

麻疯树花药发育过程中 Ca^{2+} 的分布特征

刘焕芳^{1,2,3}, 廖景平^{1,2*}

(1. 中国科学院华南植物园, 广州 510650; 2. 广东省数字化植物园重点实验室, 广州 510650; 3. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要:采用超薄切片技术, 在透射电镜下观察麻疯树(*Jatropha curcas* L.)花药发育过程中 Ca^{2+} 的分布特征。在孢原细胞时期的花药中几乎看不到 Ca^{2+} 沉淀, 但花药维管束周围的细胞中有较多的 Ca^{2+} 沉淀; 到小孢子母细胞时期, 细胞质中 Ca^{2+} 沉淀依然较少, 绒毡层壁上 Ca^{2+} 沉淀明显增多; 四分体形成时, 小孢子细胞质和绒毡层细胞质中出现了较多的 Ca^{2+} 沉淀; 在小孢子发育早期, 细胞质中 Ca^{2+} 沉淀增加不明显, 花粉壁部位累积有很多的 Ca^{2+} 沉淀, 绒毡层中 Ca^{2+} 沉淀数量达到最多; 到小孢子发育晚期, 小孢子大液泡的液泡膜上有大量的 Ca^{2+} 沉淀, 绒毡层中 Ca^{2+} 沉淀明显减少; 随着二胞花粉中的大液泡消失, 细胞质中积累淀粉粒以后, 花粉中看到的 Ca^{2+} 沉淀极少, 同时, 在花药维管束周围的薄壁细胞中, 又出现了较多的 Ca^{2+} 沉淀, 表明花粉对 Ca^{2+} 的需求可能降低。麻疯树花药发育过程中钙的动态分布特征暗示着钙参与了调控花粉发育过程, Ca^{2+} 的运输途径是由药隔薄壁组织运输到绒毡层, 再进一步转移到小孢子表面和细胞质中, 整个花药发育过程中, Ca^{2+} 沉淀表现为少—增加—减少的变化趋势。

关键词: 麻疯树; 花药; 钙; 焦锑酸钾定位

中图分类号: Q944.62

文献识别码: A

文章编号: 1005-3395(2007)06-0493-08

Character of Calcium Distribution during the Anther Development of *Jatropha curcas* L.

LIU Huan-fang^{1,2,3}, LIAO Jing-ping^{1,2*}

(1. South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 2. Key Laboratory of Digital Botanical Garden in Guangdong, Guangzhou 510650, China; 3. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: Calcium distribution during the anther development of *Jatropha curcas* L. was observed under transmission electron microscopy by ultra-thin sectioning. At the sporogenous cell stage, very few calcium precipitates are found in the anther, but they are accumulated in the parenchymatous cells outside the vascular bundles. At the microspore mother cell stage, there are still few calcium precipitates in cytoplasm, but abundant calcium precipitates accumulate in the tapetal cell walls. After the tetrads form, abundant calcium precipitates appear in the cytoplasm of the microspores and tapetal cells. At the early microspore stage, numerous calcium precipitates accumulate in the microspore intine and abundant precipitates are found in the tapetal cells. At the late microspore stage, calcium precipitates accumulate on the vacuole membrane, but decrease in the tapetal cells. As starch grains accumulate in the mature pollen, very little calcium is found. At the same time, some calcium precipitates accumulate in the parenchymatous cells outside the vascular bundles. The character of calcium distribution during anther development of *Jatropha curcas* means that calcium plays some roles in biological significance during microspore development. Calcium precipitates are transported from the connective parenchyma cells into the tapetal cells, and they are transported into the pollen wall and cytoplasm. Quantity of calcium in the anthers during

收稿日期: 2007-01-31 接受日期: 2007-04-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(39870087, 30370099, 40332021)资助

* 通讯作者 Corresponding author

its whole developmental progress showed a changing tendency of few — increase — decrease.

Key words: *Jatropha curcas* L.; Anther; Calcium; Antimouate localization

钙是生物体内的主要元素之一,作为植物的第二信使广泛参与并调节着植物体内的生理生化反应,具有许多生理功能^[1]。在被子植物有性生殖过程中钙的功能也越来越多地被揭示^[2]。离体培养的花粉管顶端梯度分布的游离钙与花粉管的生长关系已经比较清楚^[3]。然而,关于钙在花药发育过程中的分布动态和生理功能还不清楚。国内一些研究者用焦锑酸钾沉淀法对雄蕊不育材料花药中钙的分布进行了研究,试图从中找出钙与花药败育的关系^[4-6]。最近,在对华北落叶松(*Larix principis-rupprechtii*)^[7]、烟草(*Nicotiana tabacum*)^[8]、莴苣(*Lactuca sativa* L.)^[9]等植物的花药发育过程钙分布动态的研究中都发现在特定的时期和特定的位置需要较高的钙含量。用焦锑酸钾沉淀出的钙是一种“松弛结合钙”,浓度高于游离钙^[10]。这种钙的时空分布在花粉发育过程中必将起到一定的生理作用,但不同于钙在花粉萌发和花粉管生长过程中的信号功能。焦锑酸钾沉淀法已经比较成熟,广泛应用于多种植物的研究^[7-9]。本文用焦锑酸钾沉淀法,对麻疯树(*Jatropha curcas* L.)花药发育过程中钙的分布状况进行观察研究,为探讨钙在花药发育过程中的生理功能提供依据。

1 材料和方法

实验材料麻疯树(*Jatropha curcas* L.)隶属于大戟科麻疯树属(*Jatropha* L.),采自中国科学院华南植物园药园。凭证标本(刘焕芳 003)保存在中国科学院华南植物园标本馆(IBSC)。于 2005 年 6 月上旬采集不同发育阶段的花序,取花药,迅速放入 2% 戊二醛(pH 7.0 磷酸缓冲液配制)、2% 焦锑酸钾、0.1 mol/L 磷酸缓冲溶液配制的前固定液中,室温下固定 3 h,用含 2% 焦锑酸钾、0.1 mol/L 磷酸缓冲溶液配制的洗涤液清洗 3 次,每次 30 min,再将材料转入含 1% 钼酸、2% 焦锑酸钾、0.1 mol/L 磷酸缓冲溶液配制的后固定液中,在 4℃ 下固定 16 h 左右,用相同的洗涤液清洗 3 次,每次 30 min。系列梯度酒精脱水,环氧丙烷过渡,Epon812 包埋后,先用 LKB-11800 切片机使用玻璃刀切成厚度为 2 μm 的半薄切片,甲苯胺蓝染色后在光学显微镜下初步观察以确定花药的发育时期,然后用 Leica Ultra S-2

切片机钻石刀切片,厚 80–90 μm,2%(w/v)醋酸双氧铀染色 60–90 min,6% (w/v) 柠檬酸铅染色 15 min,用日本电子 TEM-1010 电子显微镜在 90 kV 下观察并拍照。

2 结果

2.1 造孢细胞时期

造孢细胞呈多边形,排列紧密,比其它的细胞体积大,细胞壁薄,核仁明显。

造孢细胞期花药中的钙含量极少,整个造孢细胞质中基本没有 Ca²⁺ 沉淀,只在液泡内发现极少量的 Ca²⁺ 沉淀(图版 I:1, 2)。

在药壁组织中,表皮、药室内壁和中层内基本无 Ca²⁺ 沉淀(图版 I:3),绒毡层的径向壁中有极少量分布(图版 I:4, 5)。

在维管束细胞间隙中积累了较多的 Ca²⁺ 沉淀(图版 I:6),药隔薄壁组织中也有少量的 Ca²⁺ 沉淀分布于胞间隙内(图版 I:7)。这种现象似乎暗示在这个时期植物体内的钙有向花药中流动的趋势。

2.2 小孢子母细胞期

小孢子母细胞近圆形,细胞排列紧密,细胞体积大,细胞核也较大,细胞质浓厚。

小孢子母细胞时期,整个小孢子母细胞质中基本没有 Ca²⁺ 沉淀,但在母细胞周边即将沉淀胼胝质的表面上积累了一些钙颗粒,然而在胼胝质壁内则没有 Ca²⁺ 沉淀(图版 I:8)。

在药壁组织中,表皮、药室内壁和中层内出现了极少量的 Ca²⁺ 沉淀(图版 I:9),绒毡层的径向壁、外切向壁和内切向壁沉积有大量的 Ca²⁺ 沉淀,反应出此时由体内转运的 Ca²⁺ 沉淀已经到达绒毡层细胞(图版 I:10, 11)。

2.3 四分体时期

小孢子母细胞经过同时型的减数分裂后形成四分体,四个小孢子排列成四面体型被包裹在共同的胼胝质壁中,小孢子间也由胼胝质壁分离。这时在小孢子细胞质中的 Ca²⁺ 沉淀有所增加,包裹四分体的胼胝质壁中有极少量的 Ca²⁺ 沉淀(图版 I:12, II:13)。

在药壁组织中,表皮、药室内壁和中层细胞液泡化加强, Ca^{2+} 沉淀增加不显著, 表皮细胞质内出现脂类物质, 其外表面上出现少量 Ca^{2+} 沉淀(图版 II:14, 15)。在线毡层细胞中, 在靠近药室一侧形成很大的液泡, 细胞质内含大量的内质网和造粉质体, 此时期, 线毡层细胞壁上的 Ca^{2+} 沉淀明显减少, 线毡层细胞质中 Ca^{2+} 沉淀有所增加(图版 II:16, 17)。

2.4 小孢子发育早期

随着包围四分体的胼胝质壁的溶解, 四分体中的四个小孢子彼此分离。游离小孢子含有一个位于中央的较大的细胞核, 细胞质浓厚, 细胞器丰富, 主要为线粒体和内质网, 细胞核内 Ca^{2+} 沉淀含量极少, 药室内 Ca^{2+} 沉淀增多(图版 II:18, 图版 II:19)。随着小孢子的继续发育, 细胞的外壁已经发育完全, 分别是基柱层和基足层, 但内壁尚未发育。此时小孢子细胞质内部 Ca^{2+} 沉淀增加不明显, 而在基足层内部即将发育成内壁的位置上出现了很多的 Ca^{2+} 沉淀, 这些颗粒可能同内壁的形成有关(图版 II:20)。随后, 内壁开始发育, 其上附着的 Ca^{2+} 沉淀明显减少。

此时的药壁结构中, 表皮和药室内壁中的 Ca^{2+} 沉淀体积有所增大(图版 II:21), 此时绒毡层开始退化, 内切向面质膜变得不平整, 绒毡层中出现大量的内质网和线粒体, 细胞质中 Ca^{2+} 沉淀有所增加, 其径向壁和切向壁上 Ca^{2+} 沉淀也有所增加(图版 II:22, 23), 而内切向壁主要分布于内质网和液泡中(图版 II:24)。绒毡层细胞质中 Ca^{2+} 沉淀的增加可能与此时小孢子钙需求量增加有关, 或同绒毡层细胞开始降解有关。

2.5 小孢子发育晚期

小孢子形成大液泡为小孢子发育晚期。此时期, 细胞内大液泡的液泡膜上沉积有大量的 Ca^{2+} 沉淀(图版 III:25), 细胞核内依然极少有 Ca^{2+} 沉淀(图版 III:26), 在小孢子外表面分布有较多的 Ca^{2+} 沉淀(图版 III:27)。

在药壁结构中, 表皮、药室内壁和中层内的 Ca^{2+} 沉淀减少, 且主要存在于液泡中(图版 III:28)。绒毡层细胞的结构发生了显著的变化: 细胞壁结构变得模糊, 很多绒毡层细胞之间都难以分清界限, 绒毡层细胞内出现了大量的大小均一的小泡和油滴, 内质网较多。绒毡层细胞质内 Ca^{2+} 沉淀有所减少, 内

切向壁和外切向壁上的 Ca^{2+} 沉淀明显减少(图版 III:29)。

2.6 二胞花粉期

小孢子通过一次高度不对称的分裂, 形成了大小不等, 形态、结构不同的营养细胞和生殖细胞, 大的营养细胞继承了原来小孢子的大部分细胞质, 而小的生殖细胞只含有少量的细胞质。整个花粉的细胞质内 Ca^{2+} 沉淀明显减少(图版 III:30), 营养细胞中的细胞器数量也明显减少, 含有大量的淀粉粒, 生殖细胞的细胞质中含有大量的脂类物质和少量的淀粉粒(图版 III:31)。在花粉粒的表面仍有一些 Ca^{2+} 沉淀分布(图版 III:32)。

在药壁组织中, 绒毡层和中层已经完全降解, 只剩下表皮和药室内壁, 细胞高度液泡化, 细胞质被挤到了细胞边缘。在药室内壁的液泡膜上、胞间隙内及内壁上有大量的 Ca^{2+} 沉淀(图版 III:33, 34), 在中层和绒毡层的残留物中仍保留了一些 Ca^{2+} 沉淀(图版 III:35)。

在药隔组织中的维管束细胞内又积累了较大的 Ca^{2+} 沉淀(图版 III:36)。说明此时期药室中的花粉粒对钙的需求已经减少, 运往药室中的钙又开始积累到药隔组织细胞中了。

3 讨论

3.1 花药发育过程中钙的分布特征及功能

在小麦(*Triticum aestivum L.*)^[5]和水稻(*Oryza sativa L.*)^[6]可育花药和不育花药的钙分布特征研究中, 在正常可育花药的小孢子时期有大量的钙向花药药室中转运, Ca^{2+} 沉淀主要附在花粉外壁上, 在花粉细胞质中钙的含量被控制在很低的水平; 但在不育花药中, 一方面向花药药室中转运的钙明显减少, 另一方面败育花粉中又积累了较多的 Ca^{2+} 沉淀, 两种花药中的钙分布有明显的差别^[4, 6]。这些结果不仅揭示了在正常花药发育过程中需要较多的钙流入花药中, 暗示钙在花药发育过程中具有重要的生理功能, 而且也表明钙离子异常分布与雄蕊不育的花药败育有关。在麻疯树花药发育过程中, 游离小孢子时期, 花药各个组织中的 Ca^{2+} 沉淀都明显增加, 并呈现出向花药药室中移动的趋势。这和莴苣^[9]花药发育过程中出现的情况相似。Tian 等^[4]推测花药药室中的高钙状态可能与吸引大量营养物质

进入药室有关。在本实验中,钙在花药中积累的高峰期正是小孢子形成花粉外壁和大液泡的时期,说明钙在花粉发育过程中起了重要作用。小孢子分裂形成二胞花粉后,花粉开始积累大量的淀粉粒,钙的需求可能下降,花药中的钙又被转移到了药隔组织细胞等部位。这可能正是钙在生物体内发挥生理功能的一种时空特征。

3.2 花粉发育过程中钙的分布状况及功能

麻疯树的花粉在孢原细胞和母细胞时期,几乎看不到 Ca^{2+} 沉淀,四分体形成时,小孢子细胞质中的 Ca^{2+} 沉淀增多,游离小孢子时期,随着小液泡的形成以及小液泡融合成一个大液泡,细胞内的 Ca^{2+} 沉淀就被集中在液泡中,花粉壁部位累积有很多的 Ca^{2+} 沉淀,在二胞花粉时期,除了在花粉粒的表面有一些 Ca^{2+} 沉淀分布,花粉中的钙普遍减少。因此,花粉发育过程中花药形态变化最剧烈的时期,也是花药中钙含量最高的时期。

在莴苣^[10]花粉的发育过程中, Ca^{2+} 沉淀在花粉外壁的构建中起到很大的作用,而在花粉内壁合成过程中, Ca^{2+} 沉淀一直非常少。在麻疯树小孢子的发育过程中,花粉外壁中沉淀了较多的 Ca^{2+} 沉淀,且在基足层内部即将发育成内壁的位置上也出现了很多的 Ca^{2+} 沉淀,这些 Ca^{2+} 沉淀可能同内壁的形成有关。白菜(*Brassica campestris* L.)花粉的发育情况^[11]和麻疯树相似。这说明在不同植物花粉壁发育过程中钙的分布状况是不一样的,可能与 Ca^{2+} 沉淀在不同植物花粉壁的发育中所起的作用不尽相同有关。

3.3 绒毡层中钙的分布状况及功能

绒毡层是花药壁的最内层体细胞,直接与发育中的小孢子和花粉相联系,对花粉的发育具有至关重要的影响。绒毡层细胞退化属于一种细胞程序性死亡(PCD)^[12-13],由钙离子调节的信号系统在植物细胞程序性死亡中起到重要作用^[14]。Wang^[15]等利用分子标记和免疫组织化学方法证实了由钙离子调节的信号系统与花药发育过程中的细胞程序性死亡有关。Tian 等^[4]在光敏核不育水稻中观察到:在可育花药的小孢子发育后期, Ca^{2+} 沉淀大量分布在绒毡层中,但在不育花药的药壁细胞中,钙离子大量分布在中层,在绒毡层细胞中却很少。他们认为不育

花药中钙离子的异常分布可能影响花粉的发育。

在麻疯树花药发育过程中,造孢细胞时期的绒毡层内基本无 Ca^{2+} 沉淀存在,在小孢子母细胞时期,绒毡层壁上开始沉积有大量的 Ca^{2+} 沉淀,四分体时期,绒毡层细胞壁上的 Ca^{2+} 沉淀明显减少,绒毡层细胞质中 Ca^{2+} 沉淀有所增加,在小孢子发育早期,绒毡层细胞壁和细胞质内的 Ca^{2+} 沉淀数量均达到最多,晚期绒毡层内 Ca^{2+} 沉淀明显减少,绒毡层细胞进一步退化,到二胞花粉期完全退化,推测钙与绒毡层细胞退化密切相关。

致谢 美国北卡罗莱纳州大学的 Bruce Kenneth Kirchoff 博士对本文的英文摘要做了仔细修改,特此致谢。

参考文献

- [1] Bush D S. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling [J]. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1995, 46:95-122.
- [2] Tian H Q(田惠桥), Yuan T(远彤). Calcium function in fertilization process in Aniosperms [J]. Acta Photophysiol Sin(植物生理学报), 2000, 26:369-380.(in Chinese)
- [3] Holdaway-Clark T L, Feijo J A, Hackett G R, et al. Pollen tube growth and the intracellular cytosolic calcium influx is delayed [J]. Plant Cell, 1997, 9:1999-2010.
- [4] Tian H Q, Kuang A, Musgrave M E, et al. Calcium distribution in fertile and sterile anthers of a photoperiod-sensitive genic male-sterile rice [J]. Planta, 1998, 204:183-192.
- [5] Meng X H(孟祥红), Wang J B(王建波), Li R Q(利容千). Effect of photoperiod on calcium distribution in photoperiod-sensitive cytoplasmic male-sterile wheat during anther development [J]. Acta Bot Sin(植物学报), 2000, 42(1):15-22.(in Chinese)
- [6] Li R Q(利容千), Zhu Y G(朱英国), Meng X H(孟祥红), et al. The distribution of calcium in the pollen and connective tissue of Honglian-Yuetai cytoplasmic male sterile rice [J]. Acta Agron Sin(作物学报), 2001, 27(2):230-235.(in Chinese)
- [7] Kong H Y, Jia G X. Calcium distribution during pollen development of *Larix principis-rupprechtii* [J]. Acta Bot Sin, 2004, 46:69-76.
- [8] Zheng M Z(郑茂钟), Yang Y H(杨延红), Guo J(郭娟), et al. The primary observation of calcium distribution during the anther development of tobacco [J]. J Xiamen Univ (Nat Sci) (厦门大学学报:自然科学版), 2004, 43:126-132.(in Chinese)
- [9] Qiu Y L(邱义兰), Liu R S(刘如石), Xie C T(谢潮添), et al. The character of calcium distribution in developing anther of lettuce (*Lactuca sativa* L.) [J]. Acta Biol Exp Sin(实验生物学报), 2005, 38:377-386.
- [10] Wick S M, Hepler P K. Selective localization of intracellular calcium with potassium antimonite [J]. J Histochem Cytochem, 1982, 30:1190-1204.
- [11] Xie C T(谢潮添). Cytological and molecular biological research

- on a genic male sterile Chinese cabbage (*Brassica campestris* L.) [D]. Xiamen: Xiamen University, 2005.(in Chinese)
- [12] Wang M S, Hoekstra S, Van Bergen G E M, et al. Apoptosis in developing anthers and the role of ABA in this process during androgenesis in *Hordeum vulgare* L. [J]. Plant Mol Biol, 1999, 39: 489–501.
- [13] Tian H Q(田惠桥). Programmed cell death during sexual reproduction in Angiosperms [J]. Acta Photophysiol Sin(植物生理与分子生物学报), 2002, 28(3):161–168.
- [14] Ning S B, Wang L, Song Y C. Programmed cell death in plants — A new emerging research field [J]. Devp Reprod Biol, 1999, 8:71–100.
- [15] Wang L, Wang Y, Zhang M, et al. Pollination-induced apoptosis in tobacco related to expression of calcium/calmodulin-dependent protein kinase T1 [J]. Devp Reprod Biol, 2001, 10:53–60.

图版说明

En: 药室内壁 Endothecium; Ep: 表皮细胞 Epidermal cell; Gn: 营养细胞核 Generative nucleus; Ml: 中层 Middle layer; MMC: 小孢子母细胞 Microspore mother cell; M: 小孢子 Microspore; n: 细胞核 Nucleus; SC: 造孢细胞 Sporogenous cell; S: 淀粉粒 Starch grain; T: 绒毡层 Tapetal cell; Vb: 维管束 Vascular bundle; Vn: 营养细胞核 Vegetative nucleus。黑色箭头示 Ca^{2+} 沉淀 Black arrows show Ca^{2+} precipitates.

图版 I

1–7. 造孢细胞时期花药中的 Ca^{2+} 分布; 1. 造孢细胞; 2. 图 1 中细胞质的部分放大, 液泡内有少量 Ca^{2+} 沉淀; 3. 表皮、药室内壁和中层细胞中基本无 Ca^{2+} 沉淀; 4. 绒毡层细胞; 5. 图 4 的部分放大, 绒毡层径向壁中有少数 Ca^{2+} 沉淀; 6. 维管束; 7. 药隔薄壁组织; 8–11. 小孢子母细胞时期花药中的 Ca^{2+} 分布; 8. 小孢子母细胞壁上有 Ca^{2+} 沉淀; 9. 表皮、药室内壁和中层细胞内有少量 Ca^{2+} 沉淀; 10. 绒毡层的壁上有大量的 Ca^{2+} 沉淀; 11. 图 10 中内切向壁和径向壁的部分放大; 12–17. 四分体时期花药中的 Ca^{2+} 分布; 12. 小孢子和包围小孢子的胼胝质中有少量 Ca^{2+} 沉淀;

图版 II

13. 图 12 中单个小孢子的放大; 14. 表皮、药室内壁和中层细胞内有少量 Ca^{2+} 沉淀; 15. 表皮外表面有少量 Ca^{2+} 沉淀; 16. 绒毡层细胞壁上 Ca^{2+} 沉淀减少; 17. 绒毡层细胞质中 Ca^{2+} 沉淀增多; 18–24. 小孢子发育早期花药中的 Ca^{2+} 沉淀分布; 18. 小孢子细胞质内钙含量较少, 药室内钙含量较高; 19. 细胞核内的 Ca^{2+} 沉淀; 20. 花粉内壁部位有大量 Ca^{2+} 沉淀; 21. 表皮和内壁中 Ca^{2+} 沉淀较大; 22. 绒毡层细胞质和细胞壁上 Ca^{2+} 沉淀增多; 23. 绒毡层径向壁上 Ca^{2+} 沉淀丰富; 24. 绒毡层内质网和液泡中 Ca^{2+} 沉淀丰富;

图版 III

25–29. 小孢子发育晚期花药中的 Ca^{2+} 沉淀分布; 25. 小孢子的液泡膜上有大量的 Ca^{2+} 沉淀; 26. 细胞核内 Ca^{2+} 沉淀较少; 27. 小孢子外表面有许多 Ca^{2+} 沉淀; 28. 表皮、药室内壁和中层细胞中 Ca^{2+} 沉淀很少; 29. 绒毡层细胞质和细胞壁上的 Ca^{2+} 沉淀明显减少; 30–36.

二胞花粉期花药中的 Ca^{2+} 分布; 30. 花粉内 Ca^{2+} 含量极少; 31. 生殖细胞与营养细胞; 32. 花粉粒表面仍有少量 Ca^{2+} 沉淀; 33. 药室内壁的液泡膜和胞间隙内有大量的 Ca^{2+} 沉淀; 34. 药室内壁的内切向壁上也有大量的 Ca^{2+} 沉淀; 35. 在中层和绒毡层的残留物中仍保留了一些 Ca^{2+} 沉淀; 36. 维管束导管中有大量的 Ca^{2+} 沉淀。

Explanation of plates

Plate I

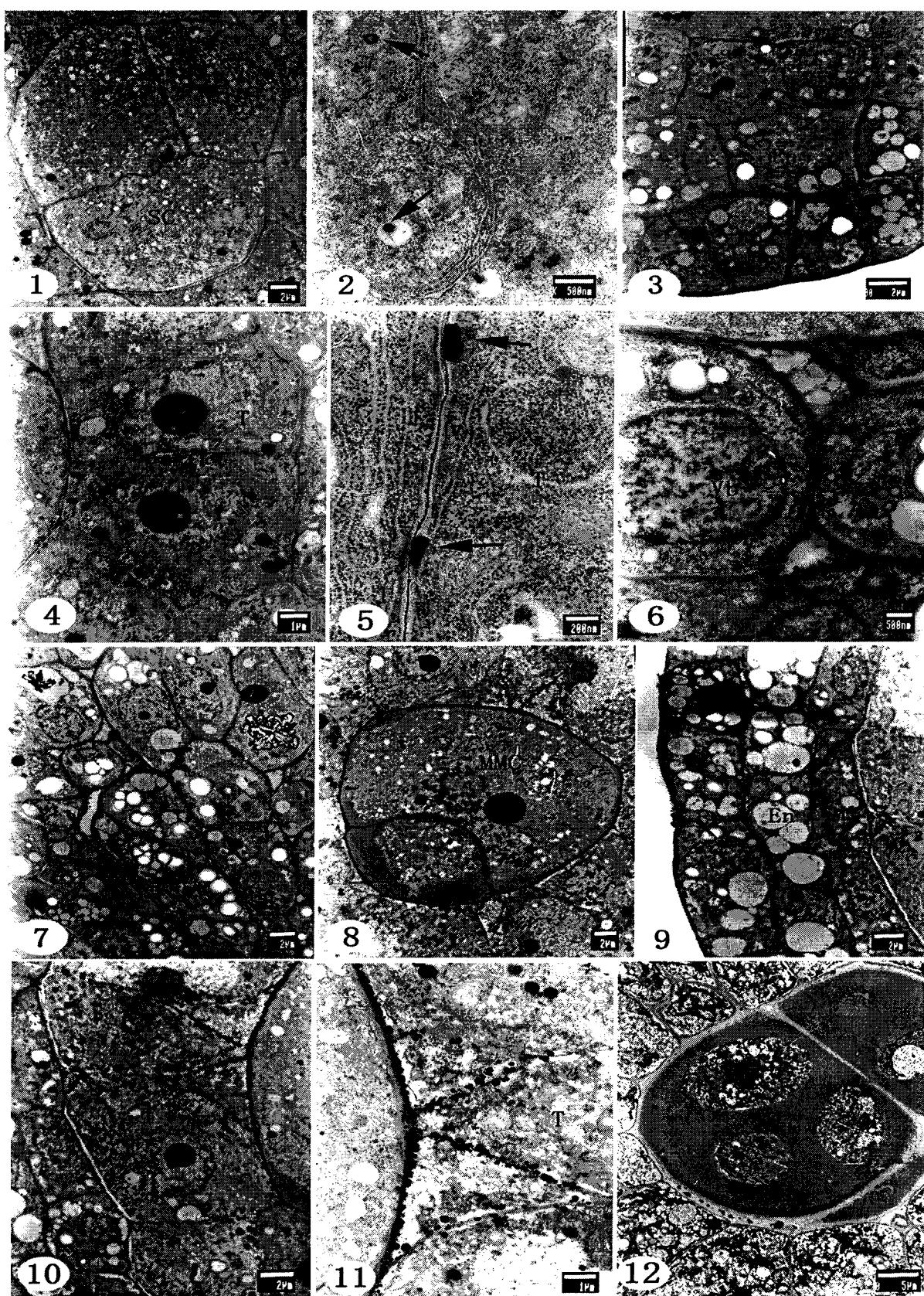
1–7. Ca^{2+} distribution in anthers at the sporogenous stage; 1. Sporogenous cells; 2. Enlarged view of a part of Fig. 1, few Ca^{2+} precipitates in vacuoles; 3. Very few Ca^{2+} precipitates in cells of epidermis, endothecium and middle layers; 4. The tapetal cells; 5. Enlarged view of a part of Fig. 4, few Ca^{2+} precipitates in radial wall of tapetal cells; 6. Vascular bundle; 7. The connective tissue; 8–11. Ca^{2+} distribution in anthers at microspore mother cell stage; 8. A few Ca^{2+} precipitates in the walls of microspore mother cell; 9. Few Ca^{2+} precipitates in cells of epidermis, endothecium and middle layers; 10. Abundant Ca^{2+} precipitates in the tapetal cell walls; 11. Enlarged view of a part of Fig. 10, showing tangential wall and radial wall of tapetal cells; 12–17. Ca^{2+} distribution in anthers at tetrad stage; 12. A few Ca^{2+} precipitates in microspores and the callose surrounding them;

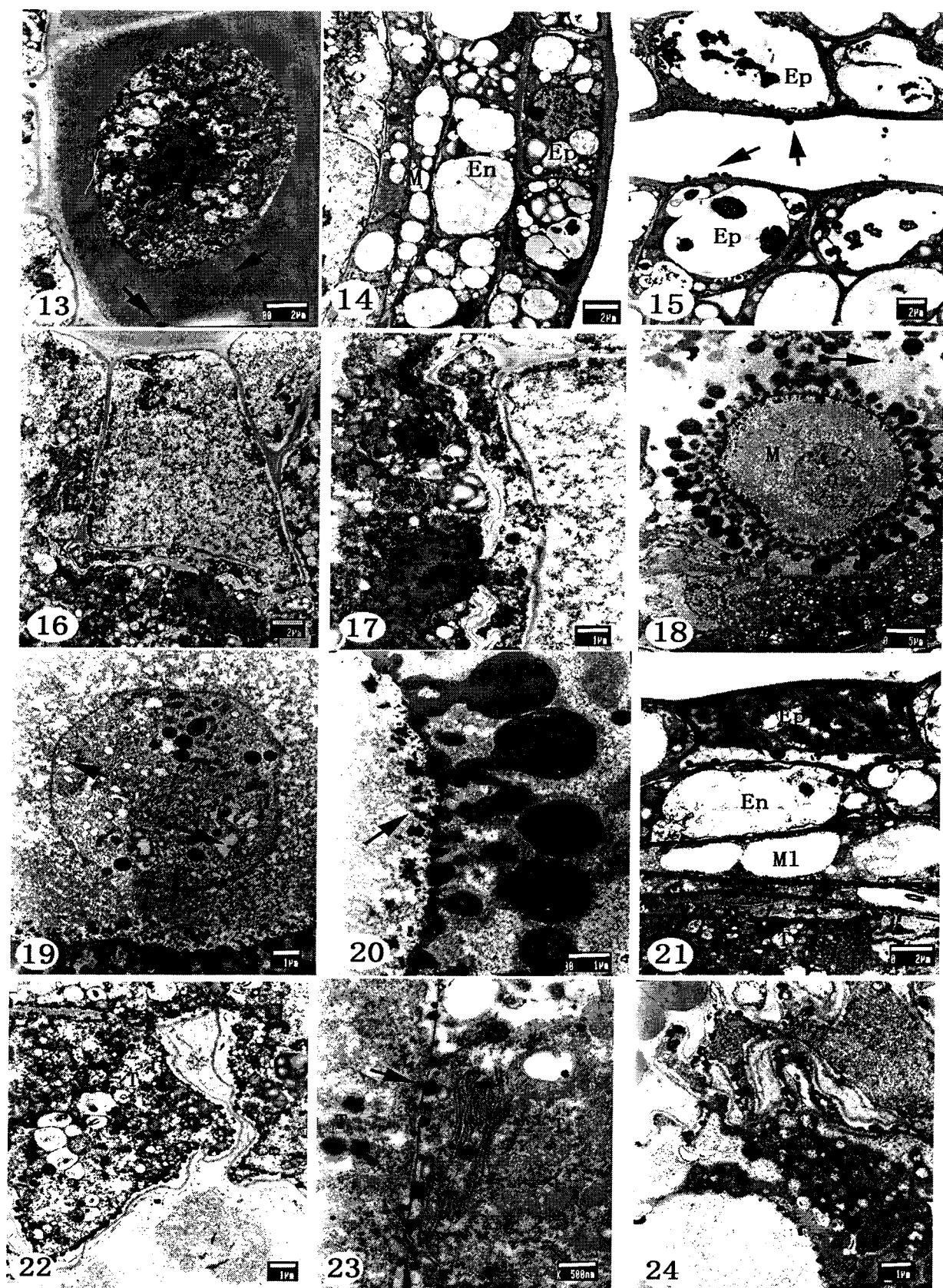
Plate II

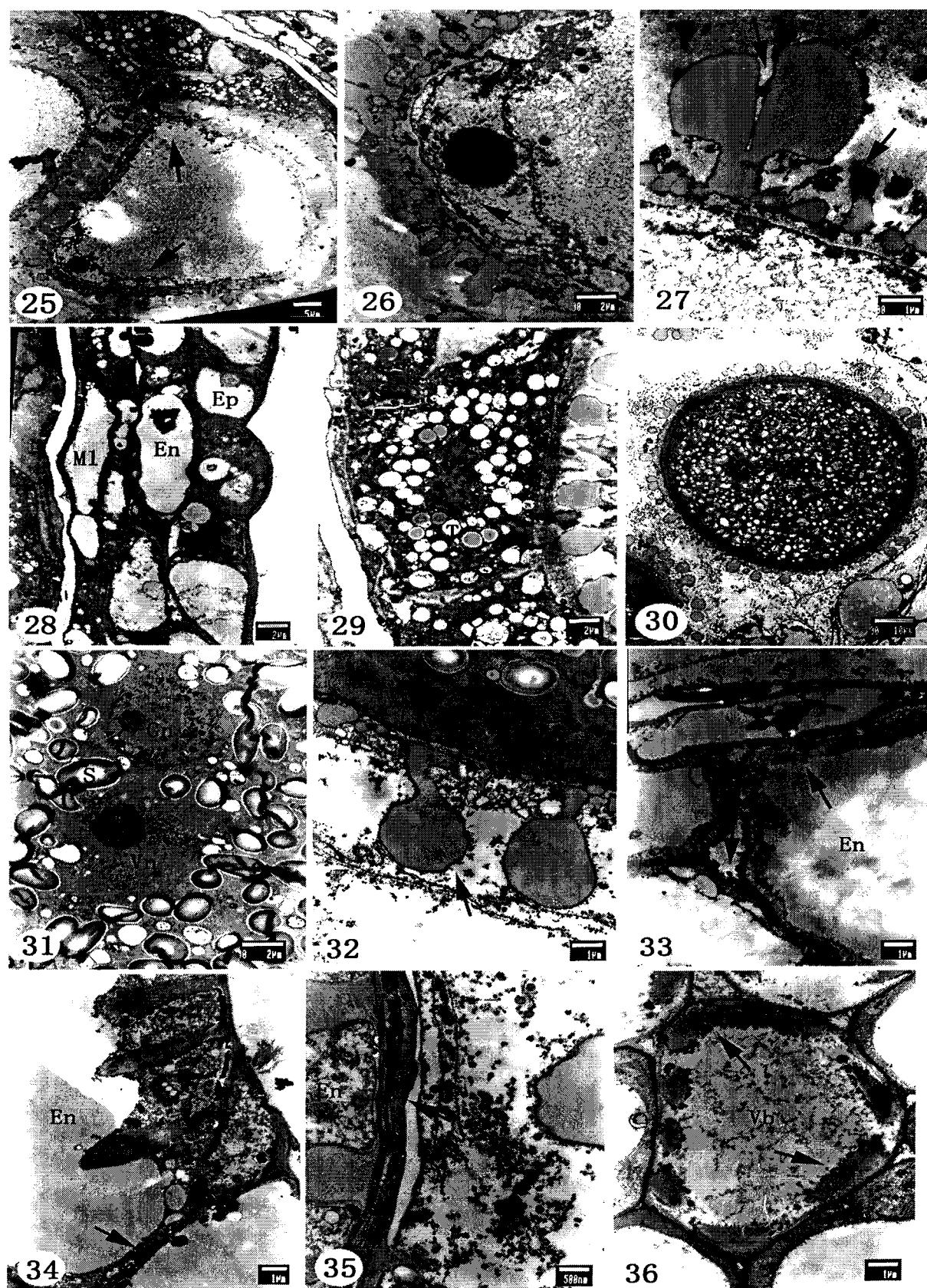
13. Enlarged view of a part of Fig. 12; 14. Few Ca^{2+} precipitates in cells of epidermis, endothecium and middle layers; 15. A few Ca^{2+} precipitates outside the epidermis; 16. Ca^{2+} precipitates were reduced in the tapetal cell walls; 17. Ca^{2+} precipitates were increased in the tapetal cell; 18–24. Ca^{2+} distribution in anthers at the early microspore stage; 18. Few Ca^{2+} precipitates in microspore cytoplasm, and a few Ca^{2+} precipitates in microsporangium; 19. Ca^{2+} precipitates in the nucleus; 20. Abundant Ca^{2+} precipitates in intine; 21. Ca^{2+} precipitates in cells of epidermis and endothecium are large; 22. Ca^{2+} precipitates were increased in cytoplasm and walls of tapetal cells; 23. Abundant Ca^{2+} precipitates in the radial walls of tapetal cells; 24. Abundant Ca^{2+} precipitates in endoplasmic reticulum and vacuole;

Plate III

25–29. Ca^{2+} distribution in anthers at the late microspore stage; 25. Abundant Ca^{2+} precipitates in vacuole membrane; 26. Few Ca^{2+} precipitates in nucleus; 27. A few Ca^{2+} precipitates on the surface of microspore; 28. Few Ca^{2+} precipitates in cells of epidermis, endothecium and middle layers; 29. Ca^{2+} precipitates were reduced obviously in the cytoplasm and wall of tapetal cell; 30–36. Ca^{2+} distribution in anthers at 2-celled pollen stage; 30. Few Ca^{2+} precipitates in pollen; 31. Generative cell and vegetative cell; 32. A few Ca^{2+} precipitates on the surface of pollen; 33. Abundant Ca^{2+} precipitates in vacuole membrane and intercellular space; 34. Abundant Ca^{2+} precipitates in inner tangential wall of endothecium; 35. A few Ca^{2+} precipitates in the remainders of middle layer and tapetal cell; 36. Abundant Ca^{2+} precipitates in vascular bundle.







刘焕芳等: 图版 III

LIU Huan-fang et al.: Plate III