

番茄花药发育中多糖和脂滴的分布特征

朱云¹, 田惠桥^{2,*}

(¹忻州师范学院生物系, 山西忻州 034000; ²厦门大学生命科学学院, 福建厦门 361102)

摘要: 花药发育中的营养物质转运和转化规律很复杂。采用组织化学方法对番茄花药发育中的多糖和脂滴分布特征进行了分析。结果显示: 造孢细胞时期仅花药药隔细胞中有较多淀粉分布。小孢子母细胞的胼胝质壁呈现明显多糖特征, 药隔细胞中的淀粉减少。减数分裂后四分体时期的花药中营养物质没有明显变化。在游离小孢子发育早期, 药隔细胞中淀粉数量又增多; 游离小孢子的花粉壁局部呈现多糖特征。到小孢子发育晚期, 液泡化小孢子中既没有淀粉也没有脂滴, 仅在花粉壁部位仍显示了多糖特征; 药隔细胞中的淀粉数量明显减少, 此时绒毡层细胞变形、退化。小孢子分裂后, 二胞花粉中先出现一些脂滴。伴随着花粉的发育成熟, 又出现了大量的淀粉。开花时花药表皮细胞中也聚集了较多的脂滴。番茄花粉中先积累脂滴、后积累淀粉、以及成熟花粉中积累大量淀粉和脂滴的现象是其花粉发育中营养物质代谢的特征, 呈现出不同植物的特异性。

关键词: 番茄; 发药发育; 淀粉; 多糖; 脂滴

中图分类号: S 641.2

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2015) 04-0672-07

The Distribution Features of Polysaccharide and Lipid Drops in the Development of Tomato Anther

ZHU Yun¹ and TIAN Hui-qiao^{2,*}

(¹Biology Department, Xinzhou Normal University, Xinzhou, Shanxi 034000, China; ²School of Life Science, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361102, China)

Abstract: The transportation and transformation of nutrient material occurring in developing anthers is not clear. The distribution features of polysaccharide and lipid in developing anthers of tomato were analyzed using histochemical method. Some starches appeared in connected somatic tissue of anther during the sporogenous cell stage. Before the meiosis of microspore mother cell, a thick polysaccharide callose wall was formed accompanying starch reduction in connected tissue. After meiosis, polysaccharide material in anther did not change in tetrad stage. After microspores were released from tetrad, the starches again increased in the connected cells, and polysaccharide material appears in the partial intine of pollen. At the late microspore stage, the microspore formed a large vacuole and contained neither lipid drop nor the starch, and only pollen wall displayed red polysaccharide. The amount of starches in connected somatic cells decreased. The tapetal cells changed form and degenerated. After microspore division, quite amount of lipids first appeared in bicellular pollen and then many starches following pollen development. With anther maturity, many lipids and some starches accumulated in epidermal cells. It is a characteristic

收稿日期: 2015-01-06; **修回日期:** 2015-03-19

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31170289)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: hqtian@xmu.edu.cn)

of nutrient metabolism of tomato pollen that pollen first accumulated lipids and then starches, as well as mature pollen accumulated many starches and lipids simultaneously. The characteristic of nutrient metabolism in tomato pollen also displays species-specific in plants.

Key words: tomato; anther development; starch; polysaccharide; lipid

被子植物的花药结构复杂。花药外层的药壁组织表皮、药室内壁、中层、绒毡层细胞紧密相邻, 但细胞的形态结构和功能明显不同, 尤其是花药壁的最内层细胞——绒毡层细胞因与花粉的育性密切相关, 其发育特征和功能为植物生殖生物学的热点(胡适宜, 2005)。花粉发育经历了一些植物体细胞中罕见的特殊事件, 如小孢子母细胞的减数分裂, 小孢子的不等分裂, 花粉孢粉素壁的形成, 生殖细胞分裂形成无壁的精细胞和成熟花粉中积累大量营养物质等现象。虽然这些特殊事件早就被报道, 但对其调控机制知之甚少。成熟花粉中积累大量的营养物质, 主要是淀粉或脂滴, 或二者同时存在。花粉中积累的营养物质具有科、属特异性。

番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 基因组较小, 生育期较短, 是经典遗传学与基因组学常用的研究材料 (Mohammad, 2011)。番茄的生殖生物学研究也积累了一定的基础 (Singh & Brown, 1993), 但其花药发育的物质代谢特征还未见报道。作者对番茄花药发育的组织化学进行了研究, 从营养物质分布特点的角度探索番茄花药发育的物质代谢特征。

1 材料与amp;方法

番茄品种‘中蔬4号’由北京四海种苗经营公司生产。分别于2011年和2012年1月种植于厦门大学植物园, 4月开花。在开花盛期取不同大小的花药压片, 确定花药各个发育时期形态特征。根据花粉发育时期的细胞学特征, 将花药发育分为造孢细胞、小孢子母细胞(有胼胝质壁)、四分体、小孢子早期(单核中位期)、小孢子晚期(单核靠边期)、二胞花粉早期(小孢子分裂后)和成熟花粉(开花时)等7个时期。取各发育时期花药先置于用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液配置的2.5%戊二醛溶液中前固定3 h。用相同缓冲液洗涤3次后, 置于用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液配置的1%锇酸后固定液中 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜。第2天用梯度系列的丙酮溶液脱水, 经Epon 812树脂渗透后包埋。将包埋花药的树脂胶板在 $65 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中聚合2 d使树脂聚合、固化。包埋的花药用Leica Ultracut R型超薄切片机切片, 切片厚度为 $1 \text{ }\mu\text{m}$ 。参照胡适宜和徐丽云(1990)的方法, 不同时期的花药切片经过0.5%高碘酸预处理10 min, 蒸馏水洗1~2 min, 然后用希夫(Schiff)试剂染色30 min, 用10%偏亚硫酸钾溶液换洗3次, 每次2 min, 最后再水洗5 min, 蒸馏水换洗后干燥。高碘酸—希夫反应(Periodic Acid-Schiff stain, PAS)标记的花药细胞中的多糖类物质呈现红色。多糖染色后再用0.5%苏丹黑B复染细胞中的中性脂类物质——将多糖染色后的切片先在70%乙醇浸没1~2 min, 然后再在 $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度下用0.3%苏丹黑B溶于70%乙醇的染液中复染30 min, 复染后用70%乙醇分色约2 min, 用蒸馏水洗后干燥。染色后切片用甘油明胶封片。Leica DMR显微镜观察结果并记录。

2 结果与分析

2.1 造孢细胞时期

番茄花药由4个药室组成, 在花药内部细胞分化之前, 花药的外形呈棒状, 横切面呈方形, 4

个拐角部位将分化为 4 个药室。到造孢时期 (图 1, a), 花药已明显分化, 外层分化成多层细胞, 由外向内依次为表皮 (Ep)、药室内壁 (En)、3~4 层中层细胞 (ML) 以及最内层的绒毡层细胞 (T)。各层药壁细胞均已液泡化, 细胞质染色较浅。其中: 表皮细胞位于最外层, 体积最大; 紧接表皮的药室内壁以及相邻的中层和绒毡层细胞扁平, 厚度较表皮细胞小。除了最外层的表皮细胞外, 其他药壁细胞还未完全分化, 难以从形态上确切区分。此时, 在药隔组织 (CT) 的细胞中有较多的淀粉粒, 但在药壁细胞中淀粉粒不多。绒毡层细胞内为造孢细胞 (SC), 与药壁和药隔细胞差异明显, 呈马蹄形排列。造孢细胞的细胞质浓稠, 无明显液泡, 细胞壁较厚, 呈显著的多糖红色, 但造孢细胞中既无多糖颗粒也无脂滴。

2.2 母细胞时期

花药由造孢细胞发育到小孢子母细胞 (MMC) 时期有两个明显的变化 (图 1, b): 首先由原造孢细胞排列紧密的状态转变为小孢子母细胞有较大空隙的松散排列状态; 其次小孢子母细胞外的细胞壁明显加厚, 形成小孢子母细胞特有的胼胝质壁。花药的体积明显增大, 药室的空间也较大。小孢子母细胞中既没有脂滴, 也没有淀粉, 但其胼胝质壁呈现出明显的多糖性质。药壁各层细胞的体积明显增大, 高度液泡化, 尤其是绒毡层细胞的液泡化很明显。但在两个药室相连部位的药壁细胞体积增加不明显, 这种细胞分化差异使花药壁的薄厚不均, 构成以后花药成熟时开裂的基础。药壁各层组织的细胞中有少量淀粉粒, 但没有脂滴。在花药中央分割 4 个药室的药隔细胞中的淀粉粒比以前明显减少。

2.3 四分体时期

番茄小孢子母细胞的减数分裂为同时型, 四分体中的 4 个小孢子呈四面体型排列。4 个小孢子被包裹在富含多糖的胼胝质壁中, 仍没有淀粉和脂滴积累 (图 1, c)。此时, 花药壁的表皮、药室内壁、中层细胞没有明显变化, 但绒毡层细胞发生了很大变化: 细胞中的大液泡消失, 体积变小, 细胞质变浓。药壁细胞中淀粉很少, 而药隔体细胞中淀粉也很少。

2.4 小孢子早期

四分体胼胝质壁溶解后, 4 个小孢子分开, 游离在药室中。由于此时小孢子没有形成大液泡, 细胞核位于中央, 也常称为单核中位期 (图 1, d)。游离小孢子细胞质较浓厚, 已形成了花粉壁, 其花粉外壁为黑色 (具脂质性质), 而内壁的部分区域呈红色 (具多糖性质)。这些呈现多糖内壁的部位是在花粉外壁萌发孔的下面 (图 1, g)。与前一时期相比, 早期的游离小孢子中也是既没有淀粉, 也没有脂滴的状态。在花药壁部位, 除了绒毡层细胞外的药壁各层细胞体积明显增大, 依然高度液泡化, 细胞壁仍然为多糖红色, 有少量淀粉分布。绒毡层细胞的体积进一步减小, 形状不规则, 细胞之间的径向壁溶解, 界限不清。此时药隔体细胞中淀粉粒数量又有所增加。

2.5 小孢子晚期

番茄小孢子发育到晚期的一个明显特征是形成大液泡, 将细胞核挤到一边, 形成明显极性, 通常也被称为单核靠边期 (图 1, e)。晚期小孢子的体积明显增大, 由于内部的大液泡而呈现稀疏的细胞质状态。花粉外壁染色呈现黑色脂质性质, 而内壁为红色的多糖性质, 在萌发孔处的内壁较厚。此时药壁绒毡层细胞进一步退化, 细胞核不再是浅红色, 细胞质中出现了脂滴。其他药壁细胞没有明显变化。在药隔细胞中淀粉粒数量减少。

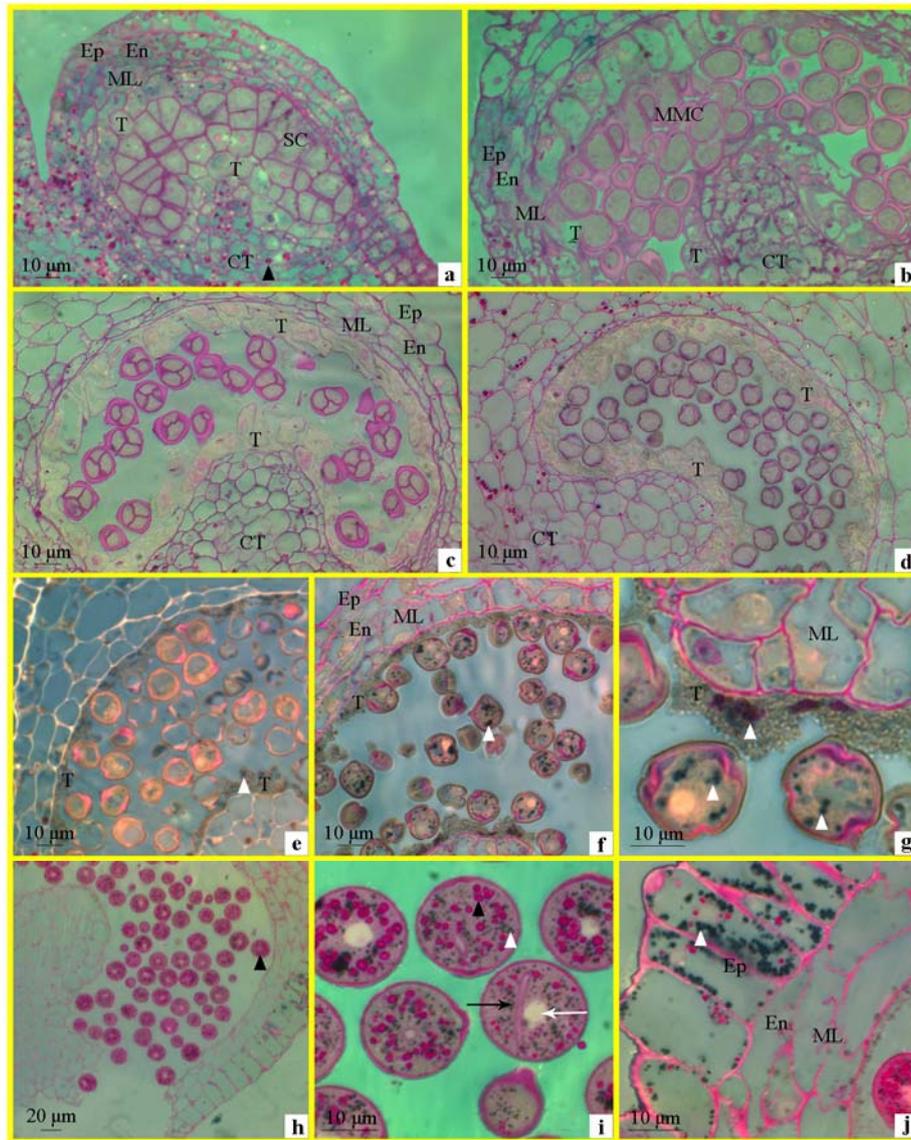


图1 番茄花药发育中的多糖和脂滴分布

a: 造孢时期的花药横切面, 示花药已分化出的各层药壁细胞; 在药隔组织中聚集一些淀粉。b: 小孢子母细胞具有较厚的多糖胼质壁; 药隔组织中的淀粉数量减少。c: 四分体小孢子包裹在胼质壁中; 花药中的淀粉依然较少。d: 早期小孢子内壁局部显示多糖性质, 药隔细胞中淀粉数量有所增加。e: 晚期小孢子内既无淀粉, 也无脂滴, 退化绒毡层细胞中有一些脂滴。f: 早期二胞花粉中先出现脂滴。g: 早期二胞花粉放大后可看到大液泡减小, 细胞质出现脂滴。h: 晚期二胞花粉中有大量的淀粉粒。i: 成熟花粉中聚集了较大淀粉粒和较小的脂滴。生殖细胞(黑箭头)呈长条形, 分布在营养核(白箭头)旁边。j: 成熟花药的表皮细胞中积累了较多的脂滴。CT: 药隔组织; Ep: 表皮; En: 药室内壁; ML: 中层; MMC: 小孢子母细胞; SC: 造孢细胞; T: 绒毡层; ▲: 淀粉; △: 脂滴。

Fig. 1 Distribution feature of polysaccharide and lipid of tomato developing anthers

a: The transection of anthers at the stage of sporogenous cell (SC) showing different cells of anther wall. There are some starches in the cells of connected tissue. b: During microspore mother cell (MMC) stage, MMCs produce a thick callose wall. The starches in connected tissue decrease. c: In tetrad stage of microspore, four microspores are packed in callose wall. Starches in the anther are still few. d: During early microspore stage, polysaccharide material appears in the intine of pollen. Starches in the cells of connected tissue increase again. e: During late microspore stage, there are no starch and lipid in microspore. There are some lipids in the tapetal remaining trace. f: In the early stage of bicellular pollen, some lipids appear in bicellular pollen. g: The big vacuole of bicellular pollen becomes small, and lipids located in the pollen cytoplasm. h: In the late stage of bicellular pollen, there are many starches accumulating in mature pollen. i: Many big starches and few small lipids accumulate in mature pollen. Generative cell (black arrow) is spindle shape and locates beside vegetative nucleus (white arrow). j: In mature anthers, some lipids accumulate in the epidermal cells. CT: Connected tissue; Ep: Epidermal cell; En: Endothecium cell; ML: Middle layer; MMC: Microspore mother cell; SC: Sporogenous cell; T: Tapetal cell. ▲: Starch; △: Lipid.

2.6 二胞花粉早期

小孢子经过一次不均等的有丝分裂形成二胞花粉，开始雄配子体发育。在早期二胞花粉中，营养细胞中的大液泡分解消失，胞质中只有一些小液泡（图 1, f）。早期二胞花粉中开始出现较多的脂滴（图 1, g）。而绒毡层细胞体积进一步减小，降解为一层残迹，其中有少量的脂滴。药壁的其他细胞没有明显变化（图 1, f）。随着早期二胞花粉中的大液泡分解、消失，花粉中积累脂滴的现象很明显，但此时的花粉中仍没有淀粉粒积累。

2.7 成熟花粉期

接近开花时，成熟花药的 4 个药室中，左右两侧两个药室之间的隔壁细胞溶解，4 个药室变为两个药室。在原两个药室相通部位的药壁细胞只剩 3 层，细胞层数向维管束方向逐渐递增。在这个部位，表皮细胞径向伸长，排列规则，形成了花药裂口（图 1, h）。番茄花粉为二胞型，开花时的成熟花粉由营养细胞（图 1, i, 白箭头）和生殖细胞（图 1, i, 黑箭头）组成。成熟花粉中的生殖细胞逐渐变成长条形，与营养核均位于花粉中央。在花粉成熟过程中持续地积累营养物质，并且除了继续积累脂滴外，也伴随着大量的淀粉粒出现（图 1, i）。在花药药壁的表皮细胞中出现了较多的脂滴，但在药室内壁、中层细胞中只有少量的小淀粉粒（图 1, j）。

3 讨论

被子植物花药的发育特点是通过花药各个组织细胞的相互协同，最终使药室中的花粉发育为最简化的三细胞雄配子体。为了保障花粉萌发时有充足的能量和结构物质基础，在花粉成熟过程中积累了大量的营养物质——淀粉或脂滴，或同时含有二者。花粉中积累营养物质的过程使发育花药成为吸收营养物质的“池”，呈现出花药的物质代谢特征。然而，不同植物的花粉中积累的营养物质不同，营养物质的积累过程也有很大差异，花药营养物质代谢的规律还不清楚。发育花药中的物质代谢反映在两个方面：营养物质的运输和转化。在发育花药中的营养物质运输方面，体内他处运往花药的营养物质是糖类。但对体内他处的糖类物质通过药壁细胞运输到花粉中的过程还不清楚。糖类物质在药壁体细胞之间可以通过细胞之间的传递到达药室，然而花粉与药壁细胞并不直接接触，营养物质如何进入花粉中？另外花药是植物体内营养物质吸收的“池”，而花粉又是花药中营养物质吸收的“池”，营养物质最终流入到花粉中的调控机制是什么？分离植物精细胞的试验表明生殖细胞和精细胞的渗透势比较高（伍成厚 等，2012；朱云 等，2012；张玉红 等，2013），很可能是花药和花粉的高渗透势状态源源不断地吸收了营养物质流入，但这一推侧需要证据证明。

在发育花药中的营养物质转化方面，一些植物，如鹅掌楸（尹增芳和樊汝汶，1998）、辣椒（邱义兰 等，2008）和杧果（马燕 等，2011）等成熟花粉中积累淀粉，可推测是由花粉直接吸收糖类的代谢过程。花粉中脂类物质积累则比较复杂。白菜成熟花粉中积累大量脂滴作为储藏物。在白菜花药发育中，小孢子时期的花药绒毡层细胞中聚集了大量脂滴，显示绒毡层细胞将体内运往花药中的糖类物质转化为脂类物质供花粉吸收（Xie et al., 2005）。在水鬼蕉花药发育中，造孢细胞和小孢子母细胞中聚集了大量的脂滴。这种富含脂滴的状态一直保持到花粉成熟，表明造孢细胞和小孢子母细胞具有将糖类物质转化为脂类物质的功能（包晗 等，2011）。砂仁也是在小孢子母细胞中就积累大量的脂滴，但在晚期小孢子中又出现了大量的淀粉，成熟花粉中储存物为脂滴和淀粉。表明小孢子具有将脂类物质转化为糖类物质的代谢特征（Lin et al., 2014）。然而很多植物是在二胞花粉中

才开始积累营养物质的。少花龙葵(郭笑娟等, 2014)和青葙(郭娇娇等, 2014)的花粉发育到二胞花粉才开始积累淀粉和多糖,但在花粉成熟过程中,除淀粉外,也出现了一些脂滴,显示二胞花粉先吸收糖类物质,然后再将糖类转化为脂类的代谢特征。在枸杞花药发育中,二胞花粉中先出现脂滴,随着花粉的发育,成熟花粉中除积累许多脂滴外,又出现了大量的淀粉粒,表明二胞花粉先吸收脂类物质,然后再将脂类转化为糖类的代谢特征(徐青等, 2006)。在本试验中,番茄也是在二胞花粉阶段才开始积累脂滴,但随着花粉的成熟,其中又出现了淀粉和多糖。番茄花粉发育的物质代谢特征与枸杞的相同。上述植物花药中的物质转化呈现出各自的时空特征。花药物质代谢差异也是植物花药发育的一种多样性表现。

在花药发育中,除了成熟花粉中积累了大量营养物质外,花粉的特殊结构也表现出了独特的物质代谢特点。小孢子母细胞的一个发育特点是形成厚厚的胼胝质壁将其隔离。在一种月见草植物中,小孢子母细胞的胼胝质壁是多糖负反应,但四分体的胼胝质壁呈现正反应(Halac et al., 1992)。凤仙花的造孢细胞和小孢子母细胞中聚集了较多的淀粉粒。但小孢子母细胞减数分裂后,四分体小孢子中的淀粉消失,暗示小孢子母细胞中的淀粉可能被用于合成胼胝质壁(杨淑娟等, 2013)。在本试验中,番茄造孢细胞时期在药隔体细胞中积累了较多的淀粉,但到小孢子母细胞时期淀粉粒明显减少,同时伴随着小孢子母细胞形成了较厚的胼胝质壁。胼胝质壁呈现红色,表明其中含有较多的多糖物质。药隔组织中淀粉粒的减少和小孢子母细胞胼胝质壁的合成暗示该发育时期花药中的糖类物质主要用于胼胝质壁的合成。

花粉具有一层特殊的孢粉素细胞壁,由脂类物质构成。通常认为花粉的孢粉素物质是由花药绒毡层细胞合成的(胡适宜, 2005)。绒毡层细胞是药壁细胞中距花粉粒最近的一层体细胞,在营养物质传递与转化中起重要作用。有试验证明调控脂质代谢的基因突变导致了绒毡层细胞的形态异常以及花粉壁外壁缺失,暗示绒毡层细胞中脂类物质代谢与花粉外壁的形成有关(Ariizumi et al., 2004)。植物细胞中脂类物质的代谢包括在质体中合成脂肪酸以及在内质网中对脂肪酸的修饰作用,这些修饰作用有不饱和脂肪酸链的延长,羟基化,多元化或者转化成长链脂肪酸的脂肪族复合物(Samuels et al., 2008)。因此,花药绒毡层细胞与其外方的其他药壁细胞的高度液泡化特征不同,细胞内没有大液泡,细胞质中的内质网囊泡电子密度较高,内含物较浓厚,堆叠的内质网膜与质膜融合,质体和脂质体体积增大(Wilson & Zhang, 2009)。绒毡层细胞中这些与脂质代谢有关的结构特征很可能是将糖类物质转化为脂类孢粉素前体物的过程,也是花药物质代谢的一个特征。但这方面的研究资料还十分匮乏。

References

- Ariizumi T, Hatakeyama K, Hinata K, Inatsugi R, Nishida I, Sato S, Kato T, Tabata S, Toriyama K. 2004. Disruption of the novel plant protein NEF1 affects lipid accumulation in the plastids of the tapetum and exine formation of pollen, resulting in male sterility in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 39: 170 - 181.
- Bao Han, Song Yu-yan, Ma Yan, Tian Hui-qiao. 2011. Histochemical observation of polysaccharide and lipid on the developing anthers of *Hymenocallis littoralis* (Jacq.) Rome. *Plant Physiology Journal*, 47 (6): 565 - 569. (in Chinese)
- 包 晗, 宋玉燕, 马 燕, 田惠桥. 2011. 水鬼蕉花药发育中多糖和脂滴组织化学研究. *植物生理学报*, 47 (6): 565 - 569.
- Guo Jiao-jiao, Guo Xiao-juan, Song Tie-dan, Tian Hui-qiao. 2014. Structural and histochemical observation on the anthers of *Celosia argentea*. *Subtropical Plant Science*, 43 (2): 114 - 118. (in Chinese)
- 郭娇娇, 郭笑娟, 宋铁蛋, 田惠桥. 2014. 青葙花药发育的结构和组织化学研究. *亚热带植物科学*, 43 (2): 114 - 118.
- Guo Xiao-juan, Guo Jiao-jiao, Song Tie-dan, Tian Hui-qiao. 2014. Histochemical observation of polysaccharides and lipids on the developing anthers

- of *Solanum photeinocarpum*. *Botanical Research*, (3): 27 - 31. (in Chinese)
- 郭笑娟, 郭娇娇, 宋铁蛋, 田惠桥. 2014. 少花龙葵花药发育中多糖和脂滴的组织化学研究. *植物学研究*, (3): 27 - 31.
- Halac I N, Fama G, Cismondi I A. 1992. Change in lipids and polysaccharides during pollen ontogeny in *Oenothera* anthers. *Sexual Plant Reproduction*, 5: 110 - 116.
- Hu Shi-yi. 2005. *Reproductive biology of angiosperms*. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
- 胡适宜. 2005. 被子植物生殖生物学. 北京: 高等教育出版社.
- Hu Shi-yi, Xu Li-yun. 1990. A cytochemical technique for demonstration of lipids, polysaccharides and protein bodies in thick resin sections. *Acta Botany Sinica*, 32 (11): 841 - 846. (in Chinese)
- 胡适宜, 徐丽云. 1990. 显示环氧树脂厚切片中多糖、蛋白质和脂类的细胞化学方法. *植物学报*, 32 (11): 841 - 846.
- Lin Mei-zhen, Zhu Yun, Yang Shu-juan, Wei Dong-mei, Tian Hui-qiao. 2014. Cytochemical study of developing anthers of *Amomum villosum* Lour. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 209 (10): 567 - 570.
- Ma Yan, Deng Wei, Tian Hui-qiao. 2011. Cytochemical study on the developing anthers of *Mangifera indica*. *Guihaia*, 31 (3): 338 - 341. (in Chinese)
- 马燕, 邓炜, 田惠桥. 2011. 芒果花药发育的细胞化学研究. *广西植物*, 31 (3): 338 - 341.
- Mohammad A. 2011. The price for agricultural products-tomato. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, (5): 2311 - 2315.
- Qiu Yi-lan, Liu Zhu-li, Li Hong, Chen Song, Chen Liang-bi, Tian Hui-qiao. 2008. Cytological observation of anther abortion and starch distribution of a cytoplasm male sterile pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Natural Science of Hunan Normal University*, 31 (4): 95 - 99. (in Chinese)
- 邱义兰, 刘珠丽, 李红, 陈松, 陈良碧, 田惠桥. 2008. 辣椒细胞质雄性不育花药败育及淀粉粒分布的细胞学观察. *湖南师范大学自然科学学报*, 31 (4): 95 - 99.
- Samuels L, Kunst L, Jetter R. 2008. Sealing plant surfaces: Cuticular wax formation by epidermal cells. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 683 - 707.
- Singh M, Brown G G. 1993. Characterization of expression of a mitochondrial gene region associated with the *Brassica* "Polima" CMS: Developmental influences. *Current Genetics*, 24: 316 - 322.
- Wilson Z A, Zhang Da-bing. 2009. From *Arabidopsis* to rice: Pathways in pollen development. *Journal of Experimental Botany*, 60 (5): 1479 - 1492.
- Wu Cheng-huo, Zhao Yu-hui, Yang Yan-hong, Tian Hui-qiao. 2012. The isolation and collection of sperm cells in *Phalaenopsis*. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (4): 729 - 734. (in Chinese)
- 伍成厚, 赵玉辉, 杨延红, 田惠桥. 2012. 蝴蝶兰精细胞的分离和收集. *园艺学报*, 39 (4): 729 - 734.
- Xie Chao-tian, Yang Yan-hong, Qiu Yi-lan, Zhu Xue-yi, Tian Hui-qiao. 2005. Cytochemical investigation of genic male-sterility in Chinese cabbage. *Sexual Plant Reproduction*, 18: 75 - 80.
- Xu Qing, Wang Xian-qin, Tian Hui-qiao. 2006. The features of distribution of polysaccharide and lipid in the developing anther of *Lycium barbarum* L. *Journal of Molecular Cell Biology*, 39 (2): 103 - 110. (in Chinese)
- 徐青, 王仙琴, 田惠桥. 2006. 枸杞花药发育过程中脂滴和淀粉粒的分布特征. *分子细胞生物学报*, 39 (2): 103 - 110.
- Yang Shu-juan, Wei Dong-mei, Cheng Cheng, Song Tie-dan, Tian Hui-qiao. 2013. Histochemical study of polysaccharides and lipids on the developing anther of *Impatiens balsamina*. *Acta Botanica Boreal-Occidentalia Sinica*, 33 (9): 1786 - 1791. (in Chinese)
- 杨淑娟, 魏冬梅, 成诚, 宋铁蛋, 田惠桥. 2013. 凤仙花花药发育中多糖和脂滴组织化学研究. *西北植物学报*, 33 (9): 1786 - 1791.
- Yin Zeng-fang, Fan Ru-wen. 1998. Cytochemical study on the microsporogenesis of *Liriodendron Chinense* (Hemsl.) Sary. *Chinese Bulletin of Botany*, 15 (3): 34 - 37. (in Chinese)
- 尹增芳, 樊汝汶. 1998. 中国鹅掌楸小孢子发生的细胞化学研究. *植物学通报*, 15 (3): 34 - 37.
- Zhang Yu-hong, Yu Jin-jin, Wu Xiao-chen, Tian Hui-qiao. 2013. Separation of sperm cells of *Rhododendron simsii*. *Subtropical Plant Science*, 42 (1): 5 - 9. (in Chinese)
- 张玉红, 于金金, 吴晓琛, 田惠桥. 2013. 杜鹃精细胞的分离. *亚热带植物科学*, 42 (1): 5 - 9.
- Zhu Yun, Chen Mei-ling, He En-ming, Tian Hui-qiao. 2012. Isolation of sperm cells of *Jatropha curcas* L. *Botanical Research*, 1 (2): 35 - 40. (in Chinese)
- 朱云, 陈美灵, 何恩铭, 田惠桥. 2012. 麻疯树精细胞分离. *植物学研究*, 1 (2): 35 - 40.