

睡莲生殖器官发育过程中解剖结构的变化

孙春青^{1,2}, 陶美奇¹, 姚悦梅¹, 戴忠良^{1,①}

(1. 江苏丘陵地区镇江农业科学研究所, 江苏 句容 212400; 2. 南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 为了解睡莲(*Nymphaea tetragona* Georgi)生殖器官的发育过程,采用石蜡切片技术对睡莲的小孢子和雄配子体横切面以及大孢子、雌配子体和子房纵切面的解剖结构变化进行观察,并采用离体培养和人工授粉等技术研究花粉特征、花粉萌发率以及自交结实率。结果表明:睡莲的雄配子体总体上经历了花粉母细胞期、减数分裂期、四分体期、小孢子游离期、单核靠边期、单核花粉期、双核花粉期一系列过程,最终发育成成熟花药;其花药包含4个花粉囊,花药壁由外向内依次由1层表皮细胞、1层药室内壁细胞、2层中层细胞和1层分泌型绒毡层细胞组成;成熟花粉粒呈球状至椭球状,花粉沟为环型萌发沟;离体花粉萌发率为45.2%。睡莲的雌配子体总体上经历了大孢子母细胞期、二分体期、四分体期、单核胚囊期、双核胚囊期、四核胚囊期一系列过程,最终发育成完整的胚囊;大孢子四分体中靠近合点区的大孢子为功能大孢子;其成熟胚囊为4细胞4核型胚囊,由1个单核中央细胞、1个卵细胞和2个助细胞组成;其胚珠为双珠被、厚珠心和边缘胎座。睡莲的胚胎发育经历了球形胚、椭球形胚和菱形胚3个阶段,其胚乳为细胞型胚乳。此外,睡莲生殖器官发育过程中会出现一些发育异常的现象,其中,雄配子体的发育可出现绒毡层细胞提前解体和四分体形状不规则等现象,导致花粉发育异常;雌配子体的发育过程中可出现大孢子发育停滞和胚囊内细胞核异常解体等现象;人工授粉后子房内可出现胚胎停止发育且结构混乱和细胞核解体等异常现象,导致胚胎败育。研究结果表明:睡莲功能大孢子位于合点区和4细胞4核成熟胚囊是区别于大多数被子植物的重要生殖特征;大、小孢子,雌、雄配子体和胚胎发育过程中的败育可能会降低睡莲的异花自交结实率。

关键词: 睡莲; 生殖器官; 解剖结构; 雌配子体; 雄配子体; 胚胎发育

中图分类号: Q944.4; S682.32 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2022)01-0021-08

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2022.01.04

Changes of anatomical structure during the development processes of reproductive organs of *Nymphaea tetragona* SUN Chunqing^{1,2}, TAO Meiqi¹, YAO Yuemei¹, DAI Zhongliang^{1,①}
(1. Zhenjiang Institute of Agricultural Science in Jiangsu Hilly Areas, Jurong 212400, China; 2. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2022, 31(1): 21-28

Abstract: In order to understand the development processes of reproductive organs of *Nymphaea tetragona* Georgi, the changes of anatomical structure of microspore and male gametophyte transverse sections and megaspore, female gametophyte and ovary longitudinal sections were observed by using the technology of paraffin section, and the pollen characteristics, pollen germination rate, and self-seeds setting rate were studied by using technologies such as *in vitro* culture and artificial pollination. The results show that the male gametophyte of *N. tetragona* develops into mature anther through a series of processes, namely pollen mother cell stage, meiosis stage, tetrad stage, microspore free stage, mononuclear sideline stage, mononuclear pollen stage, and binuclear pollen stage; the anther contains four pollen sacs, and the anther wall is composed of one layer of epidermal cells, one layer of anther chamber wall cells, two layers of middle layer cells, and one layer of secretory tapetum cells from outside

收稿日期: 2021-08-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31701948); 镇江市重点研发计划项目(NY2021016)

作者简介: 孙春青(1983—),男,山东莱阳人,硕士,副研究员,主要从事花卉遗传育种方面的研究。

①通信作者 E-mail: daizhongliang2008@126.com

引用格式: 孙春青, 陶美奇, 姚悦梅, 等. 睡莲生殖器官发育过程中解剖结构的变化[J]. 植物资源与环境学报, 2022, 31(1): 21-28.

to inside; the shape of mature pollen grain is spherical to ellipsoid, and the pollen groove is a ring germination groove; the germination rate of pollen *in vitro* is 45.2%. The female gametophyte of *N. tetragona* develops into a complete embryo sac through a series of processes, namely megaspore mother cell stage, dyad stage, tetrad stage, mononuclear embryo sac stage, binuclear embryo sac stage, and tetranuclear embryo sac stage; and the megaspore near the chalazal region of megaspore tetrad is functional megaspore; the mature embryo sac is a four-cell/four-nuclear embryo sac, which is composed of one mononuclear central cell, one egg cell, and two synergids; the ovule is double integuments, thick nucellus and marginal placentation. The embryonic development of *N. tetragona* goes through three stages, namely globular embryo, ellipsoidal embryo, and rhombic embryo, and its endosperm is cellular endosperm. In addition, some developmental abnormalities can occur in the development processes of reproductive organs of *N. tetragona*, in which, there are phenomena such as early disintegration of tapetum cells and irregular shape of tetrad during the development of male gametophyte, resulting in abnormal pollen development; and there are megaspore stagnation and abnormal nuclear disintegration in embryo sac during the development of female gametophyte; in the ovary after artificial pollination, there are abnormal phenomena such as embryo stop development, structural disorder, and nuclear disintegration, resulting in embryo abortion. It is suggested that the functional megaspores of *N. tetragona* located at the chalazal region and four-cell/four-nuclear mature embryo sacs are important reproductive characteristics different from most angiosperms; the abortions during megaspore, microspore, male and female gametophyte, and embryo development may reduce the cross-self-seeds setting rate of *N. tetragona*.

Key words: *Nymphaea tetragona* Georgi; reproductive organ; anatomical structure; female gametophyte; male gametophyte; embryo development

睡莲科 (Nymphaeaceae) 睡莲属 (*Nymphaea* Linn.) 植物全球共有 50 余种, 其中大多数种类属于热带睡莲, 仅有少部分种类属于耐寒睡莲^[1,2]。睡莲 (*N. tetragona* Georgi) 别名子午莲, 属于耐寒睡莲, 在中国分布广泛^[3]。由于睡莲具有较强的耐寒性和抗病性, 常被用作睡莲属植物种间杂交育种的亲本。

在睡莲属植物种间杂交过程中, 特别是在耐寒睡莲与热带睡莲的种间杂交过程中, 常存在一系列杂交障碍, 难以获得杂交种子, 因而, 较难实现将热带睡莲携带的优异花色和花型基因转入睡莲中^[4]。针对存在杂交障碍的植物杂交亲本, 利用幼胚培养技术可成功地克服杂交障碍并获得杂交子代, 而采用幼胚培养技术的前提之一是详细了解亲本的胚胎学特征^[5]。目前, 对一些热带睡莲种类, 例如埃及白睡莲 (*N. lotus* Linn.)^[6] 和侏儒卢旺达睡莲 (*N. thermarum* Eb. Fisch.)^[7], 已进行了胚胎学特征研究, 但由于不同类型睡莲的开花结实特性存在差异, 因此, 有必要了解睡莲的胚胎发育过程及其形态结构的变化规律, 可为克服睡莲种间杂交障碍提供基础资料。此外, 睡莲属种类位于被子植物系统发育树的基部, 因此, 睡莲属植物的胚胎学研究对探讨被子植物的系统发育具有重要意义。

鉴于此, 作者以广泛分布于中国的睡莲为研究对

象, 采用石蜡切片技术并利用扫描电子显微镜观察其雌、雄配子体发育过程中解剖结构的变化, 并对其花粉萌发率和结实率进行统计分析, 以期为提高睡莲属植物种间杂交效果提供基础研究资料。

1 材料和方法

1.1 材料

供试睡莲引自贵州省黎平县 (东经 109°01'24"、北纬 26°06'22"), 保存于江苏丘陵地区镇江农业科学研究所行香农业科技创新中心, 均种植于水深 30 cm 的浅池内。

1.2 方法

1.2.1 雌、雄配子体解剖结构观察 于 2019 年 5 月 20 日至 6 月 15 日, 在睡莲开花前 25、22、19、16、13、10、7、4 和 1 d 依次取样, 每次采集 3 个花蕾 (每个花蕾约包含 280 枚胚珠)。采样后立刻用 FAA 固定液 [$V(\text{体积分数 } 70\% \text{ 乙醇}) : V(\text{冰乙酸}) : V(\text{甲醛}) = 18 : 1 : 1$] 将整个花蕾固定, 并置于 4 °C 保存、备用。

采用常规石蜡切片技术制片。花药和子房依次脱水渗蜡后分别用石蜡包埋, 用 KQ-2258 石蜡切片机 (科迪仪器设备有限公司) 连续切片, 获得花药横切和子房纵切切片, 切片厚度 8 μm ; 将切片晾干后依

次用二甲苯脱蜡2次(每次20 min)、体积比1:1的二甲苯-乙醇混合溶液脱蜡1次(5 min),然后分别用体积分数100%~30%的梯度乙醇溶液各处理5 min;处理后的切片用质量体积分数0.5%苏木精溶液染色,然后用加拿大树胶(印度Chemsworth公司)封片,用Olympus BX41光学显微镜(日本Olympus公司)观察并拍照^[8]。

于开花的第2天采集花粉,立即用体积分数2.5%的戊二醛(用0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液配置,pH 7.2)固定2 d以上,然后依次用30%~100%梯度乙醇溶液分别处理20 min,使花粉脱水;脱水后的花粉用叔丁醇处理3次以上(每次10 min),将溶剂挥干后依次进行冷冻干燥和喷金处理,最后置于Hitachi S-3000N扫描电子显微镜(日本Hitachi公司)下观察并拍照。

1.2.2 花粉萌发率测定 于开花的第2天上午9:00至10:00采集花粉,并采集当天开花花朵的柱头液,将花粉均匀撒布在载玻片上,滴入适量的柱头液后将载玻片置于温度28℃的培养箱内暗培养6~8 h;然后用Olympus BX41光学显微镜观察花粉的萌发状况,选择10个视野统计萌发花粉的数量^[8],每个视野花粉数量不少于60粒。实验重复3次(即制片数为3片)。

1.2.3 人工授粉后子房解剖结构观察和异花自交结实率统计 于开花前选择合适的花朵用网袋套袋,并于开花当天的上午9:00用镊子去雄,同期采集其他套袋花的新鲜花粉,对去雄花的柱头进行人工授粉并套袋。

2019年6月1日至6月20日,分别在人工授粉后12 h以及1、3、5、8、10、15和20 d各取2个子房,按照上述方法固定并用石蜡制片技术制片,子房纵切,切片厚度8 μm;用Olympus BX41光学显微镜观察并拍照^[8]。另外,人工授粉后28 d采集5个子房统计异花自交结实率。

1.3 数据计算和处理

采用EXCEL 2010软件进行数据统计和分析,采用Adobe Photoshop 7.0软件进行图片处理。花粉萌发率=(每个视野萌发的花粉数/每个视野的花粉总数)×100%;结实率=(每个子房的种子数/每个子房的胚珠平均数)×100%。

2 结果和分析

2.1 雌、雄配子体发育过程中解剖结构的变化

2.1.1 小孢子和雄配子体解剖结构的变化 睡莲小

孢子和雄配子体横切面解剖结构的观察结果(图版I)表明:睡莲的雄配子体总体上经历了花粉母细胞期、减数分裂期、四分体期、小孢子游离期、单核靠边期、单核花粉期、双核花粉期,最终发育成成熟花粉。睡莲花药包含4个花粉囊(图版I-1);花药壁由外向内依次由1层表皮细胞、1层药室内壁细胞、2层中层细胞和1层绒毡层细胞组成(图版I-2),其中绒毡层细胞属于分泌型。

开花前25和22 d,花药中小孢子母细胞未分化;开花前19 d,花药处于花粉母细胞期,花粉母细胞的细胞核较大,此时药室内壁变薄(图版I-2);开花前16 d,花药处于减数分裂期,此时绒毡层细胞的体积较大(图版I-3);开花前13 d,花药处于四分体期,四分体中4个小孢子呈四面体型排列,此时绒毡层细胞开始退化(图版I-4);开花前10 d为小孢子游离期,小孢子的细胞质较浓且细胞核较大,而绒毡层细胞内含物减少(图版I-5);开花前7 d为小孢子单核靠边期,此时小孢子内的液泡将细胞核挤到一侧(图版I-6);开花前4 d为单核花粉期,此时绒毡层细胞开始解体(图版I-7);开花前1 d为双核花粉期,此时绒毡层已经完全解体,花药壁仅由药室内壁和残余表皮组成,药室内壁以条带的形式径向加厚,花粉形成营养核和生殖核2个细胞核(图版I-8,9)。

通过扫描电子显微镜观察可见:睡莲的成熟花粉粒呈球状至椭球状(图版I-10),花粉沟为环型萌发沟(图版I-11)。离体花粉的萌发率为45.2%。

在睡莲雄配子体发育过程中可以观察到一些发育异常的现象(图版I-12~15)。在减数分裂期,2.4%的花药内出现绒毡层细胞内含物减少且形态结构混乱的现象,说明此时绒毡层细胞已经开始解体(图版I-12);在四分体时期,2.6%的花药内可观察到形状不规则的四分体(图版I-13);在开花前1 d,3.7%的花药内可观察到干瘪且呈不规则长条状的花粉(图版I-14)。此外,在扫描电子显微镜下也可观察到花粉发育不正常的现象,其中有5.0%的花粉干瘪不充实,花粉外壁纹饰缺失(图版I-15)。

2.1.2 大孢子和雌配子体解剖结构的变化 睡莲大孢子和雌配子体纵切面解剖结构的观察结果(图版II-1~7)表明:睡莲的雌配子体经历了大孢子母细胞期、二分体期、四分体期、单核胚囊期、双核胚囊期、四核胚囊期,最终发育成完整的胚囊。睡莲的胚珠为双

珠被、厚珠心和边缘胎座(图版Ⅱ-1)。

开花前 16 d 为大孢子母细胞期,此时大孢子母细胞具有明显的细胞核,其体积大于周围其他细胞(图版Ⅱ-2);开花前 13 d 为大孢子二分体期,二分体细胞的细胞质浓厚且细胞核明显(图版Ⅱ-3);开花前 10 d 为大孢子四分体期,其中靠近合点区的大孢子为功能大孢子(图版Ⅱ-4);开花前 7 d 为单核胚囊期,此时珠孔区的 3 个大孢子解体,合点区的功能大孢子形成单核胚囊(图版Ⅱ-5);开花前 4 d 为双核胚囊期,此时单核胚囊经过有丝分裂形成双核胚囊,但体积无明显增大(图版Ⅱ-6);开花前 1 d 为四核胚囊期,其中体积较大的 1 个核在胚囊的中央成为极核,另外 3 个核位于珠孔区,此时胚囊已发育完成(图版Ⅱ-7),其成熟胚囊为 4 细胞 4 核型胚囊,由 1 个单核中央细胞、1 个卵细胞和 2 个助细胞组成。

在睡莲雌配子体发育过程中也会出现一些异常现象(图版Ⅱ-8,9)。例如:大孢子出现发育停滞现象,败育率为 6.7%,此时胚珠珠心细胞开始降解(图版Ⅱ-8);当雌配子体发育到成熟胚囊阶段时,可观察到胚囊内细胞核异常解体且胚珠珠心细胞已开始降解(图版Ⅱ-9),败育率为 5.8%。

2.2 人工授粉后子房解剖结构的变化

人工授粉后睡莲子房纵切面解剖结构的观察结果(图版Ⅱ-10~13)表明:睡莲的胚胎发育经历了球形胚、椭球形胚和菱形胚 3 个阶段。人工授粉后 12 h,卵细胞完成受精作用形成受精卵,此时助细胞已经退化消失(图版Ⅱ-10);受精极核与 1 个精子结合形成初生胚乳核,初生胚乳核分裂形成 1 个横壁结构,横壁将胚囊分为珠孔区和合点区(图版Ⅱ-10),胚乳为细胞型胚乳;合点区的胚乳发育成单细胞单核的管状结构(图版Ⅱ-10),胚乳的发育早于胚的发育;受精后胚胎细胞不断分裂,至人工授粉后 8 d 胚胎发育至球形胚期(图版Ⅱ-11);人工授粉后 12 d,胚胎体积有所增大并呈椭球状(图版Ⅱ-12);人工授粉后 20 d,胚胎呈菱形,此时胚乳已经消失(图版Ⅱ-13);人工授粉后 28 d,种子发育成熟。统计结果表明:睡莲的异花自交结实率较高,达到 74.6%。

人工授粉后睡莲子房的发育也会出现一些异常现象(图版Ⅱ-14,15)。在 4.2% 的子房中可以观察到胚胎发育异常结构,主要表现为胚胎停止发育且结构混乱和细胞核解体等现象。

3 讨论和结论

3.1 睡莲繁殖器官发育过程中解剖结构的变化

睡莲的花药壁由 5~7 层细胞组成,与大部分被子植物的花药壁结构一致^[9]。花粉成熟后药室内壁增厚,这与睡莲科萍蓬草属(*Nuphar* Sm.)^[9]和水盾草属(*Cabomba* Aubl.)^[10]的药室内壁发育模式相似。睡莲具有分泌型绒毡层,也与睡莲科其他植物的绒毡层类型相同,如萍蓬草属^[9]和莼菜属(*Brasenia* Schreb.)^[11],但也有研究者^[12]认为萍蓬草属和睡莲属的一些种类具有周原生质型绒毡层。

睡莲大孢子母细胞减数分裂后形成大孢子四分体,这与侏儒卢旺达睡莲^[7]的大孢子发育模式一致,但 Zhou 等^[9]则认为同科种类萍蓬草[*Nuphar pumila* (Timm) de Candolle]大孢子母细胞减数分裂后形成大孢子三分体。睡莲科植物的雌配子体发育模式可分为 4 细胞 4 核和 7 细胞 8 核 2 类,例如,侏儒卢旺达睡莲和萍蓬草的雌配子体为 4 细胞 4 核^[7,9],莲属(*Nelumbo* Adans.)种类则具有 7 细胞 8 核雌配子体^[13]。Friedman 等^[14]以北美萍蓬草(*Nuphar polysepala* Engelm.)为研究对象,推断睡莲科植物可能均具有 4 细胞 4 核雌配子体,即成熟胚囊由 1 个卵细胞、2 个助细胞和 1 个单核的中央细胞组成。睡莲雌配子体发育过程的观察结果表明:睡莲的成熟胚囊为 4 细胞 4 核结构,印证了 Friedman 等^[14]对睡莲科植物雌配子体发育模式的推论。Friedman 等^[14]认为,具有 7 细胞 8 核的雌配子体是被子植物的进化特征,据此可推断 4 细胞 4 核雌配子体可能是被子植物的祖先特征,从侧面进一步佐证了睡莲属种类是被子植物系统进化树的基部类群^[15]。

睡莲科种类的胚乳发育类型为细胞型胚乳,例如萍蓬草属^[9]和莲属^[16]的一些种类和睡莲属的侏儒卢旺达睡莲^[7]的胚乳均为细胞型胚乳。作者的观察结果表明:睡莲的胚乳为细胞型胚乳,在合点区发育成单细胞单核的管状结构,这一特征与 Floyd 等^[17]对萍蓬草胚乳发育过程的观察结果一致。

3.2 睡莲繁殖器官发育过程中解剖结构的异常变化

绒毡层主要为小孢子的发育提供营养,对小孢子的发育起关键作用^[18];绒毡层的提前解体势必会影响小孢子的发育^[19]。作者的观察结果表明:睡莲小孢子绒毡层细胞的提前解体可能对其小孢子发育产

生不良影响,导致四分体形状不规则,进而形成畸形花粉。睡莲的形态异常花粉比例为 5.0%,花粉结构异常势必会影响花粉的萌发状况,导致其花粉萌发率降低(仅 45.2%)。但睡莲花粉萌发率降低并不是影响其异花自交结实率下降的主要因子,而花粉数量是否满足受精需要则是主要因子。

植物大孢子发生阶段存在一定的败育率,例如羊草 [*Leymus chinensis* (Trin.) Tzvel.] 的大孢子发育阶段的败育率为 5%~15%^[20]。作者的观察结果表明:在睡莲的大孢子和雌配子体发育过程中也存在多种败育现象,其原因可能是功能大孢子的细胞壁胼胝质积累异常^[20],也可能是珠心组织的解体导致大孢子和雌配子体的发育得不到足够的营养供给。异花授粉后睡莲有 4.2%的胚胎在发育过程中败育,其败育机制可能与胚胎和胚乳发生过程中的细胞程序性死亡有关^[21]。

综上所述,睡莲功能大孢子位于合点端,其成熟胚囊为 4 细胞 4 核结构,这些生殖特征不同于大多数被子植物;另外,在大、小孢子,雌、雄配子体和胚胎发育过程中绒毡层细胞的提前解体、胚囊和胚胎的败育可能会降低睡莲异花自交结实率。

参考文献:

- [1] 刘光杨,周 炜,陈 磊,等. 11 个睡莲品种的耐阴性综合评价[J]. 植物资源与环境学报, 2020, 29(1): 44-51.
- [2] 唐毓玮,毛立彦,於艳萍,等. 我国睡莲属植物育种研究进展[J]. 农业研究与应用, 2019, 32(1): 36-41.
- [3] 李淑娟,尉 倩,陈 尘,等. 中国睡莲属植物育种研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(4): 829-835.
- [4] SUN C Q, CHEN F D, TENG N J, et al. Transcriptomic and proteomic analysis reveals mechanisms of low pollen-pistil compatibility during water lily cross breeding [J]. BMC Plant Biology, 2019, 19: 542.
- [5] SUN C Q, HUANG Z Z, WANG Y L, et al. Overcoming pre-fertilization barriers in the wide cross between *Chrysanthemum grandiflorum* (Ramat.) Kitamura and *C. nankingense* (Nakai) Tzvel. by using special pollination techniques[J]. Euphytica, 2011, 178: 195-202.
- [6] 代海芳,周庆源. 埃及白睡莲的胚胎学研究[J]. 西北植物学报, 2010, 30(1): 78-84.
- [7] POVILUS R A, LOSADA J M, FRIEDMAN W E. Floral biology and ovule and seed ontogeny of *Nymphaea thermarum*, a water lily at the brink of extinction with potential as a model system for basal angiosperms[J]. Annals of Botany, 2015, 115: 211-226.
- [8] SUN C Q, MA Z H, SUN G S, et al. Cellular mechanisms of reproductive barriers in some crosses of water lily (*Nymphaea* spp.) cultivars[J]. HortScience, 2015, 50(1): 30-35.
- [9] ZHOU Q, FU D. Reproductive morphology of *Nuphar* (Nymphaeaceae), a member of basal angiosperms [J]. Plant Systematics and Evolution, 2008, 272: 79-96.
- [10] TAYLOR M L, GUTMAN B L, MELROSE N A, et al. Pollen and anther ontogeny in *Cabomba caroliniana* (Cabombaceae, Nymphaeales)[J]. American Journal of Botany, 2008, 95(4): 399-413.
- [11] 常福辰,施国新,丁小余,等. 蕹菜胚胎学的研究(I): 花药的发育[J]. 南京师大学报(自然科学版), 1996, 19(2): 46-49.
- [12] FRIEDMAN W E, GALLUP W N, WILLIAMS J H. Female gametophyte development in *Kadsura*: implications for Schisandraceae, Austrobaileyales, and the early evolution of flowering plants[J]. International Journal of Plant Sciences, 2003, 164(S5): 293-305.
- [13] WILLIAMS J H, FRIEDMAN W E. The four-celled female gametophyte of *Illicium* (Illiciaceae; Austrobaileyales): implications for understanding the origin and early evolution of monocots, eumagnoliids, and eudicots[J]. American Journal of Botany, 2004, 91(3): 332-351.
- [14] FRIEDMAN W E, WILLIAMS J H. Modularity of the angiosperm female gametophyte and its bearing on the early evolution of endosperm in flowering plants [J]. Evolution, 2003, 57(2): 216-230.
- [15] CHEN F, LIU X, YU C W, et al. Water lilies as emerging models for Darwin's abominable mystery [J]. Horticulture Research, 2017, 4: 17051.
- [16] TENG N J, WANG Y L, SUN C Q, et al. Factors influencing fecundity in experimental crosses of water lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) cultivars[J]. BMC Plant Biology, 2012, 12: 82.
- [17] FLOYD S K, FRIEDMAN W E. Developmental evolution of endosperm in basal angiosperms: evidence from *Amborella* (Amborellaceae), *Nuphar* (Nymphaeaceae), and *Illicium* (Illiciaceae)[J]. Plant Systematics and Evolution, 2001, 228: 153-169.
- [18] HUANG Z H, ZHU J M, MU X J, et al. Pollen dispersion, pollen viability and pistil receptivity in *Leymus chinensis* [J]. Annals of Botany, 2004, 93: 295-301.
- [19] MERIC C, DANE F, OLGUN G. Histological aspects of anther wall in male fertile and cytoplasmic male sterile sunflower (*Helianthus annuus* L.) [J]. Helia, 2003, 26(39): 7-17.
- [20] TENG N J, CHEN T, JIN B, et al. Abnormalities in pistil development result in low seed set in *Leymus chinensis* (Poaceae) [J]. Flora, 2006, 201: 658-667.
- [21] ZHANG F J, WANG Z Q, DONG W, et al. Transcriptomic and proteomic analysis reveals mechanisms of embryo abortion during chrysanthemum cross breeding [J]. Scientific Reports, 2014, 4: 6536.

(责任编辑:吴芯夷)

图版说明 Explanation of Plate

图版 I 1-9. 睡莲小孢子和雄配子体发育过程中横切面解剖结构的变化: 1. 横切面; 2. 花粉母细胞期; 3. 减数分裂期; 4. 四分体期; 5. 四分体中释放出来的小孢子; 6. 处于单核靠边期的花粉; 7. 单核花粉期; 8. 双核花粉期; 9. 处于双核花粉期的花粉. 10, 11. 扫描电子显微镜下睡莲花粉形态: 10. 花粉形态; 11. 花粉萌发沟形态. 12-15. 发育异常的雄配子体解剖结构: 12. 减数分裂前期结构异常的花药, 此时绒毡层细胞已开始降解; 13. 花药内不规则的四分体; 14. 即将成熟的花药内形态异常的花粉; 15. 形态异常的花粉.

Plate I 1-9. Changes of transverse anatomical structure during microspore and male gametophyte development processes of *Nymphaea tetragona* Georgi: 1. Transverse section; 2. Pollen mother cell stage; 3. Meiosis stage; 4. Tetrad stage; 5. Microspore released from tetrad; 6. Pollen in the mononuclear sideline stage; 7. Mononuclear pollen stage; 8. Binuclear pollen stage; 9. Pollen in the binuclear pollen stage. 10, 11. Pollen morphology of *N. tetragona* under scanning electron microscope; 10. Pollen morphology; 11. Morphology of pollen germination ditch. 12-15. Anatomical structure of the male gametophyte with abnormal development: 12. Abnormal anther in the early meiotic stage, when tapetum cells begin to degrade; 13. Irregular tetrad in anther; 14. Pollen with abnormal morphology in anthers about to mature; 15. Pollen with abnormal morphology.

图版 II 1-7. 睡莲大孢子和雌配子体发育过程中纵切面解剖结构的变化: 1. 胚珠纵切面; 2. 大孢子母细胞期; 3. 二分体期; 4. 四分体期, 靠近合点区的大孢子为功能大孢子; 5. 单核胚囊期; 6. 二核胚囊期; 7. 成熟胚囊. 8, 9. 发育异常的雌配子体解剖结构: 8. 结构异常的胚珠; 9. 结构异常的雌配子体纵切面. 10-13. 睡莲胚胎和胚乳发育过程中纵切面解剖结构: 10. 人工授粉后 12 h 的胚胎; 11. 人工授粉后 8 d 的球形胚; 12. 人工授粉后 12 d 的胚胎; 13. 人工授粉后 20 d 的胚胎. 14, 15. 发育异常的胚胎纵切面解剖结构: 14. 人工授粉后 5 d 结构异常的胚胎; 15. 人工授粉后 15 d 结构异常的胚胎.

Plate II 1-7. Changes of longitudinal anatomical structure during megaspore and female gametophyte development processes of *N. tetragona*: 1. Ovule longitudinal section; 2. Megaspore mother cell stage; 3. Dyad stage; 4. Tetrad stage, and the megaspore near the chalazal region is functional megaspore; 5. Mononuclear embryo sac stage; 6. Binuclear embryo sac stage; 7. The mature embryo sac. 8, 9. Anatomical structure of the female gametophyte with abnormal development; 8. Structurally abnormal ovule; 9. Longitudinal section of a structurally abnormal female gametophyte. 10-13. Longitudinal anatomical structure during embryo and endosperm development of *N. tetragona*: 10. Embryo at 12 h after artificial pollination; 11. Globular embryo at 8 d after artificial pollination; 12. Embryo at 12 d after artificial pollination; 13. Embryo at 20 d after artificial pollination. 14, 15. Longitudinal anatomical structure of embryo with abnormal development; 14. Embryo with abnormal structure at 5 d after artificial pollination; 15. Embryo with abnormal structure at 15 d after artificial pollination.

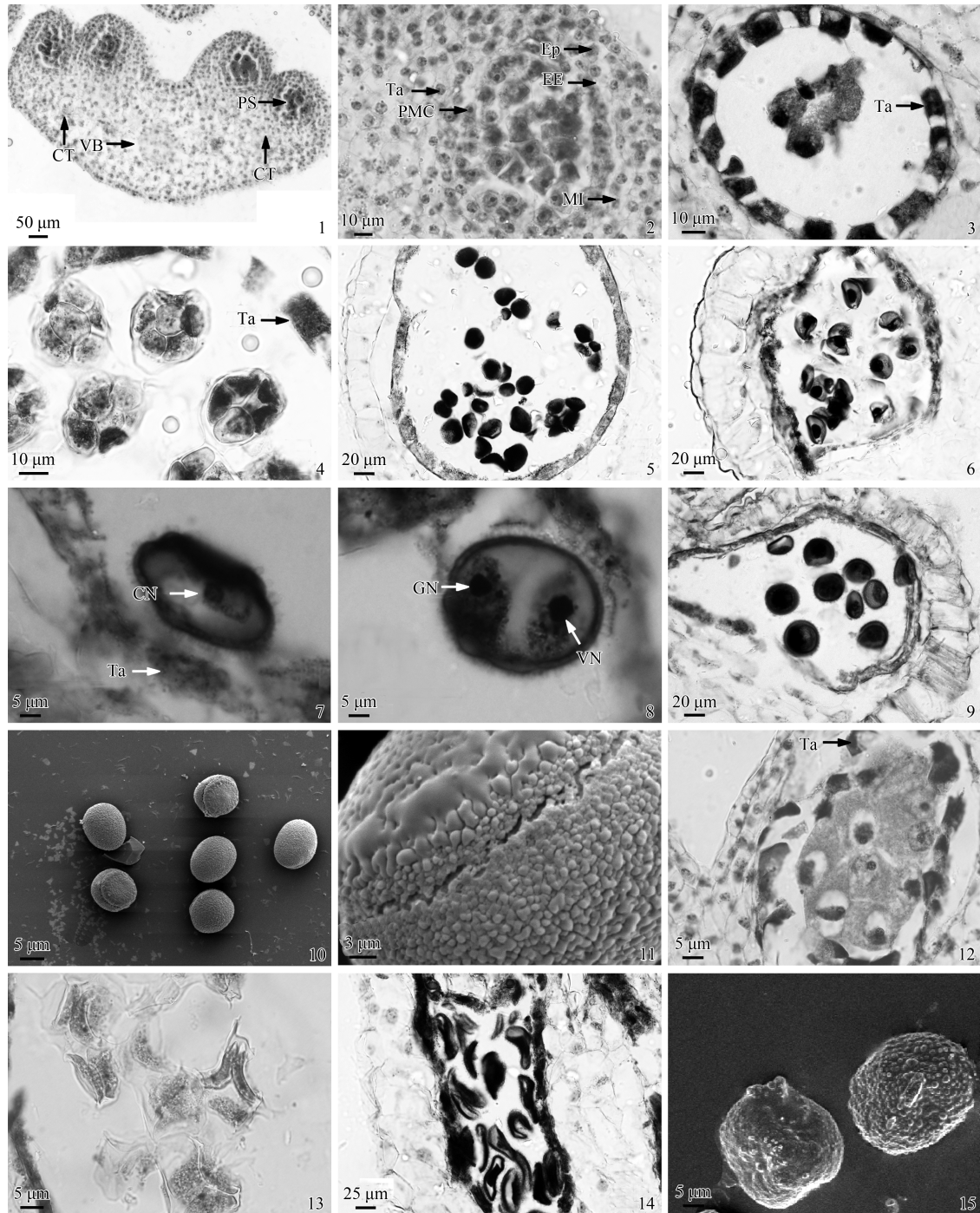
CT: 结缔组织 Connective tissue; VB: 维管束 Vascular bundle; PS: 花粉囊 Pollen sac; Ta: 绒毡层 Tapetum; PMC: 花粉母细胞 Pollen mother cell; Ep: 表皮 Epidermis; EE: 药室内壁 Endotheca endothecium; MI: 中层 Middle layer; CN: 细胞核 Cell nucleus; GN: 生殖核 Generative nucleus; VN: 营养核 Vegetative nucleus; OI: 外珠被 Outer integument; Nu: 珠心 Nucellus; II: 内珠被 Inner integument; MMC: 大孢子母细胞 Megaspore mother cell; FM: 功能大孢子 Functional megaspore; CC: 中央细胞 Central cell; Sy: 助细胞 Synergid; EC: 卵细胞 Egg cell; TS: 管状结构 Tubular structure; En: 胚乳 Endosperm; Em: 胚胎 Embryo; AE: 异常胚胎 Abnormal embryo.

孙春青, 等: 睡莲生殖器官发育过程中解剖结构的变化

图版 I

SUN Chunqing, et al.: Changes of anatomical structure during the development processes of reproductive organs of *Nymphaea tetragona*

Plate I



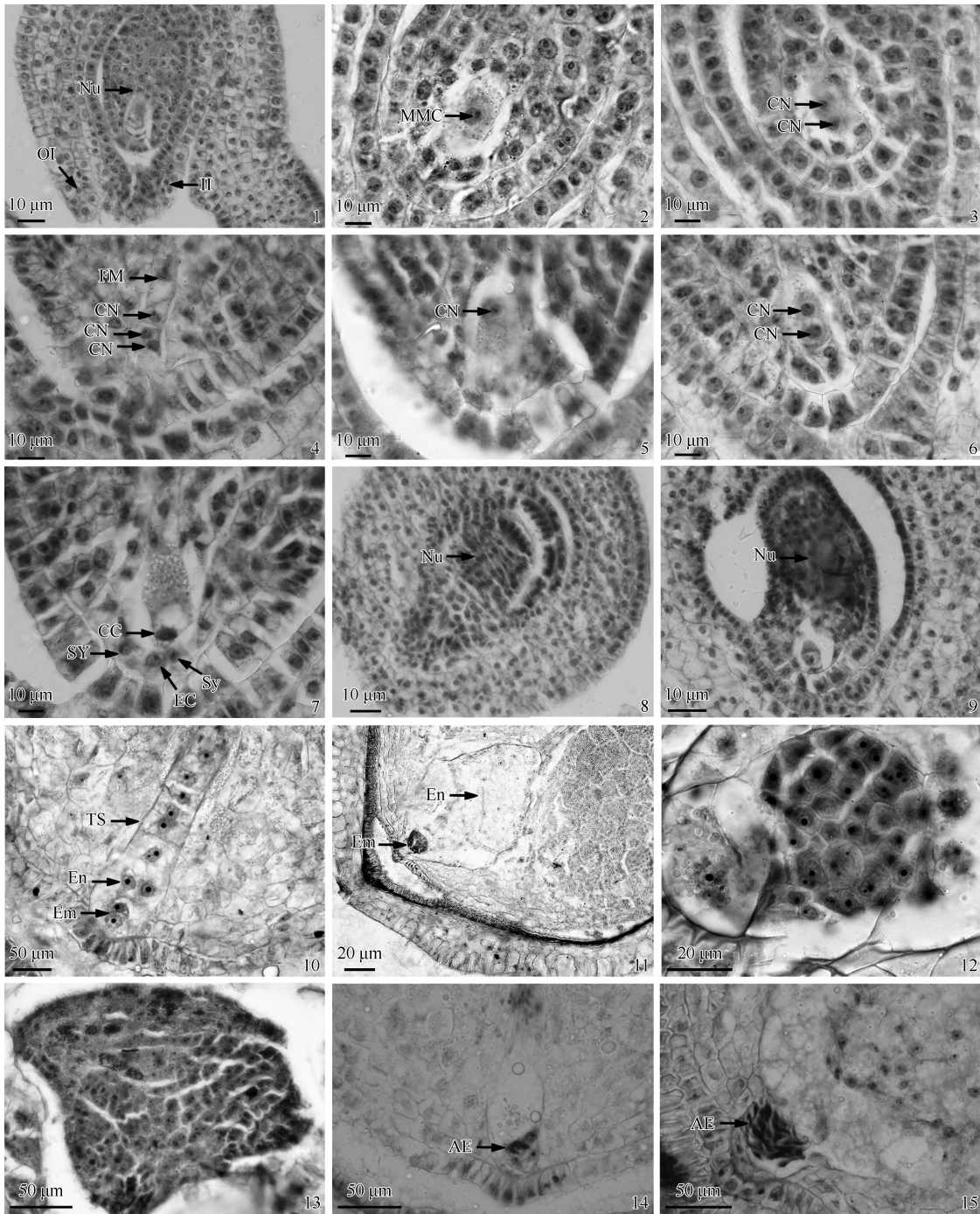
图版说明见文末 See the plate explanation at the end of the text

孙春青, 等: 睡莲生殖器官发育过程中解剖结构的变化

图版 II

SUN Chunqing, et al.: Changes of anatomical structure during the development processes of reproductive organs of *Nymphaea tetragona*

Plate II



图版说明见文末 See the plate explanation at the end of the text