

# 莴苣花粉发育过程中 ATP 酶的分布

谷力, 叶律, 张亚楠, 田惠桥\*

(厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 对莴苣花粉发育过程中 ATPase 的分布特征做了研究。四分体早期的小孢子细胞质中开始出现 ATPase 反应颗粒。之后, 小孢子在发育过程中, 花粉内壁聚集大量体积较大的 ATPase 反应颗粒, 并一直保持到花粉即将成熟。在小孢子发育晚期, 在花粉萌发孔处和小孢子大液泡中也特异性地聚集了较多 ATPase 颗粒。二胞花粉刚形成的生殖细胞表面呈现大量的 ATPase 反应颗粒, 当生殖细胞脱离花粉内壁移入营养细胞, ATPase 反应颗粒基本消失。生殖细胞分化过程中生殖细胞的 ATPase 反应颗粒逐渐低于营养细胞中的。在成熟花粉中, 精细胞中的 ATPase 反应颗粒比营养细胞中的少, 且主要集中在细胞核中。结果显示花粉发育过程中 ATPase 的特异分布与花粉发育的一些生物学事件密切相关。

关键词: 花粉; ATP 酶; 莴苣

中图分类号: Q944.62

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2007)03-0209-10

## Localization of ATPase during Pollen Development in *Lactuca sativa* L.

GU Li, YE Lü, ZHANG Ya-nan, TIAN Hui-qiao\*

(School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The localization of ATPase in developing pollen grains of *Lactuca sativa* L. was studied using lead precipitation. ATPase precipitates (ppts) were present in the microspore cell during the early tetrad stage. Ppts then occurred largely in the inner pollen wall until shortly before pollens formed. At the late microspore developmental stage, abundant ppts were found specifically at the germ pore and in the large vacuole of microspore. During two-celled pollen grain stage, they were accumulated on the wall of the generative cell. After the generative cell came into the vegetative cell, ppts largely disappeared. The number of ppts was less in the generative cell than in the vegetation cell during the differentiation of the generative cell. And it was less in sperm cells than in the vegetation cell after pollen formed. It is suggested that the distribution of ATPase is closely related to events of pollen development.

Key words: Anther; ATPase; *Lactuca sativa* L.

在真核细胞中,除了线粒体和叶绿体 ATPase 的功能是合成 ATP 外,其余部位 ATPase 是水解 ATP 以获取能量的代谢酶<sup>[1]</sup>,是研究细胞物质运输和能量代谢的重要手段<sup>[2-3]</sup>。邓继新等<sup>[4]</sup>最先用生理

学方法研究了光敏核不育水稻 (*Oryza sativa* L. cv. japonica) 可育花药和不育花药中的 ATP 含量,并发现两种花药有差异。ATPase 在细胞中的多少间接表明该部位 ATP 的数量,可反映出细胞当时的生活

收稿日期: 2006-08-08

接受日期: 2006-11-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(30670126)资助

\* 通讯作者 Corresponding author

状态,这一指标也被初步用于探索小麦(*Tritium aestivum* L.)和水稻雄性不育的细胞生物学研究中,希望通过比较可育花药和不育花药中 ATPase 的分布差异寻找雄性不育的机理<sup>[5-8]</sup>。在白菜(*Brassica campestris* L.)雄性不育花药 ATPase 分布的研究中,异常四分体小孢子中虽然有较多的 ATPase 反应颗粒,但还是通过细胞质收缩和质壁分离方式退化<sup>[9]</sup>,这与上述小麦和水稻<sup>[5-8]</sup>败育花粉中的 ATPase 分布明显不同。在对水稻可育花粉的 ATPase 分布研究中,减数分裂后的小孢子中 ATPase 反应颗粒明显增加,尤其是在花粉内、外壁中聚集了大量的 ATPase 反应颗粒<sup>[10]</sup>,其 ATPase 分布特征与白菜<sup>[9]</sup>中的明显不同。不同植物花粉中 ATPase 呈现出不同的分布特征是个有趣的问题。为探索高等植物花粉发育过程中 ATPase 分布规律,本文用磷酸铅沉淀法对莴苣(*Lactuca sativa* L.)花粉发育过程中的 ATPase 分布变化作了详细观察,探讨莴苣花粉发育过程中的 ATPase 分布特征。

## 1 材料和方法

供试材料为莴苣属茎用莴苣(*Lactuca sativa* L.)中的特大白尖叶莴笋品种,由新疆种子生产。在 10 月中旬左右将莴苣播种于厦门大学温室内,到次年 2 月底开花。

通过压片显微观察的方法取不同时期的花药,将花药横切后立即投入 50 mmol/L (pH 7.2) 二甲胍酸钠缓冲液配制的含 0.5%戊二醛和 4%多聚甲醛的混合固定液中,室温下初固定 2 h。然后用 50 mmol/L (pH 7.2) 的二甲胍酸钠缓冲液洗 2 次,再用 50 mmol/L (pH 7.2) Tris-maleate 缓冲液洗 2 次,均在 4 ℃ 下进行,每次约 0.5 h。接着在 26 ℃ 下酶反应液孵育 2.5 h。孵育液组成为:50 mmol/L (pH 7.2) Tris-maleate 缓冲液中含有 5-ATP 钠盐 2 mmol/L,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  3 mmol/L,  $\text{MgSO}_4$  5 mmol/L。以孵育液不加 ATP 钠盐作对照。酶反应结束后,用 50 mmol/L (pH 7.2) 的 Tris-maleate 缓冲液 4 ℃ 下洗 2 次,再用 50 mmol/L (pH 7.2) 的二甲胍酸钠缓冲液 4 ℃ 下洗 2 次,每次约 0.5 h,然后用 50 mmol/L (pH 7.2) 二甲胍酸钠缓冲液配制 1%锇酸 4 ℃ 过夜。经过固定的花药用双蒸水洗涤 2 次,每次 0.5 h;丙酮逐级脱水,Spurr 树脂包埋。Leica 超薄切片机切片,用 JEM-100CX 透射电子显微镜观察摄片。由于篇幅

的限制,只展示花粉的实验结果,花药体细胞中的 ATPase 定位结果本文省略。

## 2 结果

### 2.1 四分体时期花药 ATPase 的分布

小孢子母细胞减数分裂结束后,4 个小孢子呈四面体形排列被包在共同的胼胝质壁中。四分体小孢子的细胞核大,位于细胞中央。在小孢子细胞中,细胞质浓厚,含有许多的线粒体和内质网。与小孢子母细胞相比,四分体小孢子的细胞质基质中出现了许多小液泡和细小的 ATPase 反应颗粒,但这些颗粒没有显示出特异性分布。四分体小孢子有 1 个质膜扩大的过程,先是形成一些小泡位于质膜的内侧,同时在质膜上附有一些体积较大,电子密度较高的类似脂类物质圆球体(图版 I:1)。当这些脂类物质圆球体消失后,质膜呈波浪形,且较厚(图版 I:2)。随着四分体小孢子的发育,其波浪形质膜伸展。四分体中的小孢子就开始形成电子密度稍高于胼胝质壁的花粉原外壁(图版 I:3)。该层花粉原外壁是小孢子细胞质形成的分泌小泡分泌出质膜进一步形成的(图版 I:4)。由于分泌小泡积累的不均匀,使这时的四分体小孢子具有菱角外形(图版 I:5)。在此过程中,在小孢子细胞质中有些小泡中特异性地聚集了较多的 ATPase 反应颗粒,但在其它部位很少。

### 2.2 小孢子发育早期

从四分体中释放出来的游离小孢子细胞核仍位于细胞的中央,细胞器较多,没有明显的液泡(图版 I:6)。莴苣花粉外壁的形态结构比较特殊:外壁外层的电子密度较低,呈明显突起;外壁内层的电子密度比较高,有规律地覆盖在小孢子表面上。在萌发孔部位,孢粉素物质不均匀地成片沉积。但在萌发孔中心区域,片层的电子密度很小,且不连续。在不连续的片层之间聚集了较多的 ATPase 反应颗粒,并且越往孔的底部,ATPase 反应颗粒体积越大。在孔的边缘,孢粉素片层的电子密度较高,较厚,构成了突起的孔阜(图版 I:7)。在萌发孔外面的花药室基质中,也有较多的 ATPase 反应颗粒(图版 I:8)。

在小孢子发育过程中开始合成花粉内壁结构。最初是在小孢子质膜和花粉外壁内层之间形成一连续的低电子密度层(图版 II:9)。然后小孢子细胞质中出现很多含细小 ATPase 反应颗粒的小泡被分

泌到该层中,ATPase反应颗粒也开始积累在该层(图版II:10)。以后在花粉内壁部位一直保持了较多、体积较大的ATPase反应颗粒(图版II:11)。花粉内壁部位积累并长时间保持大量的ATPase反应颗粒显然和花粉内壁的合成和构建有关。

### 2.3 小孢子发育晚期

在晚期小孢子的花粉壁部位,尤其是萌发孔部位也特异性地聚集了大量的ATPase反应颗粒。晚期小孢子的体积增加明显,其萌发孔部位的细胞质向外突起,纵切面上呈现出多层结构:在萌发孔的最外面覆盖了一层不同于花粉外壁的低电子密度物质(第1层);接下来是一层电子密度很高的平周排列片层(第2层);第3层是花粉外壁内层的延续,电子密度比较低,但高于第1层;第4层是电子密度很高但具有许多垂周排列的小空洞突起(图版II:12)。对萌发孔的横切面则显示出每层的清晰界面,其中最内层可能是由许多内质网构成的特殊细胞质层(图版II:13)。用能谱扫描电镜测量萌发孔部位,显示出在电子密度很高的第2层和第4层中含有很高的铅峰,证明该部位聚集了大量的ATPase反应颗粒。萌发孔以内的细胞质中除了大量的粗面内质网外,还有丰富的线粒体、核糖体和高尔基体。在花粉3个萌发孔周围的绒毡层细胞的解体物质较多,紧靠萌发孔处的解体物质几乎完全降解为无结构的状态,而离萌发孔稍远的地方仍有许多绒毡层降解小泡。

小孢子发育晚期的特征是通过细胞质中小液泡的融合形成1个大液泡,其中含有许多体积较小的ATPase反应颗粒(图版II:14)。大液泡形成后,将细胞核挤到细胞的周缘区域,使其形成了明显的极性,为小孢子的不等分裂做好准备。在大液泡中,ATPase反应颗粒体积较大,数量较多,表明大液泡的形成是一种耗能较高代谢过程(图版II:15)。

### 2.4 二胞花粉时期

具极性的晚期小孢子进行1次高度不对称的分裂,形成大小不等、且具有不同结构和命运的营养细胞和生殖细胞,组成二胞花粉。大的营养细胞继承了原来小孢子的大液泡和大部分细胞质,而小的透镜状的生殖细胞中细胞质相对较少。在营养细胞和生殖细胞之间以及生殖细胞与花粉壁之间具有一层明显的ATPase反应颗粒。在两个细胞的细

胞核中,有一些细小的ATPase反应颗粒,但在二者的细胞质中ATPase反应颗粒很少(图版III:16)。形成二胞花粉后,营养细胞先是通过细胞质突进大液泡形成几个较大的液泡,然后再进一步形成小液泡,最后小液泡分解、消失。在液泡中一直有较多、颗粒较大的ATPase反应颗粒(图版III:17)。

在生殖细胞脱离花粉壁之前,生殖细胞的表面上的ATPase反应颗粒的分布显示出了一些有趣的变化:与营养细胞相连接的生殖细胞表面,质膜变的高度曲折(图版III:18),其上也积累了较多的ATPase反应颗粒(图版III:19)。质膜的折叠可能为生殖细胞的体积增大作好准备,也许是增大生殖细胞的吸收表面积。当生殖细胞准备脱离花粉内壁时,在其脱离部位的ATPase反应颗粒进一步增加,表明生殖细胞脱离花粉内壁的过程需要较多的能量(图版III:20)。当生殖细胞完全脱离了花粉内壁、游离到营养细胞中以后,在生殖细胞表面上的ATPase反应颗粒显著减少。同时在生殖细胞核与营养细胞核中的ATPase反应颗粒出现了差异:营养细胞核中的ATPase反应颗粒明显高于生殖细胞的(图版III:21)。这时,营养细胞中和生殖细胞中都出现了一些电子密度较高的细胞器,而且在前者中比后者多。

### 2.5 成熟花粉时期

随着二胞花粉的发育,两种细胞中的泡状细胞器逐渐消失,取而代之的是一些电子密度较高的细胞器。在花粉萌发孔部位,含ATPase反应颗粒很多的内质网团开始收缩成小团块返回到营养细胞质中,使该处特异聚集的内质网团块变小,突起也逐渐变小(图版IV:22)。以后,萌发孔部位的花粉壁结构简化成两层:一层较厚的,含较多的ATPase反应颗粒的花粉内壁和一层薄的花粉外壁。在萌发孔部位的营养细胞质中,内质网团块完全消失,突起也进一步变小(图版IV:23)。在花粉其它部位的花粉内壁中依然聚集了许多体积较大的ATPase反应颗粒,而在外壁内层中也由一些ATPase反应颗粒,在其外壁外层突起的表面上分布了一些细小的ATPase反应颗粒(图版IV:24)。

开花前1天,花粉中充满了脂滴类的营养物质。生殖细胞已进行了1次有丝分裂形成2个精细胞,2个精细胞之间的距离很远,营养细胞核位于中间(图版IV:25)。与营养细胞相比,精细胞中的

ATPase 反应颗粒比营养细胞中的要少(图版 IV : 26)。精细胞与营养细胞之间有一层电子密度很低的界限包围,细胞核很大,占据了细胞的大部分空间,ATPase 反应颗粒主要集中在细胞核中,在核膜部位比较明显,但在核质中均匀地分布(图版 IV 27),显示出营养细胞与精细胞的分化差异。

### 3 讨论

#### 3.1 莒荻花粉发育过程中 ATPase 分布特征和对其功能的探讨

与体细胞分化相比,花粉的发育过程非常迅速,小孢子母细胞减数分裂形成了 4 个单倍体的小孢子;小孢子极性分裂形成的营养细胞和生殖细胞显示出明显的形态结构差异;生殖细胞分裂形成的 2 个精细胞也与一般植物细胞的结构和功能有明显不同。花粉发育过程中形态学上的骤变现象必然有与其相适应的生理学过程。在莒荻花粉发育过程中,四分体小孢子中的 ATPase 开始增加,但没有特异性分布。刚释放出的游离小孢子中 ATPase 也没有特异性分布。但在小孢子发育过程中,大量的 ATPase 特异性聚集在花粉内壁的部位,显示其可能参与花粉内壁的构建。小孢子形成的大液泡具有重要的生物学意义,大量的 ATPase 又特异性聚集在大液泡中暗示着大液泡的形成可能需要较多的能量。小孢子分裂形成二胞花粉后,在生殖细胞与营养细胞之间也特异性地聚集了较多的 ATPase。生殖细胞迁移到营养细胞之中后,其表面上的 ATPase 完全消失,表明生殖细胞的脱离也需要较多的能量。以后,营养细胞中 ATPase 明显多于生殖细胞中的,显示出两种细胞代谢的分化差异。在成熟花粉的精细胞中,细胞核中弥散分布一些 ATPase,但细胞质中很少,表明精细胞的代谢较低。莒荻花粉发育过程中 ATPase 在特定的时间和特殊的部位呈现出特异性地分布特征表明它在花粉的发育过程中具有重要的特殊功能。而特定细胞部位上的 ATPase 参与调控细胞功能也显示出了多样性。在花粉 ATPase 分布特征的基础上研究它参与调控细胞生理功能的机制将有助了解花粉发育过程。

#### 3.2 莒荻花粉萌发孔中的 ATPase

萌发孔是花粉形成花粉管的部位,各种植物成熟花粉的萌发孔结构大同小异,都缺少花粉外壁。

在小孢子发育过程中,花粉萌发孔部位的 ATPase 分布特征呈现出很大的不同:白菜花粉萌发孔处的 ATPase 很少<sup>[9]</sup>,但水稻花粉萌发孔处聚集较多 ATPase<sup>[10]</sup>。在本实验中,莒荻花粉萌发孔处聚集了大量 ATPase,远远高于水稻中的。同时在萌发孔下方的营养细胞质中聚集了大量的,含较多 ATPase 的内质网团块,这在其他植物中未见过的特殊现象。莒荻花粉萌发孔处的 ATPase 分布特征值得进行探讨。

在花粉发育早期,萌发孔是营养物质进入花粉的主要通道,该部位聚集较多的 ATPase 可能和物质的转入有关。水稻花粉萌发孔结构比较简单,中心区域只有一层很薄的具纤维素性质的花粉内壁,结构相对比较简单,各种物质只需通过这层花粉内壁就可进入花粉,应此需要的能量可能较少,ATPase 也就少些。莒荻花粉的萌发孔结构比较复杂,分成 4 层,物质通过萌发孔进入花粉要困难些,可能需要的能量较多,因此呈现出大量的 ATPase。另外,与水稻花药绒毡层直接提供营养物给花粉不同,莒荻花药是变形绒毡层,在小孢子时期退化后其细胞质团块游离到药室腔中包围在小孢子的周围供小孢子吸收。绒毡层细胞残迹并不是直接流入花粉中,而是先被分解成小分子物质通过萌发孔被吸收。绒毡层细胞残迹的消化过程可能不同于细胞内溶酶体的消化机制,可能需要较多的能量。因此,在莒荻 4 层萌发孔结构中,第 2 层和第 4 层都聚集了大量的 ATPase,尤其是第 4 层中含 ATPase 较多的内质网团块使小孢子的吸收表面积明显扩大,这与莒荻花药绒毡层细胞的特征和花粉萌发孔结构特征相适应,表现出莒荻小孢子主动吸收营养物质的迹象。

#### 3.3 生殖细胞壁与 ATPase 的关系

被子植物的生殖细胞最初紧贴着花粉内壁,以后游离到营养细胞中。对生殖细胞从贴壁变为游离的行为已有一些研究,证明刚形成的生殖细胞具有胼胝质壁,以后在生殖细胞脱离花粉内壁时,用苯胺蓝特异染色胼胝质壁的荧光逐渐消失,到生殖细胞游离到营养细胞质中后,荧光完全消失<sup>[11]</sup>。罗玉英和胡适宜<sup>[12]</sup>在研究玉竹(*Polygonatum sinizui*)生殖细胞壁时证实刚形成生殖细胞壁具有胼胝质和纤维素性质,苯胺蓝和荧光增白剂染色都显示出荧光。在生殖细胞脱离花粉内壁过程中,两种荧光消失,

暗示胼胝质和纤维素细胞壁溶解。她们发现大部分生殖细胞在脱离后仍有一延长的尾部与花粉内壁相连,生殖细胞的拉长和向心突进的力量在其脱离过程中起作用<sup>[12]</sup>。对生殖细胞脱离花粉壁的描述使我们对该过程有一个初步认识。

莴苣生殖细胞形成后,在生殖细胞与营养细胞之间聚集了大量的ATPase。这些ATPase可能为溶解胼胝质壁提供大量的能量。在生殖细胞脱离花粉内壁过程中,其粘连部位ATPase呈现增加趋势,也表明了生殖细胞的胼胝质壁溶解需要大量的ATPase。当生殖细胞完全脱离了花粉内壁进入到营养细胞中时,其壁上的ATPase完全消失。生殖细胞的“向心突进力”<sup>[12]</sup>需要在其胼胝质壁溶解后才发挥作用,而胼胝质壁的溶解则需要大量的能量。因此,在莴苣生殖细胞壁上特异性分布了大量的ATPase,很可能是为溶解其胼胝质壁提供能量。

#### 参考文献

- [1] Pederson P L, Carafoli E. Ion motive ATPase. I. Ubiquity, properties and significance to cell function [J]. TIBS, 1987, 12: 146-150.
- [2] Serrano R. Structure and function of plasma membrane ATPase [J]. Ann Rev Plant Physiol Mol Biol, 1989, 40: 61-94.
- [3] Fedorova E, Thomson R, Whitehead L F, et al. Localization of H<sup>+</sup>-ATPase in soybean root nodules [J]. Planta, 1999, 209: 25-32.
- [4] Deng J X (邓继新), Liu W F (刘文芳), Xiao Y H (肖翊华). Changes in ATP content and nucleic acid and protein synthetic activities of the anther of HPGMR during pollen development [J]. J Wuhan Univ (Nat Sci) (武汉大学学报:自然科学版), 1990, 3: 85-88. (in Chinese)
- [5] Meng X H (孟祥红), Wang J B (王建波), Li R Q (利容千). Ultrastructural localization of ATPase activity in anther photoperiod-sensitive cytoplasmic male-sterile wheat [J]. Acta Agron Sin (作物学报), 2000, 26(6): 851-856. (in Chinese)
- [6] Meng X H (孟祥红), Wang J B (王建波), Li R Q (利容千). Effect of photoperiod on Ca<sup>2+</sup>-ATPase distribution in photoperiod-sensitive cytoplasmic male-sterile wheat during anther development [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 2000, 42(5): 446-454. (in Chinese)
- [7] Guan H X (关和新), Zhu Y G (朱英国), Lan S Y (蓝盛银), et al. Ultrastructural localization of ATPase activity in fertile and sterile anther of rice (*Oryza sativa* L. cv. Maxie) [J]. Acta Biol Exp Sin (实验生物学报), 2001, 34(4): 323-327. (in Chinese)
- [8] Guan H X (关和新), Zhu Y G (朱英国). Studies on ATPase-localization in anthers of photoperiod-sensitive genic male-sterile rice [J]. Sci Agri Sin (中国农业科学), 2002, 35(9): 1040-1043. (in Chinese)

Chinese)

- [9] Xie C T (谢潮添), Yang S J (杨淑娟), Zhang Y N (张亚楠), et al. ATPase distribution in fertile and sterile anther of a genetic male sterile Chinese cabbage [J]. J Mol Cell Biol (分子细胞生物学报), 2006, 26(4): 313-324. (in Chinese)
- [10] Wang Y Y (王雅英), Lv Dan (吕丹), Wei D M (魏冬梅), et al. The distribution of ATPase in developmental anther of rice [J]. J Plant Physiol Mol Biol (植物生理与分子生物学学报), 2006, 32(1): 113-122. (in Chinese)
- [11] Owen H A, Makaroff C A. Ultrastructure of microsporogenesis and microgametogenesis in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) [J]. Protoplasma, 1995, 185: 7-21.
- [12] Luo Y Y (罗玉英), Hu S Y (胡适宜). The development and structure of the generative cell wall in *Polygonatum sinizui* [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 1995, 37(1): 7-13. (in Chinese)

#### 图版说明

G:生殖细胞 Generative cell; S:精细胞 Sperm cell; n:细胞核 Nucleus

#### 图版

1. 刚形成的四分体小孢子中ATPase颗粒较少,一些电子密度较高的颗粒被分泌到质膜表面;×17 790
2. 四分体小孢子的质膜呈现曲折状;×17 790
3. 四分体小孢子形成一些棱角;×8 550
4. 图3的放大,由小孢子中的一些分泌小泡形成花粉原外壁(\*);×1 860
5. 四分体小孢子原外壁成为一层(\*);×29 650
6. 早期小孢子;×5 930
7. 在花粉萌发孔部位聚集了许多ATPase颗粒;×1 860
8. 在萌发孔外的花药室中聚集了许多ATPase颗粒;×14 230

#### 图版

9. 小孢子开始合成花粉内壁,其中没有ATPase颗粒;×1 860
10. 小孢子的花粉内壁中出现ATPase颗粒;×23 720
11. 小孢子的花粉内壁中聚集的ATPase颗粒体积较大;×23 720
12. 花粉萌发孔形成了4层结构,其中的第2和第4层中呈现出大量的ATPase颗粒,在萌发孔外的花药基质中也有许多细小的ATPase颗粒;×1 860
13. 萌发孔横切面,示第4层是含有大量ATPase的内质网结构;×29 650
14. 小孢子中开始形成一些较大的液泡,其中含有许多ATPase颗粒;×5 930
15. 小孢子形成的大液泡中聚集了较多的ATPase颗粒,将细胞核挤到边缘形成极性;×4 740

#### 图版

16. 刚形成的二胞花粉(局部)中,在生殖细胞壁中有较多的ATPase颗粒;×9 480
17. 营养细胞质伸进大液泡中将其分解,液泡中仍然有许多ATPase颗粒;×5 930

18. 二胞花粉中生殖细胞的质膜部分折叠 ; $\times 7$  110
19. 图 18 的放大, 在折叠的生殖细胞质膜表面有较多 ATPase 颗粒 ; $\times 23$  720
20. 生殖细胞脱离花粉壁处聚集了大量的 ATPase 颗粒(箭头) ; $\times 4$  740
21. 移入营养细胞中的生殖细胞表面上 ATPase 明显减少。 ; $\times 4$  740

#### 图版

22. 二胞花粉的萌发孔处内质网团块分解 ; $\times 17$  790
23. 萌发孔处的内质网团块完全消失 ; $\times 11$  860
24. 在花粉内壁中仍有大量的 ATPase 颗粒分布 ; $\times 35$  580
25. 成熟花粉中已形成了两个精细胞(箭头) ; $\times 5$  930
26. 图 25 的放大, 示营养细胞和精细胞核的 ATPase 颗粒数量差异 ; $\times 14$  230
27. 在精细胞(S)中 ATPase 颗粒主要集中在细胞核中。 ; $\times 29$  650

#### Explanation of plates

##### Plate

1. A part of tetrad microspore, showing a few ATPase precipitates (ppts) and granules with a high electronic density being excreted out of the plasma membrane;  $\times 17$  790
2. A tetrad microspore with puckered plasma membrane;  $\times 17$  790
3. Microspores during the late tetrad stage forming some points;  $\times 3$  550
4. Details of Figure 3, showing that a microspore is forming primexine (\*) by small vacuoles;  $\times 11$  860
5. One-layered primexine (\*) formed in a late tetrad microspore;  $\times 29$  650
6. Microspore newly released from a tetrad;  $\times 5$  930
7. Ppts accumulated greatly at the germ pore region;  $\times 11$  860
8. Many ppts present in anther locule outside the germ pore;  $\times 14$  230

##### Plate

9. No ppts in the newly formed intine;  $\times 11$  860

10. Ppts present in the intine;  $\times 23$  720
11. Ppts increased in the intine;  $\times 23$  720
12. The germ pore was made up of a four-layered structure. Many ppts are accumulated in the second and forth layers and outside the germ pore as well;  $\times 11$  860
13. Transverse section of the germ pore, showing that the forth layer is endoplasmic reticula with many ppts;  $\times 29$  650
14. Ppts in big vacuoles which are occurring in the microspore;  $\times 5$  930
15. Many ppts in a big vacuole which pushes the nucleus away from the centre region of the cell to form microspore polarity;  $\times 4$  740

##### Plate

16. Many ppts located in the wall of generative cell early in the two-celled stage;  $\times 9$  480
17. The large vacuoles of two-celled pollen grain are decomposed and many ppts are still in them;  $\times 5$  930
18. Partially puckered plasma membrane of generative cell;  $\times 7$  110
19. Details of Figure 18, showing abundant ppts in the plasma membrane of generative cell;  $\times 23$  720
20. Numerous ppts accumulated in the position where the generative cell was detaching from the intine (arrow);  $\times 4$  740
21. Ppts sharply decreased on the surface of generative cell after generative cell moved into cytoplasm of vegetative cell;  $\times 4$  740

##### Plate

22. Block of endoplasmic reticulum decomposing at the germ pore region during two-celled stage;  $\times 17$  790
23. Block of endoplasmic reticulum completely disappearing at the germ pore region;  $\times 11$  860
24. Many ppts still observed in the intine;  $\times 35$  580
25. A mature pollen grain with two sperm cells;  $\times 3$  550
26. Details of Figure 25, showing quantitative difference in ppts between the generative nuclei and vegetative nuclei;  $\times 14$  230
27. Ppts in the nucleus of sperm cell accumulated mainly in the cytoplasm. ; $\times 29$  650









