

# 羽叶薰衣草雄性不育的细胞学研究

黄珊珊<sup>1</sup>, 廖景平<sup>2\*</sup>

(1. 广东省中药研究所, 广州 510520; 2. 中国科学院华南植物园, 广州 510650)

**摘要:** 用光镜和电镜观察羽叶薰衣草(*Lavandula pinnata* L.)雄性不育小孢子发育过程的细胞形态学特征。结果表明:羽叶薰衣草花药4枚,每枚花药通常具4个小孢子囊。花药壁发育为双子叶型,从外向内分为表皮、药室内壁、中层和绒毡层4层细胞。减数分裂形成的四分体为四面体及十字交叉型。小孢子的发育过程可分为造孢细胞期、减数分裂时期、小孢子发育早期、小孢子发育晚期。未观察到二胞花粉期和成熟花粉期。羽叶薰衣草花粉败育主要发生在单核花粉时期,细胞内物质解体并逐渐消失变成空壳花粉或花粉皱缩变形成为各种畸形的败育花粉。在此之前小孢子的发育正常。羽叶薰衣草小孢子不育机制体现在绒毡层过早解体、四分体时期以后各细胞中线粒体结构不正常、胼胝质壁与小孢子母细胞脱离、花药壁细胞中淀粉出现时间异常等。

**关键词:** 羽叶薰衣草; 小孢子发生; 雄性不育; 线粒体; 绒毡层; 超微结构

中图分类号: Q944.58

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2009)05-0436-09

## Cytological Study on Male Sterile of *Lavandula pinnata* L.

HUANG Shan-shan<sup>1</sup>, LIAO Jing-ping<sup>2\*</sup>

(1. Institute of Chinese Medicine of Guangdong Province, Guangzhou 510520, China; 2. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

**Abstract:** Microsporogenesis development of male sterile of *Lavandula pinnata* grown in South China was observed by light and electron microscopy. The results showed that the male flowers of *L. pinnata* had four stamens, each bears four microsporangia. Development of anther wall belonged to Dicotyledon Type, and the anther wall was composed of an epidermis, endothecium, middle layer(s) and glandular tapetum. The cytokinesis following meiosis was simultaneous, producing tetrahedral and decussational tetrads. The development of the microspore could be divided into sporogenous stage, meiosis stage, and the early and late stage of the microspore. Binucleate pollen stage and mature pollen stage were not observed. Sterile pollens occurred in the mononuclear pollen stage, the cytoplasm degenerated and disappeared developing abnormal pollen grains. Microsporogenesis were normal before the mononuclear pollen stage. The sterile characteristics showed tapetal cells degenerated too early and mitochondria was abnormal during the tetrad stage, there were abnormal spaces between callus wall and mother microspores wall, and the granules appeared in the anther wall cells unconventionally.

**Key words:** *Lavandula pinnata* L.; Microsporogenesis; Male sterile; Mitochondria; Tapetum; Ultrastructure

羽叶薰衣草(*Lavandula pinnata* L.)为唇形科(Labiatae)多年生亚灌木,原产加那利岛,适应地中海气候。羽叶薰衣草具有很大的商业价值,广泛用于医疗、化工行业,在园林绿化造景中也非常重要<sup>[1]</sup>。由于该种比较耐热,在我国南部地区得到广

泛推广。

薰衣草花冠较小,雌雄蕊隐藏在唇形花冠中,难于采用人工去雄授粉进行杂交育种。因此,雄性不育系的发现、研究和利用就显得十分必要。然而,薰衣草雄性不育的基础研究还十分薄弱,其细

胞学的相关研究仍是空白。为了探讨薰衣草雄性不育发生的机理,加快其利用进程,本研究以羽叶薰衣草雄性不育系为材料,利用光镜和电镜对其小孢子发育过程及其超微结构进行系统研究,从超微水平上分析羽叶薰衣草小孢子败育的起始时间,探讨小孢子败育的组织学和细胞生物学原因,为薰衣草雄性不育系的研究与利用提供依据,也为杂种优势育种提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

羽叶薰衣草(*Lavandula pinnata* L.)雄性不育系由广东清远薰衣草世界提供,经中国科学院华南植物园 1 a 田间种植后,于 2007 年 10 月盛花期采集。凭证标本(697119)存于中国科学院华南植物园标本馆(BGSC)。

### 1.2 方法

**扫描电镜观察** 取即将开花花药中的新鲜花粉,冷冻干燥及喷镀处理后,用 JSM-6360 扫描电镜观察并摄影。

**光镜和透射电镜观察** 选取植株整个穗状花序,按花蕾的着生顺序分类并立即固定。花蕾经 2.5% 戊二醛和 1% 锇酸双重固定,酒精系列脱水,环氧丙烷过渡, Epon812 包埋,用 LKB-11800 超薄切片器切成 2  $\mu\text{m}$  薄片,甲苯胺蓝染色,用 OLYMPUS-DP50 光学显微镜观察并摄影。超薄切片用 2% 的醋酸双氧铀和 6% 柠檬酸铅双重染色,用日本 JEM-1010 透射电镜于 100 kV 下观察并照相。

## 2 结果

羽叶薰衣草花药 4 枚,每枚花药通常具 4 个小孢子囊。扫描电镜观察到的花粉粒干瘪不规则。小孢子的发育可分为:造孢细胞期、减数分裂时期、小孢子发育早期、小孢子发育晚期。未观察到二胞花粉期和成熟花粉期花粉。

### 2.1 造孢细胞期

孢原细胞分裂成初生壁细胞和初生造孢细胞后,初生壁细胞继续进行平周和垂周分裂,产生一系列的同心圆排列的细胞层。而初生造孢细胞将进行一次或多次分裂形成多列小孢子母细胞(图版 I: A)。此时各细胞层的结构类似,细胞排列紧密,

呈多边形,细胞核占整个细胞体积的一半以上,液泡小,双层核膜清晰,核仁明显且位于细胞的中央,细胞质中分布有丰富小泡和细胞器,细胞器主要是线粒体和电子密度较高的质体,线粒体多呈椭圆形或圆形,内部的嵴清晰(图版 II: A)。小孢子母细胞早期的细胞壁规则,1 层很薄,之后局部细胞壁开始不规则加厚,细胞内的原生质体形状也由多边形向圆形转化。

在花药内部分化出造孢细胞的同时,花药的药壁组织也开始分化,可基本将药壁从外向内区分为表皮、药室内壁、中层和绒毡层 4 层细胞(图版 I: B)。此时各层细胞的细胞质浓厚、核仁明显,细胞中含有大小不一的液泡,细胞器稀少,各层细胞细胞质内容物相似,含有线粒体、内质网、高尔基体和核糖体。从各层细胞分裂方式来看,羽叶薰衣草药壁形成的方式为典型的双子叶型。

### 2.2 减数分裂时期

小孢子母细胞最初只具薄的纤维素壁,随着小孢子母细胞进入减数分裂,其细胞壁逐渐积累胼胝质物质。

在减数分裂前期,从细线期到双线期的小孢子母细胞,细胞质电子越来越不透明,小孢子母细胞核较大,核仁相对较小,靠边缘分布(图版 II: B),且有额外核仁的现象。此时期的小孢子母细胞中线粒体逐渐失去内部结构变成球形,它们仅保留少量的嵴,质体变大但电子密度降低(图版 II: C)。有些小孢子母细胞间存在胞质通道,通道间布满小泡,胼胝质壁逐渐形成将通道阻塞(图版 II: D)。

小孢子母细胞在第一次减数分裂后形成无细胞壁分隔的二细胞核(图版 I: C),说明其减数分裂为同时型。此时的小孢子母细胞基质电子密度较低,超微结构类似于减数分裂前期。

在减数分裂后期,正常发育的小孢子母细胞减数分裂最终产生的四分体为交叉十字形和四面体形(图版 II: E, F)。细胞被厚厚的胼胝质壁包围,刚形成的 4 个小孢子细胞被胼胝质分开,但它们之间仍存在胞质通道。在细胞质中,细胞器的数量很丰富,主要是质体和线粒体,大部分线粒体结构比较紊乱,出现环行内质网现象,且盘绕形成包围细胞质的囊泡(图版 II: G)。

在花药壁的 4 层细胞中,小孢子母细胞刚进入减数分裂期时,绒毡层细胞的形状已发生了明显的变化,细胞径向伸长,其厚度要大于其他 3 层细胞,

染色也比其它壁层细胞更深,细胞壁较厚,也很规则,与中层细胞间有胞间连丝关联(图版 I: C)。

在减数分裂前期,大部分绒毡层细胞具有 2 个细胞核,且有融合现象(图版 II: H)。靠中层的切向壁已开始液泡化,出现了一些体积大小不等的液泡(图版 II: I),细胞中的线粒体和质体的数量较多,有些质体成环状结构(图版 II: J)。其中比较明显的变化是大量的内质网平行排列于细胞质中,但有些已出现液泡化的现象(图版 II: H)。部分花药绒毡层细胞液泡化严重,径向壁已出现了解体现象(图版 III: A)。在花药壁其它 3 层细胞中,细胞核仍然比较明显,淀粉粒比较少,并且细胞开始液泡化(图版 III: B)。

当减数分裂进入四分体时期时,绒毡层细胞中仍然含有丰富线粒体,且线粒体结构清晰,嵴明显,质体数量减少,几乎无内质网(图版 III: C)。而药壁中的表皮、药室内壁以及中层细胞继续保持液泡化,细胞质被挤到了细胞边缘,只占很少的一部分,线粒体的结构也基本正常,未发现有淀粉粒。

在整个减数分裂期,即小孢子母细胞刚形成胼胝质层到四分体时期,都出现细胞壁与胼胝质壁分离的现象(图版 III: D)。有些小孢子母细胞的细胞质与胼胝质分离,产生的间隙中存在泡状物(图版 III: E),不像可育小孢子母细胞那样彼此相贴,空隙间充满染色很深的物质。

### 2.3 小孢子发育早期

随着包围四分体的胼胝质壁溶解,四分体中的 4 个小孢子彼此分离,游离小孢子呈梭形(图版 I: D)。从四分体中释放出来的小孢子大多发育不良。即使少数能正常发育的小孢子[能够逐渐液泡化,由梭形变成圆形的(图版 I: E)],它们细胞质中各种细胞器的结构仍然不正常,尤其是线粒体和质体:线粒体嵴紊乱,模糊;质体大而电子密度大(图版 III: F)。而形状不规则的小孢子不能变成圆形,形成的花粉壁较薄且花粉的外形很不规则(图版 I: E)。大部分花粉外壁呈不连续状,少有正常的。

在药壁细胞中,表皮和药室内壁的液泡化增强,但细胞形状仍然保持矩形,这 3 层细胞中的细胞器仍然较多,但几乎无淀粉粒。此时绒毡层解体更加迅速,在径向壁和内切向壁发生溶解,甚至落入药室中(图版 III: G)。细胞内的大液泡开始降解为小液泡,细胞质内仍含有丰富脂滴和线粒体,出现了粗面内质网,线粒体的嵴也开始变模糊。

### 2.4 小孢子发育晚期

小孢子发育的晚期是以形成大液泡为标准(图版 I: F)。但只有极个别小孢子能正常发育,可看到有丝分裂后形成二核的花粉(图版 I: G)。大部分的细胞质逐渐液泡化并消失,只剩下一圈外壁,且形状不规则,呈瘪缩空壳状,即使残留有细胞质也只是极少的一部分,最终未能发育为成熟花粉(图版 I: H)。含有少量细胞质的花粉,线粒体膨大,嵴紊乱,内质网不正常(图版 III: H)。药壁中层细胞基本已降解消失,而表皮、药室内壁的细胞完全液泡化呈圆形,并且有淀粉粒存在,此外药室内壁具纤维状加厚(图版 III: I)。绒毡层细胞已经几乎完全降解,只剩下四周的细胞壁残迹及电子密度与脂类相似的物质,药室中也可见大量的脂类物质。

## 3 讨论

### 3.1 羽叶薰衣草小孢子发育特征

羽叶薰衣草花药具有 4 个花粉囊。花药壁发育为双子叶型,最终内壁发育纤维状加厚,属基础型<sup>[2]</sup>。减数分裂形成的四分体为四面体及十字交叉型<sup>[3]</sup>。绒毡层原生质体始终维持在原来的位置,直至花粉成熟后,绒毡层细胞完全自溶,为腺质型,且羽叶薰衣草为异型的绒毡层。羽叶薰衣草小孢子发育的特征基本与唇形科其它植物的一致<sup>[4]</sup>。

在小孢子发育过程的超微结构观察中,羽叶薰衣草小孢子从造孢时期到四分体时期,花药壁之间、绒毡层与小孢子母细胞之间及小孢子母细胞之间都存在细胞间的交流,而这种交流是通过胞间连丝及胞质通道来完成。随着小孢子母细胞胼胝质壁的形成,胞间连丝及胞质通道逐渐消失,这与前人报道的基本一致<sup>[5-6]</sup>。但是,胞间连丝及胞质通道的产生和消失的确切时间仍有争论。Weiling<sup>[6]</sup>对 *Lycopersicon esculentum* 和 *Cucurbita max* 的研究表明,小孢子母细胞积累厚厚的胼胝质时胞间连丝将消失,胞质通道在四分体时期也随之消失。Heslop-Harrison<sup>[5]</sup>提出胞间连丝是在第一次减数分裂前形成而在第二次减数分裂时消失。我们在羽叶薰衣草小孢子发育的观察中,胞质通道在整个减数分裂期(包括四分体的形成时期)都存在,直至小孢子壁的形成。另一方面,Heslop-Harrison<sup>[7]</sup>提出胼胝质是小孢子进入减数分裂细线期时在在小孢子母细胞膜和壁之间的角隅处沉积,且高尔基体参与了胼胝质的产生和运输。我们的研究结果与此基

本一致,但胼胝质的积累在造孢时期就已经开始。

### 3.2 羽叶薰衣草的雄性不育机制分析

羽叶薰衣草花粉败育主要发生在单核花粉时期(多为单核晚期),花粉败育的特征主要表现在原生质体皱缩成团退化解体,细胞质稀薄,核糖体聚集,内质网解体,形成吞噬泡等,最后胞内物质解体逐渐消失变成空壳花粉或花粉皱缩形成各种畸形的败育花粉。羽叶薰衣草小孢子不育机制体现在绒毡层过早解体,四分体时期以后细胞中线粒体结构不正常,胼胝质壁与小孢子母细胞分离,花药壁细胞中淀粉出现时间异常。

**雄性不育:绒毡层** 绒毡层是一种多功能的组织,保证小孢子母细胞正常的减数分裂、提供孢粉素及营养物质来确保小孢子的正常发育<sup>[8]</sup>。正是由于绒毡层的重要性,绒毡层过早解体或不解体都能直接或间接地引起雄性不育<sup>[9-10]</sup>。在华南植物园种植的羽叶薰衣草花药绒毡层发育过程中,有3个典型的败育特征:提前液泡化,细胞器不正常和过早降解。

绒毡层在减数分裂期就出现明显的液泡化。液泡化首先从绒毡层靠中层的切向壁,及外切向壁开始,且越来越严重,到小孢子单核时期绒毡层几乎已降解。绒毡层提前液泡化作为一种败育特征已有报道<sup>[11-15]</sup>。液泡化在不恰当时间出现暗示了其他细胞器也发生了相应的改变<sup>[13-14]</sup>,如质体的变形、环化,内质网膜的扩张及四分体后期线粒体嵴变模糊等。因此,液泡化破坏了绒毡层原有的功能,如一些分泌物积累在大液泡中,不能正常通过绒毡层到达小室,从而影响小孢子的发育。而内质网的不正常也影响了孢粉素的合成与运输<sup>[15-16]</sup>。虽然减数分裂期的小孢子发育还比较正常,但在随后的小孢子单核期,小孢子迅速退化,不能完成壁的构建及正常有丝分裂,最终不能形成可育的小孢子。

**雄性不育:线粒体** 自从线粒体结构的缺失和异常与细胞质雄性不育联系起来后,花粉败育机制中的超微结构研究也主要集中在花药壁细胞、绒毡层细胞及小孢子细胞质中的各细胞器,尤其是线粒体的结构<sup>[12,17-19]</sup>。羽叶薰衣草小孢子发生发育过程中,线粒体结构在造孢时期及四分体时期正常,但四分体时期后绒毡层及小孢子中的线粒体出现不同程度的异常,如线粒体嵴紊乱、膨胀和空泡化等,这与 Warmke 和 Lee<sup>[17]</sup>报道的结果大致相同,但

我们未发现四分体时期线粒体不正常现象。线粒体拥有自身的 DNA,在细胞代谢中扮演重要的角色。线粒体结构的异常最终也将导致花粉的败育。

**雄性不育:胼胝质** 在大多数被子植物中胼胝质的沉积在小孢子发育过程中是一个必然的事件<sup>[21-22]</sup>。在减数分裂期间,小孢子母细胞缺乏胼胝质壁将产生功能不育的小孢子<sup>[23]</sup>。Worrall 等<sup>[14]</sup>将一种特殊的葡聚糖基因转到烟草中,使得转基因植株小孢子发育过程中胼胝质壁提前分散解离,最终导致小孢子败育。在我们的实验中,减数分裂时期小孢子母细胞形成胼胝质壁后,小孢子母细胞分离和四分体分离时,都出现小孢子壁与胼胝质壁分离的现象(可以排除实验造成,因为其它壁层细胞结构完整)。分离产生的空隙中有泡状物存在,推测此为小孢子之间分离时造成胼胝质脱离所产生的空隙。这种胼胝质的脱离很可能是造成花粉不育的原因之一。

**雄性不育:淀粉粒** 药壁中淀粉存在的时期异常也是不育花药的特征之一<sup>[20,24]</sup>。可育花药的药壁细胞在小孢子发育早期质体含有淀粉粒而在小孢子单核晚期药壁中的淀粉粒已基本消失。淀粉分解转化成各类物质,为小孢子正常发育提供所需的营养及胞壁的构建<sup>[25]</sup>。但在羽叶薰衣草不育花药中,早期的花药各壁层细胞淀粉粒含量较少,而在小孢子单核晚期的内表皮细胞中却含有大量的淀粉粒。这说明淀粉的分解转化不完善,未能满足小孢子发育所需。这可能也是造成小孢子发育不良的因素之一。

### 参考文献

- [1] Huang S S (黄珊珊), Liao J P (廖景平), Wu Q G (吴七根). Developmental anatomy of trichomes in *Lavandula pinnata* L. [J]. J Trop Subtrop Bot (热带亚热带植物学报), 2006, 14: 134-140. (in Chinese)
- [2] Manning J C. Diversity of endothelial patterns in the angiosperms [M]. D'Arcy W G, Keating R C. The Anther. Cambridge, England: Cambridge University Press, 1966: 136-158.
- [3] Davis G L. Systematic Embryology of the Angiosperms [M]. New York: John Wiley and Sons, Inc. 1966: 1-71.
- [5] Heslop-Harrison J. Cytoplasmic connections between angiosperm meiocytes [J]. Ann Bot, 1966, 30: 221-230.
- [6] Weiling F. Light und elektronenmikroskopische beobachtungen zum problem der cytotoxicität sowie ihrer möglichen beziehung zur potocytose. untersuchungen bei *Cucurbita* arten und *Lycopersicon esculentum* [J]. Planta, 1965, 67: 182-212.
- [7] Heslop-Harrison J. Cytoplasmic continuities during spore formation

- in flowering plants [J]. *Endeavour*, 1966, 25: 65-72.
- [8] Kamelina O P. Tapetum [M]// Batygina T B. Embryology of Flowering Plants: Terminology and Concepts. Generative Organs of Flower Vol. 1. Enfield NH: Science Publishing, 2002: 1-79.
- [9] Laser K D, Lersten N R. Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperms [J]. *Bot Rev*, 1972, 38: 425-454.
- [10] Kaul M L H. Male Sterility in Higher Plants [M]. Berlin: Springer-Verlag, 1988: 211-256.
- [11] Overman M A, Warmke H E. Cytoplasmic male sterility in Sorghum. II. Tapetal behavior in fertile and sterile anthers [J]. *J Hered*, 1972, 63: 227-234.
- [12] Lee S-L J, Warmke H E. Organelle size and number in fertile and T-cytoplasmic male-sterile corn [J]. *Amer J Bot*, 1979, 66: 141-148.
- [13] Polowick P L, Sawhney V K. Microsporogenesis in a normal line and in the out cytoplasmic male-sterile line of *Brassica napus* L. in the influence of high temperatures [J]. *Sex Plant Repr*, 1990, 3: 263-276.
- [14] Worrall D, Hird D L, Hodge R, et al. Premature dissolution of the microsporocyte callose wall causes male sterility in transgenic tobacco [J]. *Plant Cell*, 1992, 4: 759-771.
- [15] Stritmatter L I, Negron-Ortiz V, Hickey R J. Comparative microsporangium development in male-fertile and male sterile flowers of *Consolea* (Cactaceae): When and how does pollen abortion occur [J]. *Grana*, 2006, 45: 81-100.
- [16] Simith M B, Plamer R G, Horner H T. Microcopy of a cytoplasmic male-sterile soybean from an interspecific cross between *Glycine max* and *G. soja* (Leguminosac) [J]. *Amer J Bot*, 2002, 89: 417-426.
- [17] Warmke H E, Lee S-L J. Mitochondrial degeneration in Texas cytoplasmic male-sterile corn anthers [J]. *J Hered*, 1977, 68: 213-222.
- [18] Horner H T. A comparative light- and electron microscopy study of microsporogenesis in male-fertile and cytoplasmic male-sterile sunflower (*Helianthus annuus*) [J]. *Amer J Bot*, 1977, 64: 745-759.
- [19] Hanson M R, Conde M F. Functioning and variation of cytoplasmic genomes: Lessons from cytoplasmic nuclear interactions affecting male fertility in plants [J]. *Int Rev Cytol*, 1985, 94: 213-267.
- [20] Pollak P E. Cytological differences between a cytoplasmic male sterile tobacco cybrid and its fertile counterpart during early anther development [J]. *Amer J Bot*, 1992, 79: 937-945.
- [21] Johri B M. Embryology of Angiosperms Vol. 7 [M]. Berlin: Springer-Verlag, 1984: 174-175.
- [22] Bhatia D S, Malik C P. Significance of callose in reproduction of higher plants with special reference to male gametophyte [M]// Malik C P. Pollen-spore Research Emerging Strategies. Advances in Pollen-spore Research Vol. 21. New Delhi: Today and Tomorrow's Printers and Publishers, 1996: 221-240.
- [23] Teng N J, Huang Z H, Mu X J, et al. Microsporogenesis and pollen development in *Leymus chinensis* with emphasis on dynamic changes in callose deposition [J]. *Flora*, 2005, 200: 256-263.
- [24] Hidalgo P J, Hesse M, Uebera J L, et al. Microsporogenesis in male sterile *rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae), an ultrastructural study [J]. *Grana*, 1999, 38: 343-355.
- [25] Feijo J A, Pais M S S. Ultrastructural modifications of plastids and starch metabolism during the microsporogenesis of *Ophrys lutea* (Orchidaceae) [J]. *Ann Bot*, 1988, 61: 215-219.

### 图版说明

c: 胼胝质 Callose; d: 高尔基体 Golgi bodies; e: 表皮 Epidermis; en: 内表皮 Endothecium; ER: 内质网 Endoplasm; lp: 脂滴 Lipids; m: 线粒体 Mitochondria; mmc: 小孢子母细胞 Microspore mother cell; ml: 中层 Middle layer; n: 细胞核 Nucleus; nu: 中央核仁 Nucleolus; p: 质体 Plastid; RER: 粗面内质网 Rough endoplasm; sp: 造孢细胞 Sporogenous cell; tp: 绒毡层 Tapetum.

### 图版 I

- A. 造孢细胞时期, 示造孢细胞分裂成同心圆排列的细胞层, 由外向内为表皮(e), 内表皮(en), 中层(ml), 绒毡层(tp);
- B. 双子叶型花药壁结构, 示中层由内表皮分化而来, 小孢子母细胞(mmc)开始变圆;
- C. 小孢子母细胞经第一次减数分裂后形成的二核(箭), 药壁细胞保持矩形及膨大的绒毡层(tp);
- D. 刚从四分体中释放的梭形小孢子, 绒毡层(tp)已液泡化;
- E. 小孢子液泡化变圆, 大部分小孢子形状不规则, 花药壁(e, en, ml)各层细胞液泡化, 绒毡层(tp)出现降解现象;
- F. 小孢子发育晚期形成的大液泡, 大部分小孢子无细胞质, 绒毡层已基本降解完, 药壁各层细胞(e, en, ml)完全液泡变大;
- G. 具两个核的花粉(极少数能形成);
- H. 败育花粉, 花粉粒干扁不规则, 空壳化。药壁中层与绒毡层已退化。

标尺=20  $\mu\text{m}$

### 图版 II

- A. 造孢细胞的放大图。细胞器丰富, 高尔基体小泡(箭头), 高电子密度的质体(p), 粗面内质网(箭)及清晰的线粒体(m); 标尺=200 nm
- B. 细线期的小孢子母细胞, 核仁(nu)靠边缘分布; 标尺=2  $\mu\text{m}$
- C. 减数分裂时期小孢子的超微结构。线粒体嵴不明显且变成球形(m), 质体电子密度降低(p); 标尺=200 nm
- D. 减数分裂期时小孢子母细胞间的胞质通道(箭头)。通道附近充满小泡(箭), 且被刚沉积的胼胝质(c)包围; 标尺=500 nm
- E. 交叉十字形的四分体; 标尺=2  $\mu\text{m}$
- F. 四面体形的四分体; 标尺=2  $\mu\text{m}$
- G. 四分体小孢子的超微结构。线粒体嵴(箭头)较完整, 质体(p)电子密度大, 出现环形内质网(箭)现象; 标尺=200 nm
- H. 减数分裂前期, 示具二细胞核(nu)且互相融合的绒毡层(tp)细胞; 标尺=500 nm

- I. 减数分裂前期, 示绒毡层细胞靠中层的切向壁出现液泡化(v), 丰富的内质网平行排列(箭); 标尺=500 nm
- J. 环状质体(p)结构; 标尺=200nm
- K. 减数分裂前期, 示平行排列的内质网及液泡化现象; 标尺=200nm

### 图版 III

- A. 减数分裂期绒毡层细胞液泡化严重, 径向壁开始解体

(箭); 标尺=1  $\mu\text{m}$

B. 减数分裂时期的花药壁细胞。内外表皮细胞都含淀粉粒(箭头),且都开始液泡化(v); 标尺=1  $\mu\text{m}$

C. 四分体时期绒毡层(tp)的超微结构。线粒体嵴清晰明显(箭头),质体少,内质网几乎无,液泡化明显; 标尺=200 nm

D. 示小孢子母细胞壁与胼胝质壁(c)分离; 标尺=5  $\mu\text{m}$

E. 胼胝质壁(c)与小孢子母细胞壁分离产生的空隙,中间有一些小泡(箭); 标尺=500 nm

F. 花粉粒发育初期的超微结构。示大质体(p),脂滴(lp)和嵴(箭)模糊的线粒体; 标尺=200 nm

G. 小孢子发育初期的绒毡层降解严重,脂滴增加(lp),花药壁中表皮(e),内表皮(en)及中层(ml)仍保持矩形; 标尺=2  $\mu\text{m}$

H. 败育花粉中不正常的内质网(箭); 标尺=200 nm

I. 小孢子单核期。花药壁内皮层仍含有淀粉粒,且纤维状加厚(箭头)。标尺=2  $\mu\text{m}$

## Explanation of plates

### Plate I

A. Sporogenous stage, showing the epidermis (e), endothecium (en), middle layer (ml) and tapetum (tp);

B. The dicotyledonous type anther wall, showing the middle layer is differentiated from the inner layer, and the microspore mother cells (mmc) become round;

C. Microspore mother cells produce two nucleoli (arrowhead) after the first meiosis, and the anther wall cells keep rectangle while the tapetum cells swelled;

D. Showing the shuttle-shaped microspores and vacuolized tapetum (tp);

E. The microspores are vacuolized and become round, and the shape is abnormal, each layer of the anther walls (e, en, ml) vacuolized, and the tapetum (tp) degenerates;

F. The post microsporogenesis stage. Showing the microspores with big vacuoles, cytoplasm absent, tapetum almost degenerated, and the layers of the anther walls cells (e, en, ml) vacuolized and become bigger;

G. Two-celled pollen grains (infrequency);

H. The aborted pollen grains, and the middle layer and tapetum all degenerated.

Bars = 20  $\mu\text{m}$

### Plate II

A. The enlargement of the sporogenous cell, showing the Golgi vesicles (arrowheads), plastids (p), RER (arrow) and mitochondria (m) with clear crista; Bar = 200 nm

B. Microspore mother cells at meiosis stage; Bar = 2  $\mu\text{m}$

C. The ultrastructure of the microspore during meiosis stage. The mitochondria (m) become round, and the electronical dense of the plastids (p) decreased; Bar = 200 nm

D. Cytoplasm channels (arrowhead) between the microspore mother cells at meiosis stage, beside which are full of vesicles (arrows) and enveloped by callose (c); Bar = 500 nm

E. Showing the decussational tetrad; Bar = 2  $\mu\text{m}$

F. Showing the tetrahedron-shaped tetrad; Bar = 2  $\mu\text{m}$

G. Ultrastructure of the tetrad. Showing the integrated mitochondria (arrowheads), plastids (p) and round ER (arrows); Bar = 200 nm

H. Early meiosis stage, showing the tapetum (tp) cell with two nucleoli (nu); Bar = 500 nm

I. Early meiosis stage, showing the vacuolation (v) of the tapetum besides the middle layer (ml), and plentiful parallel arranged ER (arrows); Bar = 500 nm

J. Early meiosis stage, showing the round plastids (p) in the tapetum cell; Bar = 200 nm

K. Meiosis stage, showing the parallel arranged ER and vacuolation (arrowheads) in the tapetum cell. Bar = 200 nm.

### Plate III

A. Meiosis stage, the tapetum (tp) vacuolized seriously, and its radial wall begin to degenerate (arrowheads); Bar = 1  $\mu\text{m}$

B. Anther wall cells at meiosis stage, both epidermis (e) and endothecium (en) cells with starch grains (arrowheads), and begin to vacuolized; Bar = 1  $\mu\text{m}$

C. Ultrastructure of the tapetum during tetrad stage, showing the clear crista (arrowheads) of mitochondria, sparse plastids, and ER almost disappear; Bar = 200 nm

D. Showing microspore mother cell wall separates from the callose wall (arrows); Bar = 5  $\mu\text{m}$

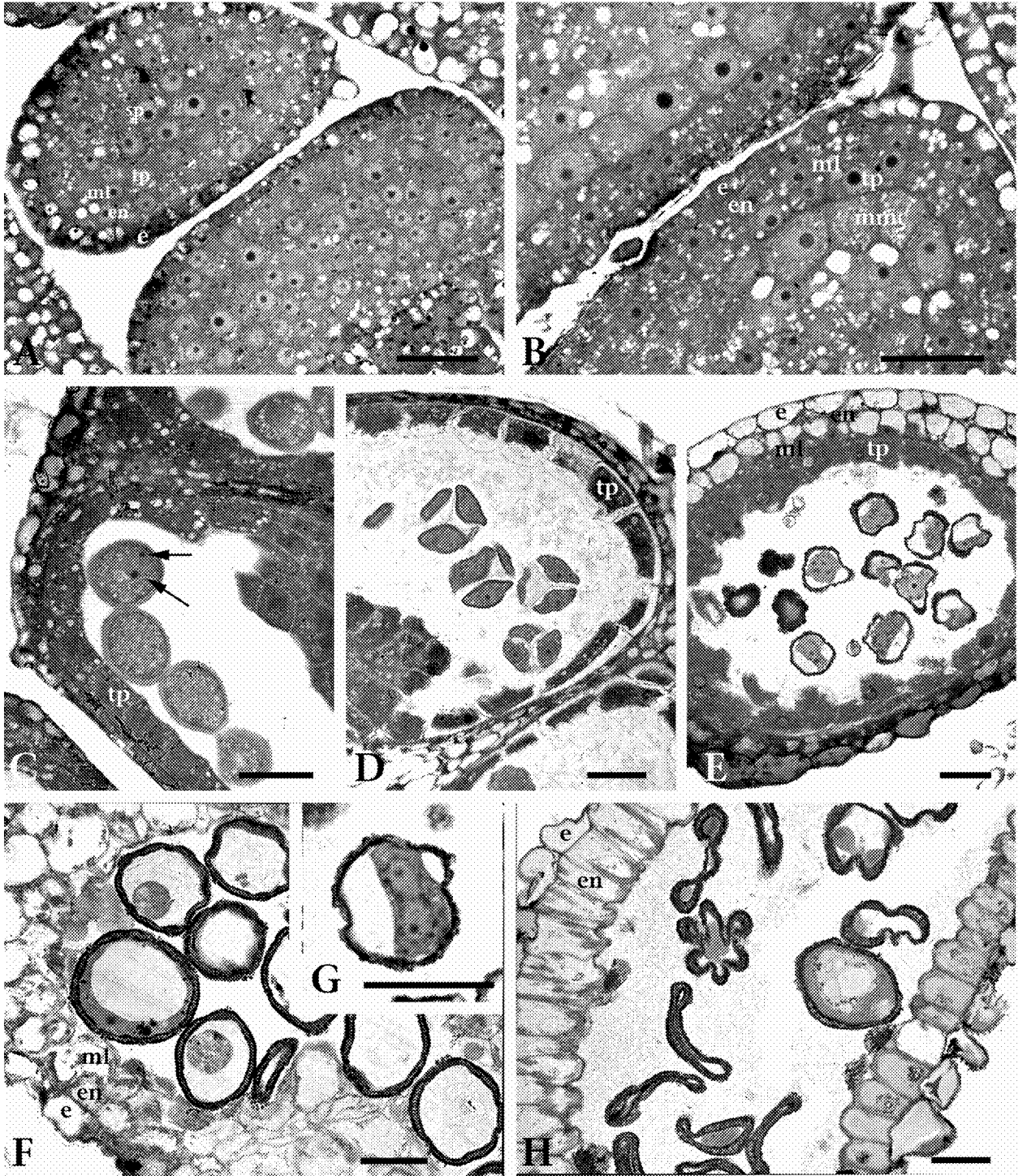
E. Showing the space between the callose wall and microspore mother cell wall, and in which there appears some vesicles (arrows); Bar = 500 nm

F. The early stage of the pollen development, showing the big plastids (p), and lipids (lp), and the blur mitochondria crista (arrowhead); Bar = 200 nm

G. Microspore development at early stage, the tapetum degenerate seriously, lipids (lp) increase. While the epidermis (e), endothecium (en) and middle layer (ml) cells still keep rectangle-like; Bar = 2  $\mu\text{m}$

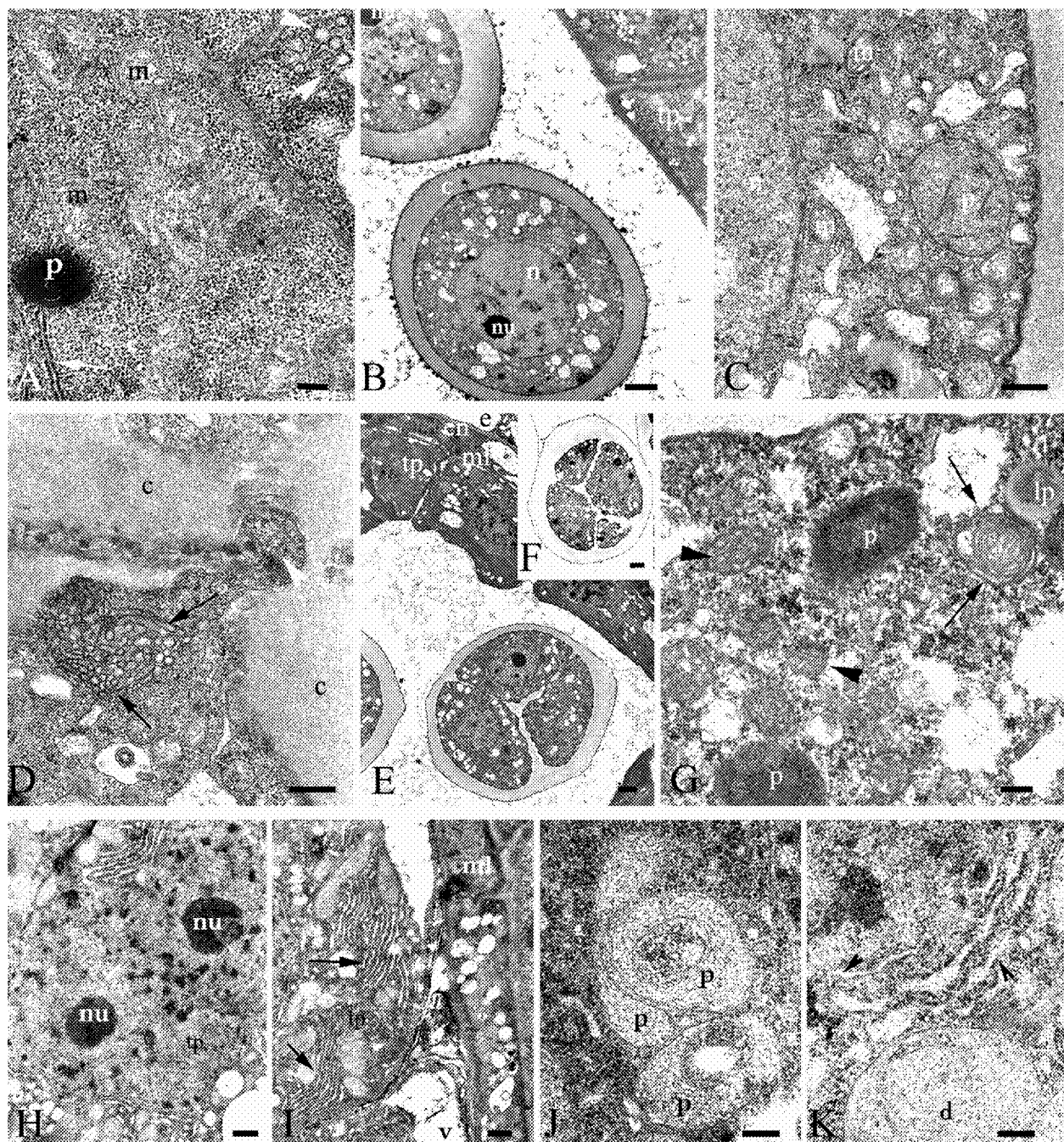
H. Abnormal ER (arrowheads) in aborted pollen; Bar = 200 nm

I. The single nucleolus stage, the endothecium (en) cells still with starch grains, and fibred-like thicken (arrowheads). Bar = 2  $\mu\text{m}$



黄珊珊等:图版 I

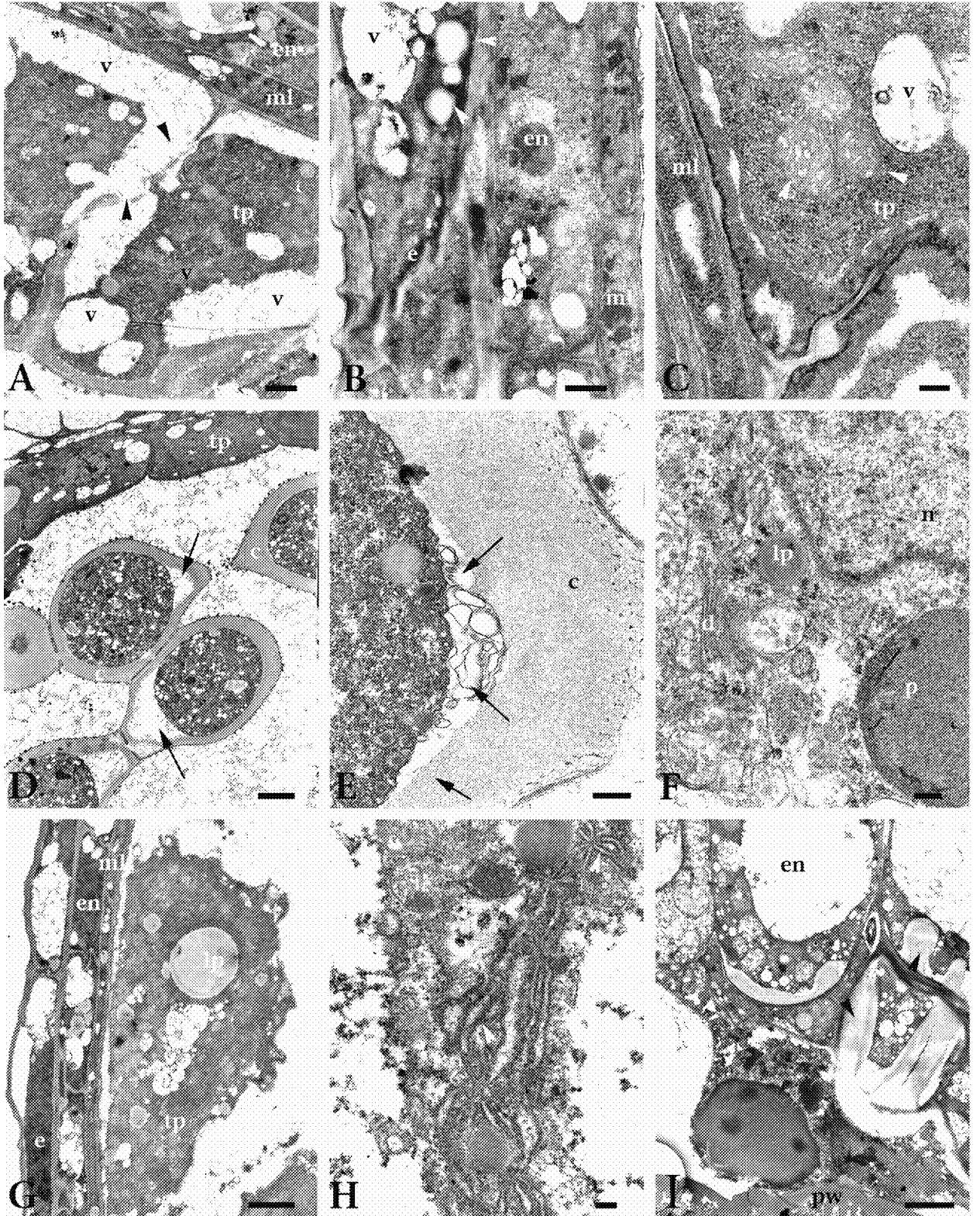
HUANG Shan-shan, et al.: Plate I



黄珊珊等:图版 II

HUANG Shan-shan, et al.: Plate II





黄珊珊等:图版 III

HUANG Shan-shan, et al.: Plate III