

植物亲和和受精过程中花粉管的粘附和定向生长

杨杰 于小艳 李玉花*

东北林业大学花卉生物工程研究所, 哈尔滨 150040

Adhesion and Directional Growth of Pollen Tubes in the Compatible Pollination of Plant

YANG Jie, YU Xiao-Yan, LI Yu-Hua*

Research Institute of Flower Biotechnology, Northeast Forestry University, Harbin 150040

提要 亲和和受精过程中, 粘附和向化作用贯穿始终。从花粉自花药中释放到花粉管穿过珠孔过程中, 花粉管在雌蕊中的粘附和定向生长是多位点发生的, 涉及到一系列的信号转导事件的发生; 在雌蕊中糖原、果胶、 Ca^{2+} 等多种物质通过不同的作用机制参与调控花粉管的粘附和定向生长。该文就这方面的研究进展作介绍。

关键词 亲和; 花粉管; 粘附; 定向生长

花粉在柱头萌发和花粉管形成后沿着花柱生长, 一直延伸到子房, 释放精细胞, 实现精卵结合, 这就是亲和和受精过程。多数被子植物表现出自交亲和, 但是到目前为止, 与不亲和和受精机制的研究相比, 亲和和受精机制的研究要少得多。

最早关于亲和和性受精现象的记载始于公元前3世纪, Theophrastus在*Enquiry into Plants*一书中提到雌雄异株的枣椰树(*Phoenix theophrasti*)通过人工授粉可以辅助结实^[1]。1682年, Grew在他的*Anatomy*一书中最早指出, 作为花的雄性器官和花粉提供者, 雄蕊对结实是必不可少的, 但是当时对其机制并不清楚^[1]。1924年, Amici最先观察到花粉管在柱头上的萌发, 之后, 他推测是花粉管携带精子到达卵细胞所在的胚囊^[1]。这种理论在今天是公认的看法, 而当时这一看法却遭到大多数人的反对, 反应最强烈的是生物学家Schleiden。他认为花粉管中携带的精细胞就是种子, 雌性生殖器官只是一个提供营养的场所。这种观点曾得到很多学者的赞同, 特别是当时的动物学家们^[1]。由于对雌性生殖器官研究一直没有太大进展, 这也使亲和和性受精的研究长期停滞不前, 一直延续到17世纪才有所变化, 但这方面的成果仍不令人满意^[2]。

最近10年, 亲和和受精机制的研究取得了喜人的成果, 特别是雌配子体(雌蕊)在受精过程中的作用, 但也仅限于对雌蕊中参与亲和作用的分子

有一定的了解, 以致人们对亲和和受精机制的研究重点集中在雌性生殖器官上^[3]。另外, 花粉管的细胞生物学研究也在进一步深入。在活体状态下, 花粉管在雌蕊中的粘附和定向生长越来越成为人们关注的焦点。本文就这方面的研究进展作介绍。

1 花粉在柱头上的粘附和萌发

1.1 花粉在柱头上的粘附与水合作用 柱头是雌蕊上最早接受花粉粒的部位。花粉在这里粘附, 发生水合作用而萌发; 同时, 柱头也是花粉管开始生长进入雌蕊组织的地方。Zinkl等^[4]认为, 花粉的粘附受柱头类型的影响。干性柱头容易产生受精障碍。在干性的柱头上, 花粉的粘附、水合、萌发及花粉管产生都有很大选择性, 从而限制了亲和和受精作用的发生。湿性柱头上的情况则相反, 由于湿性柱表面有亲水的、富含脂类的基质, 因而容易粘附花粉而发生水合作用。

花粉与柱头之间的粘附作用具有高度的特异性, 其中涉及到花粉与柱头之间的相互识别, 并与花粉壁及柱头表面的糖蛋白有关。

Clarke等^[5]从唐菖蒲(*Gladiolus gandavensis*)花

收稿 2004-02-16 修定 2004-08-02

资助 自然科学基金项目(30371189)。

* 通讯作者(E-mail: lyhshen@mail.hl.cn, Tel:0451-82191795)。

粉和柱头表面分别提取到5%和23%的糖蛋白。他们进一步分析发现,花粉壁含有5种糖蛋白,分子量为10~75 kD,单糖成分有甘露糖、阿拉伯糖和鼠李糖;柱头含7种糖蛋白,分子量为10~120 kD,其中包含阿拉伯半乳糖蛋白。用ConA处理柱头表面时,柱头对花粉蛋白的结合能力即降低,他们认为柱头表面的阿拉伯半乳糖可能是柱头和花粉粘连的分子基础。

张英华等^[6]从萝卜柱头表面浸出液中提取到两种糖蛋白,两者的分子量分别小于15 kD和大于100 kD,其中一种为酸性蛋白,pI值为3.7。气相色谱分析表明,这两种糖蛋白的单糖成分为半乳糖、甘露糖、阿拉伯糖、鼠李糖、岩藻糖及木糖。阿拉伯糖和半乳糖含量较高,而一般认为这两种糖可能与柱头粘附花粉有关。

目前,了解最多的是芸薹属中决定雄性的SI位点,这个位点编码一个小分子量的富含半胱氨酸的蛋白质SCR(S-locus cysteine-rich protein)^[7]。在芸薹属中,包括SLR(S-locus-related glycoprotein)在内的与SI有关的柱头蛋白,都与花粉粒粘附在柱头上有关^[8]。

花粉粒在粘附之后发生水合作用,进而萌发。Mayfield和Preuss^[9]认为,在拟南芥中这个过程是在花粉壁富含脂肪分解酶和油脂蛋白的前提下进行的。花粉壁中的一种油脂蛋白(GRP17-1)的缺失,会削减花粉的水合作用。在拟南芥的*cer6-2*突变体中,花粉壁缺少长链脂肪,水合作用即受到干扰。有证据证明,花粉的水合作用可通过控制水从柱头的流入进行调控^[10]。Dixit等^[11]认为,芸薹属中是由柱头内类似aquaporin的蛋白质作为水通道执行这个功能的。

1.2 花粉在柱头上的萌发 通过多年的研究,最近人们发现柱头上的花粉粒数量影响花粉萌发率,其中起关键作用的是一种称为phytosulphokine- α 的肽^[12]。这个含有5个氨基酸的肽可引起众多花粉中少量花粉萌发,推测这个肽的受体分别是分子量为120和160 kD的两种糖基化膜蛋白。

Elleman和Dickinson^[13]报道乳突细胞表面花粉粘附的地方Ca²⁺浓度上升。Lenartowska等^[14]和Yu等^[15]实验证明,受精过程中,花柱引导组织ECM(extracellular matrice)中的Ca²⁺浓度也会增加。这

些现象说明,在离体条件下,作为二价阳离子源的Ca²⁺,对花粉管的整个生长过程是不可避免的。

在花粉萌发过程中,花粉外壁对柱头的单独作用能够引起乳突细胞发生变化,例如,外层细胞壁松散^[12]。另外,用⁴⁵Ca同位素示踪方法发现柱头上的钙可被花粉吸收^[16]。

2 花粉管在柱头上的定向生长

花粉一旦萌发后,花粉管穿过柱头,延伸进入花柱。在干性柱头类型中,花粉粒对一个柱头乳突细胞的粘附可决定花粉管进入花柱引导组织的位置。湿性柱头上的情况完全不同,由于细胞外基质(ECM)覆盖在柱头表面,因此花粉管在延伸进入花柱之前,需要在柱头的细胞外基质中生长出一段长度。Wolters-Arta等^[17]在烟草柱头脂质的ECM中检测到一个水的梯度,认为这是为花粉管伸长进入柱头提供的一种生理水平方向性的暗示。

花粉管生长进入柱头的过程,还涉及到许多向化性分子。已经证实,在百合的柱头中存在着一种分子量小而耐热的分子,在离体条件下,它对花粉管的生长显示出向化活性。这种分子是一种富含半胱氨酸的肽,称为SCA(stigma/stylar cysteine-rich adhesion)^[17]。在百合柱头中,这种肽非常丰富,并且以两种形态存在:一是与果胶结合形成结合态,二是游离态。SCA这种特殊的存在形式形成了一个分布梯度,引导花粉管进入花柱中^[18]。SCA也同时存在于百合的花柱中。在离体条件下,SCA与来自花柱的一种多糖果胶相结合,可引起花粉管附着在引导组织表皮(transmitting tissue epidermis,TTE)上^[19]。因此认为,在柱头中,这种肽表现为向化性分子的特性,而在花柱中则作为一种向触性(haptotaxis)分子与果胶联合起作用。SCA是否也在胚中并是否具有将花粉管导向胚珠的作用,现在仍在探索中。

就具有实心柱头和花柱的植物来说,在促使花粉管通向花柱引导组织入口的过程中,涉及到许多种酶的作用。现在有几种酶已经在某些植物的花粉中发现,例如,多聚半乳糖酶^[20]、果胶酯酶^[21]、糖醛酶^[22]。花粉横穿雌蕊时,所有上述的酶可起改变柱头和花柱ECM的作用,但同时

可能也会作用于花粉壁。结构研究的数据显示,当花粉管ECM与雌蕊ECM在雌蕊结合^[23],这两个实体可能重新构建形成另外一个同时具有二者内含物的实体,而这样的变化与某些酶的作用相关。

在禾本科植物中,存在于花粉壁上的Group I过敏源也有相似的作用,其在结构上与能够引起植物某些部位细胞壁松散的苹果青霉相似^[24]。近年来的研究发现,这些来自于禾本科植物的蛋白显示出半胱氨酸蛋白酶的功能,这种功能中可能包括改变禾本科干性实心柱头基质的改变这一作用^[25]。

另外,虽然人们对与柱头中花粉管生长相关物质的了解不断深入,但关于柱头内与受精过程中调控自体花粉亲和的特定基因还是知之甚少。有人已经检测到,在芸薹(*Brassica napus*)中有一种PIS63基因在柱头花粉粘附的乳突细胞中特异表达^[26]。这个基因转录水平减弱时,会导致种子结实减少^[27]。在转基因的植株中发现,虽然受精过程中仍会发生花粉粘附在柱头乳突细胞的现象,但随后的事件即被打破,导致座籽率下降,而打乱这种正常秩序的途径仍不清楚。最近,关于分离柱头特殊基因的研究均采用一种乳突细胞基因切除的分离方法^[28],在一种柱头乳突细胞的特殊细胞探针控制下,采用特定的细胞毒素可以在mRNA水平比较野生型柱头与做过切除处理的柱头之间的差异。采用这种方法已分离出几种柱头上的特定基因,包括一种PIS63基因的同系物和PME(pectin methylesterase),都与柱头中花粉管生长相关。其中,PME是一种细胞壁变性酶(a known cell wall modifying enzyme)^[29],它在花粉管伸长过程中能使乳突细胞的细胞壁变得松散。

3 花柱和胚囊中的粘附和定向

开花植物的受精过程存在着各种机制,不论是自交不亲和或亲和,试图建立一个统一的授粉过程机制模式一直未成功。有研究表明,植物通过许多方式排斥自身的花粉,但也有可能以多种方式接受亲和的花粉并引导精细胞进入胚囊。直至现在为止,还没有建立一个完全明了的亲和机制理论系统,但有几个系统的某些方面显示花粉管的导向是发生在雌蕊中的,其中一些机制涉

及到蛋白和糖原。在活体条件下,调控花粉管定向生长这在技术上是困难的,这也是目前研究这一问题一个主要障碍。目前所得到的一些实验数据通常都是来自离体研究,有时还有基因水平的研究。

3.1 花粉管在花柱中的粘附 花粉管细胞生物学中的粘附现象一直是研究的重点。早期比较活体和离体条件下生长的百合花粉管的结果显示,活体花粉管中的F-肌动蛋白从构型看是集成的粘附^[29],但是最近采用百合粘附的分析方法并没有发现同样显著的F-肌动蛋白的构型^[12]。与花柱ECM发生粘附作用的花粉管细胞的细胞骨架所发生的变化需要在活体状态下进行研究,这种研究最好采用活体状态的花粉管。

由于技术上存在困难,有关花粉管活体状态生长的细胞生物学信息很少。现有的结构研究显示,花粉管细胞在离体和活体状态下的生长存在很大差异^[30]。活体状态下花粉管一般都会附于引导组织细胞上,并由引导组织导向胚珠^[31]。在百合花柱中已经成功分离出引起花粉管和TTE之间黏附的分子^[17,19]。这些分子包括一种果胶多聚糖和一种肽类CA(柱头/花柱中的富含半胱氨酸的粘附分子)。在一定的pH条件下,这两种分子连接在一起,并与TTE细胞表面相结合,花粉管细胞和TTE细胞表面即发生黏附作用^[19]。由于这两种分子出现在柱头通向胚囊通道的TTE的表面,所以推测它们可能作为引发粘附的一种线索,并像神经元一样引导花粉管向胚囊的方向生长。

百合中最早一批进入花柱的花粉管粘附在TTE细胞上,形成花粉管层。这些TTE细胞含有SCA和果胶。在以后的受精过程中,随后进入的花粉管粘附在已经进入的花粉管层上,所以即使花粉管不直接粘附在TTE细胞上,花柱中也会发生这种粘附。在花柱中的第一批花粉管可能是引起受精过程的原因,也可能是作为“先锋轴突”(pioneer axons)为随后的花粉管细胞指示道路,这可以称为“引导效应”(mentor effect),就像发生在柱头上的一样。值得关注的是,这些先行的花粉管以及随后的花粉管的命运都是怎样的呢?一般是柱头上通常有大量的花粉萌发,其数量远远超过受精的需要,花粉选择的过程就在花

柱中进行^[2]。其中机制尚不清楚, 不过有报道称, 在一些果树的柱头上发现与选择有关系的标志性物质(guidepost)^[32]。

另外, 值得一提的是, 小分子量的富含半胱氨酸的蛋白作为细胞表面的磷酸二酯键连接反应的受体, 经常出现在许多识别事件中。在罂粟中, 雌配子体的SI因子是一种小分子量的富含半胱氨酸的蛋白SCA^[33], 它相当于芸苔属植物花粉鞘上的SI因子SCR。SCA和SCR在序列上没有相似性, 但是二者都是与生殖程序有关的基本的富含半胱氨酸的肽, 前者来自于雌蕊ECM, 后者来自于花粉ECM。两者都与防御蛋白有关(SCA与LTP相似, SCR与defensin相似, LTP和defensin是两种具有抗菌作用的肽)。在动物界, 富含半胱氨酸的肽是用来筛选化能自养分子的, 其中有一些有粘附和抗菌的作用^[34, 35]。其中, 爪蟾(*Xenopus*)降压肽是一种与精子化能营养相关的肽, 它也与精细胞粘附有关。这种富含半胱氨酸的肽属于CPISP蛋白家族, 这个蛋白家族包含一个植物中的成员——PR-1。由此可以看出, 生殖与致病信号转导相关蛋白之间的联系是可以跨门(phylum)进行的。

3.2 花粉管在花柱和胚囊中的生长 花粉管沿花柱伸长的过程, 实质上是花粉管与花柱通道(transmitting tract)内大分子物质间不断发生相互作用的过程。其中也有糖蛋白的参与。Lind等^[36]通过免疫定位研究从烟草中发现一种花柱特异的120 kD的糖蛋白, 这种糖蛋白具有阿拉伯半乳糖(arabinogalactan)蛋白和伸展素(extensin)特性, 均一分布于未受精花柱通道的胞外基质中; 而在受精的花柱中, 它集中地分布于临近花粉管的胞外基质区域, 也出现在花粉管的细胞壁和细胞之中。另外, Cheung等^[37]从烟草花柱的引导组织中分离纯化到一种糖蛋白TTS(transmitting tract specific glycoprotein)。TTS属于阿拉伯半乳糖家族, 呈头尾相连的寡聚糖形式。在离体条件下, 它具有刺激花粉生长的作用; 在半活体(semi-*in vivo*)条件下有吸引花粉管定向伸长的作用。用反义抑制(antisense suppression)或共抑制(sense cosuppression)方法使TTS蛋白质水平降低后, 活体内的花粉管生长速率也降低。进一步的

研究证实, TTS粘附于花粉管的表面及尖端。在花柱引导组织内, TTS的糖基化水平沿柱头到胚囊方向呈梯度增加, 并与花粉管伸长方向一致^[38]。

在花粉管沿花柱向下延伸的过程中, 花粉管将花柱细胞并入它的管细胞, 从这种现象中可以看出: 花柱ECM是这些迅速生长细胞的营养源。这种生长迅速的细胞产生一种延伸的壁将精细胞运输到达胚囊。另外有研究表明花柱最大的分子可并入到花粉管中^[39]。有证据证明, 花粉管顶端分泌许多酶改变这些细胞的生长而进入到ECM。O'Driscoll等^[40]推测它们正在合并ECM细胞而可一起生长。

作为一种细胞运动, 花粉管的生长速度和方向性自然而然地成为人们普遍关注的焦点。在离体条件下, 花粉管生长的最初阶段其, 生长速率是可以检测到的^[41], 但是在花柱引导组织中生长的花粉管, 其速度和长度都比不上离体条件下。在花柱中, 花粉管的生长速率可以达到 $4.5 \mu\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$ (百合)^[29]。已经很明确的一点是, 当数以百计的花粉管在柱头上开始萌发的时候, 仅有一部分可以使胚珠受精, 花粉管的生长速度在这里是十分关键的。从而引起人们对与细胞运动密切相关的细胞肌动蛋白开展了研究。

采用绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)标记老鼠踝蛋白与肌动蛋白结合的区域, Yang的实验室已经发现花粉管顶端也存在一种动态的F-肌动蛋白的形式^[42]。据报道, 在花粉管顶端生长中, 这种动态肌动蛋白有促使原生质膜向前移动的力量^[43]。这些短的F-肌动蛋白束受Rho-GTPase(Rop)调控^[44]。这类在序列上高度保守的Rho家族的GTP酶, 可作为调控肌动蛋白结构与与肌动蛋白相关的细胞间应答反应的转换反应分子^[45, 46], 它对花粉管顶端的极性生长是必不可少的。另外, 在花粉管细胞顶端质膜中还发现一种与Rop相似的Rac-GTPase。它能够抑制花粉管的延伸, 促使花粉管细胞去极化生长, 在花粉管定向生长中起重要作用^[47]。其他存在于动物细胞中的具有调控细胞运动功能的物质, 如APP2/3复合物^[48], 在植物体中也存在^[49]。这显示花粉管顶端生长与运动的细胞系统之间存在着较好的平衡。另外, 有证据证明, 花粉管生长中的细胞运动与

微管也密切相关^[50]。

花粉管如何定向生长的问题已经争论多年,直到最近意见才趋于一致,认为雌蕊中有几种内含物在花粉粘附和刺激花粉管生长、定向以及信号转导中起重要作用。花柱中发现一类调节花粉管生长的独特分子,是阿拉伯半乳糖蛋白(AGP)家族。正如在番茄引导组织中发现的糖原调控花粉管生长一样,不仅仅是一些AGP在调控,还有证据证明,花粉管的生长是朝着这些AGP的存在位置进行的^[51]。

Hepler等^[52]的实验证明,三酰基甘油酯在花粉管的定向延伸中起作用。还有人推测,脂类通过调节柱头和花柱中流向花粉的水,形成一个水的梯度,从而控制花粉管的定向生长。还有实验证实,在除去花柱中钙和某些糖原以后,花粉管的定向生长并不受影响,所以可以认为,虽然钙和一些糖原对花粉管生长十分重要的,但对于花粉管的定向生长并不一定是必需的^[45]。这些争议推翻了许多已经被人们所接受的关于花粉管定向生长的假说。有人认为这个脂类系统与其他信号物质一起在受精过程中对花粉管定向起作用。这个想法是否合理仍在探讨中。

Ca²⁺调节花粉管生长的机制是很复杂的,目前尚未弄清楚。除了已知在很多植物中发现花粉管轨道(柱头表面、花柱引导组织、子房壁内表面、珠孔)中比相邻组织均有更为丰富的钙以外,还有一些证据证明,受精过程本身也分泌Ca²⁺,分泌的Ca²⁺进入引导组织后进入花粉管^[14,53]。Ca²⁺是否能决定花粉管在花柱中定向生长,也一直存在着争议。除了上述认为Ca²⁺不是花粉管定向生长必需物质的观点以外,还有很多人认为Ca²⁺是花柱基质中引导花粉管定向生长的重要因子。由于Ca²⁺对花粉管生长调控作用机制的复杂性,到目前为止,不论是离体受精还是活体定位研究,所获得的信息都不足以证明以上的任何一种观点。最近,有人在金鱼草属植物花柱上部到胚珠与胎座之间成功地检测到Ca²⁺浓度梯度^[54]的存在,这似乎支持了钙作为向化因子的推测。但是这种梯度在其他植物的研究中得到证实。目前公认的看法是:Ca²⁺与花粉管中的肌动蛋白微丝密切相关^[38]。值得一提的是,在茄科植物的花柱中发现

基质中果胶和钙是共同作用的,能够影响花粉管的定向生长^[55]。

在亲和受精过程中,花粉管一旦到达胚囊后即被胎座组织导向胚珠,最后的向化事件就这样神奇地发生在珠孔和胚囊的入口。这一系列的向化事件,是从检测雌配子体的几个基因中得到的^[56~58]。至于在雌配子体内部这个过程究竟是如何被引导发生的,Higashiyama和他的同事通过他们所建立的离体受精系统,证明助细胞本身就是向化物质的主要分泌源^[59,60]。在它穿过柱头和花柱之后,才能够感知到胚囊中的这种信号,这样的理论支持了一种认为在雌蕊中存在一系列的“路标”的假说,当花粉管向胚囊延伸时,这些“路标”能够指导花粉管生长。也有证据证明,花粉管细胞从柱头向胚囊延伸生长的过程中,其进一步发育需能与珠孔处的最后导向事件相应答。现在有多个实验室正致力于花粉管原生质膜上的激酶受体和寻找雌蕊花柱ECM的连接反应的探索。

4 结语

在近些年,人们通过研究活体状态下受精过程,试图建立一个花粉管生长的信号转导理论系统。自交不亲和研究中已取得的成果证明这种方法有助于揭示植物生殖过程中特有的细胞信号传导事件的复杂性。但由于技术上的困难,迄今对活体条件下整个受精过程中花粉管与雌蕊之间相互作用的有关信息仍然了解不多。所以,如何改进现有的实验技术,开发更易于在活体条件下操作的研究方法,将成为今后研究方向之一。另外,近几年来,随着分子生物学技术在这个领域中的应用^[61],人们开始从基因水平上探讨花粉管在雌蕊中发生粘附和定向生长中的调控机制,不过得到的大部分信息主要是与精细胞相关的,对于雌蕊中的作用机制所知甚少。

花粉在柱头萌发、花粉管在花柱中粘附及定向生长到达胚囊,这个过程中涉及到许多识别反应。这其中某些相关的膜蛋白和酶类起着重要作用。这些由生殖信息诱导的酶类(多聚半乳糖酶^[20]、果胶酯酶^[21]、糖醛酶^[22]等)和膜蛋白(SBP^[62]等)表达量是受生殖信息调控的。在亲和性受精过程中,这些与生殖生长密切相关的酶和膜蛋白类正

常表达, 调控花粉管的粘附和定向生长; 而在不亲和性受精过程中, 这些与生殖生长密切相关的酶和膜蛋白类表达受到抑制或影响。因此, 在某些不亲和受精过程中花粉管出现扭曲、打结、分支等无规则生长^[63], 进而导致花粉管在雌蕊的不同位置停止生长, 最终受精中止失败。如果对不亲和的杂交组合, 能主动干扰生殖信号的识别和传递, 而且这种干扰处理能替代亲和交配的生殖信息, 诱导次生信息物质的合成及传递, 则可使交配几率提高或交配不亲和性部分得到克服。我们的实验和未发表的资料表明, 以激光和高压静电场处理花粉, 草莓的种间杂交亲和率^[64]以及十字花科的种间杂交亲和率及自交亲和率(未发表)可以得到提高。相信今后, 人们对其生殖信息的识别与转导有更多新发现。

参考文献

- Lord EM. Adhesion and guidance in compatible pollination. *J Exp Bot*, 2003, 54:47~54
- Horowitz MC. Aristotle and woman. *J Hist Biol*, 1976, 9: 183~213
- Malti, Shivanna KR. The role of the pistil in screening compatible pollen. *Theor Appl Genet*, 1985, 70: 684~686
- Zinkl GM, Zweibel BI, Grier DG et al. Pollen-stigma adhesion in *Arabidopsis*: a species-specific interaction mediated by hydrophobic molecules in the pollen exine. *Development*, 2000, 126:5431~5440
- Clarke AE, Gleeson P, Harrison S et al. Pollen-stigma interaction: identification and characterization of surface components with recognition potential. *Proc Acad Sci USA*, 1979, 76:3358~3362
- 张英华, 杨中汉, 曹宗巽. 萝卜柱头表膜糖蛋白的研究. *植物学报*, 1997, 25:44~59
- Kachroo A, Schopfer CR, Nasrallah ME et al. Allele-specific receptor-ligand interactions in *Brassica* self-incompatibility. *Science*, 2001, 293: 1924~1826
- Doughty J, Wong HY, Dickinson HG. Cysteine-rich pollen coat proteins (PCPs) and their interactions with stigmatic *S* (incompatibility) and *S*-related proteins in *Brassica*: putative roles in SI and pollination. *Ann Bot*, 2000, 85:161~169
- Mayfield JA, Preuss D. Rapid initiation of *Arabidopsis* pollination requires the oleosin-domain protein GRP17. *Nat Cell Biol*, 2000, 2:128~130
- Fiebig A, Mayfield JA, Miley NL et al. Alterations in *CER6*, a gene identical to *CUT1*, differentially affect long-chain lipid content on the surface of pollen and stems. *Plant Cell*, 2000, 12:2001~2008
- Dixit R, Rizzo C, Nasrallah M et al. The *Brassica MIP-MOD* gene encodes a functional water channel that is expressed in the stigma epidermis. *Plant Mol Biol*, 2001, 125:2040~2052
- Chen Y-F, Matsubayashi Y, Sakagami Y. Peptide growth factor phyto-sulfokine- α contributes to the pollen population effect. *Planta*, 2000, 211:752~755
- Elleman CJ, Dickinson HG. Commonalities between pollen/stigma and host/pathogen interactions: calcium accumulation during stigmatic penetration by *Brassica oleracea* pollen tubes. *Sex Plant Reprod*, 1999, 12:194~202
- Lenartowska M, Bednarska E, Butowt R. Ca^{2+} in the pistil of *Petunia hybrida* Hort. during growth of the pollen tube-cytochemical and radiographic studies. *Acta Biol Craov Bot*, 1997, 39:79~89
- Yu F-L, Zhao J, Liang S-P et al. Ultracytochemical localization of calcium in the gynoecium and embryo sac of rice. *Acta Bot Sin*, 1999, 41:125~129
- Badnaska E. Calcium uptake from the stigma by germinating pollen in *Primula officinalis* L. and *Ruscus acculeafus* L. *Sex Plant Reprod*, 1991, 4:36~38
- Wolters-Arta M, Lush WM, Mackie W et al. Lipids are required for directional pollen tube growth. *Nature*, 1998, 392: 818~821
- Park S-Y, Jauh G-Y, Mollet J-C et al. A lipid transfer-like protein is necessary for lily pollen tube adhesion to an *in vitro* stylar matrix. *Plant Cell*, 2000, 12:151~164
- Mollet JC, Park SY, Nothnagel EA et al. A lily stylar pectin is necessary for pollen tube adhesion to an *in vitro* stylar matrix. *Plant Cell*, 2000, 12:1737~1750
- Dearnaley JDW, Daggard GA. Expression of a polygalacturonase enzyme in germinating pollen of *Brassica napus*. *Sex Reprod*, 2001, 13:265~271
- Mu JH, Stains JP, Kao TH. Characterization of a pollen-expressed gene encoding a putative pectin esterase of *Petunia inflata*. *Plant Mol Biol*, 1994, 25:539~544
- Kotake T, Li Y-Q, Takahashi M et al. Characterization and function of wall-bound exo- β -glucanases of *Lilium longiflorum* pollen tubes. *Sex Plant Reprod*, 2000, 13:1~9
- Lennon KA, Lord EM. *In vivo* pollen tube cell of *Arabidopsis thaliana* L. Tube cell cytoplasm and wall. *Protoplasma*, 2000, 214:45~56
- Cosgrove DJ, Bedinger P, Durachko DM. Group I allergens of grass pollen as cell wall-loosening agents. *Proc Acad Sci USA*, 1997, 94:6559~6564
- Grobe K, Becker W-M, Schlaak M et al. Grass group I allergens (β -expansins) are novel, papain-related proteinases. *Eur J Biochem*, 1999, 263:33~40
- Robert LS, Levesque-Lemay M, Gerster JL et al. Analyses in transgenic tobacco of the promoter from a *Brassica napus* gene highly expressed in the stigma. *Plant Cell Report*, 1999, 18:357~362
- Kang Y, Nasrallah JB. Use of genetically ablated stigmas for the isolation of genes expressed specifically in the stigma epidermis. *Sex Plant Reprod*, 2001, 14:85~94
- Micheli F. Pectin methylesterase: cell wall enzymes with important roles in plant physiology. *Trends Plant Sci*, 2001, 6:414~419

- 29 Jauh GY, Lord EM. Movement of the tube cell in the lily style in the absence of the pollen grain and the spent pollen tube. *Sex Plant Reprod*, 1995, 8 : 168~172
- 30 Roy S, Eckard KJ, Lancelle S et al. High-pressure freezing improves the ultrastructural preservation of *in vivo* grown lily pollen tubes. *Protoplasma*, 1997, 200:87~98
- 31 Lord E. Adhesion and cell movement during pollination: cherchez la femme. *Trends Plant Sci*, 2000, 5:368~373
- 32 Herrero M. Ovary signals for directional pollen tube growth. *Sex Plant Reprod*, 2001, 14:3~7
- 33 Franklin-Tong VE. The difficult question of sex: the mating game. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5:14~18
- 34 Li P, Chan HC, He B et al. An antimicrobial peptide gene found in the male reproductive system of rats. *Science*, 2001, 291:1783~1785
- 35 Olson JH, Xiang X, Ziegert T et al. Allurin, a 21 kDa sperm chemoattractant from *Xenopus* egg jelly, is related to mammalian sperm-binding proteins. *Proc Acad Sci USA*, 2001, 98: 11205~11210
- 36 Lind JL, Bonig I, Clarke AE et al. A style-specific 120 kDa glycoprotein enters pollen tubes of *Nicotiana glauca* *in vivo*. *Sex Plant Reprod*, 1996, 9:75~86
- 37 Cheung AY, Wang H, Wu H. A floral transmitting tissue-specific glycoprotein attracts pollen tubes and stimulates their growth. *Cell*, 1995, 82:383~393
- 38 胡适宜, 杨弘远主编. 被子植物受精生物学. 北京: 科学出版社, 2002. 161~164, 120~121
- 39 Bosch M, Sommer-Knudsen J, Derksen J et al. Class III pistil-specific extensin-like proteins from tobacco have characteristics of arabinogalactan proteins. *Plant Physiol*, 2001, 125:2180~2188
- 40 O'Driscoll D, Hann C, Read SM et al. Endocytotic uptake of fluorescent dextrans by pollen tubes grown *in vitro*. *Protoplasma*, 1993, 175:126~130
- 41 Messerli MA, Creton R, Jaffe LF et al. Periodic increase in elongation rate precede increases in cytosolic Ca^{2+} during pollen tube growth. *Dev Biol*, 2000, 222:84~98
- 42 Fu Y, Wu G, Yang Z. Rop GTPase-dependent dynamics of tip-localized F-actin controls tip growth in pollen tubes. *J Cell Biol*, 2001, 152:1019~1032
- 43 Pantaloni D, Le Clainche C, Carlier M-F. Mechanism of actin-based motility. *Science*, 2001, 292:1502~1506
- 44 Zheng Z-L, Yang Z. The Rop GTPase switch turns on polar growth in pollen. *Trends Plant Sci*, 2000, 5:298~303
- 45 Franklin-Tong VE. Signaling in pollination. *Curr Opin Plant Biol*, 1999, 2: 490~495
- 46 Chen CY-H, Cheung AY, Wu H-M. Actin-depolymerizing factor mediate Rac/Rop GTPase-regulated pollen tube growth. *Plant Cell*, 2003, 15:237~249
- 47 Kost B, Lemichez E, Spielhofer P et al. Rac homologues and compartmentalized phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate act in a common pathway to regulate polar pollen tube growth. *J Biol*, 1999, 145:317~330
- 48 Higgs HN, Pollard TD. Regulation of actin filament network formation through ARP2/3 complex: activation by a diverse array of proteins. *Ann Rev Biochem*, 2001, 70:649~676
- 49 Klahre U, Chua N-H. The *Arabidopsis* ACTIN-RELATED PROTEIN 2 (AtARP2) promoter directs expression in xylem precursor cells and pollen. *Plant Mol Biol*, 1999, 41: 65~73
- 50 Romagnoli S, Cai G, Cresti M. *In vitro* assays demonstrate that pollen tube organelles use kinesin-related motor proteins to move along microtubules. *Plant Cell*, 2003, 15: 251~269
- 51 Wu H, Wang H, Cheung AY. A floral transmitting tissue specific glycoprotein attracts pollen tubes and stimulates their growth. *Cell*, 1995, 82:383~393
- 52 Hepler PK, Vidali L, Cheung AY. Polarized cell growth in higher plants. *Ann Rev Cell Dev Biol*, 2001, 17: 159~187
- 53 Yang HY. Apoplastic system of the gynoecium and embryo sac in relation to function. *Acta Bio Crakov Bot*, 2001, 43: 7~14
- 54 Mascarenhas JP, Leonard M. Chemotropic response of *Antirrhinum majus* pollen to calcium. *Nature*, 1962, 196: 292~293
- 55 Lenartowska M, Rodriguez-Garcia MI, Bednarska E. Immunocytochemical localization of esterified and unesterified pectins in unpollinated and pollinated styles of *Petunia hybrida* Hort. *Planta*, 2001, 213:182~19
- 56 Hulskamp M, Schneita K, Pruitt RE. Genetic evidence for a long-range activity that directs pollen tube guidance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1995, 7:57~64
- 57 Ray SM, Park SS, Ray A. Pollen tube guidance by the female gametophyte. *Development*, 1997, 124:2489~2498
- 58 Shimizu KK, Okada K. Attractive and repulsive interactions between female and male gametophytes in *Arabidopsis* pollen tube guidance. *Plant Physiol*, 2000, 127: 4511~4518
- 59 Higashiyama T, Kuroiwa H, Kawano S et al. Guidance *in vitro* of the pollen tube to the naked embryo sac of *Torenia foenifolia*. *Plant Cell*, 1998, 10:2019~2032
- 60 Higashiyama T, Yabe S, Sasaki N et al. Pollen tube attraction by the synergid cell. *Science*, 2001, 293:1480~1483
- 61 Becker JD, Boavida LC, Carneiro J et al. Transcriptional profiling of *Arabidopsis* tissues reveals the unique characteristics of the pollen transcriptome. *Plant Physiol*, 2003, 133: 713~725
- 62 Giranton J-L, Passelegue E, Dumas C et al. Membrane proteins involved in pollen-pistil interactions. *Biochimie*, 1999, 81(6): 675~680
- 63 瞿波, 傅丽霞, 刘后利等. 甘蓝型油菜与诸葛菜杂交时花粉与柱头的识别反应. *中国油料*, 1996, 18(1): 1~4
- 64 李玉花, 邓明琴, 景士西等. 激光和高压静电场对草莓种间杂交不亲和性的影响. *激光生物学*, 1995, 4(2): 636~642