程度不同, 这为遭受低温后植株的恢复生长提供了细胞学基础。叶肉细胞中叶绿体、线粒体、细胞核的稳定性可作为桂花对低温响应的重要参考指标。

关键词 桂花; ‘状元红’; 超微结构; 低温胁迫

Effects of Low Temperature on Mesophyll Cell Ultrastructure of *Osmanthus fragrans* ‘Zhangyuan Hong’

You Yang^{1,2}, Wang Xianrong^{1*}, Zhang Xiaoyun²

(¹College of Biology and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China;

²School of Horticulture Landscape Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

Abstract To investigate the ultrastructural change in the mesophyll cells of *Osmanthus fragrans* which was introduced from southern to northern China and reveal the regulation of cell construction changes under the low temperature stress conditions, the investigation used 3-year-old trees of *O. fragrans* ‘Zhuangyuan Hong’ as material and put them a series of low temperature. After sampling and chipping, using transmission electron microscope to observe the change of mesophyll cells ultrastructural. The ultrastructure of every organelle was normal at the normal outside temperature (20-25 °C). At 5 °C, chloroplasts underwent a slight swelling, while mitochondrial structures were normal. At 0 °C, the osmiophilic granules in chloroplasts increased, chloroplast swelled, and the total number of mitochondria increased, while the starches appeared annulated between bright and dark interphase. At -10 °C, the organelles collapsed and degraded. Therefore, the chloroplasts of different cells exposed to low temperature showed different degrees of sensitivity to low-temperature. These results provided cytological basis for the recovery and growth of the plants. The stabilization of chloroplasts, mitochondria and

收稿日期: 2017-12-02 接受日期: 2018-02-07

河南省科技计划项目(批准号: 162102110155)、河南省高等学校重点科研项目(批准号: 15A220002)、河南教育厅科学技术研究重点项目(批准号: 13A180307)和新乡市科技创新发展专项项目(批准号: CXGG16029)资助的课题

*通讯作者。Tel: 025-85427657, E-mail: wangxianrong66@njfu.edu.cn

Received: December 2, 2017 Accepted: February 7, 2018

This work was supported by the Science and Technology Project of Henan Province (Grant No.162102110155), the Key Scientific Research Projects in Henan Province Colleges and Universities (Grant No.15A220002), the Key Project of Science and Technology Research of Henan Education Department (Grant No.13A180307) and the Special Project of Scientific and Technological Innovation and Development in Xinxiang (Grant No.CXGG16029)

*Corresponding author. Tel: +86-25-85427657, E-mail: wangxianrong66@njfu.edu.cn

网络出版时间: 2018-05-15 18:08:20 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180515.1808.006.html>

nuclei in the mesophyll cells can be used as important reference indices for the response of *O. fragrans* to low temperature.

Keywords *Osmanthus fragrans*; *O. fragrans* ‘Zhuangyuan Hong’; ultrastructure; low temperature stress

桂花(*Osmanthus fragrans*)是木犀科木犀属常见的一种常绿园林植物,原产于中国,在秦岭、淮河以南地区均可以露地越冬,河南新乡为其自然分布的北线^[1]。据国际木犀属品种登录权威、南京林业大学教授向其柏(2017)研究,到目前为止,获得国际品种登录的桂花共有166个品种。‘状元红’(*O. fragrans* ‘Zhuangyuan Hong’)为丹桂品种群一个品种:小乔木或大灌木;树干灰白色;叶片长椭圆形,全缘或偶有锯齿;花枝长,花朵橙红色,亮丽;不结实;产于江浙一带。

由于北方冬季的气温较低,低温是桂花北引的主要限制因子^[2]。桂花向北方地区引种的适应性研究较少,对桂花抗寒性的研究多聚焦于生理指标的测定^[3]、冻害调查^[4]等方面。有关桂花品种北引后低温胁迫下叶片超微结构变化的研究尚未见报道。本研究以北引桂花品种‘状元红’叶片为试材,采用透射电镜研究低温胁迫下‘状元红’叶片细胞的超微结构,以期在细胞学水平上为桂花的耐寒性研究及北引桂花的大田生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器

实验仪器包括:智能人工气候室、LEICA EM UC7超薄切片机、HITACHI-HT7700型透射电子显微镜、超净工作台、包埋板、磁力搅拌器等。

1.2 试剂

实验主要试剂包括:pH7.0的0.1 mol/L的磷酸缓冲液(PBS)、4%戊二醛(pH7.0)、乙醇(15%、30%、50%、70%、80%、90%、95%、100%)、1%四氧化钨固定液、Epon812、柠檬酸铅染色液、醋酸双氧铀染色液。

1.3 材料及低温处理

桂花品种‘状元红’从浙江金华鲍志贤先生处引种到河南科技学院(河南新乡),3年生苗,苗高25~35 cm,栽于学校苗圃基地陶盆之中,所用陶盆盆高26 cm,盆口直径为30 cm,盆底直径20 cm,装有3.6 kg来自大田的土壤,盆栽土壤碱解氮含量89.8 mg/kg,速效磷含量29.6 mg/kg,速效钾含量206.6 mg/kg,土壤有机质

含量为0.85%,田间持水量45%,土壤容重1.36 g/cm³。栽培管理措施同大田。

植株正常生长时,把5株桂花品种‘状元红’盆栽幼树在10 °C条件下预处理48 h,放于人工智能气候室中,进行低温模拟,温度先后分别设置为5 °C、0 °C、-10 °C(人工气候室光照时间为12 h,光照强度为5 000 Lx);温度降低速率为1 °C/10 min,降至所需温度保持24 h取材进行固定。以常温(20~25 °C)下的‘状元红’叶片材料为对照,取样进行固定。

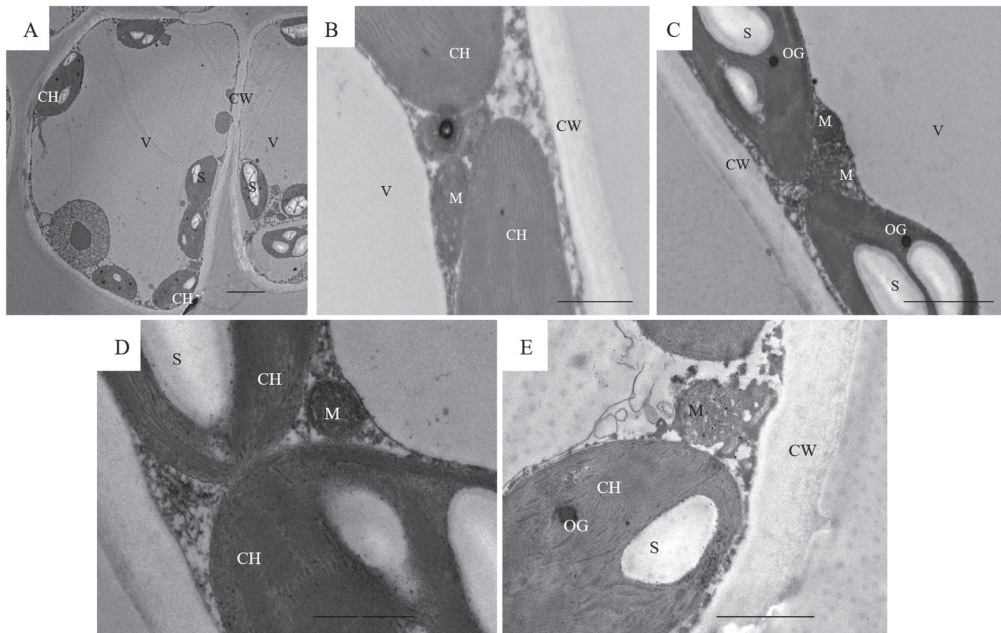
1.4 叶片细胞超薄切片制备

参照李和平^[5]的方法(有改动)制备超薄切片。从人工智能气候室取出5株经低温处理的‘状元红’植株,每株随机选取3个健壮且无病虫害的枝条,选取该枝条从顶部向下数第五或六片功能叶。该叶片用预冷蒸馏水冲洗至洁净,用滤纸吸去多余的水分,叶片置于预冷的平整石蜡块上,用锋利徕卡刀片沿叶片中部主脉两边迅速切取大小0.5 mm×1.0 mm的组织块,立即投入装有4%戊二醛溶液的预冷的青霉素小瓶,盖好瓶盖。用真空泵抽气15 min左右,至绝大部分叶组织块下沉至瓶底,在4 °C条件下固定6 h。用磷酸缓冲液(pH为7.0,浓度为0.1 mol/L)冲洗3次,每次30 min。冲洗后用1%的四氧化钨固定液在4 °C条件下固定6 h。再用同类磷酸缓冲液漂洗3次,每次30 min。系列乙醇进行脱水(15%、30%、50%、70%、80%、90%、95%、100%)每个浓度梯度30 min;丙酮过渡后环氧树脂Epon812渗透并包埋,于35 °C、45 °C、60 °C的烘箱内下分别聚合12 h、12 h、48 h。用LEICA EM UC7超薄切片机制备厚度为50~70 nm的超薄切片(钻石刀切片),铜网捞片后用柠檬酸铅-醋酸双氧铀于25 °C下双重染色各30 min,于HITACHI-HT7700型透射电子显微镜下观察,拍照。每个样品取10个视野观察统计。

2 结果

2.1 常温下叶片细胞超微结构

在常温(20~25 °C)条件下,叶肉细胞中细胞核结构完整,核膜清晰。细胞壁及质膜结构清晰完整。中央大液泡业已形成,细胞核被挤压到细胞的边缘



A: 对照叶片细胞超微结构(标尺=10 μm); B: 对照叶片细胞叶绿体超微结构(标尺=1 μm); C: 对照叶片细胞线粒体超微结构(标尺=2 μm); D: 对照叶片细胞叶绿体超微结构(标尺=500 nm); E: 对照叶片细胞线粒体超微结构(标尺=500 nm)。CH: 叶绿体; M: 线粒体; V: 液泡; N: 细胞核; CW: 细胞壁; OG: 嗜锇体; S: 淀粉粒。

A: ultrastructure of contrast leaf cells (scale bar=10 μm); B: ultrastructure of chloroplast in contrast leaves (scale bar=1 μm); C: ultrastructure of mitochondrion in contrast leaves (scale bar=2 μm); D: ultrastructure of chloroplast in contrast leaves (scale bar=500 nm); E: ultrastructure of mitochondrion in contrast leaves (scale bar=500 nm). CH: chloroplast; M: mitochondrion; V: vacuole; N: nucleus; CW: cell wall; OG: osmiophilic granules; S: starch grain.

图1 常温下‘状元红’叶片细胞超微结构

Fig.1 Ultrastructure of *O. fragrans* ‘Zhuangyuan Hong’ at normal temperature

(图1A)。叶片单个细胞视野中叶绿体数量不一,叶绿体沿质膜内侧的边缘分布,形态较为饱满,结构完整清晰(图1A~图1C),叶绿体膜结构完整,基粒片层整齐垛叠,纹理清晰可辨,同时基质片层平行排列整齐而有序(图1D和图1E)。线粒体排列在相邻的两个叶绿体之间,形态多样(图1B和图1C),线粒体膜结构完整平滑,嵴结构清晰(图1E)。淀粉粒散布于叶绿体内,多数叶绿体内有淀粉粒,淀粉粒表面光滑(图1C)。

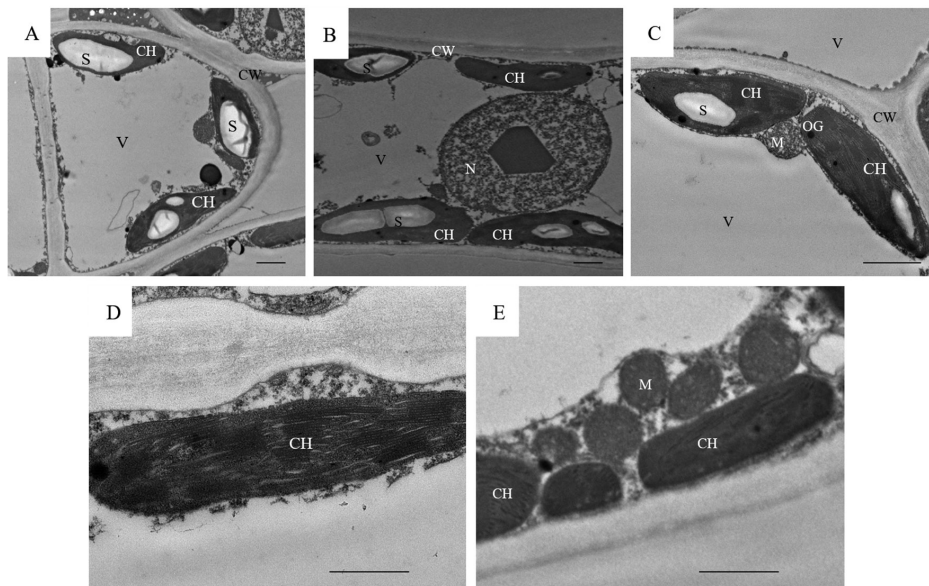
2.2 5 $^{\circ}\text{C}$ 处理下‘状元红’叶片细胞超微结构

‘状元红’叶片于5 $^{\circ}\text{C}$ 处理时,如图2A所示,细胞形态结构完整。细胞核被液泡挤向质膜的边缘,核膜清晰且完整,核仁位于细胞核的中央(图2A和图2B);和图1A一样,细胞核内有电子密度较高呈不规则棱柱状核仁,核仁居于细胞核的中心部位(图2B)。叶绿体双层膜结构清晰,基质片层未出现明显的变化,排列井然有序,未发生扭曲的现象(图2D),单个细胞有少许叶绿体。叶绿体内有少量电子密度较高呈黑色的点状嗜锇颗粒(图2C),单个细胞视野内嗜锇体的数量不等。多数叶绿体中观察视野内含有淀粉粒(图2C)。线粒体分布于相邻的两个叶绿体之间

(图2C和图2E),聚集在叶绿体附近,单个细胞观察视野中线粒体聚集在一起(图2E),其内外双层膜结构尚未受到破坏和损伤,线粒体的内嵴结构完整。细胞液泡内含物的数量较常温对照下的数量有一定的增加(图2A和图2B),这可能是低温下桂花品种‘状元红’的一种应激反应。

2.3 0 $^{\circ}\text{C}$ 处理‘状元红’叶片细胞超微结构

从图3可看出,经过0 $^{\circ}\text{C}$ 低温处理,透射电镜下‘状元红’叶片细胞结构完整,各细胞器排列整齐有序(图3A~图3C)。细胞核呈现近圆球形毗邻质膜内侧,核结构完整:核膜清晰可辨,核质分布均匀,核仁分布在细胞核靠近中央的部位,呈多面体状,电子密度较高(图3A)。叶绿体基粒片层发生肿胀现象,基质片层空间变大,变得模糊,部分叶绿体膨胀(图3B~图3D),叶绿体膜结构相对较完整(图3C和图3D);叶绿体内的淀粉粒的数量较常温下和5 $^{\circ}\text{C}$ 处理时有所减少(图3C),淀粉粒数量的减少可能是由于低温胁迫下,淀粉转化为糖分,提高细胞的渗透势来抵御外界低温的伤害;观察视野中,有电子密度较高呈黑色的嗜锇体结构。细胞观察视野内线粒体聚集在一起

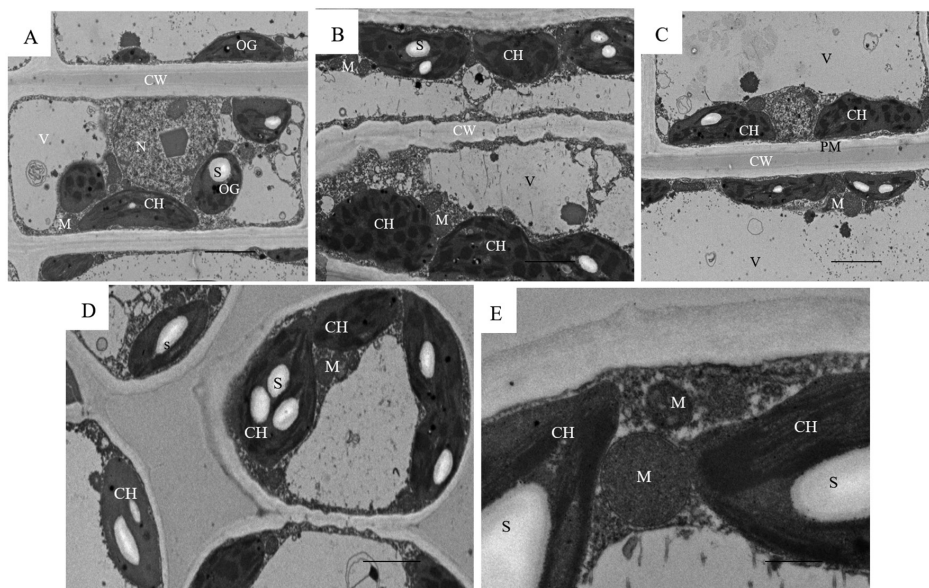


A: 5 °C处理叶片细胞超微结构(标尺=5 μm); B: 5 °C处理叶片细胞核超微结构(标尺=5 μm); C: 5 °C处理叶片叶绿体及线粒体超微结构(标尺=2 μm); D: 5 °C处理叶片叶绿体超微结构(标尺=1 μm); E: 5 °C处理叶片叶绿体及线粒体超微结构(标尺=1 μm)。CH: 叶绿体; M: 线粒体; V: 液泡; N: 细胞核; CW: 细胞壁; OG: 嗜锇体; S: 淀粉粒。

A: ultrastructure of leaf cells at 5 °C (scale bar=5 μm); B: ultrastructure of nucleus in leaves at 5 °C (scale bar=5 μm); C: ultrastructure of chloroplast and mitochondrion in leaves at 5 °C (scale bar=2 μm); D: ultrastructure of chloroplast in leaves at 5 °C (scale bar=1 μm); E: ultrastructure of chloroplast and mitochondrion in leaves at 5 °C (scale bar=1 μm). CH: chloroplast; M: mitochondrion; V: vacuole; N: nucleus; CW: cell wall; OG: osmiophilic granules; S: starch grain.

图2 5 °C处理下‘状元红’叶片细胞超微结构

Fig.2 Ultrastructure of *O. fragrans* ‘Zhuangyuan Hong’ at 5 °C



A: 0 °C处理叶片细胞超微结构(标尺=5 μm); B: 0 °C处理叶片叶绿体超微结构(标尺=5 μm); C: 0 °C处理叶片线粒体及淀粉粒超微结构(标尺=5 μm); D: 0 °C处理叶绿体和线粒体超微结构(标尺=5 μm); E: 0 °C处理叶绿体和线粒体超微结构(标尺=1 μm)。CH: 叶绿体; M: 线粒体; V: 液泡; PM: 质膜; N: 细胞核; CW: 细胞壁; OG: 嗜锇体; S: 淀粉粒。

A: ultrastructure of leaf cells at 0 °C (scale bar=5 μm); B: ultrastructure of chloroplasts in leaves at 0 °C (scale bar=5 μm); C: ultrastructure of mitochondrion and starch grain in leaves at 0 °C (scale bar=5 μm); D: ultrastructure of chloroplast and mitochondrion in leaves at 0 °C (scale bar=5 μm); E: ultrastructure of chloroplast and mitochondrion in leaves at 0 °C (scale bar=1 μm). CH: chloroplast; M: mitochondrion; V: vacuole; PM: plasma membrane; N: nucleus; CW: cell wall; OG: osmiophilic granules; S: starch grain.

图3 0 °C处理下‘状元红’叶片细胞超微结构

Fig. 3 Ultrastructure of *O. fragrans* ‘Zhuangyuan Hong’ at 0 °C

分布于叶绿体附近(图3B~图3E), 这可能有利于能量的近距离运输来抵御低温的伤害^[6], 部分线粒体形状发生一定的扭曲变形, 但膜结构及内部嵴结构完整。液泡内容物的数量较常温和5 °C处理时进一步增加(图3A~图3D)。

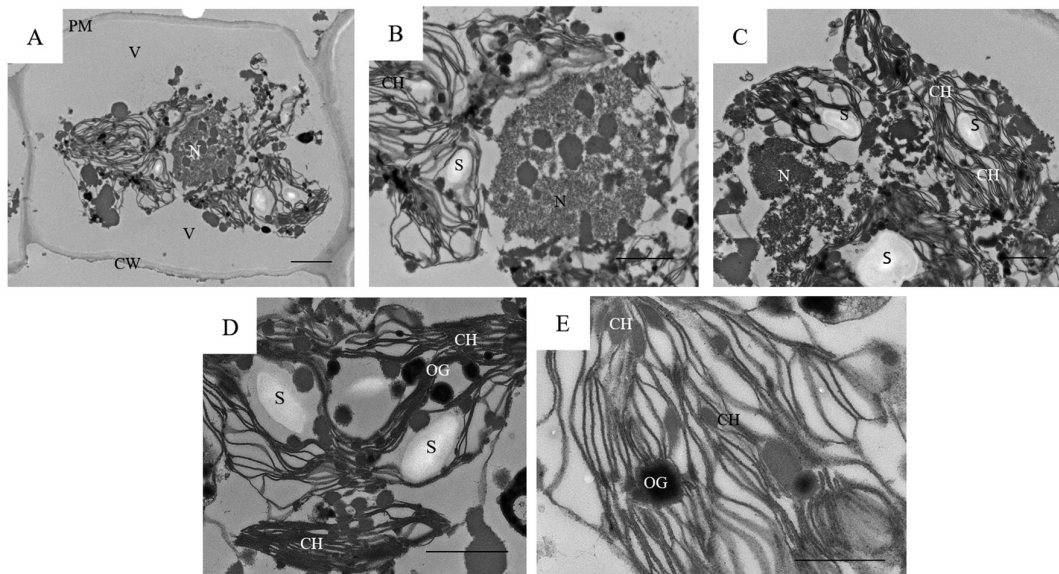
2.4 -10 °C处理‘状元红’叶片细胞超微结构

处理温度进一步降低至-10 °C, 如图4所示, 细胞结构发生严重变化: 细胞核由前期处理的规则圆球形变成不规则球形(图4B), 甚至核膜消失, 核液外流(图4C), 发生细胞核解体的现象, 细胞核内的核仁也由一个不规则棱柱整体, 分解成若干个小的碎片(图4B)。叶绿体脱离原有位置发生位移(图4A), 向细胞中央游离, 叶绿体膜系统全部解体, 而且结构松散, 形态扭曲, 失去自身的完整性。叶绿体与细胞质之间不再有清晰而明显的界线, 基质片层有断裂现象, 分布混乱, 并且基质片层进一步被拉伸、变长、变细, 甚至出现了丝状片层结构(图4D和图4E)。黑色电子密度较高的嗜锶体(脂质球)的数量增多。淀粉粒的数量和常温对照及先期低温处理相比较有所减少, 结构变得模糊不清, 可能是由于低温胁迫下, 淀粉粒进一步转化为小分子糖类增加细胞内的渗透

势来抵御低温的伤害。线粒体亦出现解体现象, 嵴结构不清晰, 内容物逸出。

2.5 不同低温处理中叶肉细胞液泡超微结构

溶酶体是一种异质性(heterogeneous)细胞器, 其形态大小有很大的不同, 植物细胞的液泡(vacuole)在某种程度上也是一个溶酶体^[7]。图5A为常温下‘状元红’叶肉细胞液泡的超微结构: 液泡吞噬了某些正在降解细胞质所形成的膜泡, 液泡内含有膜片、颗粒等结构; 图5B为图5A的局部放大图, 可见到白色箭头所指的早期小液泡呈圆球形, 不含有明显的颗粒物。图5C和图5D为5 °C胁迫处理下‘状元红’叶肉细胞液泡的超微结构: 如图5C中白色箭头所示, 液泡膜向内反折, 正通过类似“胞吞”的方式将颗粒物摄入, 事实上, 此液泡内已有两个颗粒物或膜片的结构(图5C)。由图5D可以看到, 5 °C胁迫处理下液泡数量比常温对照下液泡的数量有所增加, 并且形状变化大, 内容物增多。图5E和图5F为0 °C处理时‘状元红’叶肉细胞液泡的超微结构。图5E中圆球状的液泡结构可以理解为图5A的后期状态, 其呈现不规则、近似同心环状结构。图5F的观察视野中可以看到早期的小液泡(图5F中左侧两个白色箭头所示)和

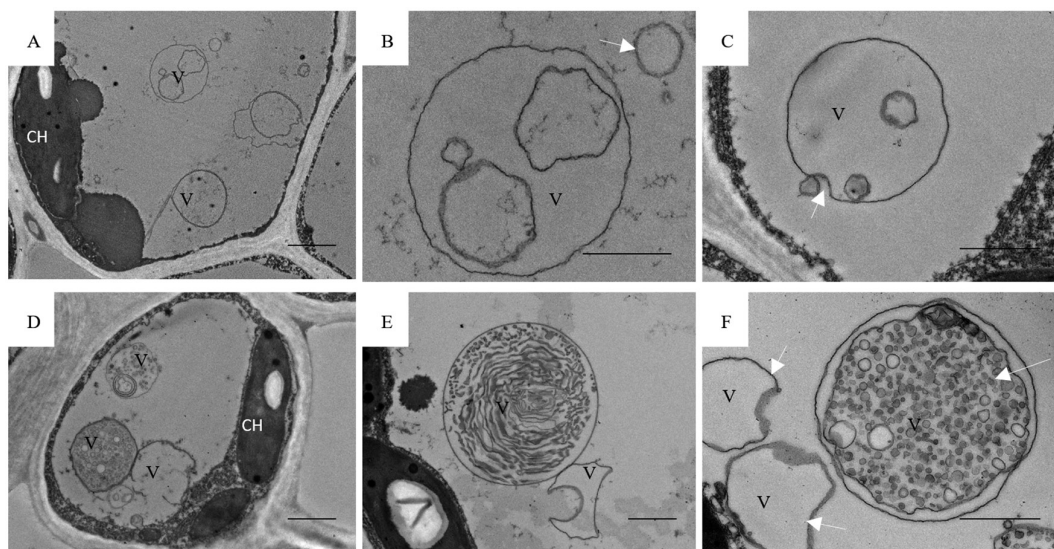


A: -10 °C处理叶片细胞超微结构(标尺=5 μm); B: -10 °C处理细胞核超微结构(标尺=2 μm); C: -10 °C处理细胞核及叶绿体超微结构(标尺=2 μm); D: -10 °C处理叶绿体及淀粉粒超微结构(标尺=1 μm); E: -10 °C处理叶片细胞叶绿体超微结构(标尺=500 nm); CH:叶绿体; V: 液泡; N: 细胞核; CW: 细胞壁; OG: 嗜锶体; S: 淀粉粒; PM: 质膜。

A: ultrastructure of leaf cells at -10 °C (scale bar=5 μm); B: ultrastructure of nucleus in leaves at -10 °C (scale bar=2 μm); C: ultrastructure of nucleus and chloroplast in leaves at -10 °C (scale bar=2 μm); D: ultrastructure of chloroplast and starch grains in leaves at -10 °C (scale bar=1 μm); E: ultrastructure of chloroplast in leaves at -10 °C (scale bar=500 nm); CH: chloroplast; V: vacuole; N: nucleus; CW: cell wall; OG: osmiophilic granules; S: starch grain; PM: plasma membrane.

图4 -10 °C处理下‘状元红’叶片细胞超微结构

Fig. 4 Ultrastructure of *O. fragrans* 'Zhuangyuan Hong' at -10 °C



A: 常温处理时液泡超微结构(标尺=2 μm); B: 常温处理时液泡超微结构(标尺=500 nm); C: 5 °C处理时液泡超微结构(标尺=1 μm); D: 5 °C处理时液泡超微结构(标尺=2 μm); E: 0 °C处理时液泡超微结构(标尺=2 μm); F: 0 °C处理时液泡超微结构(标尺=1 μm); CH: 叶绿体; V: 液泡。

A: the ultrastructure of vacuole at normal temperature (scale bar=2 μm); B: the ultrastructure of vacuole at normal temperature (scale bar=500 nm); C: the ultrastructure of vacuole at 5 °C (scale bar=1 μm); D: the ultrastructure of vacuole at 5 °C (scale bar=2 μm); E: the ultrastructure of vacuole at 0 °C (scale bar=2 μm); F: the ultrastructure of vacuole at 0 °C (scale bar=1 μm). CH: chloroplast; V: vacuole.

图5 液泡超微结构

Fig.5 Ultrastructure of vacuole

后期的液泡(图5F中右侧白色箭头所示)并存, 早期的液泡内部没有明显的颗粒物, 后期的液泡内含有大量的生物大分子、颗粒、膜片、自噬体、残质体等结构。

低温条件下, 液泡的数量在5 °C和0 °C的处理中较常温对照有了一定的增加且内容物增多, 推测这可能与低温胁迫条件下溶酶体清除衰老的细胞器和死亡的细胞有关, 也有可能是低温胁迫下植物的一种应激反应。液泡数量及其内容物的增加, 可能对植物抵御低温有一定裨益。事实上, 关于液泡结构与功能还不甚清楚了, 有关在低温胁迫之下液泡内部结构及生理功能, 还有待于进一步的研究。

3 讨论

有关文献表明, 叶绿体是对低温胁迫十分敏感的细胞器^[8-13], 而细胞核和线粒体等细胞器对低温胁迫的敏感性相对较弱^[14]。本试验电镜观察结果显示, 桂花品种‘状元红’对5 °C的低温胁迫尚能够较好的适应: 诸如叶绿体的结构清晰且完整、外膜光滑并无破裂, 叶绿体也没有低温胁迫常见的肿胀现象发生; 淀粉粒结构完整; 线粒体内外双层膜结构尚未受到破坏, 内嵴结构完整; 单位膜结构完整; 细胞核结构完整, 核膜、核仁清晰, 核液无外流现象。

伴随着胁迫处理温度的降低, 0 °C处理时, 桂花‘状元红’叶绿体有肿胀现象的发生, 且基质片层空间变大。低温胁迫下植物叶绿体肿胀变形这一现象在棉花^[8]、核桃^[12]的研究中得到印证, 这也与周蕴薇(2006)的研究结果一致^[15]。桂花‘状元红’在0 °C低温胁迫处理时线粒体数量有明显增多的现象, 并且聚集在一起毗邻着叶绿体(图3B~图3E), 这种现象在核桃^[12]和翠南报春^[15]的研究中得到了印证。线粒体紧紧毗邻叶绿体这种现象, 对于线粒体产生的能量能在比较短的时间运输到能量需求部位非常便捷。线粒体和叶绿体邻近的现象可能是桂花‘状元红’自身适应低温胁迫的一种生理反应, 线粒体数量的增多, 有利于增加植物所需能量的供给。从透射电镜观察结果来看, 此温度(0 °C)下, 线粒体和细胞核结构完整且正常, 而叶绿体则肿胀变形, 这也进一步证明了叶绿体比线粒体、细胞核对低温胁迫的反应更加敏感; 0 °C低温处理时, 仅有部分淀粉粒轻微变形(图3A和图3B)。0 °C低温胁迫下同一细胞器对低温的反应有所不同, 比如有的叶绿体出现了较为剧烈的肿胀现象, 而有些叶绿体并未发生这种现象(图3D), 这也为低温胁迫过后的恢复性生长奠定了细胞学基础。

-10 °C低温处理条件时, 细胞核核膜解体, 核

液被动外流(图4B和图4C),核仁呈碎片化散布于核内。 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫处理时,叶绿体严重变形,扭曲,并脱离原有位置,游离到了细胞的中央(图4A)。叶绿体的这种变化在低温处理的黄瓜^[16]和库拉索芦荟^[13]中也曾出现。产生这一现象的原因可能是由于某些微管骨架解聚所致。此温度胁迫下,叶绿体发生了严重的变化,有丝状片层结构出现(图4E),发生这种现象的缘由是基于基质片层被拉伸、变细变长所致。 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫处理时,淀粉粒的数量减少,这是由于淀粉粒水解的缘故。淀粉粒的水解是植物对外界低温胁迫的一种适应^[17]。淀粉粒水解为可溶性糖,致使细胞内渗透势的提高,增强了桂花‘状元红’的抗寒能力。

液泡的数量在 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的处理中较对照有了一定数量的增加且液泡内容物增多。这可能与低温条件下液泡清除衰老的细胞器和细胞有关,也可能是低温下植物的一种应激反应。

不同细胞的叶绿体在同一低温胁迫下对低温的敏感程度不尽相同(图3D),为低温后植株的恢复生长准备了细胞学基础。综上所述,‘状元红’叶肉细胞中叶绿体、线粒体、细胞核的稳定性可作为桂花对低温响应的重要参考指标。北方地区露地栽培桂花品种‘状元红’应做好防寒工作,温度应高于 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

致谢——

本课题研究在超薄切片制作过程中得到了河南科技学院实验中心陈仕均老师和杨慧、荆凤鸽两位同学的鼎力相助,在此一并致谢!

参考文献 (References)

- 1 尤扬. 华北常见园林树木. 北京: 中国农业出版社(You Yang. Common landscape plants in north China. Beijing: China Agriculture Press) 2016, 152-3.
- 2 杨康民, 朱文江. 桂花. 上海: 上海科学技术出版社(Yang Kangmin, Zhu Wenjing. Fragrans. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers) 2000, 9-10.
- 3 高金付. 桂花抗寒性的研究. 黑龙江农业科学(Gao Jinfu. Study on cold resistance of *Osmanthus fragrans*. Heilongjiang Agricultural Sciences) 2010; (4): 87-8.
- 4 徐莎, 路飞, 徐文斌, 向其柏. 南京市桂花冻害调查与分析. 林业科技开发(Xu Sha, Lu Fei, Xu Wenbing, Xiang Qibai.

- Investigation and analysis of freezing injury of *Osmanthus fragrans* in Nanjing. China Forestry Science and Technology) 2008; 22(6): 74-6.
- 5 李和平. 植物显微技术(第二版). 北京: 科学出版社(Li Heping. Technique of microscopic Plant (2nd edition). Beijing: Science Press] 2009, 78-85.
- 6 韩善华, 王双. 高度抗寒植物冬季线粒体的电镜观察. 西北植物学报(Han Shanhua, Wang Shuang. Electron microscopic observation on mitochondria of an especial cold-hardened plant in winter. Acta Bot Boreal Occident Sin) 2000; 20(4): 539-43.
- 7 翟中和, 王喜忠, 丁明孝. 细胞生物学(第四版). 北京: 高等教育出版社[Zhai Zhonghe, Wang Xizhong, Ding Mingxiao. Cell Biology (The fourth edition). Beijing: Higher Education Press] 2011, 131-2.
- 8 杨凤仙, 董俊梅, 杨晓霞. 低温胁迫下棉叶叶绿体、液泡超微结构的变化. 山西农业大学学报(Yang Fengxian, Don Junmei, Yang Xiaoxia. Variations of the ultrastructure of the leaf cell of cotton under low temperature. Journal of Shanxi Agricultural University) 2001; 2: 116-7.
- 9 曾爱松, 严继勇, 宋立晓, 高兵, 冯翠. 甘蓝幼苗叶片超微结构及细胞内 Ca^{2+} 分布对低温的响应. 华北农学报(Zeng Aisong, Yan Jiyong, Song Lixiao, Gao Bing, Feng Cui. Response of ultrastructure and Ca^{2+} distribution to low temperature in leaves of cabbage seedlings. Acta Agriculturae Boreali-Sinica) 2011; 26(6): 129-35.
- 10 Navari-izz F, Rascii N. Plant responses to water-deficit conditions. Pessarakllm. Handbook of Plant and Crop Stress(2nd edition). New York: Marcel Dekker, 1999, 231-79.
- 11 Nilsen ET, Orctutt DM. The physiology of plants under stress. New York: John Wiley & Sons, 2000, 70.
- 12 田景花, 王红霞, 张志华, 高仪. 低温逆境对不同核桃品种抗氧化系统及超微结构的影响. 应用生态学报(Tian Jinghua, Wang Hongxia, Zhang Zhihua, Gao Yi. Effects of chilling stress on antioxidant system and ultrastructure of walnut cultivars. Chinese Journal of Applied Ecology) 2015; 26(5): 1320-6.
- 13 吕琳, 何聪芬, 董银卯, 赵华, 刘家熙. 环境胁迫对库拉索芦荟叶片超微结构影响研究. 西北植物学报(Lü Lin, He Congfen, Dong Yinmao, Zhao Hua, Liu Jiayi. Effects of environmental etress on ultrastructure of aloe. Acta Bot Boreal Occident Sin) 2006; 26(9): 1940-5.
- 14 Kratsch HA, Wise RR. The ultuastructure of chilling stress. Plan Cell Environ 2000; 23: 337-50.
- 15 周蕴薇. 翠南报春叶片细胞超微结构对低温的适应性变化. 园艺学报(Zhou Yunwei. Adapted responses of mesophyll cell ultuastructure in *Primula sieboldii* leaves cultured at different low temperatures. Acta Horticulturae Sinica) 2006; 33(6): 1365-8.
- 16 田景花, 张红, 李明, 乜兰春, 王慧英. APM对黄瓜幼叶细胞超微结构冷稳定性的影响. 电子显微学报(Tian Jinghua, Zhang Hong, Li Ming, Mie Lanchun, Wang Huiying. Effect of APM on the ultrastructure cold stability of cucumber young leaf cells. Journal of Chinese Electron Microscopy Society) 2002; 21(2): 129-33.
- 17 Fagerberg WR. Cytological changes in palisada cell of developing sunflower leaves. Protoplasma 1984; 119: 21-30.