

# 油茶花药发育中多糖和脂滴组织化学研究

魏冬梅<sup>1\*</sup> 高超<sup>2</sup> 袁德义<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>台州学院生命科学学院, 台州 318000; <sup>2</sup>中南林业科技大学经济林育种与栽培国家林业局重点实验室, 长沙 410004)

**摘要** 油茶花药发育中淀粉多糖和脂滴类物质的分布呈现一定的规律: (1)在小孢子母细胞时期, 具有胼胝质壁的小孢子母细胞中有少量脂滴分布在细胞核周围, 花药表皮细胞中有脂滴分布, 其它药壁细胞中则没有脂滴; (2)在小孢子早期, 花药表皮细胞中除了脂滴外, 也出现了淀粉多糖, 其他药壁细胞中没有明显变化; (3)在小孢子晚期, 具有大液泡的小孢子中出现较多的淀粉多糖, 花药绒毡层细胞开始退化; (4)小孢子分裂形成二胞花粉后, 营养细胞中的大液泡消失, 细胞中开始积累脂滴, 花药壁绒毡层细胞已彻底降解, 其细胞质内含物转变为较大的脂滴供二胞花粉吸收; (5)成熟时期的花粉中积累了较多的脂滴和较少的淀粉多糖作为储存物。

**关键词** 油茶; 花药发育; 多糖; 脂滴

## Histochemical Study of Polysaccharides and Lipids on the Developing Anthers of *Camellia oleifera* Abel

Wei Dongmei<sup>1\*</sup>, Gao Chao<sup>2</sup>, Yuan Deyi<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>School of Life Science, Taizhou University, Taizhou 318000, China; <sup>2</sup>The Key Lab of Non-wood Forest Product of Forestry Ministry, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China)

**Abstract** The distribution of polysaccharides and lipids during the anther development of the *Camellia oleifera* Abel displayed some characters: (1) A few lipids were accumulated in microspore mother cells, which had formed a callose wall, and no lipids appeared in other cells of the anther wall; (2) At early microspore stage, some lipids and polysaccharides were displayed in the epidermis cells, and there were no evident changes of nutrition material in other cells of the anther wall; (3) At late microspore stage, some polysaccharides appeared in the microspores, and tapetal cells began to degenerate; (4) After microspore division, with the big vacuole of vegetative cell disappearing, lipids appeared in the pollen, and the tapetal cells of anther wall completely degenerated and its cell content was transformed to some big lipids for pollen absorbing at this time; (5) The mature pollen grains of *Camellia oleifera* accumulated many lipids and a few of polysaccharides in its vegetative cell as stored materials.

**Key words** *Camellia oleifera* Abel; anther development; polysaccharide; lipid

花药是被子植物最复杂的雄性生殖器官, 组成花药壁的四层细胞紧邻, 但它们的形态、结构和功能截然不同。药室中的雄配子体发育很特殊, 小孢

子母细胞完成减数分裂后, 单倍体小孢子经不等分裂形成大小差异明显的营养细胞和生殖细胞, 由生殖细胞在花粉粒中或花粉管中分裂形成两个精细

收稿日期: 2013-05-29 接受日期: 2013-09-05

浙江省自然科学基金(批准号: Y3110395)和国家自然科学基金(批准号: 31170639)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0576-88660338, E-mail: weidongmei@tzc.edu.cn

Received: May 29, 2013 Accepted: September 5, 2013

This work was supported by the Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (Grant No.Y3110395) and the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31170639)

\*Corresponding author. Tel: +86-576-88660338, E-mail: weidongmei@tzc.edu.cn

网络出版时间: 2013-10-22 10:53

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20131022.1053.003.html>

胞。此外,在花药发育过程中,小孢子母细胞的胼胝质壁形成和四分体的胼胝质壁降解、小孢子中大液泡形成与二胞花粉中大液泡消失,绒毡层和中间细胞的中途退化等现象也都是花药发育的特色<sup>[1]</sup>。目前,对花药的这些发育特征的调控机制还不清楚。被子植物花粉发育的一个显著特点是积累大量营养物质,通常是淀粉或脂滴,为以后花粉萌发时利用。花粉中营养物质的积累具有一定的时空特征:一般在小孢子分裂后的二胞花粉中开始大量积累营养物质<sup>[2-5]</sup>。然而,在不同的植物中,花药的结构不同,其积累营养物质的时间和种类有差别,呈现出多样性。对不同植物花药发育中的营养物质运输和转化规律也还不清楚,需要进行更多的探索。

油茶(*Camellia oleifera* Abel), 属山茶科(*Theaceae*) 油茶属(*Camellia*)的树种,与油棕、橄榄油和椰子并称为世界四大木本食用油料植物。茶油的不饱和脂肪酸含量高达90%,远高于菜油、花生油和豆油,其维生素E含量比橄榄油高一倍,并含有山茶甙等生理活性物质,具有很高的营养价值<sup>[6]</sup>。油茶生长在我国南方亚热带地区的高山及丘陵地带,其种子含油30%以上,是我国特有的一种纯天然高级油料。茶油取自成熟种子,与油茶的有性生殖密切相关。然而,有关油茶的有性生殖特征还很少被研究。本文对油茶花药发育中多糖和脂滴类营养物质的分布进行观察,期望揭示该种植物花药发育中营养物质的积累特征。

## 1 材料与amp;方法

分别取不同发育时期的油茶(*Camellia oleifera* Abel)花药,迅速投入到含2.5%戊二醛、50 mmol/L二甲胼酸钠(pH7.0)缓冲液配制的前固定液中,室温固定3 h。用50 mmol/L二甲胼酸钠(pH7.0)缓冲液配制的洗涤液换洗3次,每次0.5 h;再将材料转入到含1%钨酸、50 mmol/L二甲胼酸钠(pH7.0)缓冲液配制的后固定液中,在4 °C下固定过夜。次日,用相同的洗涤液洗涤3次,每次0.5 h。梯度系列丙酮脱水, Epon 812树脂包埋。用Leica Ultracut R型超薄切片机制作1 μm厚的半薄切片。染色步骤参照胡适宜和徐丽云的方法<sup>[7]</sup>,用高碘酸-希夫反应(Periodic Acid-Schiff stain, PAS)标记细胞中的多糖类物质,呈现红色;用苏丹黑B复染细胞中的脂类物质,呈现黑色。用Leica-DMR显微镜观察和拍照。

## 2 结果

### 2.1 小孢子母细胞时期

油茶花药在小孢子母细胞时期就已基本分化出药壁各类细胞,由外向内依次是:表皮、药室内壁、中层及绒毡层。最外层是花药表皮细胞,从位置上很容易区分,在细胞中有些黑色的脂滴分布。最内层的是绒毡层细胞,细胞体积很大,比表皮、药室内壁、中层三层细胞加起来都厚,比较容易区分。此时绒毡层细胞内有一些脂滴。表皮和绒毡层细胞之间是药室内壁细胞和中间细胞,前者与表皮相邻,后者与绒毡层相邻。这两层细胞的形态差别很小,仅可从位置上区分。四层花药壁细胞的细胞壁和绒毡层细胞核被染成红色,显示出其多糖性质。花粉母细胞位于花药药室中,其显著特征是在细胞外有一层较厚的、染成红色的胼胝质壁,表明其多糖性质。在花粉母细胞中,有一些脂滴分布在细胞核周围(图1A)。

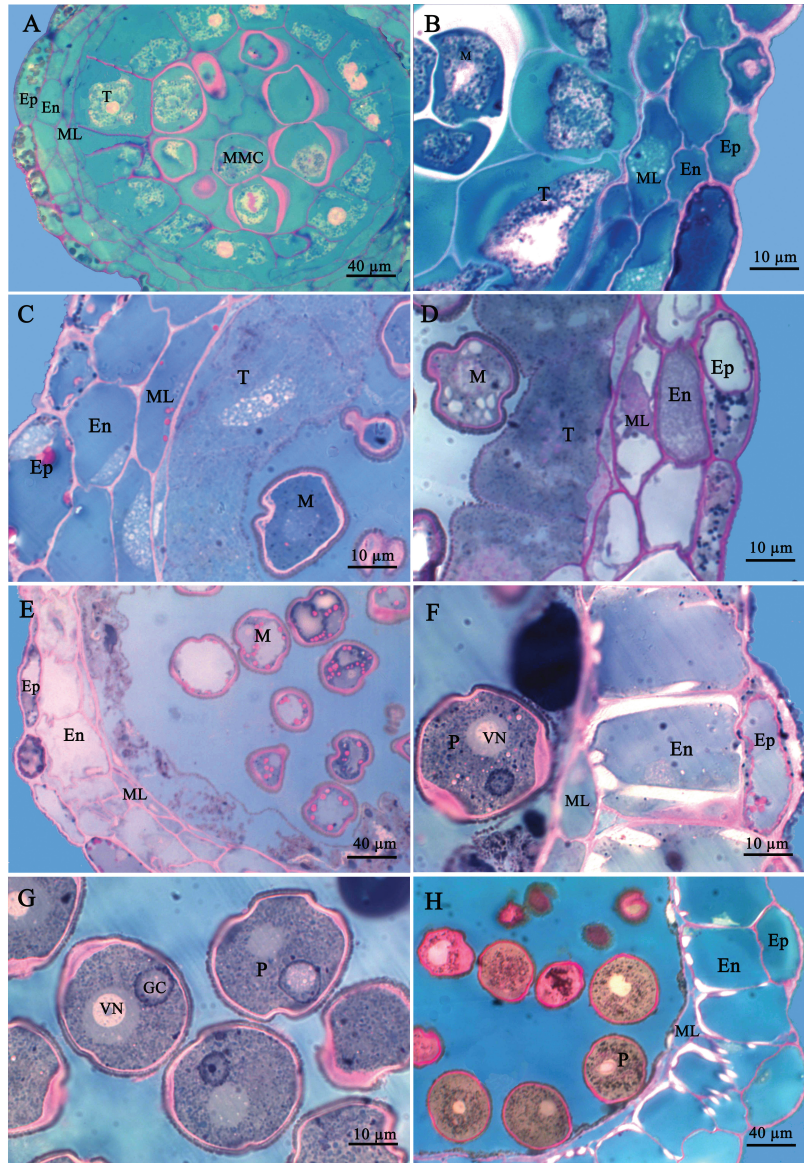
### 2.2 四分体时期

油茶小孢子母细胞的减数分裂过程为同时型,在减数分裂II时形成细胞壁产生四个单倍体小孢子。四分体小孢子的外形不规则,其中有一些脂滴,但没有淀粉多糖。此时,药壁绒毡层细胞开始收缩,体积减小,外形不规则。在其细胞质中仍有脂滴分布。花药壁的表皮,药室内壁和中间细胞呈现高度液泡化,细胞质较少并被大液泡挤到周缘区域。这三层细胞除了细胞壁被染成红色外,既没有脂滴也没有淀粉多糖(图1B)。

### 2.3 小孢子早期

四分体胼胝质壁溶解后,小孢子被释放为游离小孢子。早期的小孢子细胞核位于中央,也被称为花粉的单核中位期。刚释放出的游离小孢子外形不规则,细胞质内有少量脂滴。药壁的组成细胞在形态和结构上没有很大变化:表皮细胞内出现了少量的脂滴。紧邻表皮的药室内壁细胞没有明显变化,依然是高度液泡化。中间细胞中也没有明显变化,但出现了少量的淀粉多糖。药壁最内层的绒毡层细胞体积有所增加,细胞中没有明显液泡,细胞内既无脂滴,也无淀粉多糖(图1C)。

随着小孢子的发育,细胞质中出现了一些小液泡,但细胞核仍位于中央。在药壁细胞中,表皮细胞中的脂滴明显增加;中间细胞的体积减小;绒毡层细胞没有明显变化,细胞质中的脂滴增加。在绒毡层细胞的内切向壁表面有一些颗粒状物质,可能是合



A: 小孢子母细胞(MMC)时期的油茶花药横切, 除小孢子母细胞的胼胝质壁被染成红色外, 在花药表皮细胞(Ep)中有少量的脂滴; B: 小孢子母细胞减数分裂形成四分体, 在小孢子(M)中出现了少量的脂滴。在绒毡层细胞中也出现少量的脂滴; C: 小孢子早期花药中, 中层细胞(ML)中出现少量的脂滴, 在表皮细胞(Ep)中有少量的脂滴和淀粉多糖。单核中位的早期小孢子中脂滴和淀粉多糖都很少; D: 小孢子中出现一些小液泡。表皮细胞中的脂滴增加, 其他药壁细胞没有明显变化; E: 小孢子晚期花药中, 小孢子中形成一个大液泡, 其中出现一些淀粉多糖。药室内壁细胞(En)体积径向增大, 绒毡层细胞(T)退化; F: 二胞花粉(P)中的大液泡消失, 细胞质中除了淀粉多糖外, 也出现了一些脂滴。花药壁的药室内壁细胞径向壁开始加厚。绒毡层细胞已完全退化, 其细胞质内含物转化为较大的脂滴; G: 二胞花粉中, 营养细胞和生殖细胞的核被染为浅红色, 脂滴只分布在细胞质中; H: 接近成熟的花粉中主要储存较多的脂滴和较少的淀粉多糖。花药壁由表皮、药室内壁和中层细胞组成。Ep: 表皮; En: 药室内壁; ML: 中层; T: 绒毡层; MMC: 小孢子母细胞; M: 小孢子; GC: 生殖细胞; VN: 营养核。

A: transverse section of anther of *Camellia oleifera* Abel at the stage of microspore mother cell (MMC) showing callose wall of MMC stained red, and a few lipids in epidermal cell; B: after MMCs meiosis and formed tetrad, a few lipids appeared in microspore (M), and also in tapetal cells (T); C: in anthers during early microspore stage, a few lipids appeared in the cells middle layer (ML) and a few lipids and starches in epidermal cells. Very few lipids and starches were in early microspore; D: some small vacuoles appeared in microspores. The lipids in epidermal cells increased. No change occurred in other anther wall cells; E: in anthers of late microspore, microspore formed a large vacuole. Some starches appeared in microspore (M). The cells of endothecium enlarged to radial direction and tapetal (T) cells degenerated; F: the large vacuole in bicellular pollen dismissed. Some lipids appeared in its cytoplasm besides starches. Radial wall of endothecium cells began to thicken. Tapetal cells degenerated totally and their content transformed to large lipid; G: in bicellular pollen grains, the nucleus of vegetative cell and generative cell were stained red, and many lipids distributed in their cytoplasm; H: more lipids and lesser starches were accumulated in nearly mature pollen. Anther wall consisted of epiderm, endothecium and a middle layer cells. Ep: epidermis; En: endothecium; ML: middle layer; T: tapetum; MMC: microspore mother cell; M: microspore; GC: generative cell; VN: vegetative cell nucleus.

图 1 油茶花药发育中的多糖和脂滴分布特征

Fig.1 Distribution of polysaccharides and lipids in the developing anthers of *Camellia oleifera* Abel

成花粉外壁的乌氏体(图1D)。

#### 2.4 小孢子晚期

随着小孢子的发育, 晚期小孢子中出现一个体积很大的大液泡, 将细胞核和细胞质挤到细胞边缘, 也被称为花粉的单核靠边期。晚期小孢子中大液泡占据其中绝大部分空间, 在大液泡中间穿过的细胞质索中, 出现了较多的淀粉多糖。此时, 药壁组成细胞发生了较大的变化: 最明显的是绒毡层细胞已开始退化, 其细胞结构消失, 内含物降解, 只剩细胞残迹。与绒毡层细胞相邻的中层细胞没有变化。药室内壁细胞的体积显著增大, 成为药壁组织中最大的细胞, 但其细胞依然高度液泡化, 其中没有脂滴和淀粉多糖。表皮细胞中原有脂滴大部分消失(图1E)。

#### 2.5 二胞花粉早期

油茶小孢子有丝分裂后形成一个体积较小的生殖细胞和一个体积较大的营养细胞, 构成二胞花粉。最初形成的生殖细胞呈透镜状贴在花粉内壁。随着二胞花粉的发育, 生殖细胞脱离花粉壁, 移入营养细胞中, 成为细胞中的细胞。生殖细胞表面呈现有较多的脂类物质, 而在细胞质中, 尤其是细胞核中脂类物质很少。在大的营养细胞中, 原来小孢子中的大液泡消失。营养细胞中除了仍有一些淀粉多糖外, 又出现了很多脂滴。此时花粉壁已完全形成, 由黑色的花粉外壁和红色的花粉内壁构成。在萌发孔部位, 花粉内壁显著加厚(图1F和1G)。此时, 花药壁的表皮细胞中又出现了一些淀粉多糖; 其内侧的药室内壁细胞产生了一些特有的径向壁加厚的现象。此时中层细胞还保留, 但绒毡层细胞已完全消失, 在原绒毡层细胞的位置有许多的脂滴甚至是体积很大的脂块(图1F), 可能是由绒毡层细胞降解产物转化而成。

#### 2.6 成熟花粉时期

在开花的前一天, 花粉已基本发育成熟, 外形呈圆形, 内部充满内含物, 包括淀粉多糖和脂滴物质。油茶同一药室中的花粉发育差异较大, 发育成熟的大花粉中主要内含物为脂滴, 但在一些未成熟的小花粉中, 淀粉多糖较多。油茶成熟花药的药壁由三层细胞组成: 最外层为表皮, 中间是径向壁加厚明显的药室内壁以及最内层的中层细胞。在中层细胞面临药室的内表面上有一层黑色的脂滴物质(图1H)。

### 3 讨论

以花粉为“库”的营养物质运输和转化, 是被子

植物花药发育的一个显著特征, 各种植物的成熟花粉中都积累了大量的营养储存物, 供花粉萌发时利用<sup>[1]</sup>。花粉的营养物质代谢规律与其育性直接相关<sup>[8]</sup>。在水稻<sup>[9]</sup>、萝卜<sup>[10]</sup>和白菜<sup>[11]</sup>的雄性不育研究中, 均发现不育花药的营养物质代谢异常。最近, 在对温敏核不育小麦可育和不育花药的细胞化学观察中发现: 在发生减数分裂以后的小孢子时期, 可育花药绒毡层细胞中红色多糖颗粒增加, 小孢子内部开始出现淀粉多糖的积累。说明此时期为温敏核不育小麦营养物质运输的关键时期, 植物体内淀粉多糖经绒毡层细胞转运供花粉吸收利用。然而在不育花药中, 二胞花粉营养细胞中大液泡不消失和淀粉多糖积累受阻, 最后内含物积累停止并被分解, 暗示不育花药中淀粉多糖代谢出现异常导致花粉败育<sup>[12]</sup>。

不同植物中, 花药营养物质转化和分布特征具有多样性。通常植物体向花药转运的营养物质是糖类, 通过药隔和药壁组织转运到药室中被花粉吸收或代谢。中国鹅掌楸<sup>[13]</sup>、芒果<sup>[14]</sup>和小麦<sup>[12]</sup>成熟花粉中的储存物质为淀粉, 体内运输到花药中的糖类物质被花粉直接吸收; 白菜成熟花粉中储存物质为脂类, 但体内运输的最初营养物质形式为多糖, 绒毡层细胞将多糖转化为脂类供花粉吸收<sup>[11]</sup>; 而枸杞营养物质的运输和转化较白菜复杂, 其成熟花粉中积累物为淀粉和脂类, 绒毡层细胞将体内转运来的多糖转化为脂类供花粉吸收, 并且成熟花粉可能具有将脂类转化为多糖的功能<sup>[15]</sup>; 巴戟天成熟花粉中的储存物质为脂类和少量的淀粉多糖, 而花粉最初积累的营养物质为多糖, 暗示花粉具有将多糖转化为脂类的功能<sup>[16]</sup>; 水鬼焦成熟花粉中储存物为脂类<sup>[17]</sup>, 在造孢细胞时期, 造孢细胞中就积累了很多脂滴, 到小孢子早期, 小孢子中脂滴减少, 到二胞花粉早期, 花粉中的脂滴数量又明显增加, 这与大多数植物在二胞花粉时期才开始积累营养储存物显然不同。我们在对油茶花药发育中多糖和脂滴转化和分布观察发现, 油茶花药发育过程中营养物质的积累具有一定的规律: (1)在母细胞和四分体时期, 药室表皮和绒毡层细胞积累了脂滴物质, 同时小孢子母细胞和四分体小孢子中也出现了脂滴, 这两个时期脂滴物质的积累可能与胼胝质壁的形成和降解以及四分体之后的花粉外壁合成有关。(2)在小孢子早期, 药室表皮细胞仍有脂滴物质的积累, 随着小孢子的发育, 绒毡层细胞中的脂滴积累增加, 小孢子中少量脂滴积

累。(3)到小孢子晚期, 绒毡层开始解体, 细胞质形成大的脂滴, 供花粉吸收, 而此时小孢子中围绕大液泡分布大量淀粉多糖物质, 推测与大液泡的形成有关。(4)之后在二胞花粉中又出现大量脂滴的积累, 此时绒毡层细胞完全退化, 其内含物转变为较大的脂块, 暗示花粉吸收了绒毡层的脂类物质。(5)成熟花粉粒中, 除了积累大量脂滴外, 还含有少量的淀粉多糖作为储存物。油茶花药中最先出现的营养物质为脂滴, 但花粉粒中最先出现的营养物质为淀粉粒, 之后又积累脂滴。因此油茶体内营养物质的运输具有一个转化过程: 在四分体时期之前的花药中, 营养物质以脂滴的形式在药壁和花粉之间转运; 在小孢子发育时期, 药室表皮和绒毡层细胞仍然积累脂滴, 而花粉小孢子中出现淀粉多糖的积累, 暗示花粉具有将脂滴转化为淀粉多糖的功能, 这与枸杞<sup>[15]</sup>花粉将脂类转化为多糖发生在二胞花粉时期有所不同, 与巴戟天<sup>[16]</sup>的花粉将多糖转化为脂类的功能也不相同; 二胞花粉的细胞质中开始出现脂滴积累, 表明此时花粉开始积累营养物质; 之后成熟的花粉粒出现脂滴和淀粉多糖的积累。由此可见, 油茶花药发育过程中营养物质的积累与含淀粉花粉(中国鹅掌楸<sup>[13]</sup>、芒果<sup>[14]</sup>和小麦<sup>[12]</sup>)和含脂滴花粉(白菜<sup>[11]</sup>和水鬼蕉<sup>[17]</sup>)完全不同; 即使与含淀粉和脂滴的花粉(枸杞<sup>[15]</sup>和巴戟天<sup>[16]</sup>)相比也有所不同。油茶花药发育过程中淀粉多糖和脂滴物质的转化和分布以及上述其他植物中营养物质的积累特征, 反应了高等植物花粉发育过程中营养物质代谢的多样性。

### 参考文献 (References)

- 胡适宜. 被子植物生殖生物学. 北京: 高等教育出版社(Hu Shiyi. Reproductive biology of angiosperms. Beijing: Higher Education Press) 2005, 29-92.
- Rudramuniyappa CK, Annigeri BG. Histochemical observations on the sporogenous tissue and tapetum in the anther of *Euphorbia*. Cytologia 1985; 50: 39-48.
- Tiwari SC, Gunning ES. An ultrastructural cytochemical and immunofluorescence study of postmeiotic development of plasmodial tapetum in *Tradescantia virginiana* L. and its relevance to the pathway of sporopollenin secretion. Protoplasma 1986; 133: 100-44.
- El-Ghazal G, Jensen WA. Development of wheat (*Triticum aestivum*) pollen. II. Histochemical differentiation of wall and Ubisch bodies during development. Amer J Bot 1987; 74: 1396-418.
- Calzoni GL, Speranza A, Caramiel To R, Piccone G, Zannini P. Wall ultrastructure and biochemical features of the *Juglans regia* L. and *Juglans nigra* L. male gametophyte. Sex Plant Reprod 1990; 3: 139-46.
- 陈永忠, 罗健, 王瑞, 陈隆升, 王湘南. 中国油茶产业发展的现状与前景. 粮食科技与经济(Chen Yongzhong, Luo Jian, Wang Rui, Chen Longsheng, Wang Xiangnan. Status and prospect of *Camellia oleifera* industry in China. Grain Science and Technology and Economy) 2013; 38(1): 10-2.
- 胡适宜, 徐丽云. 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(Hu Shiyi, Xu Liyun. A cytochemical technique for demonstration of lipids, polysaccharides and protein bodies in thick resin sections. Acta Botanica Sinica) 1990; 32(11): 841-6.
- Bhandari NN. The microsporangium. In: Embryology of angiosperms (Johri ed.) 1984; 53-65.
- 朱英国. 水稻雄性不育生物学. 武汉: 武汉大学出版社(Zhu Yingguo. Biology of male sterility in rice. Wuhan: Wuhan University Press) 2000, 153-78.
- 董庆华, 利容千, 王建波. 萝卜雄性不育系花药发育组织化学的初步研究. 武汉植物学研究(Dong Qinghua, Li Rongqian, Wang Jianbo. Histochemical studies on anther development in male sterile radish (*Raphanus sativus* L.). Journal of Wuhan Botanical Research) 1997; 15(1): 10-4.
- 谢潮添, 杨延红, 朱学艺, 田惠桥. 白菜细胞核雄性不育花药的细胞化学观察. 实验生物学报(Xie Chaotian, Yang Yanhong, Zhu Xueyi, Tian Huiqiao. The cytochemical observation of anthers of chinese cabbage's male-sterile. Shi Yan Sheng Wu Xue Bao) 2004; 37: 295-302.
- 李东霄, 李淦, 冯素伟, 茹振钢. 温敏核不育小麦可育和不育花药的细胞化学观察. 作物学报(Li Dongxiao, Li Jin, Feng Suwei, Ru Zhengang. Cytochemical observation of fertile and sterile anthers of thermo-sensitive genic male-sterile wheat. Acta Agronomica Sinica) 2013; 39(5): 1-7.
- 尹增芳, 樊汝汶. 中国鹅掌楸小孢子发生的细胞化学研究. 植物学通报(Yin Zengfang, Fan Ruwen. Cytochemical study on the microsporogenesis of *Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg. Chinese Bulletin of Botany) 1998; 15(3): 34-8.
- 马燕, 邓炜, 田惠桥. 芒果花药发育的细胞化学研究. 广西植物(Ma Yan, Deng Wei, Tian Huiqiao. Cytochemical study on the developing anthers of *Mangifera indica*. Guihaia) 2011; 31(3): 338-41.
- 徐青, 王仙琴, 田惠桥. 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(Xu Qing, Wang Xianqin, Tian Huiqiao. The features of distribution of polysaccharide and lipid in the developing anther of *Lycium barbarum* L. Journal of Molecular Cell Biology) 2006; 39(2): 103-10.
- 郑松, 魏冬梅, 林美珍, 田惠桥. 巴戟天花药发育过程中多糖和脂滴分布特征. 植物生理学通讯(Zheng Song, Wei Dongmei, Lin Meizhen, Tian Huiqiao. Distribution feature of polysaccharides and lipids in the developing anthers of *Morinda officinalis* How. Plant Physiology Communications) 2010; 46(3): 231-5.
- 包晗, 宋玉燕, 马燕, 田惠桥. 水鬼蕉花药发育中的多糖和脂滴组织化学研究. 植物生理学报(Bao Han, Song Yuyan, Ma Yan, Tian Huiqiao. Histochemical observation of polysaccharide and lipid on the developing anthers of *Hymenocallis littoralis* (Jacq.) Rome. Plant Physiology Journal) 2011; 47(6): 565-9.