

(総説)

受粉から受精にいたるまでの花粉と雌ずいとの相互反応

三木 壽子

元神奈川歯科大学

〒248-0027 神奈川県鎌倉市笛田 1152 - 141

(1998年4月2日 受理)

Interaction between Pollen and a Pistil from Pollination to Fertilization

Hisako MIKI - HIROSIGE

Fueda 1152-141, Kamakura City, 248-0027 Japan

Key words : 花粉, 花粉管, 雌ずい, 柱頭, 花柱, 子房, 重複受精

花は顕花植物の生殖器官であって、ここで作られた半数性 (n) の卵細胞と精細胞が受精して、次の世代となる胚 (2n) を作る。胚を含む胚珠が発達してきた種子が親の体外に出され、新しい個体が形成される。顕花植物には裸子植物と被子植物があるが、これから述べるところは、すべて被子植物についてである。

花粉は花の一器官である雄ずいの葯内で、精母細胞が減数分裂を行って作った小孢子が発達したものである。小孢子内では、さらに細胞分裂が行われて、1個の雄原細胞または2個の精細胞と、花粉内の代謝をつかさどる栄養核をもった雄性配偶体すなわち花粉ができあがる (図1)。

雌ずい頭頂部である柱頭は、そのパピラ細胞より分泌された柱頭分泌物 (stigmatic exudate) で覆われている場合が多い。花粉はその中で発芽して、花粉管を伸長させる (図2)。また、この分泌物は、花粉が付着して初めて分泌される場合もある。花粉管はこの時から受精のためにその中に保持している雄性配偶子 (2つの精細胞, 図1) を胚のうに引き渡すまで、花粉の直径の何百倍もの距離を旅してゆく (図3)。まず花粉管はパピラ細胞の間に侵入し、ここから花柱内の花粉管誘導組織 (transmitting tissue) へと進む。誘導組織はルーズな花柱細胞の集まりになっていて、この細胞間隙を通るようになっていて (solid

style : イネ科など) と、花柱の中央が中空の溝になっている場合 (hollow style : ユリ科など) がある。アブラナ科⁽²⁸⁾ (図2C) の場合、花粉管は酵素を出して、柱頭のパピラ細胞壁を破って侵入し、細胞壁と細胞膜の間を下降して柱頭組織から花柱組織へと入る。

花柱分泌細胞から分泌された液で満たされた花柱域を通過した花粉管は子房域に入り、胚珠の入り口の珠孔 (micropyle) に到達する。珠孔にも胎座より放出された分泌液 (micropyle-exudate) が満たされていて、花粉管を胚のうまで導く。ここで花粉管の先端は破裂して2個の精細胞を胚のう内に放出し、そのうちの1個の核は卵細胞に侵入して、卵核と合体 (受精) して新しい世代の胚を作り、もう1個は胚のうの中心部にある2個の極核と融合して3核からなる大きな核を作る (図4)。これが発達して胚乳細胞群を形成する。このように同時に2ヶ所で受精が行われることを重複受精 (double fertilization) と呼ぶ。この間、雌ずいの各部の細胞と花粉または花粉管は、まるで cascade 反応のように、相互反応を繰り返しながら受精作業を完遂するのであるが、その過程での個々の現象について、最近の報告をまとめる。なお、自家不和合性についてはここではふれない。

柱 頭

花粉と雌ずいが最初に出会うところは、柱頭のパピラ細胞である。テッポウユリでは、雌ずい柱頭のパピラ細胞は分泌細胞になっており、細胞内の小胞体(ER)やゴルジ体でつくられた物質が細胞壁表面から分泌される(図5 A.)⁽⁴⁰⁾。この柱頭分泌液(stigmatic exudate)の中でテッポウユリの花粉は発芽し、花粉管を伸長させる。渡辺は^(56, 57, 58)イネ科植物に於いて、花粉はパピラ細胞に付着後10-30秒で汗をかかのように液を侵出する(花粉反応)。一方パピラ細胞からも分泌液が出て、花粉表面は液で覆われる。このようになった花粉付着部のパピラ細胞は色素で染まるようになり(柱頭反応)、花粉はこれらの分泌液に包まれた状態で発芽することを観察している。Kiwifruitでは、開花後4日間はexudateが柱頭細胞より豊富に分泌されるが、その後は分泌量も減り、7日後には出なくなって花粉の発芽数を制限している⁽¹³⁾。花粉の外部についているtryphine lipidsを除去したアブラナ科*Arabidopsis*の突然変異種の花粉が柱頭につくと、柱頭細胞はcalloseをつくるので、花粉は吸水できないため発芽しない。この花粉はin vitroで充分水を与えると発芽する。このことからtryphine lipidsは柱頭に対する直接のシグナルとして働くと考えられる⁽⁴⁷⁾。

柱頭分泌域または花柱溝分泌組織がcyto-toxinで阻害されているtransgenicなタバコでは、発芽や花

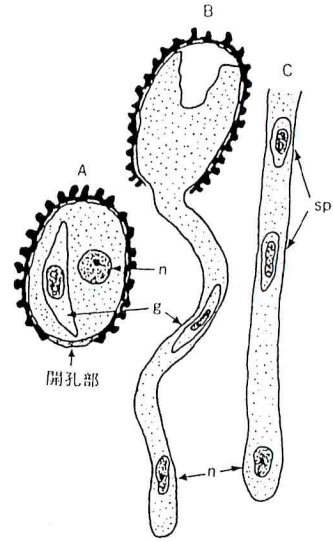


図1 A.成熟花粉(2核花粉) B.発芽した花粉 C.花粉管の先端部

g: 雄原細胞 n: 栄養核 sp: 精細胞
成熟花粉内にすでに2ヶの精細胞を用意している花粉は、雌ずい内に花粉管を伸長させて、これらを胚珠まで運んでゆくのであるが、1ヶの雄原細胞しか持っていない2核細胞では、伸長している花粉管内で細胞分裂をして2ヶの精細胞をつくる。

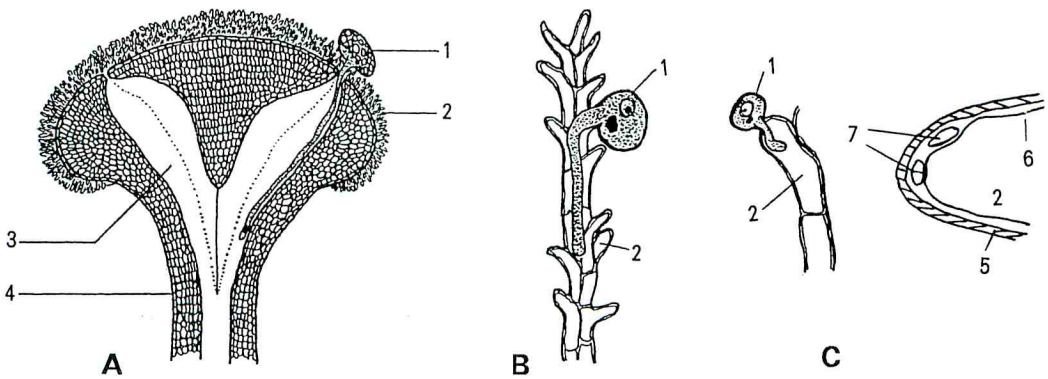


図2 柱頭上で発芽する花粉

- A. ユリ科: 花粉管は雌ずい中の溝の壁面を通過する。
B. イネ科: 雌ずい組織の細胞間隙を通過する花粉管。
C. アブラナ科: 雌ずいの細胞内を貫通する花粉管。

1. 花粉 2. 乳頭状細胞(パピラ細胞) 3. 雌ずい内の溝 4. 柱頭組織
5. 細胞壁 6. 細胞膜 7. 花粉管

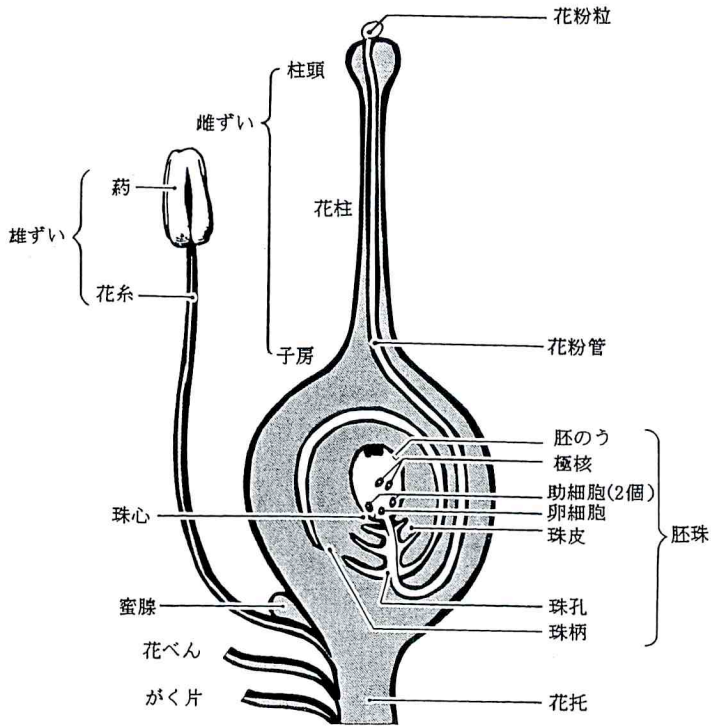


図3 受粉した被子植物の花の構造図

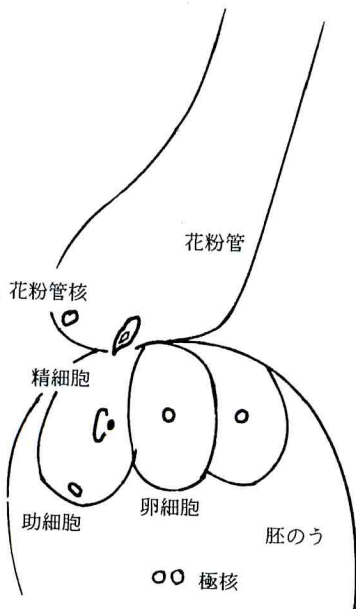


図4 花粉管の胚のうへの到着

花粉管伸長を支持することができない⁽⁵⁴⁾。これらのことは花粉の発芽や、花粉管の伸長に大切な物質が花粉表面や雌ずい組織内に存在していることを示す。柱頭や花柱から分泌される分泌物内で発見される糖や脂質は、花粉が柱頭表面に付着したとき、花粉の認識をするという受粉の最初の仕事を^(8, 27)。ペチュニアのフラボノイド欠乏花粉では、柱頭細胞がフラボノイド分子を生産して、これらの不稔の花粉の受精能力を回復させる⁽⁴⁶⁾。イネ科 Pearl millet の柱頭組織は花粉管をひきつけるが⁽⁴⁹⁾、これはこの組織の中に存在するインベルターゼが培地内の sugar を glucose に変えて、in vitro におけるこの花粉管の屈化性を高めるからである⁽⁴⁸⁾。このことから柱頭組織中には酵素が存在していて、それ自身は花粉管伸長には直接関係しないが、その働きにより他の物質を花粉管伸長に関係する物質に作り替えるということが示唆される。

柱頭細胞は単に花粉の発芽を助けるだけではなく、花粉の種類を認識して発芽を抑制したり、花粉管の進路となる組織における生理的活性を調節するような役割を担っていると推測される。多くの植物では、受粉により引き起こされる生理現象として、雌ずい組織か

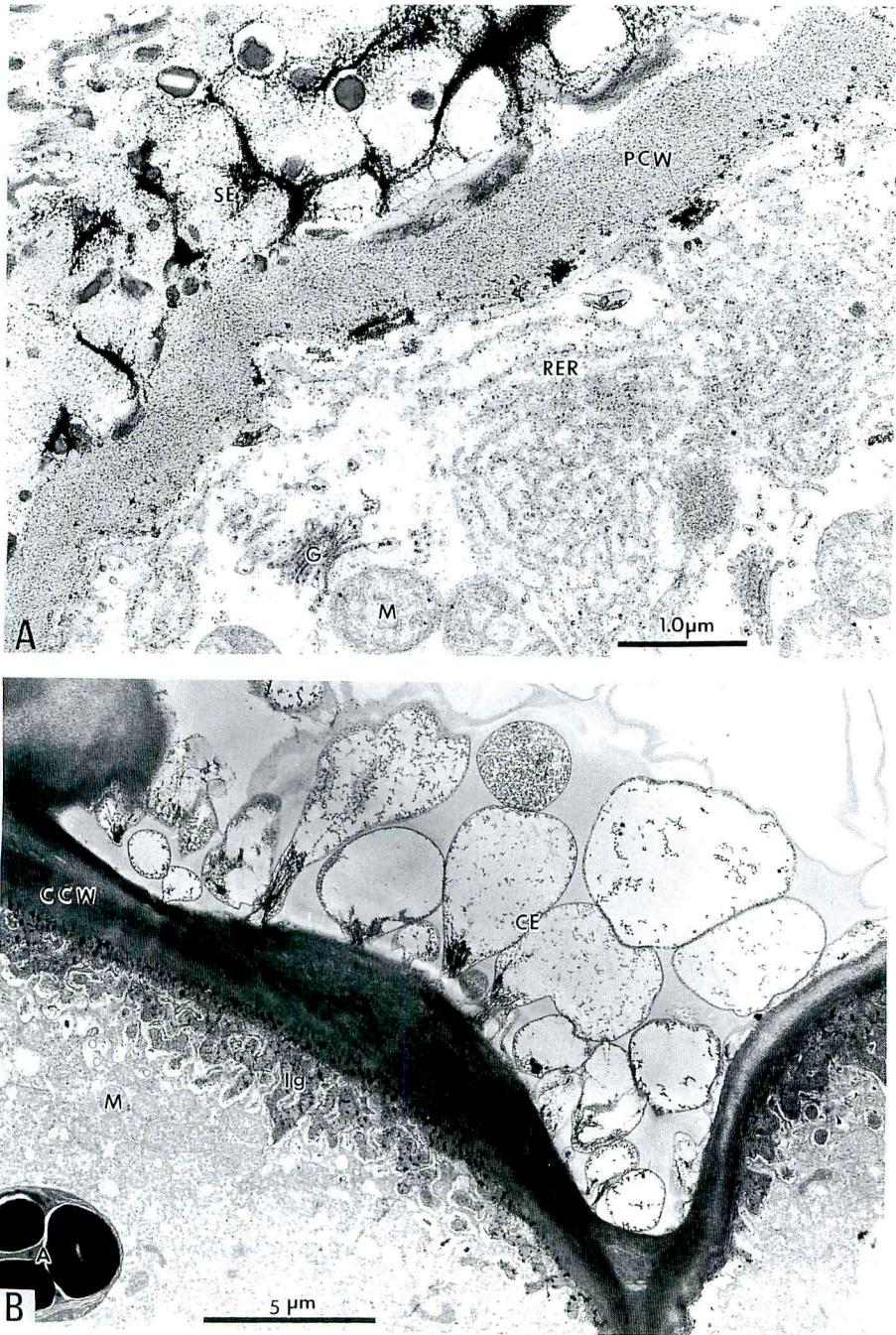


図5 分泌細胞からの exudate の分泌

A. 柱頭のパピラ細胞. B. 花柱溝上皮細胞.

A : amyloplast (澱粉粒) CCW : canal cell wall (花柱溝上皮細胞壁)

CE : canal exudate (花柱内分泌液) G : Golgi body (ゴルジ体)

Ig : Ingrowth (イングロース) L : lipid body (脂肪球)

M : mitochondria (ミトコンドリア) PCW : papilla cell wall (パピラ細胞壁)

RER : rough endoplasmic reticulum (粗面小胞体) SE : stigmatic exudate (柱頭分泌液)

らのエチレンの放出がある。タバコ、ペチュニア⁽⁵⁵⁾やラン⁽⁴⁵⁾ではこの現象とともに ACC 合成酵素や ACC oxidase gene の蓄積が、タバコやペチュニアでは受粉 3-4 時間後に、ランでは 2 時間後に生じる (ACC : 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid : ペチュニア花粉内に存在し、エチレン生産を助ける⁽⁵⁹⁾)。エチレンの生合成は Arabidopsis⁽²⁾、タバコ⁽⁵⁵⁾、トマト⁽³²⁾においては、目立って繁殖力を減じることはないが、コショウラン⁽⁶⁴⁾では、柱頭の閉鎖、子房の成熟、受粉後約 60 日の間に起こる胚珠の発育など、受粉後に生じる雌ずいの発育に関連し、エチレンはこの発育過程を部分的に妨害する。またこれらの植物内では、受粉により cysteine proteinase が雌ずい内に生産されて花粉管を胚珠内へ導く化学的誘引物として働いている⁽⁴⁴⁾。最近の分子分析によりタバコで受粉により引き起こされる花柱での誘導組織の老化や死が、雌ずいの誘導組織内にある mRNA の大きな 3 個のクラスの 3' poly (A) tail shortening と結び付いており、この分子の崩壊が誘導組織の分解と結び付くことが示された⁽⁶⁵⁾。ここで観察されるエチレンの動きは、植物の外側からの利用により生じる一般的な老化現象とは異なる。

柱頭成熟の時期は花粉の発芽の時期を決定する。ある植物では開花後に柱頭が成熟する。ある種の花粉は柱頭に達してもすぐ発芽しないで、柱頭が成熟するときに一斉に発芽する^(14, 43)。これは雄性先熟または雌より雄の方が先に成熟するというで植物では多くみられる。このメカニズムは同系交配 (近親) では減少するが、pollen competition の強度を増し、柱頭について花粉のほんの少しが発芽する。他の種では同時におこる発芽に異なる制限を行うことがある。このように雌ずいは開花の時完全に成熟しておらず、花粉管の発芽や伸長に伴って求基的に、柱頭から子房へと成熟してゆく場合がある⁽¹⁶⁾。また雌ずいの発育を遅らせることにより自家受粉を避けるという行動もある⁽¹⁸⁾。マメ科のギンゴウカン (*Leucaena*) では柱頭に含まれている蛋白質がある時期まで発芽を阻害するが、この阻害物質は柱頭の pH 変化により調節される⁽¹¹⁾。雌ずいの成熟は柱頭から出発した花粉管の状態によっても影響される⁽¹¹⁾。モモの花粉管は obturator (口を塞ぐものという意味) とつながっている花柱の基部に到着すると成長が止まる。そして obturator cell から澱粉が無くなり、分泌物が生産される 5 日後に花粉管の成長は再開する。この分泌物の生産は発生学的に調節されているが、受粉とは関係なくお

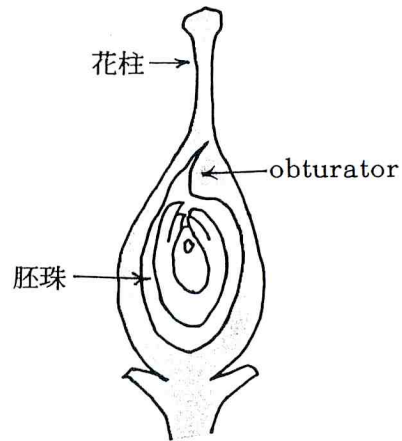


図6 obturator : 心皮壁上の組織の隆起したもので、珠孔に面し、花柱誘導組織とつながっている。

こる。obturator は花柱と子房を結び付けているはね橋 (draw bridge) として働いている。同様の現象はウルシ科の Pistachio や合点受精をする種でもおこる。これらの場合には花粉管が花柱基部に到着したとき、胚珠が物理的に花柱から離れる。

花 柱

テッポウユリの花柱の中央は中空の溝 (hollow style) になっていて、その周りを一層の分泌組織 (上皮組織) が取り巻いている。ここから栄養に富み粘性のある canal exudate (extracellular matrix) が分泌される (図5 B.)⁽⁴⁰⁾。花粉管は周囲の分泌液より栄養を吸収しながら伸長する⁽⁶¹⁾。柱頭から分泌される stigmatic exudate は受粉と関係なく分泌されるが (10 日間で約 65mg)、花柱の canal exudate の場合は花粉管が成長しなければ分泌されない。テッポウユリの場合、柱頭と花柱における分泌液の蛋白質の組成は異なる⁽⁴⁰⁾。雌ずい内に於ける花粉管の成長は heterotrophic (従属栄養的) で、誘導組織内の物質を消費するため^(17, 19)、これらの供給が減少すると花柱内の花粉管の成長率に影響を与える。モモ (*Prunus persica*) では花柱の誘導組織の占める物理的空間が減少したり、この領域に貯えられている不溶性炭水化物の量が減少すると花粉管の数が減る⁽¹⁵⁾。これは他の和合性受粉の植物でも記録され、受精可能な胚珠の数や花柱内に貯えられた物質の量により、成

長する花粉管数が限定される。すなわち花粉管の competition の一例と考えられる。また利用できる炭水化物量の減少は花粉管の成長速度の減少にも影響する。*Nicotiana* では低濃度の TTS (Transmitting tissue specific) 蛋白質の供給により花柱内を成長する花粉管の成長速度が減少した。ユリ科 *Gasteria* では、花粉管が hollow style である花柱内を通過してゆくとき、花柱の上部の細胞から少しずつ変化を生じ、細胞やミトコンドリアのクリステの様子や分泌の状態が変わり、花柱溝上部は固いが、下部は液体で満たされるという勾配を生じる⁽⁶⁰⁾。

放射性物質でラベルした細胞壁前駆物質 (myoinositol) がテッポウユリの雌ずい内に取り込まれて、花柱溝上皮組織より分泌され、これが in vivo で成長する花粉管内に取り込まれて花粉管壁を形成する。このことから、雌ずいより分泌される exudate 内の栄養豊富な物質が花粉管成長の栄養源として用いられることが示された^(29, 30, 31)。同様のことは solid style の花粉管誘導組織でも起こる⁽¹⁷⁾。これらの観察は最近異なる植物で、雌ずいに特異的な糖蛋白の分離により支持された。その一つは TTS 糖蛋白である。この物質はタバコの花柱内誘導組織から分離される糖蛋白の一種で、花粉管を引き付け、花粉管成長を促す。また TTS 蛋白質は花粉壁に取り込まれて deglycosylation されて花粉管の栄養源となると考えられる⁽³³⁾。また TTS 蛋白質の glycosylation の度は柱頭から花柱を通して子房の方向へと増してゆくが、これは花粉管に方向性を示していることになる。言い替えば、TTS 蛋白質と結び付いている糖濃度の勾配が花粉管を柱頭から子房へと導くことになる⁽⁶¹⁾。

細胞表面の糖物質は多くの細胞間の認識に大切である⁽³⁵⁾。花粉管においても他の細胞におけると同様細胞表面にくっついた分子が方向を決めたり、なにかサインを送るという機械的な仕事をしていると考えられる⁽²⁰⁾。exudate のくっつく性質や構造は他の細胞におけると同様に移動システムに寄与すると推定される⁽³⁵⁾。

花粉管の細胞質の周辺部に F-actin が軸方向に走っていることが観察されているが、これはミオシンと共にアクトミオシン相互反応⁽⁴²⁾をすることにより、花粉管内の精細胞を子房の方向に動かしている。それゆえサイトカラシン B で ATP の補給を阻害したり、アクチン繊維をデポリメリゼーションすることにより運動が阻害される。Heslop-Harrison ら^(21, 22)によると、ミオシンは精細胞を取り巻く花粉管の細胞膜の

内面とくっついていて運動するという。寄生バクテリア *Listeria* は宿主の細胞中で酵素を用いて G-actin を重合させて動くときとされているが、精細胞もこのような働きをするという説がある^(53, 54)。最近花柱誘導組織より分泌される exudate 中に、extensin とアラビノガラクトタン蛋白質 (AGP : arabino-galactan protein) 族の両方の性質を持ついくつかの hydroxyproline-rich の糖蛋白が発見された^(51, 52)。*Nicotiana glauca* でも柱頭で AGP が発見された⁽⁹⁾。これらの分子は発芽に先立つ花粉と柱頭のあいだの相互反応に関係があると考えられるが、その他に AGPs, galactose-rich 糖蛋白および、*Nicotiana glauca* の花柱における extensin と AGPs (120KDa 蛋白質)^(7, 53)の両方の性質を持った糖蛋白、extensin 様蛋白質 (MG15 蛋白質)⁽¹²⁾、*N. tabacum* からとった AGP (TTS 蛋白質)⁽⁷⁾なども同じ働きをされると考えられている。*Nicotiana* の花柱内の誘導組織は長いのであるが、豊富に分泌される糖蛋白が花粉管を子房へと誘導するのに意義があるようである。すなわち、ここでは方向が決まっているから特別な誘導物質がなくとも花粉管は豊富な栄養を得てどんどん伸長する。AGPs と他の extensin 様蛋白質は、胎座の表皮組織にも多く含まれ、花粉管は胎座より胚珠へと最後の旅をする時にもこれらを役立てる^(10, 63)。たぶん、花粉管を誘導する物質がこれら糖蛋白の中に含まれているのであろう。*N. glauca* の花柱溝より分離した 120 KDa の蛋白質は、花柱溝内を伸長する花粉管内に効率よく取り込まれるし、in vitro でも成長する花粉管内に取り込まれる⁽³³⁾。同様に、*N. tabacum* の花柱より分離された MG15 蛋白質も in vivo で成長する花粉管に取り囲まれるという報告がある。これらの蛋白質は花粉管の細胞生理にどの様に働くのかはまだ分からない。

子 房

胚珠内に花粉管が侵入するという現象は、そこに花粉管を引き付ける強い方向性を持つシグナルが存在することを示唆している⁽²⁶⁾。最近胚珠や胚のうを欠く *Arabidopsis* の mutant の子房内で、方向性のある花粉管の伸長がないことが観察されたが⁽²⁵⁾、これにより花粉管を誘導するために胚珠が役割を持つことが遺伝的に証明された。多分花粉管が目標とする部分から発する方向を示す factor が生産されるのであろう。胚珠を持っている胎座組織が in vitro で花粉の発芽

や珠孔への花粉管侵入を促すことが、いくつかの植物種で認められている^(46, 61)。in vitro の培地上で *Gasteria* の花粉管は、近くに置かれた胚珠の珠孔に侵入した。この珠孔は糖を含む物質で満たされていて、その物質が花粉管を引き付けたと示唆される⁽⁴⁾。胎座組織を高濃度の塩酸で洗ったり、アルカリ、活性剤、プロテアーゼなどで処理することにより、胚珠へ花粉管が侵入する頻度が減ることから、誘因物質は蛋白質的性質をもつと考えられる。Pearl millet の胚珠から分離した低分子量の蛋白質は in vitro で花粉管をひきつける⁽⁴⁹⁾。受け入れ側の胚珠へ 150 μm も遠い位置から花粉管が直接到達することは胚のうに長距離の屈化性シグナルが存在することを示す。このようにして花柱誘導組織から子房の入り口へと到着した多数の花粉管は数多くの胚のうに受け入れられる。これも胚のうから出された屈化性シグナルの誘導と考えられる。これら誘導物質が上記の蛋白質様物質と同じシグナルといえるかどうかは判らない。また近年多くの研究者達が、たった一つ花粉管が侵入した胚珠や、すでに受精した胚珠はそれ以上花粉管をひきつけないことを報告している。Pistachio では、花粉管が胚のうに侵入した後で、通路がリグニンで塞がれ、花柱と胚のうが隔離される⁽³⁵⁾。

Ca (カルシウム) は in vitro において花粉管伸長に効果的であり⁽³⁾、花粉管の通過経路の全体にわたって異なる濃度で存在し、多くの植物の花粉管を in vitro で引き付ける^(37, 38, 48)。キンギョソウ (*Antirrhinum majus*) の花柱の誘導組織内で Ca の濃度勾配がみられる。また胚のう内の助細胞の一つが花粉管の侵入前に崩壊して高濃度の Ca を放出し、珠孔の周りに Ca の高濃度域を形成して花粉管の侵入を助けるという観察がある^(5, 6)。

胚のう内での精細胞の輸送

花粉管から放出された精細胞はその栄養細胞の鞘からのがれ、自分自身の細胞壁を胚のう内に晒すことになる(図4)。その周りでは花粉管内にあったアクチン束がこわれて、ローダミン-ファロイジン染色をすると、小さなかけらが蛍光を発する。通常の状態の胚のう内では、ローダミン-ファロイジンで強く染色される束または“Corona”が生じる。これは雄性配偶子の将来の通り道となる。これらのバンドはタバコやトウモロコシでは花粉管の到達前に生じる。バンドはまた崩壊を始めた助細胞の中にも現われる。透過電子

顕微鏡によると、この部分は均質で電子透過性に富む物質が集合している。タバコではこの部域は金コロイドをつけた抗アクチンモノクロナル抗体により濃くラベルされる⁽²³⁾。このような観察は数多くの植物でも行われている。オオムギではまだ融合していない精細胞が、崩壊した助細胞から出て卵細胞と中央細胞の間に現われるが、その近くにはアクチンバンドの様なオスモフィリックな物質が存在した。バンドの数は受精システムの性格により異なる。イソマツ科 *Plumbago* では助細胞を欠いているが、バンドの数は1個⁽²⁴⁾、トウモロコシの胚のう内では2個以上あるという。結局胚のう内のアクチンバンドは融合場所へ精細胞を運ぶために彼等と相互反応をすると考えられる。しかしながら、ミオシンが精細胞を覆っているかどうかは疑わしい。精細胞は free のミオシンを持っていると知られるジャジクモ科 *Nitella* の細胞質中に誘導されてもアクチンしか持たなかった⁽⁵⁰⁾。崩壊した助細胞の構成物質は他の細胞活性の資源となる模様である。

最近では、以上のように、雌ずいの特定の部位や花粉から微量物質を抽出して、これを分析できるようになったし、また抽出物が蛋白質である場合には、その抗体を作り、これをラベルした物質で組織内に抗原抗体反応をおこさせて、抽出された蛋白質が母体組織のどの部位で働いているかを調べることができる。また、遺伝子工学の分野では、特定の物質の欠落している突然変異体を作り出して正常な代謝の意味を探るということができるようになり、生物学の発展には目を見張るものがある。受精のメカニズムも、このような方法を用いることによりより詳細に解明される日も間近いと考える。

文 献

- (1) Arbeloa, A. and M. Herrero : The significance of the obturator in the control of pollen tube entry into the ovary in peach (*Prunus persica*). *Ann. Bot.* 60, 681-685 (1987).
- (2) Bleecker, A. B., M. A. Estelle, C. Somerville and H. Kende : Insensitivity to ethylene conferred by a dominant mutation in *Arabidopsis thaliana*. *Science* 241, 1086-1089. (1988).
- (3) Brewbaker, J. L. and B. H. Kwack : The essential role of calcium ion in pollen ger-

- mination and tube growth. *Am. J. Bot.* **50**, 859-865 (1963).
- (4) Chao, C.: Further cytological studies of a periodic acid-Schiff's substance in the ovules of *Paspalum orbiculare* and *Paspalum conjugatum*. *Amer. J. Bot.* **64**, 921-930 (1970).
- (5) Chaubal, R. and Reger, B. J. : Calcium in the synergid cells and other regions of pearl millet ovaries. *Sex. Plant Reprod.* **5**, 34-46 (1992 a).
- (6) ——— : The dynamics of calcium distribution in the synergid cells of wheat after pollination. *Sex. Plant Reprod.* **5**, 206-213 (1992 b).
- (7) Cheung, A. Y., B. May and H-M Gu Q, Wu : Characterization of cDNA for stylar transmitting tissue-specific proline-rich proteins in tobacco. *Plant J.* **3**, 151-160 (1993).
- (8) Cresti, M., C. J. Keijer, A. Trezzi, F. Ciampolini and S. Focardi : Stigma of *Nicotiana* : Ultrastructural and biochemical studies. *Am. J. Bot.* **73**, 1713-1722 (1986).
- (9) Du, H., R. J. Simpson, A. E. Clarke and A. Bacic : Molecular characterization of a stigma-specific gene encoding an arabinogalactan-protein (AGP) from *Nicotiana glauca*. *Plant J.* **9**, 313-323 (1996).
- (10) Gane A. M., A. E. Clarke and A. Bacic : Localisation and expression of arabinogalactan-proteins in the ovaries of *Nicotiana glauca* Link and Otto. *Sex. Plant Reprod.* **8**, 278-282 (1995).
- (11) Ganeshiah, K. H. and R. Uma Shaanker : Regulation of seed number and female incitation of male competition by a pH-dependent proteinaceous distribution of seed number in pods of *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit. *Oecologia* **70**, 568-572 (1988).
- (12) Goldman, M. H. S., M. Pezzotti, J. Seurinck and C. Mariani : Developmental expression of tobacco, pistil-specific genes encoding novel extension-like proteins. *Plant Cell* **4**, 1041-1051 (1992).
- (13) Gonzalez, M. V., M. Coque, M. Herrero : Papillar integrity as an indicator of stigmatic receptivity in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *J. Exper. Botany* **46**, 263-269 (1995).
- (14) Herrero, M. : Factors affecting fruit set in 'Agua de Aranjuez' pear. *Acta Horti* **139**, 91-96 (1983).
- (15) ——— : From pollination to fertilization in fruit trees. *Plant Growth Regul* **11**, 27-32 (1992).
- (16) ——— : and A. Arbeloa : Influence of the pistil on pollen tube kinetics in peach (*Prunus persica*). *Am. J. Bot.* **76**, 1441-1447 (1989).
- (17) ——— : and H. G. Dickinson : Pollen-pistil incompatibility in *Petunia hybrida* : changes in the pistil following compatible and incompatible intraspecific crosses. *J. Cell Sci.* **36**, 1-18 (1979).
- (18) ——— : Ultrastructural and physiological differences between buds and mature flowers of *Petunia hybrida* prior to and following pollination. *Planta* **148**, 138-145 (1980).
- (19) ——— : Pollen tube development in *Petunia hybrida* following compatible and incompatible intraspecific matings. *J. Cell Sci.* **47**, 365-383 (1981).
- (20) Heslop-Harrison, J. : Pollen germination and pollen tube growth. *Int. Rev. Cytol.* **107**, 1-78 (1987).
- (21) Heslop-Harrison, J. and Y. Heslop-Harrison : Actomyosin and movement in the angiosperm pollen tube. *Sex. Plant Reprod.* **2**, 199-207 (1989 a).
- (22) ——— : Myosin associated with the surfaces of organelles, vegetative nuclei and generative cells in angiosperm pollen grains and tubes. *J. Cell Sci.* **94**, 319-325 (1989 b).
- (23) Huang, B, Q. and S. D. Russell : Fertilization in *Nicotiana tabacum* : cytoskeletal

- tal modifications in the embryosac during synergid degeneration. A hypothesis, for short distance transport of sperm cells prior to gamete fusion. *Planta* **194**, 200-214 (1994).
- (24) Huang, B. Q., E. S. Pierson, S. D. Russell, A. Tiezzi and M. Cresti : Cytoskeletal organization and modification in the process of fertilization of *Plumbago zeylanica*. *Zygote* **1**, 143-154 (1993).
- (25) Hulskamp, M., K. Schneitz and R. E. Pruitt : Genetic evidence for a long range activity that directs pollen tube guidance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* **7**, 57-64 (1995).
- (26) Jensen, W. A. and D. B. Fisher : Cotton embryogenesis : the entrance and discharge of the pollen tube in the embryosac. *Planta* **78**, 158-183 (1968).
- (27) Kandasamy, M. and U. Kristen : Developmental aspects of ultrastructure, histochemistry and receptivity of the stigma of *Nicotiana sylvestris*. *Am. J. Bot.* **60**, 427-437 (1987).
- (28) Kroh, M. : An electron microscopic study of the behavior of *Cruciferae* pollen after pollination. In H. F. Linskens (ed), *Pollen Physiology and Fertilization*. Horth-Holland Publ. Co., Amsterdam 221pp. (1964).
- (29) Kroh, M., H. Miki-Hirosige, W. Rosen and F. Loewus : Inositol metabolism in plants. *Plant Physiol.* **45**, 86-91 (1970).
- (30) ——— : Incorporation of label into pollen tube walls from myoinositol-labeled *Lilium longiflorum* pistil. *Plant Physiol.* **45**, 92-94 (1970).
- (31) Labarca, C. and F. Loewus : The nutritional role of pistil exudate in pollen tube wall formation in *Lilium longiflorum*. II. Production and utilization of exudate from the stigma and stylar canal. *Plant Physiol.* **52**, 87-92 (1973).
- (32) Lanahan, M. B., H-C Yen, J. J. Giovanni and H. J. Klee : The never ripe mutation blocks ethylene perception in tomato. *Plant Cell* **6**, 521-530 (1994).
- (33) Lind, J. L., I. Boning, A. E. Clarke and M. A. Anderson : A style-specific 120-kDa glycoprotein enters pollen tubes of *Nicotiana glauca* in vivo. *Sex. Plant Reprod.* **9**, 75-86 (1996).
- (34) Lord, E. M. and L. C. Sanders : Roles for the extracellular matrix in plant development and pollination : a special case of cell movement in plants. *Dev. Biol.* **153**, 16-28 (1992).
- (35) Lowe, J. B. : Carbohydrate recognition in cell-wall interaction. In M. Fukuda, Hindsgaul. (eds.), *Molecular glycobiology*. IRL Press, New York, pp. 163-205 (1994).
- (36) Martinez-Palle, E. and M. Herrero : The ponticulus : a structure bridging pollen tube access to the ovule in *Pistacia vera*. *Sex. Plant Reprod.* **8**, 217-222 (1995).
- (37) Mascarenhas, J. P. and L. Machlis : Chemotropic response of *Antirrhinum majus* pollen to calcium. *Nature* **196**, 292-293 (1962 a).
- (38) ——— : The pollen tube chemotropic factor from *Antirrhinum* : bioassay, extraction and partial purification. *Am. J. Bot.* **49**, 482-489 (1962 b).
- (39) 三木壽子 : 花粉の研究 II. *生物科学* **32**, 213-220 (1980).
- (40) Miki-Hirosige, H., I. H. S. Hoek and S. Nakamura : Secretion from the pistil of *Lilium longiflorum*. *Am. J. Bot.* **7**, 1709-1715 (1987).
- (41) Mo, Y., C. Nagel and L. P. Taylor : Biochemical complementation of chalcone synthase mutants defines a role for flavonols in functional pollen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 7213-7217 (1992).
- (42) Mogensen, H. L. : The male germ unit: concept, composition and significance. *Int. Rev. Cytol.* **140**, 129-147 (1992).
- (43) Murdy, W. H. and M. E. B. Carter : Regulation of the timing of pollen germination

- by the pistil in *Talinum mengesii* (Portulacaceae). *Am. J. Bot.* **74**, 1888-1892 (1987).
- (44) Nadeau, J. A., X. S. Zhang, J. Li and S. O'Neill : Ovule development : Identification of stage-specific and tissue-specific cDNAs. *Plant Cell* **8**, 213-239 (1996).
- (45) O'Neil, S. D., J. A. Nadeau, Z. S. Zang, A. Q. Bui and H. Hakvey : Interorgan regulation of ethylene biosynthetic genes by pollination. *Plant Cell* **5**, 419-432 (1993).
- (46) Plyushch, T. A., M. T. M. Willemse, M. A. W. Franssen-Verheijen and M. C. Reinders : Structural aspects of in vitro pollen tube growth and micropylar penetration in *Gasteria verrucosa* (mill) H. Duval and *Lilium longiflorum* thumb. *Protoplasm* **187**, 13-21 (1995).
- (47) Preuss, D., B. Lemieux, G. Yen and R. W. Davis : A conditional sterile mutation eliminates surface components from *Arabidopsis* pollen and disrupts cell signalling during fertilization. *Genes Develop.* **7**, 974-985 (1993).
- (48) Reger, B. J., R. Chaubal and R. Pressy : Chemotropic responses by pearl millet pollen tubes. *Sex Plant Reprod.* **5**, 47-56 (1992 a).
- (49) ——— : *In vitro* chemotropism of pearl millet pollen tubes to stigma tissue: a response to glucose produced in the medium by tissue-bound invertase. *Sex. Plant. Reprod.* **8**, 201-205 (1992 b).
- (50) Russel, I. S. D.: Attraction and transport of male gametes for fertilization. *Sex. Plant Reprod.* **9**, 337-342 (1996).
- (51) Sanders, L. C. and E. M. Lord : Directed movement of latex particles in the gynoecia of three species of flowering plants. *Science* **243**, 1606-1608 (1989).
- (52) Showalter, A. M. : Structure and function of plant cell wall proteins. *Plant Cell* **5**, 9-23 (1993).
- (53) Sommer-Knudsen J, A. E. Clarke and A. Bacic : A galactose-rich, cell-wall glycoprotein from styles of *Nicotiana glauca*. *Plant J.* **9**, 71-83 (1996).
- (54) Theriot, J. A., T. J. Mitchison, L. G. Tilney and D. A. Portnoy : The rate of actin-based motility of intracellular *Listeria monocytogenes* equals the rate of actin polymerization. *Nature* **357**, 257-260 (1992).
- (55) Wang, H. H-M. Wu and A. Y. Cheng : Pollination induces mRNA poly (A) tail-shortening and cell deterioration in flower transmitting tissue. *Plant J.* **9**, 715-727 (1996).
- (56) Watanabe, K. : Studies on the germination of grass pollen I. Liquid exudation of the pollen on the stigma before germination. *Bot. Mag. Tokyo* **68**, 40-44 (1955).
- (57) ——— : The stigma reaction III. Withering of the stigma by pollination in gramineous plants. *Bot. Mag. Tokyo* **71**, 138-143 (1958).
- (58) ——— : Studies on the germination of grass pollen II. Germination capacity of pollen in relation to the maturity of pollen and stigma. *Bot. Mag. Tokyo* **74**, 131-137 (1961).
- (59) Whitehead, C, S., D. W. Fujino and M. S. Reid : Identification of the ethylene precursor, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in pollen. *Scientia Hort.* **21**, 291-297 (1983).
- (60) Willemse M. T. M. and M. A. W. Franssen-Verheijen : Stylar development in the open flower of *Gasteria verrucosa* (Mill.) H. Duval. *Acta. Bot. Neerl.* **33**, 297-309 (1986).
- (61) Willemse, M. T. M., T. A. Plyushch and M. C. Reinders : *In vitro* micropylar penetration of the pollen tube in the ovule of *Gasteria verrucosa* (Mill.) H. Duval, *Lilium longiflorum* Thumb : conditions, attraction and application. *Plant Sci.* **108**, 201-208 (1995).
- (62) Wu, H-M., H. Wang and A. Y. Cheng : A pollen tube growth stimulatory glycoprotein is deglycosylated by pollen tubes and displays a glycosylation gradient in

-
- the flower. *Cell* 82, 393-403 (1995).
- (63) Wu, H-M., Z-T. Zou, B. May, Q. Gu and A. Y. Cheng : A tobacco gene family for flower cell wall proteins with a proline-rich domain and a cysteine-rich domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 6829-6833 (1993).
- (64) Zang, X. S. and S. D. O'Neill : Ovary and gametophyte development are coordinately regulated following pollination by auxin and ethylene. *Plant Cell* 5, 403-418 (1993).
-

