

毛钩藤的小孢子发生和雄配子体发育

匡延凤^{1,2}, 廖景平^{1*}

(1. 中国科学院华南植物园, 广东省数字化植物园重点实验室, 广州 510650; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:在光学显微镜和透射电镜下观察了毛钩藤(*Uncaria hirsuta* Havil.)的小孢子发生和雄配子体发育过程。结果表明,毛钩藤花两性,具5枚雄蕊,花药4室,花药壁由表皮、药室内壁、中层和绒毡层组成,花药开裂时,药室内壁高度纤维化带状加厚。花药壁的发育方式属于双子叶型,小孢子母细胞减数分裂的胞质分裂为同时型。小孢子在四分体时期开始沉积花粉外壁,小孢子大液泡化时期开始沉积花粉内壁。成熟花粉为2-细胞型。毛钩藤的花粉发育特征和茜草科植物基本一致。毛钩藤绒毡层属于分泌型,双重起源,分别起源于次生周缘层和药隔细胞。小孢子发育早期绒毡层开始降解并分泌形成大量乌氏体,花药开裂时绒毡层完全消失,剩下少量乌氏体。小孢子早期内壁加厚突出形成,小孢子细胞核分裂以后内壁加厚开始脱落,花药开裂时,只剩下少量的内壁加厚突出。初步推测,内壁加厚突出与乌氏体共同作用为雄配子体的发育提供营养物质。

关键词:毛钩藤; 小孢子; 雄配子体; 花药壁; 花粉壁; 乌氏体; 内壁加厚突出

中图分类号: Q944.58

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2009)05-0427-09

Microsporogenesis and Male Gametophyte Development in *Uncaria hirsuta* Havil. (Rubiaceae)

KUANG Yan-feng^{1,2}, LIAO Jing-ping^{1*}

(1. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Key Laboratory of Digital Botanical Garden of Guangdong, Guangzhou 510650, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Microsporogenesis and male gametophyte development of *Uncaria hirsuta* Havil. (Rubiaceae) were studied under light microscopy (LM) and transmission electron microscopy (TEM). Flowers of *U. hirsuta* are monoclinous, which each have five stamens, and the anther is tetralocular. The anther wall is composed of epidermis, endothecium, middle layer(s) and tapetum, the endothecium becomes fibrously thickened at anther dehiscence. The development of the anther wall is the dicotyledonous type, the cytokinesis following meiosis is simultaneous, producing tetrahedral tetrads and rarely isobilateral ones. The exine deposition is initiated during the tetrad stage, and the intine formation begins at vacuolated microspore stage. Mature pollen grains are two-cell type. The ontogenetic features of microsporogenesis and male gametophyte development in *U. hirsuta* basically follow the pattern of Rubiaceae. The tapetum is secretory type, and dual ontogeny, originating from the parietal layers and connective-derived layer, respectively. Tapetum begins to degenerate at the early stage of free microspore, producing lots of ubisch bodies, and it becomes completely degenerated at anther dehiscence. Protruding onci occur at uninucleate microspore stage, most of which shed during binucleate microspore stage. It is preliminarily presumed that the protruding onci might play an important role in pollen development.

Key words: *Uncaria hirsuta*; Microspore; Male gametophyte; Anther wall; Pollen wall; Ubisch body; Protruding oncus

收稿日期: 2008-10-25 接受日期: 2009-02-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(30370099)资助

* 通讯作者 Corresponding author

毛钩藤 (*Uncaria hirsuta* Havil.) 为茜草科 (Rubiaceae) 金鸡纳亚科 (Cinchonoideae) 钩藤属植物, 别名倒吊风藤和台湾风藤^[1], 具攀援习性, 枝条有花序柄退化形成的钩, 花极多, 于膨大呈圆球形的花托上密聚成浑圆的头状花序。毛钩藤是我国的特有种, 主要分布在广东、广西、贵州、福建及台湾等地, 生于山谷林下溪畔成灌丛中^[2-4]。钩藤属植物的根和带钩的茎枝中钩藤碱含量高, 具有降血压、镇静、抗血小板聚集和抗血栓形成的作用, 还有一定抗癌作用^[5-6], 已开发有钩藤片、钩藤茶口服液和名方天麻钩藤饮、羚角钩藤汤^[7]。有关钩藤属植物的研究主要集中在化学成分、药理药性、临床应用^[8-9]以及组织培养^[10-11]等方面, 而胚胎学研究未见报道。我们曾观察国产钩藤属植物的花粉形态, 发现毛钩藤的花粉 3 个萌发孔沟中央均具有明显的内壁加厚突出 (protruding oncus) 现象^[12]。本文对毛钩藤的小孢子发生和雄配子体发育过程进行研究, 揭示毛钩藤胚胎学特征和内壁加厚突出的发生过程及其可能的生物学意义, 为植物系统学研究和茜草科胚胎学研究积累资料。

1 材料和方法

实验材料毛钩藤 (*Uncaria hirsuta* Havil.) 分别采自广东省肇庆市鼎湖山 (凭证标本匡延凤 002) 和中国科学院华南植物园 (凭证标本匡延凤 1002) 两个居群, 前者为毛钩藤的原产地, 后者为迁地保育区。凭证标本均保存在中国科学院华南植物园标本馆 (IBSC)。于 2006 年 12 月下旬至 2007 年 3 月下旬采集不同发育阶段的花序, 剥离出花药, 用 2.5% 的

戊二醛 (pH 7.2, 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液配制) 固定 24 h 以上, 磷酸缓冲液洗, 转入 1% 的锇酸中后固定 2 h 以上, 再以 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液冲洗 2 h, 系列酒精逐级脱水, 环氧丙烷过渡, Spurr 树脂包埋, 70℃ 烘箱热聚合。在 LKB-11800 切片机上用玻璃刀切成厚度为 1~2 μm 的半薄切片, 0.1% 的甲苯胺蓝染色后在 Olympus-AX70 型光学显微镜下观察, Olympus-DP50 数码相机照像, 确定花药发育的大致时期, 定位标记后用 Leica S 型超薄切片机切片, 厚度 80~90 nm, 2% (w/v) 的醋酸双氧铀染色 60~90 min, 6% (w/v) 柠檬酸铅染色 15 min, 日本 TEM-1010 型的透射电子显微镜 100 KV 观察并照相。

2 结果

两个居群毛钩藤的花药发育对比见表 1。观察表明, 毛钩藤花两性, 含有 5 枚大小相同的雄蕊 (图版 I: 1), 每个花药具有 4 个小孢子囊, 横切面呈蝶形排列 (图版 I: 2)。花药壁包括 1 层表皮细胞、1~2 层药室内壁细胞、1~2 层中层细胞和 1~3 层绒毡层细胞, 花药开裂时药壁只具有 1 层角质化的表皮细胞和 1 层高度纤维化且带状加厚的药室内壁细胞。

2.1 花药壁发育

雄蕊发育初期花药壁尚未分化, 外面是 1 层表皮细胞, 表皮以内是孢原细胞。孢原细胞进行平周分裂产生外层的初生周缘细胞和内层的初生造孢细胞 (图版 I: 3)。初生周缘细胞经 1 次平周分裂产生两层次生周缘层, 次生周缘层外层细胞再进行平

表 1 两个居群毛钩藤的花药发育对比

Table 1 The comparison of anther development between two populations

发育时期 Development stage	采样时间 Collecting date (yy-mm-dd)		花长度 Length of flowers (mm)		花药长度 Length of anthers (mm)	
	DHS	SCBG	DHS	SCBG	DHS	SCBG
孢原细胞期 Archisporial cell stage	2006-12-29	2007-02-02	< 3.61	< 2.06	< 0.26	< 0.15
次生造孢细胞时期 Secondary sporogenous cell stage	2007-01-04	2007-02-11	3.61~5.25	2.06~2.62	0.26~0.86	0.20~1.02
小孢子母细胞时期 Microspore mother cell stage	2007-01-24	2007-03-03	5.25~6.93	2.62~2.96	0.86~1.35	1.02~1.24
四分体时期 Tetrad stage	2007-02-12	2007-03-10	6.93~7.32	2.96~3.20	1.79~1.92	1.24~1.34
单核小孢子早期 Early stage of uninucleate microspore	2007-03-21	2007-03-15	7.32~7.86	3.20~4.89	1.92~2.06	1.34~1.61
单核小孢子晚期 Late stage of uninucleate microspore	2007-03-21	2007-03-23	7.86~8.59	5.45~7.55	2.06~2.21	1.61~1.80
二核花粉时期 Binucleate pollen grain stage	2007-03-29	2007-03-27	8.59~10.01	9.40~10.69	2.21~2.35	1.80~1.82
花药开裂时期 Anther dehiscence stage	2007-03-29	2007-03-27	10.13~13.67	10.58~12.85	2.40~2.44	1.82~1.84

周分裂产生药室内壁和中层,内层直接发育成绒毡层(图版 I: 4),药隔处部分细胞也发育成绒毡层(图版 I: 5)。至小孢子母细胞时期,花药壁完全分化,包括1层表皮细胞、1~2层药室内壁细胞、1~2层中层细胞和1~3层绒毡层细胞(图版 I: 5)。绒毡层为异型绒毡层,具有双重起源。起源于次生周缘层的绒毡层细胞较大,径向栅栏状排列,排列较为整齐,单层;起源于药隔细胞的绒毡层细胞较小,排列较为松散,通常为1~3层。绒毡层细胞均为单核。

小孢子母细胞时期,表皮细胞、药室内壁和中层细胞开始液泡化,表皮细胞和药室内壁的细胞核较大,核仁较明显,额外核仁可见。绒毡层细胞液泡化程度很小,胞质浓厚,细胞核大,核仁明显(图版 I: 6)。小孢子母细胞减数分裂至四分体时期,表皮细胞、药室内壁和中层均高度液泡化,细胞质被挤到细胞的边缘,细胞核和核仁消失,细胞沿切向壁变扁平,表皮细胞外切向壁开始角质化加厚。绒毡层细胞径向伸长,含有丰富的线粒体、小液泡和内质网,内质网堆叠形成潴泡包裹细胞质,甚至包围细胞核(图版 I: 7)。四分体时期,表皮细胞和药室内壁继续液泡化,中层细胞变得更加扁平。绒毡层小液泡逐渐汇集成大液泡,高尔基体发达,分泌丰富的高尔基体小泡,乌氏体前体开始形成,并沿绒毡层细胞膜内边缘分布(图版 I: 8)。到游离小孢子早期,表皮细胞角质化明显加厚,药室内壁液泡化继续增强,细胞质稀薄,出现较大的球状体,中层细胞进一步扁平化。绒毡层细胞壁消失,细胞质膜逐渐消融,细胞质膜表面出现大量的乌氏体。绒毡层细胞内出现了大量的小泡和脂滴(图版 I: 9)。到小孢子大液泡形成时,中层细胞几乎被吸收殆尽,仅留少量的细胞质,药室内壁开始出现纤维化加厚。绒毡层细胞质膜基本消失,整个绒毡层连成整体,表面富含乌氏体,乌氏体达到最大体积。绒毡层物质向药室内运输以供花粉发育所用(图版 II: 10)。到2-细胞花粉时期,表皮细胞几乎为大液泡所占据,细胞质被挤向细胞边缘,药室内壁细胞径向壁延长,内切向壁和横向壁明显地带状加厚,在两个花粉囊连接处无加厚,中层完全消失。绒毡层细胞基本溶解,只留下一些乌氏体附着在花药壁的内表面。整个花药壁只剩下表皮和纤维化的药室内壁(图版 II: 11)。

2.2 小孢子发生和雄配子体发育

以采集自鼎湖山的毛钩藤为例阐述小孢子发

生和雄配子体发育与花药长度之间的关系。在长度 <0.26 mm的幼小花药横切面,由孢原细胞经有丝分裂形成的初生造孢细胞体积大,呈多边形,细胞核大,核仁明显(图版 I: 3)。花药长度约 $0.26\sim 0.86$ mm时,初生造孢细胞经少数几次分裂后形成次生造孢细胞(图版 I: 4)。每一药室含有多个次生造孢细胞,细胞多边形,细胞核大,核仁明显(图版 II: 12),含有丰富的线粒体和高尔基体(图版 II: 13)。当花药长度约 $0.86\sim 1.35$ mm时,小孢子母细胞已经形成(图版 II: 14)。小孢子母细胞体积明显增大,细胞核大,具多个额外核仁,细胞质浓厚,含有较多的小液泡,丰富的线粒体(图版 II: 14~15)。小孢子母细胞最初只具有薄的纤维素壁,细胞排列紧密,随着小孢子母细胞进入减数分裂,细胞逐渐由多边形变为圆形,细胞壁也开始不均匀地积累胼胝质,致使壁呈波浪形加厚(图版 III: 16)。减数第一次分裂末期不产生细胞壁,没有形成二分体。减数第二次分裂完成后,小孢子母细胞变为四核,接着进行胞质分裂,形成四分体,此时花药长度为 $1.79\sim 1.92$ mm。绝大多数四分体排列为正四面体型,偶见左右对称型,小孢子由共同的胼胝质壁包围(图版 III: 17)。

胼胝质壁解体以后,小孢子被释放出来。早期的游离小孢子体积迅速增大,形状呈不规则圆球形,细胞核位于细胞中央,细胞质浓厚,液泡较小或不明显,含有较丰富的内质网(图版 III: 18),小孢子外壁已基本形成,包括覆盖层、柱状层、基足层和外壁内层,小孢子内壁尚未发育(图版 III: 19),此时花药长度约为 $1.92\sim 2.06$ mm。同一花药的不同花粉囊、同一花粉囊内不同小孢子的发育基本一致。当花药长度约为 $2.06\sim 2.21$ mm时,游离小孢子逐渐变为规则圆球形,细胞质液泡化,小液泡逐渐汇合形成中央大液泡,细胞质被挤向细胞边缘,细胞核从中央移动到靠近细胞边缘,即与萌发孔相对的位置,小孢子发育进入晚期(图版 III: 20),此时外壁已完全形成,内壁开始合成(图版 III: 21)。当花药长度约为 $2.21\sim 2.35$ mm,小孢子发生不对称的有丝分裂,产生1个生殖细胞和1个营养细胞,此时为2-细胞花粉阶段。营养细胞较大,占据花粉大部分体积,细胞器数量较多,含有液泡、造油体和一定数量的脂滴。生殖细胞较小,细胞质中只含有少量的细胞器(图版 III: 22)。至花药开裂时,花粉发育成熟,花粉内壁完全形成(图版 III: 23),此时花药

长 2.40~2.44 mm。

2.3 内壁加厚突出的变化

内壁加厚突出(*protruding oncus*)形成于小孢子早期,于小孢子大液泡时期大量出现。同一花粉粒的 3 个内壁加厚突出同时形成,大小大致相同。在单核小孢子时期,一个花药的横切面上有 90% 以上的小孢子均具有内壁加厚突出(图版 III: 24)。小孢子细胞核进行分裂以后,具有内壁加厚突出的小孢子(2-核花粉)数目开始下降,一个花药横切面上具有内壁加厚突出的小孢子为 80% 左右,内壁加厚突出的大小无明显变化(图版 III: 25)。花药开裂时(花粉成熟期),具有内壁加厚突出的花粉粒数目明显下降,一个切面上的大多数花粉的内壁加厚突出脱落,只有大概 30% 的花粉粒仍具有内壁加厚突出,且内壁加厚突出变小而不易发现(图版 III: 26)。

3 讨论

3.1 原产地和迁地保育居群的花期对比

经连续 3 年对毛钩藤的花期进行定点观察发现,原产地毛钩藤的花期大约为 12 月~翌年 3 月下旬,迁地保育的毛钩藤开花时间略晚,大约为 2 月~3 月下旬。始花期和持续时间与当地的气温密切相关,气温越高,始花期越早,持续时间越短。无论是原产地还是迁地保育区的毛钩藤,花药的早期发育速度较缓慢,孢原细胞期和造孢细胞期较长,约 1 个月。原产地居群的孢原细胞期和造孢细胞期在 12 月中旬至第二年的 1 月中旬或下旬。迁地保育居群的花期比原产地启动略晚 1~2 个月,孢原细胞期和造孢细胞期在 2 月初至 3 月初。原产地毛钩藤发育至游离小孢子时期以后,发育进程明显加快,迁地保育的毛钩藤发育至小孢子四分体以后,发育速度加快,最终两个居群的花药开裂和花朵开放的时间较为一致,均为 3 月下旬。这说明,迁地保育的植物花器官发育比原产地的快速,花期持续的时间短。从表 1 我们还看出同一发育时期的花药、花朵长度,原产地鼎湖山的毛钩藤比迁地保育在华南植物园的明显要长。

3.2 花药发育和小孢子发育的特征

毛钩藤的花粉发育特征和茜草科植物的基本一致,花药壁的发育方式属于双子叶型,小孢子母细胞减数分裂过程中的胞质分裂方式为同时

型^[13-14]。花药壁包括表皮、药室内壁、中层和绒毡层,花药开裂时,药壁只具有角质化的表皮和高度纤维化且带状加厚的药室内壁。小孢子在四分体时期开始沉积花粉外壁。小孢子发育早期,花粉外壁基本形成,小孢子大液泡化时期开始沉积花粉内壁,至花粉成熟时期内壁完全形成。

Mathew & Philip^[15]认为茜草科植物花粉核的数目与花粉萌发孔的数目存在相关性,二核花粉通常具 3 个萌发孔,三核花粉具 6 个或 6 个以上萌发孔。毛钩藤的成熟花粉粒为二核,具有 3 个萌发孔,和 Mathew & Philip 的结论一致。Puff^[16]认为金鸡纳亚科、龙船花亚科(*Ixoroideae*)和毛茛亚科(*Anthrroideae*)的花粉均以二核花粉为主,而茜草亚科(*Rubioideae*)的情况较复杂,不仅包括二核花粉的族和三核花粉的族,而且同一族包含二核花粉的属和三核花粉的属,甚至在同一属(如 *Oldenlandia*)中存在二核花粉的种和三核花粉的种。El-Ghazaly 等^[17]的研究表明金鸡纳亚科的朗德木(*Rondeletia odorata*)的成熟花粉也兼具二核和三核类型。毛钩藤属于金鸡纳亚科,但是其成熟花药中不包含三核花粉粒,仅具 2-细胞型花粉。Brewbaker^[18]认为三核花粉的类群比二核花粉的类群更进化,说明钩藤属在茜草科金鸡纳亚科中可能处于比较原始的系统位置。

毛钩藤绒毡层双重起源,分别起源于次生周缘层和药隔细胞。双重起源的绒毡层先后在茜草科的 *Mitriostigma axillare*^[19]、*Tarenna asiatica*^[20]、山黄皮(*Randia cochinchinensis*)^[21]等有报道。毛钩藤绒毡层属于分泌型绒毡层,通过分泌产生大量的乌氏体给花粉发育提供营养物质。乌氏体的形成和花粉外壁的发育过程密切相关。四分体时期乌氏体前体开始形成,此时小孢子开始沉积花粉外壁,游离小孢子早期乌氏体开始大量合成,绒毡层细胞表面布满大量的乌氏体,此时小孢子外壁正在合成并逐步分化形成覆盖层、柱状层、基足层和外壁内层。到小孢子发育晚期,乌氏体达到最大体积随后逐渐消退,此时小孢子外壁完全形成。

毛钩藤花粉发育特有的现象是在花粉形成的过程中伴随着内壁加厚突出的一系列变化。内壁加厚突出形成于游离小孢子早期,小孢子大液泡化时期大量出现,至二核花粉时期,部分开始脱落,至花药开裂时,只有少量成熟的花粉粒仍具有内壁加厚突出。内壁加厚突出在茜草科 *Mitriostigma*

axillare^[19]和蛇根草属(*Ophiorrhiza*)^[22]也有报道。3种植物的内壁加厚突出形成的时间不同,*Mitriostigma axillare*的内壁加厚突出在小孢子发生有丝分裂之后形成,毛钩藤和蛇根草属的在小孢子发生有丝分裂之前形成。然而它们的内壁加厚突出都在花粉成熟阶段大部分发生脱落,因而成熟花药中只有少部分花粉具有内壁加厚突出。据内壁加厚突出发生脱落的特点,我们推测内壁加厚突出是花粉发育过程中产生的一种临时性结构,可能与乌氏体共同作用为花粉发育提供营养物质。

致谢 感谢鼎湖山树木园莫定升先生协助采集实验材料,华南植物园实验中心徐信兰高级工程师协助透射电镜样品制作和照片拍摄。

参考文献

- [1] Liu H Y(刘和义), Yang Z Y(杨宗愈). Flora of Taiwan [M]. Taipei: Modern Relations Press, 1975-1979: 245-341. (in Chinese)
- [2] How K Z. Rubiaceae plants in the Chinese flora (1) [J]. Sunyatsenia, 1946, 6(3/4): 251-262.
- [3] Xu X H(徐祥浩), Wu H(吴翰). A review of the genus *Uncaria* Schreber of China [J]. J S China Agri Univ(华南农学院学报), 1981, 2(3): 24-35. (in Chinese)
- [4] Xu X H(徐祥浩), Wu H(吴翰). Flora Reipublicae Popularis Sinicae Tomus 71 (1) [M]. Beijing: Science Press, 1999: 247-258. (in Chinese)
- [5] How K Z(侯宽昭). Critic notes on the plant drug Gou-teng [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 1956, 4(1): 7-16. (in Chinese)
- [6] Xu D D(许丹丹), Mo Z X(莫志贤). Chemic ingredient and pharmacological function of *Uncaria rhynchophylla* and *Uncaria hirsuta* [J]. Trad Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理), 2005, 16(4): 311-334. (in Chinese)
- [7] Liu J(刘佳), Fu Z J(富志军). General situation of the study on the *Uncaria rhynchophylla* [J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2006, 18(5): 90-93. (in Chinese)
- [8] Zhong Y(仲耘), Feng R Z(冯瑞芝). Determination of alkaloid content in *Uncaria rhynchophylla* and other *Uncaria* plants with UV and HPLC methods [J]. Chin Trad Herb Drug(中草药), 1993, 24(9): 462-466. (in Chinese)
- [9] Xiong L J(熊丽娟). Pharmacognosy research of Yunnan conventional variety *Uncaria lancifolia* Hitch. [J]. Yunnan J Trad Chin Med Mat Med(云南中医中药杂志), 1995, 16(6): 35-36. (in Chinese)
- [10] Yang J S(杨俊轼). The seedling technique of *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jack [J]. Chin Wild Plant Resour(中国野生植物资源), 2007, 26(1): 66-67. (in Chinese)
- [11] Long X Y(龙祥友), Sun C S(孙长生). Tissue culture and rapid propagation of *Uncaria sinensis* (Oliv.) Havil. [J]. Plant Physiol Commun(植物生理学通讯), 2008, 44(1): 115. (in Chinese)
- [12] Kuang Y F(匡延凤), Liao J P(廖景平). Pollen morphology of nine species of *Uncaria* Schreb. (Rubiaceae) [J]. J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报), 2008, 16(4): 350-356. (in Chinese)
- [13] Davis G L. Systematic Embryology of the Angiosperms [M]. New York: John Wiley & Sons Inc, 1966: 1-528.
- [14] Johri B M. Embryology of Angiosperms [M]. Berlin, FRG: Springer-Verlag, 1984: 1-830.
- [15] Mathew P M, Philip O. The distribution and systematic significance of pollen nuclear number in the Rubiaceae [J]. Cytologia, 1986, 51(1): 117-124.
- [16] Puff C. Advances in Rubiaceae macrosystematics: Pollen nuclear numbers in the Rubiaceae [J]. Opera Bot Belg, 1993, 6: 31-49.
- [17] El-Ghazaly G, Huysmans S, Smets E F. Pollen development of *Rondeletia odorata* (Rubiaceae) [J]. Amer J Bot, 2001, 88(1): 14-30.
- [18] Brewbaker J L. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms [J]. Amer J Bot, 1967, 54(9): 1069-1083.
- [19] Hansson T, El-Ghazaly G. Development and cytochemistry of pollen and tapetum in *Mitriostigma axillare* (Rubiaceae) [J]. Grana, 2000, 39(2/3): 65-89.
- [20] Periasamy K, Parameswaran N. A contribution to the floral morphology and embryology of *Tarenna asiatica* [J]. Beitr Biol Pflanzen, 1965, 41: 123-138.
- [21] Ren Q(任群). Embryological studies on *Randia cochinchinensis* (Lour.) Merr. [J]. J SW Teach Univ(西南师范大学学报), 1991, 16(2): 209-215. (in Chinese)
- [22] Igersheim A, Weber M. Advances in Rubiaceae Macrosystematics: "Pollen bud" formation in *Ophiorrhiza* (Rubiaceae) — An ultrastructure reinvestigation [J]. Opera Bot Belg, 1993, 6: 51-59.

图版说明

1~5, 16~17, 24~26 为光学显微镜照片 Light micrographs; 6~15, 18~23 为透射电镜照片 Transmission electron micrographs; Bars: 1. 100 μm; 2~5, 24~26. 20 μm; 6~10, 14. 2 μm; 11. 5 μm; 12, 16~17. 10 μm; 13, 15, 18, 20, 22. 1 μm; 19, 21, 23. 200 nm.

An: 花药 Anther; Ca: 胼胝质 Callose; Co: 柱状层 Columella; D: 高尔基体 Dictyosome; En: 药室内壁 Endothecium; Ene: 外壁内层 Endexine; Ep: 表皮 Epidermis; ER: 内质网 Endoplasmic reticulum; FL: 基足层 Foot layer; FT: 纤维化加厚 Fibrous thickening; GN: 生殖核 Generative nucleus; Gnu: 生殖核仁 Generative nucleolus; I: 内壁 Intine; L: 脂滴 Lipid; M: 线粒体 Mitochondria; ML: 中层 Middle layer; MMC: 小孢子母细胞 Microspore mother cell; Ms: 小孢子 Microspore; N: 细胞核 Nucleus; Np: 核质 Nucleoplasm; Nu: 核仁 Nucleolus; Ub: 乌氏体 Ubisch body; PPC: 初生周缘细胞 Primary parietal Cell; PSC: 初生造孢细胞 Primary sporogenous cell; Sp: 球状体 Spheroid; SPC: 次生周缘细胞 Secondary parietal cell; SSC: 次生造孢细胞 Secondary sporogenous cell; T: 绒毡层 Tapetum; Te: 覆盖层 Tectum; V: 液泡 Vacuole; VN: 营养核 Vegetative nucleus; VNu: 营养核仁 Vegetative nucleolus.

图版 I

1. 毛钩藤花, 示五枚大小一致的花药;
2. 花药横切面, 示花药开裂时期的花粉囊;
- 3~4. 造孢细胞时期。3. 初生造孢细胞和初生周缘细胞; 4. 次

生造孢细胞和次生周缘细胞,次生周缘细胞外层分裂产生药室内壁和中层(箭头),内层直接发育成绒毡层;

5~6. 小孢子母细胞时期。5. 花药壁由表皮、药室内壁、中层和绒毡层组成,绒毡层具有双重起源,起源于次生周缘层的细胞排列整齐、单层;起源于药隔的细胞排列松散,通常为1~3层;6. 开始液泡化的表皮细胞、药室内壁和中层细胞,表皮细胞和药室内壁细胞具有额外核仁(箭头);

7. 小孢子母细胞减数分裂时期。表皮细胞、药室内壁和中层均含有大液泡,表皮细胞外切向壁出现角质化增厚(空心五角星)。绒毡层细胞具丰富的内质网,内质网堆叠形成潴液泡囊胞质。

8. 四分体时期。中层细胞扁平化,绒毡层形成很多液泡,高尔基体发达,具丰富的高尔基体小泡(白色箭头),乌氏体前体(黑色箭头)开始大量出现并沿绒毡层细胞膜内边缘分布;

9. 游离小孢子早期。表皮细胞壁明显角质化(空心五角星),中层进一步扁平化,乌氏体(箭头)大量出现;

图版 II

10. 小孢子大液泡时期。药室内壁开始纤维化加厚(箭头),中层细胞几乎完全降解,乌氏体达到最大体积;

11. 2-细胞花粉时期。表皮细胞含有大液泡,药室内壁高度纤维化增厚,中层完全消失,绒毡层细胞基本降解,只留下乌氏体附着在花药壁的内表面(箭头)。

12~13. 造孢细胞期。12. 次生造孢细胞多边形,细胞核大,核仁明显;13. 次生造孢细胞中丰富的线粒体和高尔基体;

14~15. 小孢子母细胞时期。14. 小孢子母细胞核大,具有多个额外核仁(箭头),含有较多的小液泡;15. 小孢子母细胞中丰富的线粒体;

图版 III

16. 小孢子母细胞减数分裂时期。减数第一次分裂末期不形成二分体,小孢子母细胞壁不均匀地积累胼胝质(箭头);

17. 四分体时期,小孢子被共同的胼胝质壁包围,呈正四面体型排列;

18~19. 小孢子早期。18. 小孢子细胞核大,核仁明显,含有丰富的内质网(箭头);19. 花粉外壁基本形成了覆盖层、柱状层、基足层和外壁内层;

20~21. 小孢子晚期。20. 小孢子形成中央大液泡;21. 花粉外壁完全形成,花粉内壁开始合成;

22~23. 二细胞花粉时期。22. 营养核和生殖核,花粉内壁正在合成;23. 发育成熟的花粉外壁和内壁;

24. 小孢子大液泡时期,内壁加厚突出大量出现(箭头);

25. 二核花粉时期,内壁加厚突出(箭头)开始脱落,含有内壁加厚突出的花粉粒数目开始下降;

26. 花药开裂时期,大多数花粉粒的内壁加厚突出(箭头)脱落,内壁加厚突出变小。

Explanation of plates

Plate I

1. Flower on surface view, showing the five anthers with the same size;

2. Microsporangia at the time of anther dehiscence;

3~4. Sporogenous cell stage. 3. Primary sporogenous cells and the

primary parietal cells; 4. Secondary sporogenous cells and the secondary parietal cells, the outer secondary parietal layer differentiated into endothecium and the middle layer, the inner secondary parietal layer developed into tapetum (arrows);

5~6. Microspore mother cell stage. 5. The anther wall is composed of epidermis, endothecium, middle layer and tapetum; the tapetum is of dual ontogeny, the single-layered part towards the exterior face of the theca originated from the parietal layer, the 1~3 layers part towards the connective originated from the connective-derived layer; 6. Showing vacuolated epidermis, endothecium, and middle layer, and the supernumerary nucleoli in epidermis and endothecium (arrows);

7. Meiosis stage. Big vacuoles occurred in the epidermis, endothecium, and middle layer, cutinized thickening occurred in the external tangential cell wall of epidermis (hollow pentacles). Tapetum cells are rich in endoplasmic reticula which are stacked into cisternae and encapsulating the cytoplasm.

8. Tetrad stage. Middle layer become flattened, tapetum is rich in vacuoles, dictyosomes and pre-ubisch bodies (black arrows); dictyosomes produce abundant golgi vesicles (white arrows), pre-ubisch bodies distribute along the interior face of the tapetum cell membrane;

9. Early stage of free microspore. Epidermis cell wall is obviously cutinized (hollow pentacle), middle layer become flattened further, abundant ubisch bodies formed (arrows);

Plate II

10. Vacuolated microspore stage. Endothecium become fibrously thickened (arrows), middle layer almost completely degenerated, ubisch bodies reached the maximum size;

11. Two-cell pollen grain stage. Large vacuoles occurred in epidermis, highly fibrous thickening developed in endothecium, middle layer and tapetum completely degenerated, some ubisch bodies remained, distributing along the interior face of the anther wall (arrows);

12~13. Sporogenous cell stage; 12. Secondary sporogenous cells are polygonal, bearing large nucleus and obvious nucleolus; 13. Secondary sporogenous cells are rich in mitochondria and dictyosome;

14~15. Microspore mother cell stage; 14. Microspore mother cells have large nucleus, some supernumerary nucleoli (arrows) and vacuoles; 15. Abundant mitochondria occurred in microspore mother cell;

Plate III

16. Meiosis stage, showing the nucleoplasm in the telophase of meiosis I, and the uneven callous cell wall (arrows);

17. Tetrad stage, showing the tetrahedral tetrad and callose wall;

18~19. Early stage of free microspore; 18. Showing large nucleus, obvious nucleolus and abundant endoplasmic reticulum (arrows) in the free microspore; 19. Exine differentiated into tectum, collumella, foot layer and endexine;

20~21. Vacuolated microspore stage; 20. Showing the large vacuole in the microspore; 21. Showing the mature exine, and the intine begins to synthesize;

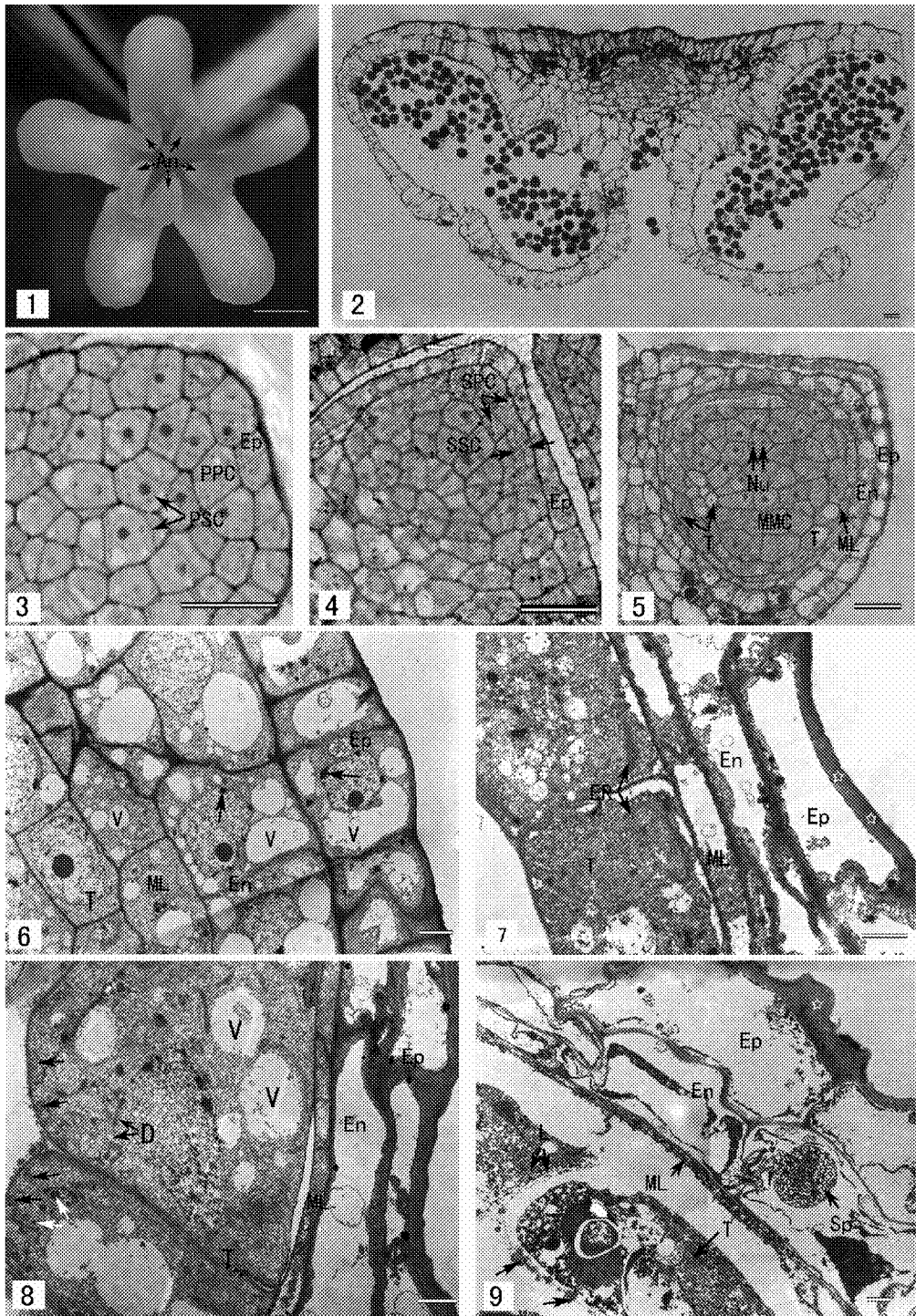
22~23. Two-cell pollen grain stage; 22. Showing the vegetative nucleus and the generative nucleus; 23. Showing the mature pollen wall;

24. Abundant protruding onci (arrows) occurred in vacuolated microspore stage;

25. Binucleate pollen stage, the quantity of pollen grains with

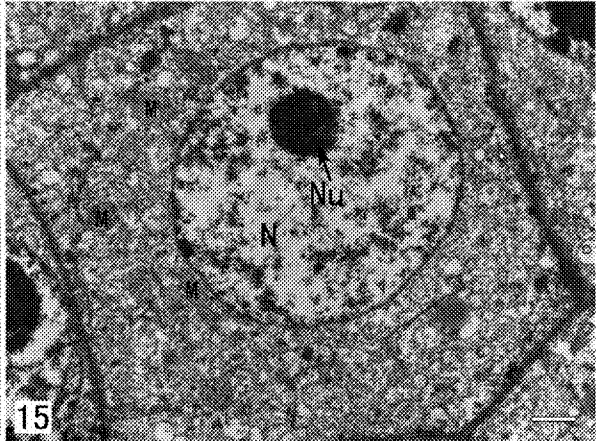
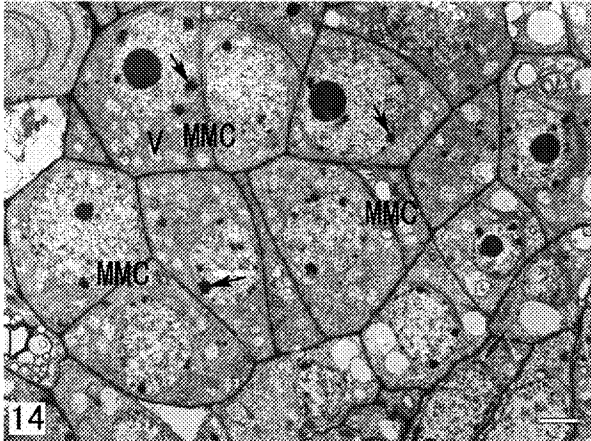
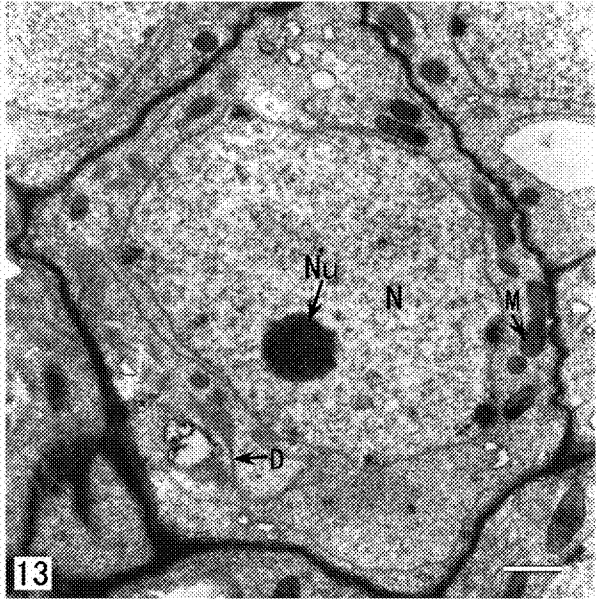
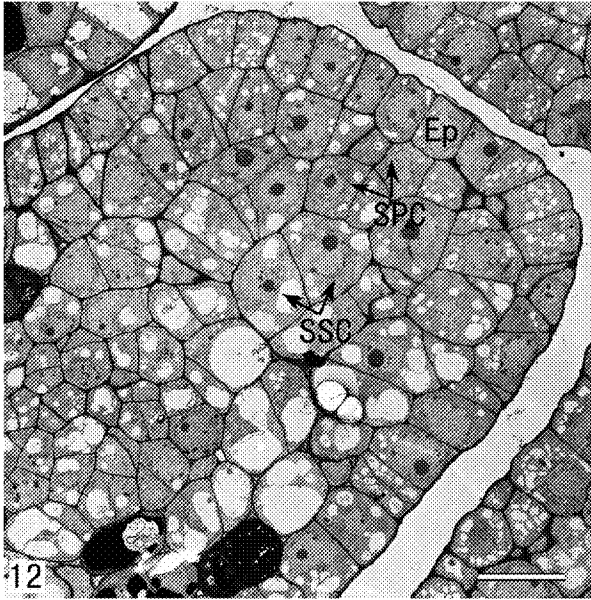
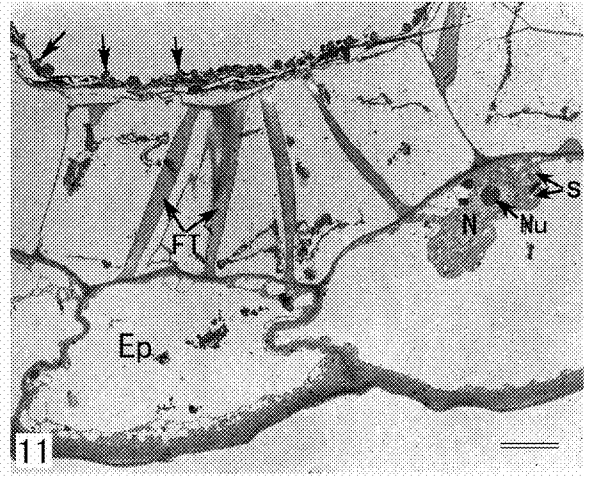
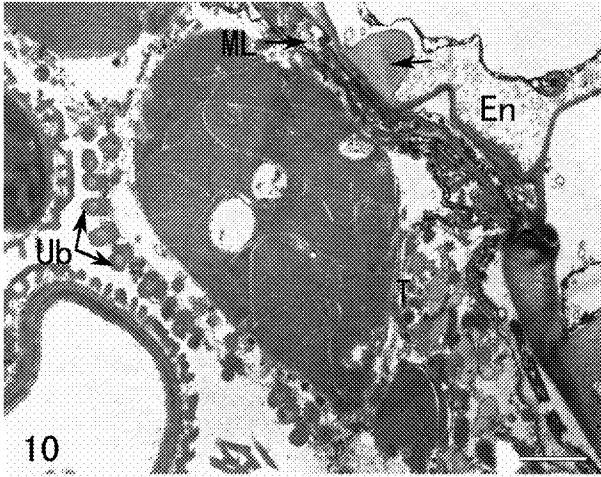
protruding onci decreases (arrows);

26. Anther dehiscence, few pollen grains with smaller protruding onci (arrows).



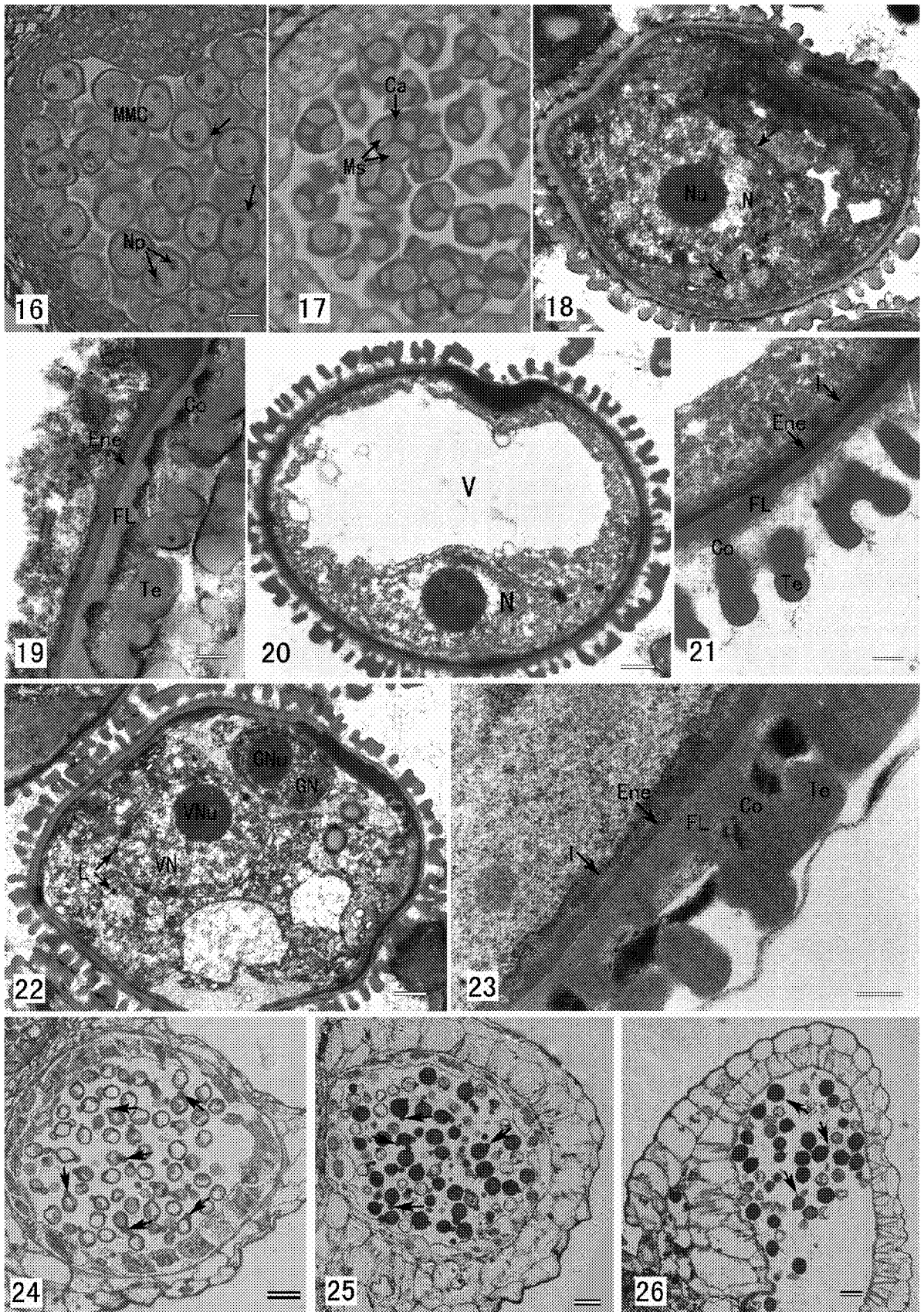
匡延凤等:图版 I

KUANG Yan-feng, et al.: Plate I



匡延凤等:图版 II

KUANG Yan-feng, et al.: Plate II



匡延凤等:图版 III

KUANG Yan-feng, et al.: Plate III