

文章编号: 1000-4025(2007)09-1782-08 *

宁夏枸杞柱头和萌发花粉中钙分布特征

杨淑娟¹, 宋玉霞¹, 邓桦², 田惠桥^{1,2*}

(1 宁夏大学 生命科学学院, 银川 750021; 2 厦门大学 生命科学学院, 福建厦门 361005)

摘要: 用焦锑酸钾沉淀法对宁夏枸杞柱头和花粉中的钙离子分布进行了研究。结果显示, 宁夏枸杞柱头表皮有一覆盖层, 其中有许多含钙沉淀颗粒的小泡, 当花粉落到柱头后从覆盖层中吸水, 在萌发孔的表面上聚集了较多的钙沉淀颗粒。同时, 花粉内部出现许多含钙的小液泡, 使花粉体积增大, 内部产生膨压, 花粉萌发; 生长在覆盖层中的花粉管顶端穿过覆盖层小泡时, 附近聚集了较多的钙沉淀颗粒, 在花粉管壁上也附着较多的细小钙沉淀颗粒。萌发的花粉粒中由大液泡占据, 在其亚顶端的细胞质中, 聚集较多钙沉淀颗粒的线粒体膨大形成了一些含钙沉淀颗粒的小液泡, 由这些小液泡融合形成的大液泡, 将花粉管细胞质挤到其顶端, 使其极性生长。这是首次发现在植物柱头覆盖层中有钙离子的现象, 从体内证明了钙离子在花粉萌发过程中的现象。讨论了枸杞柱头组织中钙的分布和花粉管的萌发与生长的关系。

关键词: 枸杞; 钙; 柱头

中图分类号: Q944.58 **文献标识码:** A

Calcium Distribution in the Stigma and Germinating Pollen of *Lycium barbarum*

YANG Shu-juan¹, SONG Yu-xia¹, DENG Hua², TIAN Hui-qiao^{1,2*}

(1 School of Life Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, China; 2 School of Life Science, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)

Abstract: The stigma of *Lycium barbarum* is wet type and some material to be secreted to the surface of stigma to form a layer of tectum at anthesis. There were many vesicles in the tectum and numerous calcium precipitated grana were accumulated in the tectum vesicles. When pollen grains landed onto the stigma they began to hydrate and form many small vacuoles in which some calcium precipitated grana located, which made a swelling pressure in pollen. During pollen germinating in the tectum, the pollen tubes often traversed tectum vesicles and displayed many calcium precipitated grana on the tube wall, suggesting it to absorb calcium of the tectum vesicles. In the base of pollen tube some mitochondria with calcium precipitated grana swelled to form small vacuoles which fused to form a large vacuole. The pollen tube cytoplasm was pushed into the top of tube to make sure directional growth. This is first time to report that stigma tectum containing rich calcium in flowering plants. The calcium distribution in the stigma and pollen germination and tube growth were also discussed.

Key words: *Lycium barbarum* L.; calcium; stigma

高等植物的受精过程始于花粉落到柱头上并萌发出花粉管。在亲和条件下, 花粉管通过柱头、花

* 收稿日期: 2007-05-14; 修改稿收到日期: 2007-07-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(30670126)

作者简介: 杨淑娟(1979-), 女(回族), 硕士, 讲师, 主要从事植物学研究。

* 通讯作者: 田惠桥, 博士, 教授, 主要从事植物学研究。E-mail: hqtian@xmu.edu.cn

柱、胎座、珠孔等雌蕊组织到达胚囊的退化助细胞中,释放出2个雄配子,分别与卵细胞和中央细胞融合,完成双受精过程.20世纪60年代初发现了外源钙对离体生长的花粉管具有吸引作用^[1],同时还发现花粉萌发的“群体效应”可被培养基中的 Ca^{2+} 所抵消^[2].有关花粉管中游离钙的研究揭示:离体生长的花粉管需要不断地从外界吸收 Ca^{2+} 以维持花粉管顶端的 Ca^{2+} 梯度分布,为其极性生长创造条件^[3].在研究 Ca^{2+} 与离体花粉管生长关系的同时,也研究了雌蕊组织中的钙分布状况.Mascarenhas等发现,金鱼草(*Antirrhinum majus* L.)从柱头到胚珠的雌蕊组织中 Ca^{2+} 呈梯度分布,推测这可能是体内吸引花粉管向下定向生长的原因^[1].但在月见草(*Oenothera odorata* Jacq.)等其它几种植物中未能发现花柱中的 Ca^{2+} 梯度分布现象后^[4,5],对雌蕊组织中的 Ca^{2+} 分布研究就很少有报道.自20世纪90年代焦锑酸钾沉淀 Ca^{2+} 的方法成功应用到植物组织中后,对多种植物雌蕊组织,尤其是胚珠中的 Ca^{2+} 分布进行了研究,发现胚囊中的助细胞钙含量最多^[6-9];小麦^[6]、珍珠粟^[7]、烟草^[8]、蔓菁^[9]和水稻^[10]的助细胞通过其丝状器中的高钙特征吸引花粉管进入胚囊的推测在多种植物中得到了证实,特别是在没有助细胞的百花丹(*Plumbago zeylanica* L.)中,卵细胞珠孔端的细胞壁壁内突中发现也有大量的钙沉淀颗粒,这一结果与其它植物的助细胞丝状器中钙沉淀颗粒最多的结论一致,也证实了钙有吸引花粉管向胚囊生长的功能^[11].与此同时,对蔓菁^[12]、向日葵^[13]、棉花^[14]和烟草^[15]花柱组织中 Ca^{2+} 分布的研究也有一些报道.枸杞雌蕊组织中有关钙分布的研究还未见报道.我们曾对宁夏枸杞花药发育过程中的钙分布特征做过研究,发现钙离子的分布时空特征可能参与了调控花粉发育过程^[16].本文用焦锑酸钾沉淀法对宁夏枸杞的柱头及萌发花粉粒中 Ca^{2+} 的分布进行观察,探索枸杞花粉萌发的规律.

1 材料和方法

供试材料为宁夏枸杞栽培品种“宁杞1号”(*Lycium barbarum* L. cv. Ningqi 1),种植于宁夏贺兰山麓南梁农场.选枸杞花冠刚张开但花药还未开裂的小花人工授粉,0~3 h后切取柱头.切取的柱头先用含2.5%戊二醛、1%焦锑酸钾、0.1 mol/L磷酸缓冲液,pH 7.8的前固定液在室温下固定3 h,再用质量分数为1%焦锑酸钾的0.1 mol/L磷酸缓冲

液冲洗3次,每次30 min.然后在质量分数分别为1%锇酸、1%焦锑酸钾和0.1 mol/L磷酸缓冲液的后固定液中4 过夜.经过固定的柱头用缓冲液换洗3次后按一般电镜制样标准进行脱水、渗透,用Epon812树脂包埋.每个处理切5个样品.被切成80 nm厚的柱头切片用醋酸双氧铀染色20 min,清洗后晾干用日立100型电镜观察照相.

焦锑酸钾与组织细胞中的钙发生反应形成焦锑酸钙沉淀颗粒,在电子显微镜下,焦锑酸钙颗粒因不透过电子而呈现高电子密度的黑色颗粒,在组织细胞中很容易鉴别.

2 观察结果

枸杞花柱的长度约1 cm,其柱头为湿型,如果去雄后一直不授粉,柱头表面上的分泌物愈加明显(图版 1).在柱头表面有1层厚度约200 μm、非细胞结构的覆盖层,其中有许多小泡(图版 2).这层覆盖层的组成成分比较特殊,经过固定液和缓冲液的水溶液冲洗未被溶解掉,而且经过脱水的系列丙酮溶液也未被溶解.落到柱头上的花粉粒需穿过其外被的覆盖层才可与表皮细胞接触.在开花前的柱头表皮细胞中钙沉淀颗粒不多,细胞中的大液泡较多,内质网比较丰富,其中的乳突细胞的细胞壁比较明显,电子密度较低,很容易与覆盖层区分,其中没有钙沉淀颗粒(图版 3).在细胞壁的外方,还有1层电子密度较高的物质,其中有一些零散的钙沉淀颗粒(图版 3).花冠张开后,有些柱头表皮细胞的大液泡中钙沉淀颗粒明显增加,同时在覆盖层的小泡中也呈现出许多细小的钙沉淀颗粒(图版 4).覆盖层中小泡的体积大小不等,其中所含的钙沉淀颗粒也有大小差异,有些小泡出现融合现象(图版 5).萌发的花粉管通过柱头表皮细胞之间伸入花柱(图版 5).覆盖层小泡中的钙沉淀颗粒来自柱头的表皮细胞,它们先出现在细胞壁中(图版 6),再被转移到正在形成的小泡中(图版 7).

花粉落到柱头上后,在覆盖层中进行吸水过程(水合).刚落到柱头上的花粉内部充满了脂滴颗粒,整个花粉细胞质的电子密度很高(图版 1).在高倍放大条件下,可以看到花粉内壁呈现曲折状,而花粉内部的细胞质因电子密度很高,很难区分出细胞器的轮廓,但反而衬托出花粉细胞质中的小液泡很少,整个花粉中的钙沉淀颗粒也很少,在花粉的外面有一些零散的钙沉淀颗粒(图版 2).随着花粉粒的水合,花粉粒的体积明显增大,原来曲折的花粉内

壁也变成平展的花粉内壁,并在萌发孔处向外突出(图版 3).其细胞质的电子密度下降,除了不亲水的脂滴仍呈现为较高电子密度颗粒外,在细胞质中也出现了许多电子密度较低的小液泡(图版 3).在高倍放大条件下,可看到许多小液泡中都有钙沉淀颗粒.在营养细胞核和相连的生殖细胞中钙沉淀颗粒很少(图版 4).在萌发孔部位,可以看到覆盖层中的小泡正与花粉内壁融合,在花粉内壁的外面又形成了1层电子密度较低的结构,其中聚集了一些细小的钙沉淀颗粒(图版 5).在离萌发孔稍远的覆盖层小泡中仍有明显的钙沉淀颗粒(图版 5).当花粉内壁突出形成的花粉管伸入覆盖层中时,可明显地看到覆盖层小泡中的钙沉淀颗粒向花粉管顶端聚集的趋势(图版 6).这种现象很可能因花粉管继续从小泡中吸水,从而使小泡中的钙离子也被集中到花粉管附近.

花粉水合的结果为形成大液泡创造一定的膨压将大部分细胞质挤到花粉管中以维持花粉管的生长(图版 1).在生长的花粉管顶端往往聚集了较多的钙沉淀颗粒,但随着离顶端距离的增加,附在花粉管壁上的钙沉淀颗粒减少,在花粉管顶端的细胞质中有丰富的细胞器,但小液泡很少(图版 2).然而在离顶端稍远的花粉管细胞质中,有较多的小液泡,其中含有一些细小的钙沉淀颗粒,这些小液泡似乎是由含较多细小钙沉淀颗粒的线粒体膨大形成的(图版 3),小液泡融合形成花粉管基部的大液泡.萌发出的花粉管在柱头覆盖层中生长较久,它们在进入花柱引导组织之前,有时会伸入柱头覆盖层小泡中,而小泡中的钙沉淀颗粒也常常呈现出聚集在花粉管壁上的现象(图版 4).通常刚萌发的花粉管细胞质仍保持电子密度较高的特征,内部的细胞器轮廓很难分辨,在花粉管外附着较多的钙沉淀颗粒(图版 5).随着花粉管的延长,花粉管内细胞质的电子密度也明显下降,各种细胞器的轮廓,尤其是内质网的形态也变得清晰,但在花粉管外面所附着的钙沉淀颗粒很少(图版 6),从而提示外部的钙离子很可能是从花粉管的顶端部位进入.

3 讨论

有些植物的花粉需要达到一定的数量才能离体萌发,而花粉萌发的“群体效应”可通过在培养基中加入外源 Ca^{2+} 克服^[2].“群体效应”表明离体花粉萌发和花粉管生长需要外源 Ca^{2+} .那么在体内,花粉萌发时,柱头组织中的 Ca^{2+} 是如何分布的?Tirla-

pur^[17]发现番薯(*Ipomoea batatas* L.)柱头乳突细胞中含丰富的膜钙. Bednarska^[18]用⁴⁵Ca证实了报春花(*Primula officinalis* L.)和假叶树(*Ruscus aculeatus* L.)花粉萌发时吸收了柱头表皮细胞中的 Ca^{2+} .枸杞是湿型柱头,在其表面上有1覆盖层结构,由电子密度较高的基质和许多大小不等的小泡组成,在小泡中有许多钙沉淀颗粒.当花粉落到覆盖层上吸水时,在萌发孔处聚集了一些钙沉淀颗粒,在其细胞质中也出现了许多含钙沉淀颗粒的小液泡,花粉很可能是从柱头覆盖层小泡中吸收了 Ca^{2+} .枸杞柱头覆盖层小泡中富含 Ca^{2+} 与其它植物花粉离体培养时需加入 Ca^{2+} 的效果^[19,20]一致.因此,可以推测枸杞柱头覆盖层小泡中的 Ca^{2+} 是为花粉萌发所准备.但有关高等植物柱头细胞中 Ca^{2+} 分布的研究工作很少,特别是湿型柱头覆盖层的小泡中积累 Ca^{2+} 的现象未见报道.那么,枸杞柱头覆盖层中的 Ca^{2+} 分布特征是其特有的?还是其它具湿型柱头的植物也具有?在具干型柱头的植物中,柱头上的 Ca^{2+} 是如何分布的?尚需对高等植物柱头组织的 Ca^{2+} 分布进行广泛的研究.

离体萌发的花粉管需要外源 Ca^{2+} 以保持其持续生长^[19,20].已证实了油菜^[12]、向日葵^[13]、棉花^[14]、水稻^[21]等植物花柱组织中积累了丰富的 Ca^{2+} ,可以满足生长花粉管对 Ca^{2+} 的需求.枸杞柱头的覆盖层比较厚,由花粉萌发出的花粉管需要在覆盖层中生长一段距离才能到达柱头表皮细胞.花粉管在进入覆盖层后,在其表面上聚集了较多的钙沉淀颗粒,很可能是花粉管吸收覆盖层小泡中的 Ca^{2+} 的迹象.柱头覆盖层中富含 Ca^{2+} 的小泡也将满足在这段距离中生长花粉管对 Ca^{2+} 的持续需求.生长花粉管需要 Ca^{2+} 的现象在体内的柱头部位也再次得到了证实.

对花粉萌发和花粉管生长过程中需要 Ca^{2+} 的现象已有大量一致的研究结果,而且外源 Ca^{2+} 仅从花粉管顶端很小的区域流入花粉管中^[22].需要解释的是较多的 Ca^{2+} 进入花粉管后分布在什么位置? Ca^{2+} 在花粉管生长中起何种生理功能?早先也有学者提出这一问题,推测外源 Ca^{2+} 从花粉管的顶端进入并从花粉管基部流出,以保持花粉管中 Ca^{2+} 浓度平衡,但一直没有证实 Ca^{2+} 从花粉管的基部流出的现象^[23].Li等^[24]发现进入花粉管中的 Ca^{2+} 与花粉管壁的果胶结合以增加花粉管壁的硬度.但以 $1.4 \sim 14 \text{ pmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 速度进入花粉管中^[22]的 Ca^{2+} 是否都结合到花粉管壁上还需要证实.本研究发现,

在枸杞花粉管基部的钙沉淀颗粒很少,而用所有进入花粉管中的 Ca^{2+} 都被结合到花粉管壁的果胶中的观点难以圆满解释.花粉管是极性生长,细胞质主要集中在到花粉管的顶部,而基部由大液泡占据.当花粉管生长一段距离后,在大液泡的部位形成胼肌质塞始终将花粉管细胞质集中在它的顶部,花粉管中一节节的胼肌质塞现象很普遍.另外,本研究发现,

花粉管从覆盖层吸收的 Ca^{2+} 聚集在线粒体中使其膨大形成小液泡,继而融合成大液泡,保证了大液泡持续地形成,使花粉管大部分细胞质集中在花粉管的前部,保证花粉管的极性生长.源源不断进入花粉管的 Ca^{2+} 可能在形成花粉管液泡的过程中具有重要的生理功能.这对解释上述两个提问可能更为合理.

参考文献:

- [1] MASCARENHAS J P, MACHLIS L. Chemotropic response of *Antirrhinum majus* pollen to calcium[J]. *Nature*, 1962, 196: 292 - 293.
- [2] BREWBAKER J L, KWACK B H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth[J]. *Amer. J. Bot.*, 1963, 50: 859 - 865.
- [3] TIAN H Q (田惠桥), YUAN T (远彤). Calcium function in fertilization process in angiosperms[J]. *Acta Phytophysiol. Sin.* (植物生理学报), 2000, 26: 369 - 380 (in Chinese).
- [4] GLENK H O, EAGER W, SCHIMMER O. Can Ca^{2+} ions act as a chemotropic factor in *Oenothera fertilization*? [A] In: Heslop-harrison J (ed), *Pollen Development and Physiology* [M]. New York, Appleton-century-crofts, 1971: 255 - 261.
- [5] MASCARENHAS J P. The biochemistry of angiosperm pollen development[J]. *Bot. Rev.*, 1975, 41: 259 - 341.
- [6] CHAUBAL R, REGER B J. Relatively high calcium is localized in synergid cells of wheat ovaries[J]. *Sex. Plant Reprod.*, 1990, 3: 98 - 102.
- [7] CHAUBAL R, REGER B J. Calcium in the synergid cells and other regions of pearl millet ovaries[J]. *Sex. Plant Reprod.*, 1992, 5: 206 - 213.
- [8] TIAN H Q, RUSSELL S D. Calcium distribution in fertilized and unfertilized ovules and embryo sacs of *Nicotiana tabacum* L. [J]. *Planta*, 1997, 202: 93 - 105.
- [9] YU F L (余凡立), LIANG S P (梁世平), YANG H Y (杨弘远). Ultracytochemical localization of calcium in micropyle and embryo sac of *Brassica napus* before and after pollination[J]. *Acta Bot. Sin.* (植物学报), 1998, 40: 591 - 597 (in Chinese).
- [10] ZHAO J, YU F L, LIANG S P, ZHOU C, YANG H Y. Changes of calcium distribution in egg cell, zygotes and two-celled proembryos of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Sex. Plant Reprod.*, 2002, 14: 331 - 337.
- [11] TIAN H Q, ZHU H, RUSSELL S D. Calcium changes in ovules and embryo sacs of *Plumbago zeylanica* L. [J]. *Sex. Plant Reprod.*, 2000, 13: 11 - 20.
- [12] MAO J Q (毛节琦), CHEN Y G (陈玉根), MIAO Y (缪颖). Ca^{2+} ion localization in the path of pollen tube growth within the gynoecium of *Brassica napus* [J]. *Acta Bot. Sin.* (植物学报), 1992, 34: 233 - 236 (in Chinese).
- [13] ZHANG J S (张劲松), YANG H Y (杨弘远), ZHU L (朱陵), TONG H (童化). Ultracytochemical localization of calcium in the stigma, style and micropyle of sunflower [J]. *Acta Bot. Sin.* (植物学报), 1995, 37: 691 - 696 (in Chinese).
- [14] ZHANG J S (张劲松), YANG H Y (杨弘远), ZHU L (朱陵), TONG H (童化). Ultracytochemical localization of calcium in the pollen tube track of cotton gynoecium [J]. *Acta Bot. Sin.* (植物学报), 1997, 39: 121 - 125 (in Chinese).
- [15] XIE CH T (谢潮添), QIU Y L (邱义兰), GEL L (葛丽丽), CHEN S H (陈素红), TIAN H Q (田惠桥). The distribution of calcium in the stigma and style of tobacco during pollen germination and tube growth [J]. *J. Plant Physiol. Mol. Biol.* (植物生理与分子生物学学报), 2005, 31(1): 53 - 61 (in Chinese).
- [16] YANG S H J (杨淑娟), ZHANG Y N (张亚楠), YE L (叶律), SONG Y X (宋玉霞), TIAN H Q (田惠桥). Calcium distribution in the developing anther of *Lycium barnardum* L. [J]. *J. Mol. Cell Biol.* (分子细胞生物学学报), 2006, 39(6): 516 - 526 (in Chinese).
- [17] TIRLAPUR U K, SHIGGAIN S V. Distribution of Ca^{2+} and calmodulin in the papillae cells of the stigma surface, visualized by chlorotetracycline and fluorescing calmodulin-binding phenothiazines [J]. *Annu. Biol.*, 1988, 4: 49 - 53.
- [18] BEDNARSKA E. Calcium uptake from the stigma by germinating pollen in *Primula officinalis* L. and *Ruscus aculeatus* L. [J]. *Sex. Plant Reprod.*, 1991, 4: 36 - 38.
- [19] FEJO J A, MALHO R, OBERMEYER G. Ion dynamics and its possible role during *in vitro* pollen germination and tube growth [J]. *Protoplasma*, 1995, 187: 155 - 167.
- [20] PIERSON E S, MILLER D D, CALLAHAN D A, VAN AKEN J, HACKETT G, HEPLER P K. Tip-localized calcium entry fluctuates during pollen tube growth [J]. *Dev. Biol.*, 1996, 174: 160 - 173.

- [21] YU FL(余凡立), ZHAO J(赵洁), LIANG SH P(梁世平), YANG H Y(杨弘远). Ultracytochemical localization of calcium in gynoecium and embryo sac of rice[J]. *Acta Bot. Sin.* (植物学报), 1999, 41: 125 - 129 (in Chinese).
- [22] PIERSON E S, MILLER D D, CALLA HAM D A, SHIPLEY A M, RIVERS B A, CRESTI M, HEPLER P K. Pollen tube growth is coupled to the extracellular calcium ion flux and the intracellular gradient: Effect of BAPTA-type buffers and hypertonic media[J]. *Plant Cell*, 1994, 6: 1 815 - 1 828.
- [23] STEER M W, STEER M J. Pollen tube tip growth[J]. *New Phytol.*, 1989, 111: 323 - 358.
- [24] LI Y Q, CHEN F, LINSKENS H F, CRESTI M. Distribution of unesterified and esterified pectins in cell wall of pollen tubes of flowering plants[J]. *Sex. Plant Reprod.*, 1994, 7: 145 - 152.

图版说明:

EP. 表皮细胞; G. 生殖细胞; m. 线粒体; P. 花粉; Pa. 乳突细胞; PT. 花粉管; pw. 花粉管壁; v. 小泡; Vn. 营养核; w. 细胞壁

图版 1. 枸杞柱头的轮廓, $\times 20$; 2. 柱头的纵切, 显示柱头表面有 1 层较厚、含许多小泡(v)的覆盖层(Te), $\times 600$; 3. 开花前的柱头乳突细胞(Pa)中钙沉淀颗粒很少, 在其细胞壁(w)外有零散的钙沉淀颗粒; Te 为覆盖层基质; v 为覆盖层小泡, $\times 8 000$; 4. 开花时, 柱头表皮细胞(EP)的大液泡中出现细小的钙沉淀颗粒。在柱头覆盖层的小泡(v)中也出现了一些钙沉淀颗粒; w 为细胞壁, $\times 6 000$; 5. 柱头覆盖层小泡(v)的体积差异明显, 其内部所含的钙沉淀颗粒的体积也不等。萌发的花粉管(PT)穿过覆盖层后从柱头表皮细胞(EC)之间伸入花柱, $\times 2 000$; 6. 柱头表皮细胞(EP)壁中聚集了一些钙沉淀颗粒, $\times 8 000$; 7. 柱头表皮细胞(EP)壁(w)外突形成小泡, 钙沉淀颗粒也包裹到小泡(v)中, $\times 10 000$ 。

图版 1. 落到柱头覆盖层中的花粉粒(P), $\times 2 500$; 2. 花粉(P)吸水前其内壁呈折叠状, 内部的小液泡很少, $\times 5 000$; 3. 花粉(P)吸水后体积明显增大, 其内壁伸展, 内部出现许多小液泡, $\times 2 000$; 4. 花粉小液泡中含有数个钙沉淀颗粒。生殖细胞(GC)和营养核(Vn)中的钙沉淀颗粒很少, $\times 5 000$; 5. 图 3 的放大, 其萌发孔向覆盖层(Te)突出, 在其内壁上有一些钙沉淀颗粒; v 为覆盖层小泡, $\times 4 000$; 6. 萌发出的花粉管(PT)顶端伸入覆盖层小泡(v)中, 附近聚集了较多的钙沉淀颗粒, $\times 8 000$ 。

图版 1. 花粉(P)由大液泡占据, $\times 1 500$; 2. 花粉管(PT)表面聚集了较多的钙沉淀颗粒; Ep 为柱头表皮细胞, $\times 6 000$; 3. 在花粉管细胞质中出现一些含钙沉淀颗粒的小液泡, 这些小液泡由线粒体(m)膨大产生, $\times 15 000$; 4. 在覆盖层中生长的花粉管(PT)接触覆盖层小泡(v)后, 其中的钙沉淀颗粒聚集到花粉管上, $\times 2 500$; 5. 萌发的花粉管(PT)顶端的花粉管壁(pw)上附着较多的钙沉淀颗粒, $\times 8 000$; 6. 花粉管(PT)基部的管壁(pw)上附着的钙沉淀颗粒很少, $\times 8 000$ 。

Plate explanation :

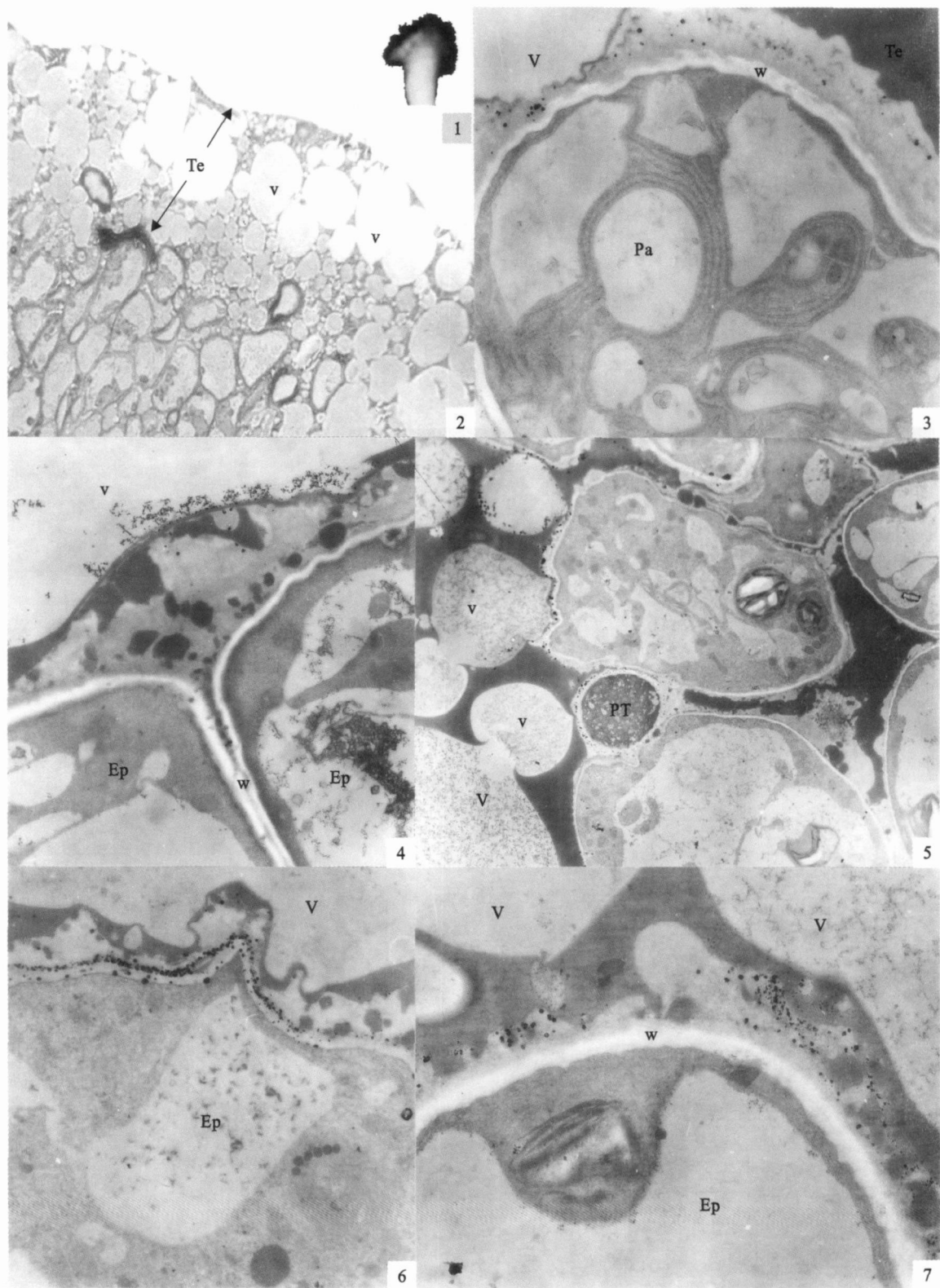
EP. Epidermal cell; G. Generative cell; m. Mitochondrion; P. Pollen grain; PT. Pollen tube; pw. Pollen tube wall; v. Vesicle; Vn. Vegetative nucleus; w. Cell wall

Plate Fig. 1. The stigma profile of *L. barbarum*, $\times 20$; Fig. 2. Longitudinal section of a stigma showed a thick tectum (Te) with many vesicles (v) covered on its surface, $\times 600$; Fig. 3. There were few calcium precipitated grana in the papilla cell (Pa) of stigma before anthesis but some in the outside of the cell wall, $\times 8 000$; Fig. 4. Some fine calcium precipitated grana in the vacuoles of epidermal cell (EP) of stigma at anthesis, and some also in the vesicles (v) of tectum, $\times 6 000$; Fig. 5. The tectum vesicles (v) with different size vesicles and calcium precipitated grana. Pollen tube (PT) traverses tectum and grows between epidermal cells (EC) of stigma, $\times 2 000$; Fig. 6. Some calcium precipitated grana accumulated in the wall of epidermal cells (EP), $\times 8 000$; Fig. 7. Some calcium precipitated grana moved outside of the wall (w) of epidermal cell (EP) to form some tectum vesicles (v), $\times 10 000$.

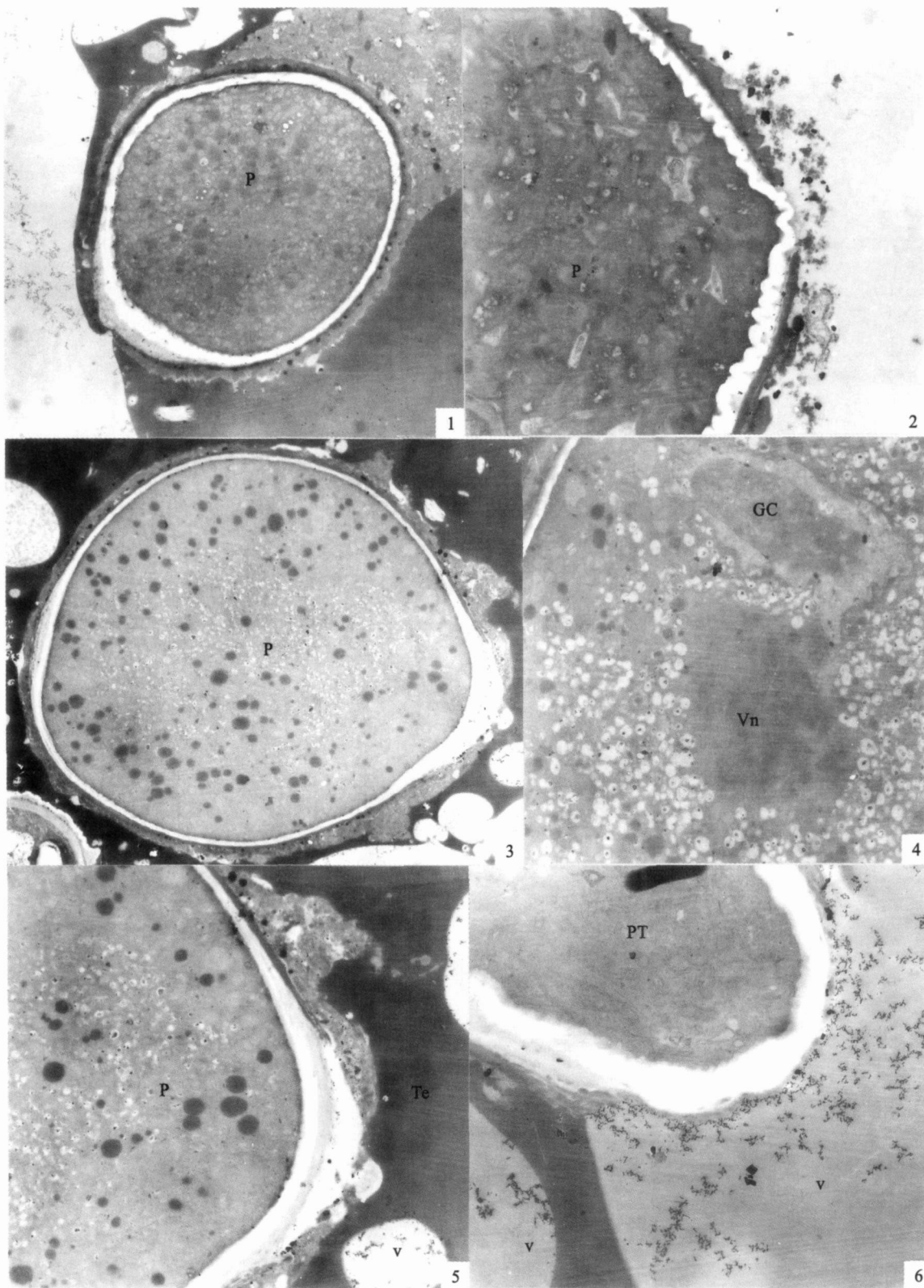
Plate Fig. 1. A pollen grain (P) landed on tectum, $\times 2 500$; Fig. 2. The pollen intine is folded before pollen hydrating. Few small vacuoles in pollen (P) cytoplasm, $\times 5 000$; Fig. 3. The volume of pollen grain (P) increased evidently after it hydrating and its intine also extended. Many small vacuoles appeared in pollen cytoplasm, $\times 2 000$; Fig. 4. The small vacuoles of pollen grain accumulated several calcium precipitated grana and a few calcium precipitated grana in generative cell (GC) and vegetative nucleus (Vn), $\times 5 000$; Fig. 5. Enlargement of Fig. 3, some calcium precipitated grana accumulated in intine of germ pore; v: vesicles of tectum, $\times 4 000$; Fig. 6. Pollen tube (PT) grew into tectum vesicles (v) and some calcium precipitated grana appeared in its surrounding, $\times 8 000$.

Plate Fig. 1. A large vacuole occupied the pollen (P), $\times 1 500$; Fig. 2. Many calcium precipitated grana accumulated on the pollen tube (PT); Ep: epidermal cell, $\times 6 000$; Fig. 3. Some small vacuoles with fine calcium precipitated grana appeared in the cytoplasm of pollen tube. The vacuoles came from swelling mitochondria (m) which accumulate more calcium precipitated grana, $\times 15 000$; Fig. 4. Pollen tube (PT) grew into tectum vesicles and calcium precipitated grana of the vesicles accumulated on the pollen tube wall, $\times 2 500$; Fig. 5. There were many calcium precipitated grana on the pollen tube wall (pw) at the top of pollen tube (PT), $\times 8 000$; Fig. 6. There were a few calcium precipitated grana on the wall (pw) at the base of pollen tube (PT), $\times 8 000$.

图版 Plate



图版 Plate



图版 Plate

