

# 蓝猪耳小孢子发生和雄配子体发育

陈素红<sup>1,2</sup>, 邹璞<sup>2</sup>, 廖景平<sup>2\*</sup>

(1. 广东食品药品职业学院, 广州 510520; 2. 中国科学院华南植物园, 广州 510650)

**摘要:**利用常规石蜡切片和超薄切片技术研究蓝猪耳(*Torenia fournieri*)小孢子发生和雄配子体发育过程。蓝猪耳雄蕊4枚,花药具4个花粉囊。小孢子母细胞经减数分裂成四分体,其排列方式为四面体形或左右对称形。成熟花粉属2细胞型,具3个萌发孔。花药壁发育为双子叶型,腺质绒毡层。小孢子母细胞在四分体时期频繁出现细胞质降解的异常现象,其它发育阶段均正常;小孢子母细胞不正常的减数分裂可能导致花粉败育,这可能是蓝猪耳结实率低的原因之一。

**关键词:**蓝猪耳;小孢子发生;雄配子体形成

中图分类号:Q944.58

文献标识码:A

文章编号:1005-3395(2010)02-0122-07

## Microsporogenesis and Male Gametophyte Development of *Torenia fournieri*

CHEN Su-hong<sup>1,2</sup>, ZOU Pu<sup>2</sup>, LIAO Jing-ping<sup>2\*</sup>

(1. Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China; 2. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

**Abstract:** Microsporogenesis and male gametophyte development of *Torenia fournieri* were investigated by techniques of paraffin sections and ultra-thin sections. Each flower of *Torenia fournieri* has four stamens, and each anther has four pollen sacs. The microsporocyte developed into tetrahedral or isobilateral tetrad through meiosis. The mature pollen grain of *Torenia fournieri* is 2-cell type with three germination apertures. The development of anther wall is dicotyledonous type, and the tapetum is glandular. Most processes of microsporocyte development are normal, however, the abnormal degradation of microspore cytoplasm is often observed at tetrad stage. It suggested that the abnormal meiosis of microspore mother cell might lead to pollen abortion, which may be one of the main reasons for the low setting rate of *Torenia fournieri*.

**Key words:** *Torenia fournieri*; Microsporogenesis; Male gametophyte development

蓝猪耳(*Torenia fournieri* Linden. ex Fourn.)是玄参科(Scrophulariaceae)蝴蝶草属1年生直立草本植物。栽培种花色艳丽丰富,是优良草花和夏季重要的盆栽观赏花卉之一。它的胚囊结构特殊:成熟胚囊在珠孔端裸露出卵细胞、助细胞和一半中央细胞,并且花期长、花量大,因而被作为研究被子植物受精生物学的理想的模式植物<sup>[1]</sup>。

近年来,借助蓝猪耳特殊的胚囊结构,研究多集中在从花粉萌发到受精卵激活的整个受精过

程<sup>[2-8]</sup>,而有关蓝猪耳胚胎学方面的研究相当少。Vivian等研究了蓝猪耳的胚和胚乳的发育,以及胚乳的吸器、营养功能与成熟种子形成的关系<sup>[9]</sup>。Tiwari报道了蓝猪耳成熟胚囊中有胼胝质壁的出现,对承珠盘的细胞壁进行了组织化学研究<sup>[10-11]</sup>。Wallwork等研究了蓝猪耳授粉后胚囊内细胞结构在受精前的变化<sup>[12]</sup>。而对蓝猪耳小孢子发生和雄配子体发育的研究仍未见报道。为此本研究对蓝猪耳的小孢子发生和雄配子体形成进行研究,探讨

蓝猪耳结实率不高的原因,为模式植物蓝猪耳的生殖生物学、发育生物学方面的研究积累资料。

## 1 材料和方法

供试材料采自中国科学院华南植物园种植的蓝猪耳(*Torenia fournieri* Linden. ex Fourn.),凭证标本 Chen S H 0505。取不同发育时期的花苞,分别用卡尺度量,按花苞长度和开放状态分放,随即用 FAA 液固定,抽气。爱氏苏木精整体染色,常规石蜡切片,厚度 8  $\mu\text{m}$ 。用 Olympus-AX70 光学显微镜观察和 Olympus-DP50 数码相机拍照。

光镜下确定发育时期,选取主要时期的花药用 1% 戊二醛(0.1 mol/L 磷酸缓冲液配制, pH 7.2) 4 $^{\circ}\text{C}$  下固定 12~24 h。用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.2) 洗涤后转入 1% 锇酸(0.1 mol/L 磷酸缓冲液配制, pH 7.2) 4 $^{\circ}\text{C}$  下固定 16 h。再用上述缓冲液冲洗,经乙醇梯度(30%、50%、70%、80%、90%、100%)脱水,环氧丙烷置换, Epon 812 环氧树脂渗透并包埋。包埋块在半薄切片机上用玻璃刀切片,厚度为 1~2  $\mu\text{m}$ , 0.5% 甲苯胺蓝溶液染色,光学显微镜下观察、定位, LK-S 型超薄切片机切片,醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色,在日本 JEM-1010 透射电镜 100 kV 下观察、拍照。

## 2 结果和分析

### 2.1 小孢子发生

蓝猪耳每朵花内有 4 枚雄蕊, 2 长 2 短, 即二强雄蕊。每个花药呈两翼状, 具有 4 个小孢子囊。在幼小花药横切面的角隅处的表皮下方, 孢原细胞平周分裂形成的初生周缘细胞再次平周分裂产生 2 层次生周缘细胞(图版 I:1)。外层细胞再次平周分裂, 产生药室内壁和中层; 内层次生周缘细胞直接分化成绒毡层(图版 I:2)。因此, 花药壁发育类型为双子叶型。由孢原细胞进行分裂产生的初生造孢细胞经多次分裂后形成次生造孢细胞(图版 I:1)。造孢细胞排列紧密, 呈多边形, 细胞核大, 核仁明显且位于细胞中央, 在细胞质中分布有丰富的小液泡。当次生造孢细胞发育至小孢子母细胞时, 体积明显增大, 细胞质中的小液泡已基本消失(图版 I:2)。小孢子母细胞的形状开始逐渐呈圆形, 细胞核大且核仁明显, 细胞质浓厚, 可见丰富的细胞器(图版 I:3)。此时, 花粉囊壁的分化已完成, 从外至内的细胞层依次是: 表皮、药室内壁、中层和绒毡层

(图版 II:3)。

小孢子母细胞经第一次减数分裂, 产生两个子细胞, 即二分体(图版 I:4)。二分体的细胞核大, 占整个细胞体积的一半以上。短暂的间期后, 经第二次减数分裂, 产生多数的四面体形(图版 I:5), 偶见左右对称形四分体(图版 I:6), 胞质分裂属连续型。减数分裂过程中, 经常出现小孢子细胞质解体现象(图版 I:7)。当小孢子还在胼胝质壁内即将从中释放出来之前, 各个小孢子已经开始合成自己的细胞壁(图版 II:1)。接着, 四分孢子体外面所共有的胼胝质壁溶解, 小孢子释放出来。

### 2.2 雄配子体发育

从四分体释放出的小孢子, 球形, 壁较薄, 中央有 1 个大的细胞核, 核仁明显, 胞质浓厚, 无明显液泡, 为单核中央期(图版 I:8)。紧接着小孢子体积迅速增大, 壁增厚, 胞质内出现小液泡并不断融合形成大液泡, 细胞质成薄层贴着细胞壁, 核从中央移至一侧, 靠近细胞壁, 此时为单核靠边期(图版 I:9)。在大液泡形成前, 细胞壁已发育完整(图版 II:2)。从大量的切片中观察到, 同一花药的不同花粉囊之间以及同一花粉囊内的小孢子常常出现不同发育阶段, 即可同时观察到处于单核中央期和单核靠边期的小孢子。

小孢子发育通常不停滞, 接着进行有丝分裂, 进入真正的雄配子体形成阶段。由于小孢子高度液泡化, 单核贴壁进行不对称性分裂, 形成二核(图版 I:10)。随着进一步发育, 胞质浓厚, 中央大液泡逐渐消失, 二核位置发生改变(图版 I:11)。经不均等分裂形成两个形态完全不同的细胞(图版 I:12): 一个是体积较大、位于花粉中央、胞质较浓厚的营养细胞; 一个是体积较小、靠近花粉壁、呈凸透镜形的生殖细胞。雄配子体进一步发育, 生殖细胞游离在营养细胞的胞质中, 形成胞中胞结构, 靠近花粉壁, 发育为二细胞型花粉粒(图版 I:13)。在雄配子体发育成熟的过程中, 生殖细胞和营养细胞形状由球形逐渐变为长纺锤形(图版 I:13)。

### 2.3 小孢子母细胞时期至花粉成熟过程中花药壁的变化

从小孢子母细胞时期至花粉成熟, 花药壁也发生了一系列的变化。蓝猪耳花苞外部形态变化与花药内部各结构发育的对应关系见表 1。

小孢子母细胞时期, 花药壁表皮细胞核大, 垂

表 1 花苞外部形态与花药内部结构发育对应关系

Table 1 The relationships between morphological character of flower bud and related anther development

花苞长度 Length of flower bud (mm)	发育时期 Development stages	花药壁结构 Structure of anther wall			
		表皮 Epidermis	花药内壁(纤维层) Endothecium (fibrous layer)	中层 Middle layer	绒毡层 Tapetum
< 1.5	次生造孢细胞时期 Secondary sporogenous cell stage	矩形,切向加长 Rectangular, tangentially elongated	矩形,切向加长 Rectangular, tangentially elongated	矩形,切向加长 Rectangular, tangentially elongated	
1.5 ~3	小孢子母细胞时期 Microspore mother cell stage	矩形,液泡化 Rectangular, vacuolization	多边形或矩形,切向 加长 Polygonal or rectangular, tangentially elongated	狭长 Narrow	多边形,胞质浓厚,有 的具双核 Polygonal, cytoplasm strong, some binucleated
1.5 ~3	减数分裂时期 Meiosis stage	椭圆形或增大至近 球形 Oval or nearly sphericity	矩形 Rectangular	开始退化 Starting to degenerate	径向加长,排列紧密 Radially elongated, arranged densely
3 ~5	小孢子四分体时期 Microspore tetrad stage	椭圆形或近球形,液 泡化 Oval or nearly sphericity, vacuolization	近方形,径向加长 Nearly square, radially elongated	逐渐退化 Degenerated	开始溶解 Beginning to degenerate
3 ~5	单核小孢子时期 Uninucleate microspore stage	扁平,切向加长 Flat, tangentially elongated	方形,径向加长 Square, radially elongated	退化,留有残迹 Degenerated, retained trace	大部分溶解,出现乌 氏体 Most degenerated, ubisch bodies appeared
5 ~6	小孢子核分裂时期 Microspore mitose stage	扁平,出现角质层 Flat, cuticular layer appeared	细胞壁带状加厚 Cell wall thickened zonally	完全退化 Completely degenerated	完全溶解,大量乌氏 体出现 Completely degenerated, a lot of ubisch bodies appeared
6 ~8	二胞花粉时期 Two- cell pollen grain stage	扁平 Flat	细胞壁带状加厚 Cell wall thickened zonally	—	—
8 ~15 (花苞开放 Blooming)	成熟花粉时期 Mature pollen gains stage	扁平 Flat	细胞壁带状加厚 Cell wall thickened zonally	—	—

—: 已经退化,结构已经不存在 The structure has degenerated and disappeared.

周分裂成两层细胞,胞质开始高度液泡化(图版 II: 3)。到小孢子核分裂中后期,表皮细胞出现明显的角质层,且胞质内有大量淀粉出现(图版 II: 6)。随着花药的发育,到二核花粉时期,表皮细胞逐渐扩展成扁长形(图版 II: 7),在花药开裂处的表皮细胞径向延长(图版 II: 8)。直到二胞花粉后期,表皮细胞始有退化迹象。

在小孢子母细胞时期,花药内壁细胞核大,位于细胞中央,有小液泡包围(图版 II: 3)。到四分体时期,花药内壁细胞具一个较大的液泡,细胞核移向细胞壁一侧(图版 II: 4)。直到二核花粉时期,药室内壁细胞近方形,径向加长,垂周壁纤维状加厚(图版: 7),最后药室内壁成为纤维层。但是在两个

花粉囊连接处的花药壁细胞无带状加厚(图版 I: 10)。药室内壁细胞的这种加厚特征与花药开裂有关。

在小孢子母细胞时期,中层细胞已开始发生变化,贮藏物质减少,细胞切向延长而扁平化(图版 II: 3),然后逐渐趋于解体和被吸收,到单核靠边时期,尚有中层细胞壁存在(图版 II: 5)。直到小孢子核分裂中后期,中层细胞完全消失(图版 II: 6)。

小孢子母细胞时期,绒毡层细胞呈多边形,排列紧密,胞质浓厚,有少量的小液泡围绕着大的细胞核,核仁明显,有的具双核(图版 II: 3)。小孢子母细胞减数分裂中期,绒毡层细胞径向加长,排列紧密,处于发育的旺盛时期。四分体时期,花药的绒

毡层细胞壁溶解,但细胞仍被质膜包围,原生质体保持不融合(图版 II:4)。到单核靠边时期,绒毡层细胞进一步退化,此时其内表面出现黑色颗粒状结构,即乌氏体(图版 II:5)。直到小孢子核分裂中后期,绒毡层细胞基本溶解,大量的乌氏体附着在花药壁内表面(图版 II:6)。绒毡层在整个发育过程中原生质体始终维持在原来的位置,直到花粉成熟后,绒毡层细胞完全自溶。所以,蓝猪耳的绒毡层为腺质绒毡层。

### 3 讨论

植物雄性不育是导致植物结实率不高的主要影响因素之一。关于植物雄性不育的研究, Laser 等总结了被子植物雄性不育的花药败育形式和时期,认为单子叶植物花药败育多数发生在小孢子至二胞花粉时期,而双子叶植物花药败育则多发生在四分体时期或小孢子发育早期阶段<sup>[13]</sup>。王福青等通过对大白菜(*B. campestris* spp. *pekinensis*)雄性不育系 88-3 花药和花粉发育的细胞形态学观察,发现小孢子母细胞不能进入减数分裂和小孢子母细胞不能正常发育是雄性败育的主要形式;中层组织、绒毡层组织及药隔维管束异常均是雄性败育的因素<sup>[14]</sup>。尹增芳等用透射电镜观察拍照了鹅掌楸(*Liriodendron chinense*)花粉败育过程的超微结构,发现败育多数发生在四分体形成之前,少数发生在小孢子形成以后,是由于花粉发育过程中存在异常现象造成的<sup>[15]</sup>。卢永根等观察了水稻(*Oryza sativa*)花粉及花药壁发育的超微结构,认为花粉壁发育异常与小孢子发育异常都会导致花粉败育<sup>[16]</sup>。本文研究了蓝猪耳小孢子的发育过程,观察到蓝猪耳小孢子发育到四分体时期经常出现小孢子细胞质降解的异常现象(图版 I:7),其它各个阶段都正常。推测蓝猪耳小孢子母细胞不正常的减数分裂过程是导致其花粉败育的主要因素。蓝猪耳花粉败育是导致其结实率不高的原因之一。

蓝猪耳花粉壁在四分体时期已经开始形成;小孢子刚从胼胝质壁中释放出来时,花粉壁已经形成。成熟花粉属 2-细胞型,有 3 个萌发孔(沟)。在成熟花粉中,生殖细胞和营养细胞的联合体逐渐变为长纺锤形,靠近花药壁,推测细胞变长梭形有利于它们移到花粉管,其位移可能跟萌发后进入花粉管有关。

蓝猪耳花粉囊壁发育属双子叶型,由 4 层细胞

构成。绒毡层细胞的来源有多种说法。一般认为药室中绒毡层细胞来源于初生周缘层细胞。但在 20 世纪 60 年代已发现绒毡层有二重来源<sup>[17]</sup>,即向小孢子囊的隆起区域的绒毡层由初生周缘层衍生,而向药室内的一半由药隔组织衍生。此外,曾有报道金鱼草(*Antirrhinum majus*)、有腺凤仙花的绒毡层来源于外部的造孢组织,但一些作者<sup>[18]</sup>认为是可疑的,需进一步研究确定。蓝猪耳是腺质绒毡层,其细胞来源于初生周缘层细胞。Vijayaraghavan 等报道玄参科汤氏美洲玄参(*Alectra thompsoni*)的绒毡层细胞是双重来源<sup>[19]</sup>。可见,玄参科不同植物的绒毡层细胞来源方式不同。

蓝猪耳小孢子母细胞时期,花粉壁分化完成。小孢子母细胞减数分裂过程中,中层细胞逐渐解体,直到小孢子核分裂中后期完全消失。然而,绒毡层在四分体时期开始出现退化迹象,同样直到小孢子核分裂中后期退化完成,其分泌的大量乌氏体附于花药内壁上。说明,中层和绒毡层为小孢子的产生及雄配子体的发育提供全程营养。

### 参考文献

- [1] Chen S H(陈素红), Tian H Q(田惠桥), Liao J P(廖景平). Advances in studies on fertilization of *Torenia fournieri* (Scrophulariaceae) [J]. J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报), 2006, 14(6): 532-538.(in Chinese)
- [2] Chen S H(陈素红), Yang Y H(杨延红), Liao J P(廖景平), et al. Isolation of egg cells and zygotes from *Torenia fournieri* [J]. J Plant Physiol Mol Boil(植物生理与分子生物学学报), 2005, 31(4): 383-388.(in Chinese)
- [3] Chen S H, Liao J P, Kuang A X, et al. Isolation of two populations of sperm cells from the pollen tube of *Torenia fournieri* [J]. Plant Cell Rep, 2006, 25(11): 1138-1142.
- [4] Higashiyama T, Kuroiwa H, Kawano S, et al. Guidance *in vitro* of the pollen tube to the naked embryo sac of *Torenia fournieri* [J]. Plant Cell, 1998, 10: 2019-2031.
- [5] Higashiyama T, Kuroiwa H, Kawano S, et al. Pollen tube attraction by the synergid cell [J]. Science, 2001, 293: 1480-1483.
- [6] Han Y Z, Huang B Q, Zee S Y. Symplastic communication between the central cell and the egg apparatus cells in the embryo sac of *Torenia fournieri* L. [J]. Planta, 2000, 211: 158-162.
- [7] Han Y Z, Huang B Q, Guo F L, et al. Sperm extract and inositol 1,4,5-triphosphate induce cytosolic calcium rise in the central cell of *Torenia fournieri* [J]. Sex Plant Reprod, 2002, 15: 187-193.
- [8] Yuan M, Fu Y, Wang F, et al. Fertilization in *Torenia fournieri*: Actin organization and nuclear behavior in the central cell and primary endosperm [J]. Sci China (Ser. C), 2002, 45: 211-224.
- [9] Vivian B G, Emma L F. Megasporogenesis and seed development in *Mimulus tigrinus* and *Torenia fournieri* [J]. Bull Tor Bot Club, 1951,

79(1): 6-24.

- [10] Tiwari S C. Callose in the walls of mature embryo sac of *Torenia fournieri* [J]. *Protoplasma*, 1982, 110: 1-4.
- [11] Tiwari S C. The hypostase in *Torenia fournieri* Lind.: A histochemical study of the cell walls [J]. *Ann Bot*, 1983, 51: 17-26.
- [12] Walkwork M A B, Sedgley M. Early events in the penetration of the embryo sac in *Torenia fournieri* L. [J]. *Ann Bot*, 2000, 85: 447-454.
- [13] Laser K D, Lersten N R. Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperm [J]. *Bot Rev*, 1972, 8: 425-454.
- [14] Wang F Q(王福青), Wang C L(王翠兰), Song Z H(宋再华). The cytological observation of pollen and anther development in the cabbage 88-3 male-sterile line [J]. *Acta Bot Boreal-Occid Sin*(西北植物学报), 2001, 21(3): 570-574.(in Chinese)
- [15] Yin Z F(尹增芳), Fan R W(樊汝汶). The ultrastructure observation on the abortion of *Liriodendron chinese* pollen [J]. *J Plant Res Environ*(植物资源与环境), 1997, 6(2): 1-7.(in Chinese)
- [16] Lu Y G(卢永根), Feng J H(冯九焕), Liu X D(刘向东), et al. Ultrastructural studies on the developmental process of pollen and anther in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Chin J Rice Sci*(中国水稻科学), 2002, 16(1): 29-37.(in Chinese)
- [17] Periasamy K, Swamy B G L. Morphology of the tapetum in angiosperm [J]. *Curr Sci*, 1966, 35: 427-430.
- [18] Echlin P. The role of the tapetum during microsporogenesis of angiosperms [C]// Heslop-Harrison J. *Pollen Development and Physiology*. London: Butterworth, 1971: 41-61.
- [19] Vijayaraghavan M R, Ratnaparki S. Some aspects of embryology of *Alectra thompsoni* [J]. *Phytomorphology*, 1972, 22: 1-8.

## 图版说明

### 图版 I

1. 次生造孢细胞时期, 示次生造孢细胞(SSC)和次生周缘细胞(SPC); Bar = 8  $\mu\text{m}$
2. 小孢子母细胞时期, 示小孢子母细胞(MMC)和分化出的绒毡层(Ta)细胞; Bar = 8  $\mu\text{m}$
3. 示小孢子母细胞的细胞核(N)大, 核仁(Nu)明显, 有额外核仁(SN)可见; Bar = 2  $\mu\text{m}$
4. 二分体(Dy)时期, 示二分体细胞核, 核仁; Bar = 1  $\mu\text{m}$
5. 四分体(Te)时期, 示四面体形四分体和开始退化的绒毡层(DTa); Bar = 8  $\mu\text{m}$
6. 示左右对称形四分体; Bar = 8  $\mu\text{m}$
7. 示出现异常的四分体小孢子; Bar = 7  $\mu\text{m}$
8. 单核中央期, 示刚从四分体释放出来的小孢子(M), 退化中的绒毡层细胞; Bar = 8  $\mu\text{m}$
9. 单核靠边期, 示基本退化完的绒毡层; Bar = 8  $\mu\text{m}$
10. 二核花粉时期, 示靠花粉壁处分裂的两核和乌氏体(Ub); Bar = 8  $\mu\text{m}$
11. 二胞花粉时期, 示药室内壁内侧大量的乌氏体; Bar = 8  $\mu\text{m}$
12. 示二胞花粉中生殖细胞(GC)和营养细胞(VC); Bar = 1  $\mu\text{m}$
13. 示成熟花粉中生殖细胞和营养细胞联合体。Bar = 1  $\mu\text{m}$

### 图版 II

1. 四分体时期花粉壁已经开始出现, 花粉外壁(Ex)在形成过程中; Bar = 200 nm
2. 单核中央期的花粉壁已经完全形成, 花粉内壁(In)形成; Bar = 1  $\mu\text{m}$
3. 小孢子母细胞时期花药壁分化完全, 从外向内依次是: 表皮(Ep)、药室内壁(En)、中层(ML)、绒毡层(Ta); Bar = 2  $\mu\text{m}$
4. 四分体时期绒毡层开始退化; Bar = 2  $\mu\text{m}$
5. 单核靠边期绒毡层基本退化完全, 出现乌氏体, 中层细胞还有残留; Bar = 5  $\mu\text{m}$
6. 小孢子核分裂中后期, 表皮细胞角质化, 药室内壁细胞带状加厚, 中层和绒毡层完全退化, 出现大量乌氏体; Bar = 2  $\mu\text{m}$
7. 二胞花粉时期花粉壁; Bar = 5  $\mu\text{m}$
8. 二胞花粉时期花粉开裂处表皮细胞径向伸长。Bar = 2  $\mu\text{m}$

## Explanation of plates

### Plate I

1. Secondary sporogenous cell stage, showing secondary sporogenous cells and secondary parietal cells; Bar = 8  $\mu\text{m}$
2. Microspore mother cell stage, showing microspore mother cells and differentiated tapetum; Bar = 8  $\mu\text{m}$
3. Showing big nucleus, obvious nucleolus and supererogatory nucleoli in microspore mother cell; Bar = 2  $\mu\text{m}$
4. Dyad stage, showing nucleus and nucleolus in microspore; Bar = 1  $\mu\text{m}$
5. Tetrad stage, showing tetrahedral tetrad and degenerating tapetum; Bar = 8  $\mu\text{m}$
6. Showing isobilateral tetrad; Bar = 8  $\mu\text{m}$
7. Showing abnormal tetrads; Bar = 7  $\mu\text{m}$
8. Uninucleate microspore at the central stage, showing microspores and degenerating tapetum; Bar = 8  $\mu\text{m}$
9. Uninucleate microspore at the vacuolation stage, showing degenerated tapetum; Bar = 8  $\mu\text{m}$
10. Two-nucleus pollen stage, showing two nuclear closing to pollen wall and ubisch bodies; Bar = 8  $\mu\text{m}$
11. Two-celled pollen stage, showing a large number of ubisch bodies inside endothecium; Bar = 8  $\mu\text{m}$
12. Showing germ cell and vegetative cell in two-cell pollen; Bar = 1  $\mu\text{m}$
13. Showing combine of GC and VC. Bar = 1  $\mu\text{m}$

### Plate II

1. The developing pollen wall at tetrad stage, showing exine; Bar = 200 nm
2. The pollen walls development having finished at uninucleate microspore of the central stage, showing exine and intine; Bar = 1  $\mu\text{m}$
3. The differentiation of anther walls having finished at microspore mother cell stage, showing epidermis, endothecium, middle layer and tapetum; Bar = 2  $\mu\text{m}$
4. The tapetum beginning to degenerate at tetrad stage; Bar = 2  $\mu\text{m}$
5. Uninucleate microspore at the vacuolation stage, showing

degenerated tapetum, Ubisch bodies and remains of middle layer; Bar = 5  $\mu$ m

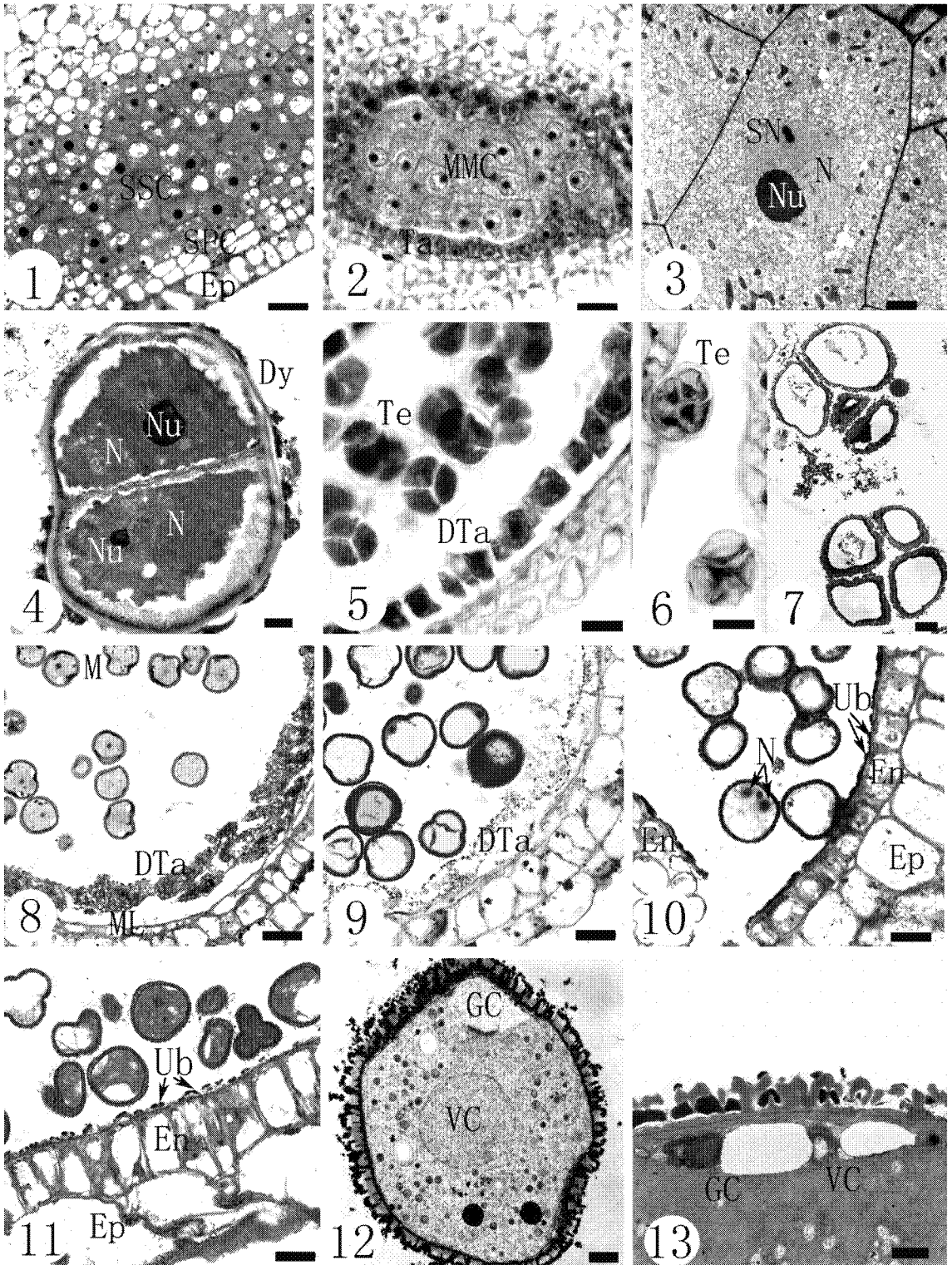
6. Microspore mitosis stage, cuticularized epidermis, cell wall of endothecium thickened zonally, middle layer and tapetum disappeared, a

large number of Ubisch bodies; Bar = 2  $\mu$ m

7. The anther wall at two-celled pollen stage; Bar = 5  $\mu$ m

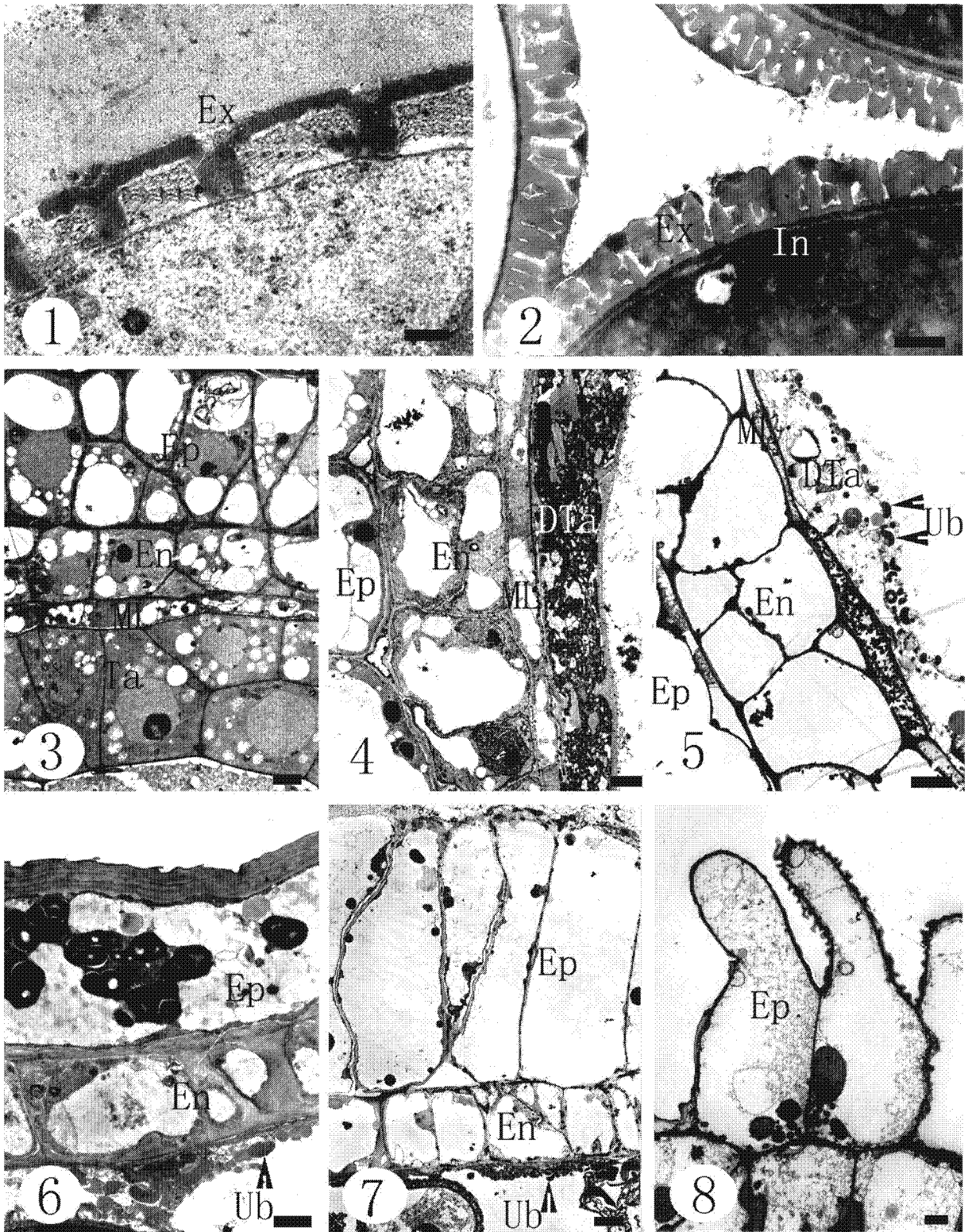
8. The epidermis radially elongated at two-celled pollen stage.

Bar = 2  $\mu$ m



陈素红等:图版 I

CHEN Su-hong, et al.: Plate I



陈素红等: 图版 II

CHEN Su-hong, et al.: Plate II