

花粉管生长调控的研究进展

邢树平

(山东农业大学植物学教研室, 泰安 271018)

摘 要 本文从花粉管的生长特性、细胞质组成、细胞骨架、细胞壁的结构与合成、 Ca^{2+} 通道和向性生长机制六个方面, 综述了近些年来对花粉管生长调控研究的进展。

关键词 花粉管; 生长调控

Research advances in regulation of pollen tube growth

Xing Shuping

(Department of Botany, Agricultural University of Shandong, Taian 271018)

Abstract This paper exposes the research advances in pollen tube growth characteristic cytoplasmic organization, cytoskeleton, structure and synthesis of cell wall, Ca^{2+} channel and directional growth mechanism.

Key words Pollen tube; growth regulation

被子植物有性生殖过程中的一个重要环节是花粉在柱头上萌发长出花粉管, 花粉管经花柱进入胚珠中的胚囊, 释放精子。其中涉及到细胞识别、细胞间相互作用、信号传导和向性生长等一些重要的生物学问题。因而, 对花粉管生长调控的研究, 已越来越引起生物学者的重视。本文从六个方面对近些年来该领域的某些研究状况作一概述。

1 花粉管的生长特性

花粉管的生长与根毛、蕨类植物的原丝体、真菌菌丝及动物神经轴突细胞的生长相似, 是一种尖端生长^[1, 2]。这早已在百合中得到了实验证实。至今, 在观察过的所有植物中, 均发现花粉管壁的伸展集中在花粉管尖端^[2]。花粉管生长为尖端生长的观点, 已被普遍接受。然而, 1989 年, Sanders 和 Lord 对此提出了不同的看法。他们认为花粉管的生长是植物细胞移动的一个特例。他们把花粉管尖端看成是一个向前移动的细胞, 往后留下管状细胞壁的踪迹^[3]。即花粉管的伸展过程是一种细胞的运动过程而不是生长过程。近年来, 虽有一些研究结果支持这一观点^[4~7], 但仍需要进一步的实验证据。

1996-12-16 收稿

作者简介: 邢树平, 男, 1963 年出生, 硕士, 讲师, 主要从事植物学教学和植物生殖生物学研究工作。

许多植物的花粉管, 在离体培养条件下, 即能正常生长。但它们的生长多无方向性, 并且生长较慢, 生长距离较短^[1]。而在植物体上生长的花粉管, 因要经多次重新取向, 才能进入胚囊, 而具有明显的向性生长特性。此外, 花粉管生长也较快, 距离也较长。如在玉米植株上的花粉管生长速率可达 $1 \mu\text{m}/\text{秒}$, 生长距离可达 50 cm ^[8]。

在锦葵科、葫芦科和桔梗科等科中的一些植物花粉, 可长出多条花粉管。如蜀葵有 10 条, *Malva neglect* 有 14 条, 但最终只有 1 条进入胚囊^[9]。另有一些植物的花粉管可以分枝。菠菜的花粉管在受精完成后呈吸器状, 据说是受精胚珠释放的一种因子所致^[2]。

近几年来, 发现烟草、矮牵牛和脂麻掌 (*Gasteria verrucosa*) 等植物的花粉管进行脉冲式生长^[10-11]。Pierson 等对花粉管的这一生长模式提出了一个假说。他们认为花粉管在慢速生长过程中, 积聚新合成的壁物质, 使花粉管壁产生增厚的环状结构, 同时膨压逐渐增大。当花粉管尖端内的膨压超过某一阈值时, 花粉管即进行快速生长, 结果导致膨压减小, 同时启动下一次慢速生长过程^[11]。根据这一假说, 花粉管的脉冲式生长似乎是由膨压决定的, 但这种膨压变化的机制, 还不十分清楚。曾有报道, 在花粉管上存在一种受细胞质内 Ca^{2+} 水平调控的 K^{+} 通道, 通过调节 K^{+} 的流入量, 引起水分含量变化, 来影响花粉管内的膨压^[2]。对此, 尚需进一步确证。

2 细胞质组成

1964 年, Sassen 首先观察到矮牵牛 (*Petunia hybrida*) 花粉管的尖端有大量的分泌小泡存 # 0 在^[12]。随后, 在其它一些植物上得到了证实, 并发现花粉管尖端区后面有丰富的线粒体、高尔基体和内质网^[2-13]。Derksen 等观察发现, 在烟草花粉管近尖端区有大量的光滑内质网 (SER), 而粗糙内质网 (RER) 则不多^[2]。Uwate 和 Lin 报道, 在欧洲甜樱桃 (*Prunus avium*) 的花粉管中, 细胞质分为尖端生长区、SER 区、RER 区、液泡区和退化区^[13]。现在多数研究结果显示花粉管的细胞质有分区结构, 但这种分区结构不是静止的, 而是动态的, 细胞器可以运动而进出花粉管的尖端区^[14]。关于花粉管内细胞质分区的意义, Derksen 等认为它可能与花粉管的尖端生长有关。但典型的细胞质分区并不是花粉管尖端生长绝对必需的, 而可能在增加花粉管的生长率方面起作用^[2]。

3 细胞骨架

过去认为植物细胞骨架主要由微管和微丝组成。近来, 已有在植物细胞中发现中间纤维的报道^[15]。但在花粉管中是否存在中间纤维, 尚不清楚。

1985 年, Derksen 等利用免疫探针首先在烟草花粉管中观察到微管。以后, 在其它观察过的植物中, 也均有发现^[2]。现在已知微管主要存在于花粉管质膜下面的外质中, 呈束状, 并与花粉管长轴平行排列。在接近花粉管尖端时, 这种有序性减弱, 常呈无规则排列。许多研究者报道, 花粉管尖端无微管^[2]。但 Cai 等应用共聚焦激光扫描显微镜观察到烟草花粉管尖端, 有呈无序状的微管存在^[16]。这些短的无序状的微管, 不易在薄切片上被观察到^[2]。

有实验结果说明微管解聚剂, 如秋水仙素, 对花粉管生长无明显影响^[13], 所以推测微管在花粉管生长中不起重要作用。但 Steer 和 Steer 报道, 用这些解聚剂处理的花粉管, 显示不规则的外形^[13]。Joo 等报道, 用 $25 \sim 400 \mu\text{M}$ 的秋水仙素处理老的液泡化的烟草花粉管, 结果导致花粉管内液泡位移, 细胞质的正常极性丧失。处理解除后, 微管骨架和细胞质极性复原。据此, 他们认为微管可能与维持花粉管的细胞质极性有关^[17]。Tanak 和 Wakabayashi 的实验结果说明, 微

管在花粉萌发中起着稳定由肌动蛋白建立起的细胞极性的作用^[13]。Lancelle 和 Hepler 利用双免疫金标记定位法显示, 在烟草花粉管中, 微丝与外质中的许多微管平行。还有人发现微丝和微管相互交叉连接, 微管通过横桥与质膜相连^[13]。这些研究结果均表明微管可能具有固着和稳定花粉管内微丝骨架的作用。

现已证实花粉管的细胞质流动是活跃的, 其动力来自肌动蛋白与肌球蛋白的相互作用, 而与微管无直接关系^[13, 18]。细胞器可以随着细胞质流动而运动^[18]。但 Herth 和 Pierson 等发现线粒体的运动并不依赖花粉管内的细胞质流动。它们可以恒速运动很长一段距离, 而后停止或逆转运动。而且还发现线粒体与内质网之间有管状的桥连接和线粒体沿着管状的光滑内质网运动的现象^[2]。这说明细胞器的运动不限于一种方式, 并且各细胞器的运动可能是互相联系的。在动物细胞中微管普遍参与细胞器运动^[18]。但在花粉管内, 微管是否参与细胞器运动, 尚未定论。Pierson 和 Cresti 报道花粉管中的微管和许多细胞器连接, 但这种连接的作用, 尚不得而知^[2]。Cai 等从烟草花粉管中分离出一种类驱动蛋白 (kinesis), 具有依赖微管的 ATPase 活性, 并定位在高尔基体、小泡和质膜上^[16]。但由于在高尔基体附近未观察到微管^[2], 所以微管可能不参与这些小泡的运动。有人推测花粉管中的这种类驱动蛋白与花粉管的极性生长有关, 而不是调节细胞器的运动^[2]。Derksen 发现在烟草花粉管中, 由质膜内陷形成的有被小泡与微管相连, 并推测这些有被小泡的运动可能依靠有马达蛋白 (motor protein) 结合的微管^[14]。现在还发现在烟草花粉管中有类动力蛋白 (dynein) 存在, 从其它植物细胞中分离出的一种与动物 tau 状蛋白相似的蛋白质也被定位在烟草花粉管的原生质体上, 但这些蛋白质的功能不详^[2]。

微丝分布于花粉管的整个细胞质中, 亦主要呈束状, 与花粉管长轴平行, 并且常与微管连 #O 接^[13]。有几位研究者报道, 花粉管尖端存在大量的肌动蛋白丝, 并且多呈网状结构^[2]。Tang 等利用免疫定位技术在烟草花粉管中, 观察到了肌球蛋白, 并发现在花粉管尖端较丰富, 说明分泌小泡上可能存有肌球蛋白。另外, 在花粉管的质膜、营养核和生殖细胞表面也有肌球蛋白的抗体定位, 其它细胞器上也被认为有肌球蛋白存在^[2, 13]。

现在已知肌球蛋白与细胞器的运动有关, 但细胞器运动要靠肌球蛋白和肌动蛋白的相互作用 #O 用^[2]。Derksen 等观察到高尔基体与肌动蛋白连接^[2]。Shimmen 等发现把从花粉管中分离出的细胞器引进一些藻细胞内, 这些细胞器会沿着与藻细胞长轴平行的肌动蛋白丝束快速运 #O 动^[13]。同时, 他们还发现细胞器的运动, 在低于 $0.18 \mu\text{M Ca}^{2+}$ 浓度条件下, 较快。而在高于 $4.5 \mu\text{M Ca}^{2+}$ 浓度时, 则受到抑制^[13]。据此推测, 细胞器在近花粉管尖端, 运动速度低, 且多无方向性^[2]和分泌小泡在花粉管尖端集聚, 作无规则运动, 均可能是由于花粉管尖端的高浓度 Ca^{2+} , 抑制了这种由肌动球蛋白控制的运动^[13]。

有研究者报道, 用细胞松弛素处理花粉管, 花粉管的细胞质流动, 细胞器和小泡运动受 #O 阻^[2, 13]。这些研究结果均表明, 微丝系统在细胞质流动和细胞器运动中起重要作用。1994 年, Mittenman 报道, 在烟草花粉和花粉管中存在一种肌动蛋白的抑制蛋白 (profilin)。这种蛋白质被认为能调节肌动蛋白丝的数量, 并与信号传导有关^[2]。

4 细胞壁的结构与合成

研究结果表明花粉管壁有 2~3 层结构, 花粉管尖端常为 1 层, 有时可观察到 2 层结构^[13, 2]。

花粉管尖端的壁为初生壁, 主要由果胶质组成, 有时也观察到半纤维素或纤维素存在。百合和烟草的花粉管尖端的壁较厚, 并且均质化, 不分层。细胞壁的电子密度与花粉管内分泌小泡中

的壁物质相同, 往后逐渐分化出半透明的果胶质外层和条纹状的纤维素内层^[2]。曾有报道, 纤维素微纤丝的沉积方向与花粉管长轴成 45° 角, 但在花粉管尖端则不存在这种优势取向^[2]。纤维素微纤丝的这种排列方式, 可能与花粉管的伸长生长有关。

1994 年, Li 等报道, 花粉管尖端的果胶质主要是酯化果胶质, 而花粉管壁其它部位的果胶质则为酸性果胶质。而且从花粉管尖端到不再伸长的管壁之间存在一个酯化和脱酯化果胶质的梯度。酯化的果胶质不再相互作用, 所以花粉管尖端的壁有较大的可塑性。而酸性果胶质在 Ca^{2+} 存在下, 作用强烈, 使花粉管壁的可塑性降低, 而具有相当硬度^[2]。花粉管尖端壁的这种可塑性, 与花粉管的尖端生长相适应。一切有利于酯化或脱酯化的因素, 都会影响花粉管壁的弹性和可塑性, 从而影响花粉管的生长。

现已发现花粉管壁上还含有一些蛋白质。如富含羟脯氨酸的蛋白质, 抑制这种脯氨酸的羟基化, 则影响花粉管的生长^[2]。Li 等发现在烟草花粉管壁上, 存在一种阿拉伯半乳糖蛋白, 并推测这种蛋白质在烟草花粉管的脉冲式生长中起作用^[10]。

花粉管初生壁的合成主要是通过胞吐作用。花粉管尖端的分泌小泡与质膜融合, 小泡膜加入质膜中, 小泡的内含物则参与壁的形成。现已证实花粉管内的分泌小泡中含有多糖和蛋白 #O 质^[13]。如 Anderson 等发现在烟草花粉管的壁上和细胞质内的小泡中均含有阿拉伯呋喃糖残 #O 基^[13]。Helsper 等发现在矮牵牛花粉管内的高尔基体小泡中存在 β - 葡聚糖合成酶^[13]。Calzoni 等用一种能引起高尔基体囊膨大的单价离子载体 monensin, 处理 *Malus demestica* 的花粉管, 结果导致花粉管壁的合成减慢, 花粉管壁中的糖类和蛋白质成分减少。同时, 降低了花粉管的生长速率^[19]。这一实验结果表明, 抑制花粉管内高尔基体小泡的形成, 则抑制花粉管壁的合成和花粉管的生长。同时, 也说明花粉管壁中的一些糖类物质和蛋白质来源于高尔基体的分泌小泡。

花粉管的次生壁在花粉管的非伸长区形成。除胼胝质外, 在烟草中, 还发现有纤维素微纤 #O 丝^[2]。有人报道这类纤维素前体物质的复合物存在于植物细胞的分泌小泡中。在百合花粉管的质膜上也有发现^[2]。Kroh 和 Knuiman 在烟草花粉管质膜上还观察到呈六角形排列的胼胝质合成酶^[2]。依上述观察结果, 可以推测这些纤维素和胼胝质的壁组分是由花粉管内的分泌小泡转运的一些跨膜复合物在质膜外合成的。

5 花粉管上的 Ca^{2+} 通道

现已知花粉管内存在一个 Ca^{2+} 梯度和 Ca^{2+} 流。这一 Ca^{2+} 梯度可能通过调控花粉管内的 F-肌动蛋白网或定位花粉管尖端的小泡分泌等方面来调控花粉管的生长^[8]。有关 Ca^{2+} 对花粉管生长调控作用的详细资料可参考龚明和曹宗翼的综述性文章^[20]。这里我们着重花粉管上的 Ca^{2+} 通道研究作一个介绍。

Feijó 等用 Ca^{2+} 通道阻断剂钆 (Gd^{3+}) 处理百合花粉管, 结果花粉管生长停止, 花粉管尖端的 Ca^{2+} 流消失^[2]。另有人报道, 在培养基中加入 Ca^{2+} 载体 A23187, 会导致百合、月见草和烟草花粉管的 Ca^{2+} 梯度丧失和生长停止^[20]。最近, 范六民等发现 Ca^{2+} 通道阻断剂 nifedipine 降低烟草花粉管中的膜 Ca 水平^[21]。上述研究结果表明花粉管上确有 Ca^{2+} 通道存在。Malho 等在百子莲 (*Agapanthus umbellatus*) 中的实验结果说明花粉管上不仅存在 Ca^{2+} 通道, 而且在花粉管的整个质膜上均有分布^[8]。Obermeyer 等报道, 在百合花粉管上存在一 Ca^{2+} 通道梯度。此 Ca^{2+} 通道的极性排列形成了花粉管内的 Ca^{2+} 梯度^[20]。Malho 等虽没有证明花粉管上的 Ca^{2+} 通道呈极性排列, 但他们的实验结果令人信服地说明花粉管上的 Ca^{2+} 通道活性, 对维持花粉管内的 Ca^{2+} 梯度

至关重要。 Ca^{2+} 通道对花粉管的生长和取向有重要作用^[8]。

Marshall 等研究指出镧 (La^{3+}) 和钆 (Gd^{3+}) 均抑制玉米根细胞中的 Ca^{2+} 流入量, 但二者可能影响不同的 Ca^{2+} 通道^[8]。Malho 等发现在 5 V cm^{-1} 电场中, $10 \mu\text{M}$ La^{3+} 抑制花粉管向负极的重新取向, 而对花粉管的生长率则影响不大, 并证明在电场中生长和正在重新取向的花粉管上的 Ca^{2+} 通道活性比对照的高。据此, 他们认为上述过程中可能涉及到不同的 Ca^{2+} 通道^[8]。Pier-son 等根据向培养基中加入高渗介质后, 百合花粉管的生长和 Ca^{2+} 流入均受到抑制的现象, 认为花粉管上的 Ca^{2+} 通道是拉伸激活的^[2]。Malho 等发现几种引起花粉管内 Ca^{2+} 浓度升高的方法, 均引起花粉管质膜的去极化, 这样电压闸门 Ca^{2+} 通道可能被激活^[8]。

不管花粉管上存在几种 Ca^{2+} 通道, 拉伸激活 Ca^{2+} 通道可能是基本的。Malho 等认为作为细胞膨压, 外部机械胁迫和电化学梯度敏感器的质膜拉伸激活 Ca^{2+} 通道, 增加 Ca^{2+} 流入量, 影响花粉管内的 Ca^{2+} 分布, 从而调控花粉管的生长取向^[8]。

6 花粉管的向性生长机制

尽管有人提出了电信号假说^[8], 但比较流行的仍然是向化性假说和机械假说。前者认为由胚珠产生一种引导花粉管生长的信号。后者认为花粉管的向性生长主要依靠雌性生殖组织的结构和化学性质^[22]。

很早以前就有人提出, 从柱头到胚珠存在一个向化性物质的梯度。而且有各种雌蕊组织或其提取物及一些其它物质如氨基酸, Ca^{2+} 等吸引花粉管生长的报道^[13], 但并没有得出一致的结论。1992 年, Reger 等报道, 在离体培养条件下, 葡萄糖能引起珍珠谷 (*Pennisetum glaucum*) 的花粉管的向性生长, 但未证明葡萄糖在植物体上也与花粉管的向性生长有关^[13]。随后, Willemse 和 Franssen-Verheijen 发现脂麻掌的珠孔渗出物有吸引花粉管生长的作用^[23], 但还不清楚这些渗出物的成分。Arbeloa 发现在甜樱桃不具生活胚珠的子房内, 花粉管的生长失去方向性, 并且卷曲和分枝。类似的现象在 Brassica 中也有报道^[2]。Hülkamp 等在拟楠芥突变体中的实验结果说明, 胚珠作为一个自主功能单位, 与花粉管的最后的向性生长有关, 并进一步说明胚珠的孢子体组织对花粉管的向性生长可能不起作用, 而真正起作用的是胚珠内的正常发育的雌配子体, 即胚囊^[22]。这表明至少有一些与花粉管向性生长有关的基因在雌配子体内表达。遗憾的是还没有一个这样的基因被分离克隆出来。

在玉米和珍珠谷 (*Pennisetum pyphoides*) 等植物中, 花粉管的向性生长与雌蕊组织的结构密切相关^[24]。

1993 年, Janson 等报道, 在百合中, 切去花柱后授粉, 子房中有花粉管进入的胚珠的百分率很低。在切去花柱的子房上面嫁接柱头后再授粉, 并不增加有花粉管进入的胚珠数目。但若在子房上留下很长一段花柱, 则明显提高子房中有花粉管进入的胚珠的百分率^[25], 这表明花粉管与花柱的相互作用对花粉管进入胚珠起一定作用。最近, 又有一些研究结果说明花柱的细胞外基质刺激花粉管的生长, 并可能引导花粉管从柱头向子房生长^[1, 6, 7, 24]。这方面的一个典型例证是 Cheung 等人所做的实验。他们从烟草花柱引导组织中纯化了一种糖蛋白 TTS, 并发现 TTS 蛋白有刺激和吸引离体培养花粉管生长的现象, 而且这种糖蛋白在授粉后的花柱引导组织的胞外基质中, 从柱头端到花柱的子房端, 存在一个逐渐增加糖基化的梯度。花粉管在花柱中分泌一种去糖基化酶, 随着花粉管的生长, 逐渐使 TTS 蛋白去糖基化, 为花粉管生长提供营养, 并引导花粉管从柱头向子房生长^[1, 24]。

7 结束语

花粉管的生长受多种因子的调控, 其中包括本文未涉及的黄酮醇^[26, 27]等。但最终要受到基因表达的调控。现在已知一些花粉发育的晚期基因在花粉管生长中起作用^[28, 13], 但还没有分离克隆到花粉管特异的基因。这类基因是否存在, 还不清楚。但与花粉管生长有关基因的进一步克隆分析, 将使我们最终从分子水平上阐明花粉管生长调控的机理。

参 考 文 献

- 1 Cheung A Y, Wang H, Wu H M. A floral transmitting tissue specific glycoprotein attracts pollen tube and stimulates their growth. *Cell*, 1995, **82**: 383~393
- 2 Derksen J, Rutten T, Amstel T V, *et al.* Regulation of pollen tube growth. *Acta Bot Neerl*, 1995, **44** (2): 93~119
- 3 Sanders L C, Lord E M. Directed movement of latex particle in the gynoeceia of three species of flowering plants. *Science*, 1989, **243**: 1606~1608
- 4 Sanders L C, Wang C-S, Walling L L, *et al.* A homolog of the substrate adhesion molecule vitronectin occurs in four species of flowering plants. *Plant Cell*, 1991, **3**: 629~635
- 5 Sanders L C, Lord E M. A dynamic role for the stylar matrix in pollen tube extension. *Int Rev Cytol*, 1992, **140**: 297~318
- 6 Lauh G Y, Lord E M. Movement of the tube cell in the absence of the pollen grain and the spent pollen tube. *Sex Plant Reprod*, 1995, **8**: 168~172
- 7 Jaun G Y, Lord E M. Localization of pectins and arabinogalactan—proteins in lily (*Lilium longiflorum* L.) pollen tube and style, and their possible roles in pollination. *Planta*, 1996, **199**: 251~261
- 8 Malho R, Read N D, Trewavas A J, *et al.* Calcium channel activity during pollen tube growth and reorientation. *Plant Cell*, 1995, **7**: 1173~1184
- 9 陈机主编. 植物发育解剖学(下册). 济南: 山东大学出版社, 1996 P133
- 10 Li Y Q, Brunn L, Pierson E S, *et al.* Periodic deposition of arabinogalactan epitopes in the cell wall of pollen tubes of *Nicotiana tabacum*. *Planta*, 1992, **188**: 532~538
- 11 Pierson E S, Li Y Q, Zhang H Q, *et al.* Pulsatory growth of pollen tubes: investigation of a possible relationship with the periodic distribution of cell wall components. *Acta Bot Neerl*, 1995, **44** (2): 121~128
- 12 Sassen M M A. Fine structure of *Petunia* pollen grain and pollen tube. *Acta Bot Neerl*, 1964, **13**: 175~181
- 13 Mascarenhas J P. Molecular mechanism of pollen tube growth and differentiation. *Plant Cell*, 1993, **5**: 1303~1314
- 14 Derksen J. Organelles distribution in growing pollen tubes of *Nicotiana tabacum* L. *Acta Bot Neerl*, 1992, **41** (1): 103
- 15 罗 正, 杨 澄, 翟中和. 植物细胞中间纤维角蛋白性质的分析. 实验生物学报, 1996, **29** (3): 297~304
- 16 Cai G, Bartalesi A, Del Casino C, *et al.* The kinesin immunoreactive homolog from *Nicotiana tabacum* pollen tubes: biochemical properties and subcellular localisation. *Planta*, 1993, **191**: 496~506
- 17 Joos U, Van Aken J, Kristen U. Microtubules are involved in maintaining the cellular polarity in pollen tubes of *Nicotiana sylvestris*. *Protoplasma*, 1994, **129**: 5~15
- 18 余叔文主编. 植物生理与分子生物学. 北京: 科学出版社, 1992 147~163
- 19 Calzoni G L, Speranza A, Li Y Q, *et al.* Wall biosynthesis and wall polysaccharide composition in pollen tubes of *Malus domestica* growing at low rate after monensin treatment. *Acta Bot Neerl*, 1993, **42** (4): 473~480
- 20 龚 明, 曹宗巽. 钙和钙调素对花粉萌发和花粉管生长的调控. 植物生理学通讯, 1995, **31** (5): 321~328

- 21 范六民, 杨弘远, 周 嫦. Nifedipine 对烟草花粉萌发, 花粉管生长及生殖核分裂的影响. 植物学报, 1996, **38** (9): 686~691
- 22 Hulskamp M, Schneitz K, Pruitt R E. Genetic evidence for a long-range activity that directs pollen tube guidance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1995, **7**: 57~64
- 23 Willemse M T M, Franssen-Verheijen M A W. Origin and function of micropylar exudate of *Gasteria verrucosa* (Mill.) H. Duval. *Acta Bot Neerl*, 1993, **42** (1): 93
- 24 Wu H-W, Wang H, Cheung A Y. A pollen tube growth stimulatory glycoprotein is deglycosylated by pollen tubes and displays a glycosylation gradient in the flower. *Cell*, 1995, **82**: 395~403
- 25 Janson J, Reinders M C, Van Tuly J M, *et al.* Pollen tube growth in *Lilium longiflorum* following different pollination techniques and flower manipulations. *Acta Bot Neerl*, 1993, **42** (4): 461~472
- 26 Ylstra B, Turaev A, Benito-Moreno R M, *et al.* Flavonols stimulate development, germination and tube growth of tobacco pollen. *Plant Physiol*, 1992, **100**: 902~907
- 27 Ylstra B, Busscher J, Franken J, *et al.* Flavonols and fertilization in *Petunia hybrida*: localization and mode of action during pollen tube growth. *Plant J*, 1994, **6** (2): 201~212
- 28 Mu J-H, Stains J P, Kao T-H. Characterization of a pollen-expressed gene encoding a putative pectin esterase of *Petunia inflata*. *Plant Mol Biol*, 1994, **25**: 539~544