

ŁAGIEWKA PYŁKOWA W TKANKACH SŁUPKA

Pollen tube growth in the pistil

Renata ŚNIEŻKO

Summary. The progamic phase is a period of the pollen tube growth from the stigma, through the pistil tissues to the embryo sac. The effective growth of the pollen tube to the ovule is crucial for the fertilization. During this period selection of the pollen tube genotypes occurs, what has great influence on progeny of the plant and practically on fruit and seed crop. The knowledge about the progamic phase is important to biologists and plant breeders as well, but still physiological mechanism of the processes undergoing between pollen tube and pistil are unexplained. Some enzymes (peroxidase, specific RNA-ase) or glicoproteids are considered as substances involved in recognition, promotion or inhibition of the pollen tube growth. The problem of the pollen tube nutrition during its growth is not clear till now. Very interesting process of the recognition and attraction of specific genotypes from the female and male gametophytes was proved in the experiments, but its mechanism remains obscured.

All these problems are intensely investigated and present paper combines some of the new reports concerning the progamic phase.

Key words: pistil, pollen tube, transmitting tissue, pollen tube tropism, pollen-pistil interactions.

Prof. dr hab. Renata Śnieżko, Instytut Biologii UMCS, Akademicka 19, 20–033 Lublin

WSTĘP

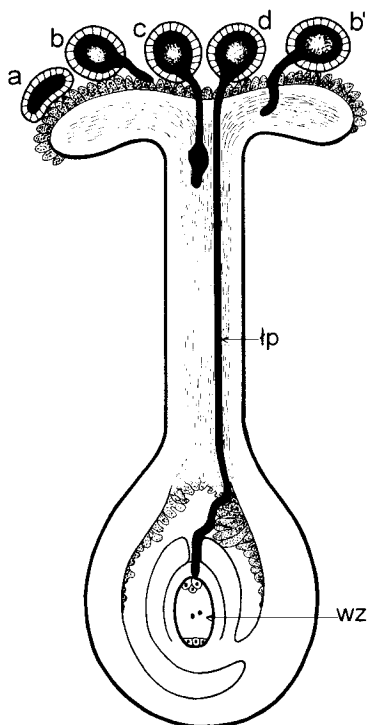
Proces rozmnażania płciowego roślin kwiatowych jest skomplikowany i przebiega w kilku fazach. Uczestniczą w nim ziarna pyłku lub łagiewki pyłkowe jako gametofity męskie oraz słupki, który jest organem żeńskim, ale należy do sporofitu. Wewnątrz tego organu (w zalążni, w zalążku) rozwija się gametofit żeński, czyli woreczek zalążkowy. Jest on okryty tkankami słupka, przez które musi przedostać się łagiewka pyłkowa, by doszło do bezpośredniego kontaktu gametofitu męskiego z żeńskim i zapłodnienia. Wzajemne oddziaływanie tkanek słupka i łagiewki pyłkowej nie zostało jeszcze w pełni poznane mimo intensywnych badań.

Słupki roślin kwiatowych dzieli się na otwarte i zamknięte (ryc. 1 i 2). Słupki zamknięte w centralnej części szyjki są wypełnione tkan-

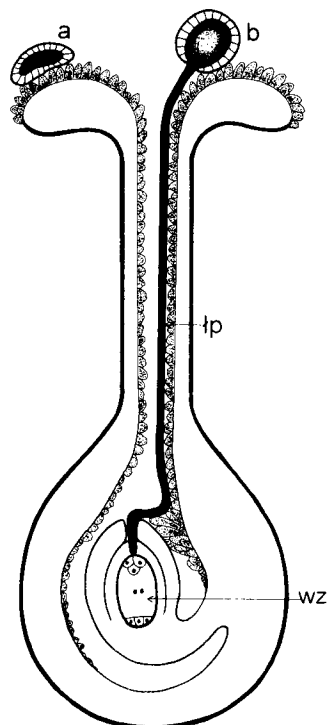
ką transmisyjną. Jest to specjalna tkanka zbudowana z grubościennych, wydłużonych komórek o charakterze wydzielniczym. Łagiewki pyłkowe rosną w niej ku zalążni (ryc. 1d). W słupku otwartym w szyjce jest kanał, którego powierzchnię pokrywa warstwa komórek gruczołowych. Po ścianach tego kanału łagiewki pyłkowe rosną do zalążni (ryc. 2b).

W wyniku zapylenia ziarna pyłku osiadają na znamieniu słupka, gdzie kiełkują w łagiewkę pyłkową. Niektóre nie są zdolne do wykielkowania (ryc. 1a i 2a). Inne ziarna pyłku tworzą łagiewki, które jednak nie dorastają do zalążni (ryc. 1c). Zjawiska takie określa się jako niezgodność między pyłkiem a słupkiem [5, 43].

Procesy kiełkowania ziaren pyłku i wzrostu łagiewki pyłkowej są istotnym etapem w procesie płciowego rozmnażania roślin kwiatowych, gdyż bezpośrednio poprzedzają i warunkują za-



Ryc. 1. Schemat budowy słupka zamkniętego po zapyleniu; a – niezgodne ziarno pyłku na znamieniu, b, b' – kiełkujące ziarna pyłku, c – niezgodna łagiewka, której wzrost został zahamowany pod znamieniem, d – zgodne ziarno pyłku z łagiewką dorastającą do woreczka zalążkowego, lp – łagiewka pyłkowa w tkance transmisyjnej, wz – woreczek zalążkowy w zalążku



Ryc. 2. Schemat budowy słupka otwartego po zapyleniu – w szyjce jest kanał wysłonięty tkanką gruczołową; a – niezgodne ziarno pyłku na znamieniu, b – zgodne ziarno pyłku z łagiewką dorastającą do woreczka zalążkowego; lp – łagiewka pyłkowa rosnąca w kanale szyjki słupka, wz – woreczek zalążkowy w zalążku.

plodnienie. Okres od zapylenia do zapłodnienia nazywa się fazą progamiczną. W tym czasie łagiewka pyłkowa przerasta przez słupek do zalążka i woreczka zalążkowego.

WZAJEMNE RELACJE MIĘDZY SPOROFITEM, A ŁAGIEWKĄ PYŁKOWĄ

Okres rozwoju łagiewki pyłkowej można podzielić na kilka etapów, w których łagiewka znajduje się w otoczeniu różnych tkanek słupka. Tkanki słupka stwarzają warunki sprzyjające wzrostowi jednych łagiewek, a jednocześnie hamujące wzrost innych. Najczęściej do szyjki słupka wraść znacznie więcej łagiewek niż jest dojrzałych zalążków zdolnych do ich przyjęcia. W tkankach słupka dochodzi zarówno do konkurencji między łagiewkami, jak i do ich sele-

kcji. Wynik tej selekcji decyduje o cechach następnego pokolenia, co można wykorzystać w praktyce rolniczej [11, 24, 45, 53, 64, 67].

Oddziaływanie tkanek słupka może być wielorakie, np. mogą one dostarczać substancji odżywczych rosnącym łagiewkom, zapewniać im ochronę i wilgotne środowisko, warunkować kierunek wzrostu, itd. Łagiewki oddzielone od tkanek słupka prawie natychmiast giną. Z kolei łagiewki wpływają na zmiany zachodzące w ultrastrukturze i chemizmie tkanek słupka. Takie wzajemne oddziaływanie ma przypuszczalnie charakter hormonalny i enzymatyczny, co sugerują wyniki analiz biochemicznych [18, 19, 21, 52]. Podczas wzrostu łagiewek pyłkowych następuje synteza białek dzięki aktywacji genów czynnych tylko podczas fazy progamicznej (nieczynnych w dojrzałym ziarnie pyłku przed jego

uwodnieniem i wykiełkowaniem). Ekspresja tych genów przejawia się syntezą specyficznego mRNA i rRNA [25, 45, 54, 58, 59, 60, 88]. Białka syntetyzowane w łagiewce mogą być wydzielane z niej do otaczających tkanek. Potwierdzono to w doświadczeniu *in vitro*, kiedy rozwijające się łagiewki *Clivia nobilis* wydzielają do podłoża białka, jakich nie było w dojrzałym pyłku [95]. Wydzielane białka mają przypuszczalnie charakter enzymatyczny lub hormonalny. Ich oddziaływanie najsilniej przejawia się w bezpośrednim kontakcie łagiewki z komórkami tkanki transmisyjnej; także stosunkowo szybko może uwidocznić się w innych tkankach kwiatu. W tkance transmisyjnej stwierdzono np. u *Petunia* przyspieszone dojrzewanie i wzmoczoną aktywność wydzielniczą w kilka godzin po zapyleniu [38]. Reakcje tkanek szyjki słupka mogą polegać także na zmianach turgoru (efekt więdnienia), hydrolizie blaszek środkowych i ścian komórkowych wokół łagiewek oraz zamieraniem komórek u podstawy szyjki. Reakcje tkanek sporofitowych na obecność łagiewek nie ograniczają się tylko do słupka. U wielu roślin niezapylone kwiaty dłużej pozostają świeże, a po zapyleniu szybko więdną. Po zapyleniu obserwowano następujące zmiany w różnych częściach kwiatu: więdnienie działek kielicha i płatków korony, szybki rozwój tkanki abscysyjnej u ich podstawy, drewnienie lub rozrastanie się komórek mięskiszowych w dnie kwiatowym, a niekiedy rozrastanie się ścian zalążni, chociaż ten ostatni efekt jest wyjątkowy przed zapłodnieniem i prawdopodobnie występuje u roślin częściowo apomiktycznych. U niektórych roślin reakcja na zapylenie i rozwój łagiewek dosięga szypułki kwiatowej i powoduje zmiany położenia kwiatu.

CZAS TRWANIA FAZY PROGAMICZNEJ

Sposób wrastania łagiewki pyłkowej i tempo jej wzrostu zasadniczo są cechami gatunkowymi [2, 47], lecz do pewnego stopnia zależą także od innych czynników takich, jak liczba ziaren pyłku na znamieniu, liczba wrastających łagiewek, dojrzałość tkanek znamienia i tkanki transmisyjnej, warunki atmosferyczne np. temperatura oto-

czenia i wilgotność powietrza, okres jaki upłynął od otwarcia kwiatu [27, 53, 89, 90, 92, 97, 101].

U *Petunia hort.* pyłek kiełkuje na znamieniu stosunkowo szybko, a łagiewka pyłkowa po 30 godzinach dorasta do zalążni [38, 63]. Kiełkowanie pyłku *Cichorium intybus* po zgodnym zapyleniu rozpoczyna się w ciągu 3 minut, a już po 17–20 min. łagiewka osiąga zalążnię [26]. Również u wielu traw łagiewka rośnie bardzo szybko np. u jęczmienia dociera do zalążni po 40 minutach [30]. U większości przedstawicieli *Rosaceae* łagiewki rosną kilka dni, niekiedy z przerwami. Po krzyżowym zapyleniu u róży odmiany *Sonia* pyłek kiełkuje dopiero następnego dnia. Na trzeci dzień większość łagiewek kończy swój wzrost pod znamieniem (ryc. 1), a tylko jedna łagiewka kontynuuje go i na czwarty dzień osiąga zalążnię, zaś piątego dnia wrasta w mikropyle zalążka [93]. U *Prunus persica* wzrost łagiewki jest nieciągły, trwa 7–8 dni. Po 5 dniach od zapylenia następuje zahamowanie wzrostu łagiewki na szczycie obturatora, gdzie pozostaje ona przez 2 dni. Dopiero na trzeci dzień od chwili zahamowania wzrostu wnika do mikropyle zalążka [37].

Okres wzrostu łagiewki pyłkowej musi być dostatecznie długi, by dotarła ona do zalążków najdalej położonych od szyjki słupka. Szczególnie ważne jest to w wydłużonych zalążniach z licznymi zalążkami np. u wiesiołków, ogórka, dyni a także w strąkach fasoli. Stwierdzono, że w takich zalążniach najszybciej rosnące łagiewki zapładniają zalążki położone najbliżej szyjki słupka. Ma to pewien wpływ na wigor następnego pokolenia roślin kiełkujących z nasion związanych w górnej części zalążni. Wpływ położenia zalążków na zapłodnienie przez określone łagiewki jest w znacznym stopniu modyfikowany przez czynnik genetyczny i dojrzałość samych zalążków. Te najbliżej szyjki nie zawsze są najszybciej dojrzewającymi, a niekiedy ich rozwój bywa nawet wyraźnie opóźniony.

DRUGA ŁAGIEWKI W SZYJCE SŁUPKA

Układ tkanek w szyjce słupka stwarza specyficzne warunki, w których rosną łagiewki pyłko-

we. Na ogół obserwuje się bardzo wiele łagiewek rosnących równolegle do siebie w centralnej części szyjki. W słupkach o zamkniętych szyjkach drogę dla łagiewek tworzy pasmo komórek bardzo wyraźnie różniących się od tkanek budujących zewnętrzne części szyjki. Np. w dojrzałym słupku pomidora czy gorczycy centralną część wypełnia szlak wydłużonych komórek gruczołowych, których ściany są napęczniałe, śluzowate, i dodatkowo pokryte wydzieliną. Kształt komórek wydłużonych zgodnie z długą osią szyjki słupka stanowi pewien wyznacznik kierunku wzrostu łagiewek, które rosną wzdłuż rozpulchnionych ścian komórkowych ku załączni [14, 15, 16, 20, 22, 41, 51, 68, 111]. W szyjkach otwartych kanał wyścielają komórki gruczołowe, często przypominające brodawki znamienia. Ich wydzielina stanowi podłoże, w którym rosną łagiewki na powierzchni komórek [8, 17, 20].

W obu typach słupków łagiewki rosną więc w wilgotnym środowisku bogatym w substancje pektynowe, rozpuszczalne polisacharydy i białka, a ponadto korzystają z "podpory", jaką stanowią komórki tkanki transmisyjnej. Panuje powszechne przekonanie, że łagiewki nie mogą rosnąć w otwartej przestrzeni bez kontaktu z komórkami słupka. Tigmotropizm łagiewek potwierdzono w doświadczeniu *in vitro*. Łagiewki *Lilium* hodowano na półpłynnym podłożu z zanurzoną w nim nylonową siateczką; rosły one wzdłuż włókienek i zmieniały kierunek wzrostu o 90° w kątach oczek siatki [42].

DOJRZEWANIE TKANKI TRANSMISYJNEJ

U *Solanaceae* szyjka w centralnej części jest wypełniona tkanką, która początkowo ma charakter merystematyczny, gdyż stanowi miejsce zrastania się owocolistków. Po wykształceniu się szyjki komórki w centralnej części wydłużają się zgodnie z jej długą osią. Ich ściany komórkowe stopniowo grubieją, zaś cytoplazma jest stosunkowo bogata w organelle: mitochondria są aktywne, plastydy w formie amyloplastów z drobnymi ziarnami skrobi, stosunkowo obficie występują cysterny szorstkiego retikulum endoplazmatycznego. Tkanka dojrzewa stopniowo. W cytoplazmie komórek pojawiają się liczne

wakuole, aktywne diktiosomy, zaś retikulum przekształca się w gładkie cysterny i liczne pęcherzyki. Początkowo przez ściany komórkowe przenikają bardzo liczne plazmodesmy, które zanikają podczas dojrzewania tkanki transmisyjnej. Blaszkki środkowe rozpuszczają się, komórki tworzą luźny układ z dużymi przestworami. Zewnętrzne warstwy ścian komórkowych wykazują luźny układ włókienek celulozowych. W miarę dojrzewania tkanki transmisyjnej nasilają się procesy wydzielnicze. W cytoplazmie komórek następują dalsze zmiany. W retikulum endoplazmatycznym i diktiosomach można stwierdzić obecność licznych pęcherzyków ze stosunkowo gęstą zawartością. Podobne pęcherzyki widoczne są po obu stronach plazmolemy. Skupienia substancji uważanej za pochodną zawartości pęcherzyków występują po obu stronach ściany komórkowej. W przestrzeniach międzykomórkowych wydzielina staje się coraz obfitsza i bardziej osmofilna. Takie zmiany ultrastruktury wskazują na wydzielniczy charakter tkanki transmisyjnej [23, 51, 97, 103]. W dojrzałych słupkach tkanka transmisyjna może mieć bardzo luźną strukturę; daje silną reakcję PAS, obfituje więc w polisacharydy, wykazuje też obecność białek. Dzięki swojej strukturze i chemizmowi wydaje się spełniać warunki najbardziej dogodnej drogi dla rosnących łagiewek pyłkowych [83, 94, 98, 99, 103].

U *Sternbergia lutea* szyjka słupka jest pusta, wysłana 2–4 warstwami komórek wydzielniczych. W młodym słupku kanał szyjki pokryty jest ciągłą warstewką kutikuli. W miarę dojrzewania słupka komórki wyścielające kanał nasilają aktywność wydzielniczą. Pod względem ultrastruktury są bardzo podobne do brodawek na znamieniu. W dojrzałym słupku kutikula w kanale pęka w wielu miejscach, a wydzielina wylewa się spomiędzy komórek i wypełnia kanał. Podobnie zbudowana jest szyjka słupka *Trimezia* [8, 9, 17].

U *Gasteria verrucosa* w szyjce słupka występuje kanał, który jest wąski pod znamieniem, a rozszerza się przy załączni. Wyścielają go grubościennne komórki gruczołowe, które dojrzewają stopniowo po otwarciu kwiatu. Łagiewki pyłkowe rosną po ich powierzchni w kierunku za-

lązni. Po przejściu łagiewek zmienia się ultrastruktura tych komórek – w cytoplazmie powstają osmofilne ziarnistości, powiększają się wakuole i wzrasta aktywność mitochondriów. Na powierzchni komórek pojawia się coraz więcej wydzieliny. Po dotarciu do zalążni łagiewki rosną wzdłuż komórek gruczołowych, przypominających brodawki na znamieniu. Tkanka wydzielnicza w pustej szyjce u *Gasteria* jest funkcjonalnym odpowiednikiem tkanki transmisyjnej w zamkniętej szyjce innych roślin. Przypuszczalnie występuje też gradient substancji odżywczych w ścianach komórkowych o luźnej strukturze [23, 105, 106].

PRZEJAWY NIEZGODNOŚCI W SZYJCE SŁUPKA

Na znamieniu kiełkuje na ogół bardzo dużo ziaren pyłku. Większość łagiewek wrasta w tkanki znamienia i kieruje się w dół szyjki słupka, lecz tylko niektóre dorastają do zalążków. U bardzo wielu roślin obserwuje się zahamowanie wzrostu licznych łagiewek tuż pod znamieniem (jak ryc. 1c) tak, że w szyjkę wrasta ich mniej niż wykiełkowało i zagłębiło się w tkankach znamienia [93, 94]. Np. u róż po krzyżowym zapyleniu obserwowano, że większość łagiewek dorastała jedynie do górnej granicy szyjki słupka. Ich wzrost kończył się z objawami uważanymi za reakcje niezgodności. Wierzchołki łagiewek były rozdęte i emitowały silną fluorescencję charakterystyczną dla kalozy (zielonkawę świecenie po barwieniu błękitem anilinowym przy pH 9,5, w świetle UV). Niektóre łagiewki na zakończeniu miały liczne pęcherzykowate rozdęcia przypominające grono. Tylko kilka łagiewek wrastało głębiej w szyjkę słupka, a do zalążni docierała zaledwie jedna łagiewka [jak ryc. 1d]. U klementynki (*Citrus hort.*) zaobserwowano, że łagiewki pyłkowe dorastały jedynie do połowy długości szyjki słupka. Ich zakończenia wyglądały podobnie, jak te pod znamieniem u róży. W tych i kilku innych przypadkach nie wyjaśniono mechanizmu zatrzymania się wzrostu łagiewek [62, 93, 94, 97].

Zazwyczaj liczba rosnących w szyjce łagiewek jest większa niż liczba zalążków w zalązni,

co prowadzi do konkurencji i selekcji męskich gametofitów podczas fazy progamicznej, jednak mechanizm tego zjawiska nie został dotychczas wyjaśniony [36, 64 67].

BIAŁKOWY CHARAKTER REAKCJI NIEZGODNOŚCI W SZYJCE SŁUPKA

Najbardziej wyraźnym przejawem selekcji łagiewek jest zatrzymanie wzrostu większości z nich w szyjce słupka. Prawdopodobnie spowodowane jest to kilkoma różnymi reakcjami, w których uczestniczą substancje o charakterze białkowym [5, 35, 45].

Obecnie poszukuje się w tkankach słupka punktowego lub gradientowego rozmieszczenia specyficznych białek (enzymów lub glikoproteidów), których rola może polegać na rozpoznawaniu niezgodnych łagiewek oraz hamowaniu ich wzrostu [31, 43]. Liczne obserwacje poczynione w szyjkach słupków różnych gatunków roślin wskazują na istnienie wydzielonych miejsc występowania substancji hamujących wzrost łagiewek [62, 97, 109].

Według jednej z hipotez niezgodność jest uwarunkowana przez czynniki białkowe, które blokują kiełkowanie lub wzrost łagiewek pyłkowych. Wydaje się, że blokada ta jest wywołana przez substancje syntetyzowane w komórkach słupka pod kontrolą takich samych alleli genu S jaki występuje w pyłku [1, 19, 46, 61, 75, 82]. Blokującą substancją może być polipeptyd, lub glikoproteid. U *Nicotiana alata* wyizolowano z tkanek szyjki S-glikoproteiny, które w warunkach *in vitro* hamowały kiełkowanie pyłku o kilku różnych genotypach. Stężenie tych glikoprotein w słupku zwiększało się wraz z nasilaniem reakcji niezgodności [31, 44].

U *Petunia inflata* zidentyfikowano 3 allele locus S – kontrolujące samoniezgodność. Związane z allelami S białka są specyficzne dla słupka a ich poziom jest regulowany w trakcie rozwoju łagiewek [1]. Białkom występującym w słupku przy reakcjach niezgodności przypisuje się właściwości enzymów blokujących syntezę lub degradujących RNA w łagiewkach. Powodowałyby to zaburzenie wszystkich procesów metabolicznych i uniemożliwiało dalszy wzrost

łagiewek [43, 61, 75]. Z tą hipotezą polemizują Franklin-Tong i Franklin [31], którzy wywoływali *in vitro* reakcje niezgodności stosując wyciąg ze znamion i szyjek słupków. W wyciągu nie stwierdzono występowania rybonukleaz. Białka odpowiedzialne za reakcje niezgodności powodowały zdaniem autorów kaskadową aktywację kinazy białkowej i defosforylację wielu białek enzymatycznych w łagiewkach, co w rezultacie zahamowuje ich wzrost. Białka słupka nie są bezpośrednimi inhibitorami wzrostu łagiewki, lecz podlegają aktywacji pod wpływem substancji sygnałowych pochodzących z pyłku [25] lub niezgodnej łagiewki [37, 38], dlatego możliwa jest selekcja tylko tych łagiewek, które wywołują reakcję niezgodności, zaś pozostałe łagiewki rosną bez przeszkód. Zatem oddziaływanie tkanek słupka i łagiewek jest wynikiem wzajemnych modyfikacji metabolizmu [5]. Drastyczne zmiany metabolizmu łagiewki prowadzą do zahamowania jej wzrostu [31, 32].

Samoniezgodność lub niezgodność po krzyżowym zapyleniu można zredukować lub znieść przy pomocy kilku sposobów m.in. stosując czynniki ograniczające syntezę białek lub powodujące ich denaturację np. podwyższoną temperaturę. Wypreparowane słupki samoniezgodnej *Pyrus serotina* zanurzone w wodzie destylowanej o temperaturze 45°C na 1,5 - 2 min. Spowodowało to wzrost liczby łagiewek wrastających w szyjkę słupka. Temperatura 40°C nie wpływała pozytywnie na wzrost łagiewek, zaś temperatura 50°C powodowała degenerację komórek szyjki [41]. Podobne wyniki uzyskano u *Persimmon* [33]. Samoniezgodność u *Lilium* została przezwyciężona przez podgrzewanie szyjek słupków do temperatury 45°C przez 5 minut. Po tym zabiegu wzrost niezgodnych łagiewek pyłkowych przebiegał podobnie jak łagiewek zgodnych pod warunkiem, że podgrzewanie zastosowano w krótkim czasie po zapyleniu. Po zadziałaniu podwyższoną temperaturą nie później niż w 2 h po niezgodnym zapyleniu łagiewki dorastały do długości, jaką osiągają łagiewki zgodne. Natomiast, kiedy działanie podwyższonej temperatury zastosowano w 3 do 8 godzin po niezgodnym zapyleniu, łagiewki rosły wolniej. Działanie temperatury w 12 godzin po zapyleniu

nie ma już korzystnego wpływu na wzrost niezgodnych łagiewek pyłkowych, nie znosi reakcji niezgodności zainicjowanych w szyjce słupka. Reakcje te u *Lilium* są inicjowane po 3 godzinach od niezgodnego zapylenia i nasilają się z upływem czasu [40].

Czynnik czasu może działać w ten sposób, że pewne substancje inhibujące kiełkowanie niezgodnego pyłku lub zatrzymujące wzrost niezgodnych łagiewek inaktywują się w tkankach starszych słupków [3]. Jeżeli zabezpieczy się kwiat przed zapyleniem, a zapyli go dopiero po upływie np. dwóch dni (zależnie od biologii kwitnienia w warunkach naturalnych), to można doprowadzić do kiełkowania i wzrostu niezgodnych łagiewek [89, 90, 92].

PEROKSYDAZA JAKO ENZYM MODELOWY W REAKCJACH NIEZGODNOŚCI

Reakcje wzajemnego oddziaływania między pyłkiem i słupkiem wykazują wiele analogii z reakcjami między organizmem gospodarza a patogenem [43, 53]. Białka odpowiedzialne za reakcje niezgodności i samoniezgodności przypuszczalnie są najczęściej enzymami. Jednym z enzymów biorących udział w interakcjach między łagiewkami a tkankami słupka jest peroksydaza. Enzym ten występuje w wielu specyficznych formach i pod tą nazwą należy rozumieć jeden lub zespół izoenzymów o charakterze peroksydazy, którą uznano za modelowy enzym do badania właśnie takich reakcji. Występowanie licznych izoenzymów peroksydazy pozwala na bardzo subtelne zróżnicowanie reakcji i wysoką ich specyficzność, co jest ważne w badaniach niezgodności. U *Nicotiana* [6] znaleziono specyficzny izoenzym peroksydazy w tkance transmisyjnej, aktywny tylko po zapyleniu, przy czym znacznie więcej stwierdzono go po samozapyleniu niż po zapyleniu krzyżowym. Aktywna peroksydaza była zlokalizowana głównie przy plazmolemie komórek, w ich rozpuszczalnych ścianach, a także w przestrzeniach międzykomórkowych. Podobne rozmieszczenie peroksydazy stwierdzono w komórkach tkanki transmisyjnej u *Petunia*. Ten specyficzny izoenzym pojawił się na dzień przed otwarciem kwia-

tu, lecz wtedy był mniej aktywny. Dopiero zapylenie wzmagало jego aktywność [9, 10]. Działanie peroksydazy może polegać na jej udziale w rozpadzie auksyn lub w szlaku metabolicznym odpowiedzialnym za odżywianie łagiewek pyłkowych. Drastyczne obniżenie poziomu auksyny, lub niemożność korzystania z substancji odżywczych w tkankach słupka może spowodować ustanie wzrostu łagiewek. W szyjce słupka *Nicotiana* można znieść reakcję samoniezgodności inaktywując peroksydazę poprzez napromieniowanie słupka dawką 400 – 600 Krad [gamma] [6].

Wydaje się, że analogiczna jest rola aktywnej apoplastycznej peroksydazy, której obecność stwierdzono w szyjkach słupków *Petunia hybrida* i *Primula acualis* charakteryzujących się gametofityczną samoniezgodnością. Obecność i dystrybucja aktywnej peroksydazy była badana w kwiatach: niezapylonych, po samozapyleniu i zapylonych krzyżowo. Zarówno w słupkach kwiatów niezapylonych jak i po krzyżowym zapyleniu wykryto w apoplastycznych przestworach szyjki nieaktywną peroksydazę. Samozapylenie powoduje pojawienie się aktywnej peroksydazy wewnątrz niektórych komórek w peryferyjnych partiach tkanki transmisyjnej oraz w przestworach międzykomórkowych. Wyniki te wskazują, że komórki szyjki słupka mogą rozpoznawać samoniezgodne łagiewki i reagować na ich wzrost poprzez uaktywnienie enzymu [9, 10].

Naświetlenie słupka promieniami UV powoduje zanik aktywności peroksydazy na kilka godzin. W tym czasie może kiełkować własny pyłek, a łagiewki przerastają szyjkę słupka. Użykuje się efekt pseudosamozgodności, który może być pożądaný w pracach hodowlanych. Aktywność peroksydazy pojawia się ponownie po kilku godzinach od naświetlenia, a po 40 godz. jej rozmieszczenie jest takie, jak w słupkach nie naświetlanych. Te dane sugerują, że UV znosi na jakiś czas zdolność do odrzucenia niezgodnych łagiewek pyłkowych, co więcej, zahamowana jest ponowna synteza peroksydazy, która normalnie występuje po samozapyleniu. Łagiewki unikają reakcji odrzucenia, jednak nie mogą one korzystać z rezerw pokarmo-

wych tkanki transmisyjnej, co przejawia się brakiem zmian ultrastruktury komórek; skrobia pozostaje niezhydrolizowana w amyloplastach. Pseudosamozgodność zdaniem autorów polega na tym, że łagiewki nie zostają odrzucone, ale zarazem nie są rozpoznane jako zgodne [10]. Być może naświetlenie UV znosi aktywność nie tylko enzymów odpowiedzialnych za samoniezgodność, lecz także tych, które biorą udział w innych reakcjach metabolicznych tkanki transmisyjnej. Wyniki tych doświadczeń dowodzą, że niezgodność i samoniezgodność zanika, lub przynajmniej maleje, kiedy w słupku zmniejszona jest ilość białek lub zniesiona aktywność enzymów - czynników potencjalnie blokujących kiełkowanie pyłku.

Nie zawsze wzrost łagiewki w szyjce słupka jest blokowany reakcją samoniezgodności. Występuje niezgodność międzygatunkowa lub międzyodmianowa, dzięki której zachowana jest izolacja seksualna taksonów [29]. Np. krzyżowanie kilku gatunków i odmian *Rhododendron* wykazało, że istotna jest zdolność łagiewki do wrastania na odpowiednią odległość w szyjkę słupka. W pewnych kombinacjach nie udało się doprowadzić do zapłodnienia, gdyż łagiewki pochodziły z gatunku krótkoszyjkowego i nie mogły przerosnąć długiej szyjki w kwiatach innego gatunku. Jednocześnie łagiewki gatunku długoszyjkowego dorastały do załączni gatunku krótkoszyjkowego, ale nie wrastały do mikropyle załączków. Były bardzo długie, błdziły po ścianach załączni i tam kończyły swój wzrost [108]. Podobne obserwacje opisano po samo- i krzyżowym zapyleniu u *Dianthus* [2].

Eeckenbrugge (1990) twierdzi, że zahamowanie wzrostu niektórych łagiewek w szyjce słupka *Cichorium intybus* (*Compositae*) nie jest spowodowane reakcjami niezgodności zależnymi od tkanki transmisyjnej, lecz wywołane interakcjami między wrastającymi w szyjkę łagiewkami. Prezentowana hipoteza przypisuje te negatywne interakcje dyfuzji substancji wydzielanych z rosnących łagiewek. Autor przypuszcza, że podobne substancje mogą być wydzielane już podczas kiełkowania ziaren pyłku i powodować ich rozrywanie na znamieniu. Podobnie pękają łagiewki w środowisku zawierającym wysoki

poziom auksyn. Auksyny zmieniają przepuszczalność plazmolemy łagiewki; zostaje zaburzony transport jonów, szczególnie wapniowych, co powoduje pęcznienie i pękanie jej wierzchołka [26].

Specyficzny system samoniezgodności obserwuje się w rodzaju *Dendrobium*. Około 72% gatunków tego rodzaju wykazuje samosterylność, a także niezgodność po zapyleniach międzygatunkowych. Samo- i międzygatunkowa niezgodność wyraża się odpadaniem kwiatów, a nie zahamowaniem kiełkowania łagiewek pyłkowych lub zakłóceniami ich wzrostu. Tłumaczy się to zjawisko wpływem wysokiej zawartości auksyn w polliniach i rosnących łagiewkach. Auksyny wydzielane są do tkanek słupka, skąd migrują do innych organów, co powoduje gwałtowne starzenie się kwiatów. W pewnych zapyleniach krzyżowych występuje ponadto reakcja niezgodności kontrolowana przez niektóre komórki znamienia nazwane eleuterocytami [48].

TROPIZMY ŁAGIEWEK PYŁKOWYCH

CHEMOTROPIZM

W szyjce słupka łagiewka pyłkowa rośnie szczytowo w kierunku zalążni. Nasuwa się przypuszczenie, że musi działać jakiś czynnik, od którego zależy to ukierunkowanie. Mogłyby to być chemotropowe substancje wydzielane przez zalążki, lub gradient związków odżywczych, czy też gradient jonowy rosnący bądź malejący wzdłuż szyjki słupka. Nieaktualny jest już pogląd, że takim czynnikiem jest gradient tlenu – dostęp tlenu powinien maleć im głębiej wrasta łagiewka. Mogłoby to stanowić przyczynę zahamowania wzrostu łagiewek wrażliwych na niedostatek tlenu. Taki wniosek nasunęły obserwacje licznych łagiewek z wyraźnie rozdętymi końcami, które zatrzymują się na pewnym poziomie w szyjce słupka [87]. Jednak w szyjkach otwartych gradient tlenu na pewno nie występuje i nie może modyfikować wzrostu łagiewek.

Według Elleman i Dickinsona [28] kierunek wzrostu łagiewki pyłkowej na znamieniu jest wyznaczony przez gradient uwodnienia – łagiewka rośnie ku środowisku bardziej wilgotnemu.

Wrasta pod powierzchnię znamienia, gdzie nie jest narażona na wyschnięcie. Dalsza droga w szyjce słupka prowadzi po powierzchni lub między komórkami tkanki transmisyjnej. Dojrzałość tej tkanki może decydować o wzroście łagiewek pyłkowych. U moreli dojrzałość tkanki transmisyjnej w szyjce może być opóźniona w stosunku do okresu receptywności znamienia. Jeżeli zapylenie nastąpi zaraz po otwarciu kwiatu, to wrastanie łagiewek jest wolniejsze, a w konsekwencji zmniejszone zawiązywanie owoców [27].

U kilku roślin znaleziono charakterystyczne substancje występujące w szyjce słupka tylko podczas wzrostu łagiewek pyłkowych, lub pojawiające się na krótko przed zapyleniem. U *Solanum chacoense* na dzień przed otwarciem kwiatu pojawiają się specyficzne białka zasadowe [109]. Jednak nie udało się wykazać gradientu stężeń żadnej z wykrytych substancji, zatem jest mało prawdopodobne, by pełniły rolę chemotaktyczną [1, 31, 41, 44, 50, 61, 66].

W doświadczeniach prowadzonych na *Nicotiana glauca* badano w warunkach *semi-vivo* i *in vitro* czy zalążnia wpływa na kierunek wzrostu łagiewki, czy też szyjka jest tylko dogodnym szlakiem bez gradientu tropicznego. W omawianych eksperymentach wprowadzono pyłek do nacięcia znajdującego się w połowie szyjki słupka. Usunięcie zalążni lub odwrócenie szyjki nie spowodowało wyraźnych zmian we wzroście łagiewek, nie obserwowano również różnic w długości łagiewek rosnących w kierunku zalążni lub w kierunku znamienia. Świadczyłoby to, że czynniki podtrzymujące wzrost łagiewek są rozmieszczone równomiernie na całej długości szyjki słupka, a zalążnia nie wywiera chemotaktycznego wpływu [50]. Brak gradientu chemotropicznego stwierdzono również w kanale szyjki słupka *Lilium*, a także w mikropyle zalążków wyłożonych na pożywkę [47, 57, 104].

W zalążni z dojrzałymi do zapłodnienia zalążkami można spodziewać się czynników tropicznych. Linskens [53] opisuje zmiany w składzie RNA, aminokwasów i białek w homogenizacie z zalążków przed zapyleniem i po zapyleniu, ale jeszcze przed zapłodnieniem [53]. De-

urenberg [63] także znalazł różnice w metabolizmie białek w zalążni *Petunia* w godzinę po zapyleniu, podczas gdy do zapłodnienia trzeba około 30 godzin. Autorzy zwracają uwagę, że jakieś substancje mogą być wydzielane z synergid i komórek operkulum zalążka [71, 96]. Sygnałem chemotaktycznym mogą być substancje powstające na skutek degeneracji jednej z synergid, co następuje w czasie, gdy łagiewki przerażają szyjkę słupka [12, 13, 57].

In vitro wykazano tropizm łagiewek *Pennisetum* ku wyciągom z dojrzałej zalążni. Z wyciągu wyizolowano substancję wywołującą ukierunkowany wzrost łagiewek. Jest to glikoproteid o niskiej masie cząsteczkowej i kwaśnym odczynie (14,4 kDa, pH 4,9). Substancja ta jest przypuszczalnie wydzieliną komórek osłonki zewnętrznej, które wyścielają drogę do mikropyle i mają charakter gruczołowy. Po nich łagiewka rośnie w kierunku woreczka zalążkowego [74]. Łagiewki pyłkowe *Haemanthus catherinae* wykazują wyraźny tropizm ku tkankom znamienia lub zalążni w warunkach *in vitro* (własne obserwacje).

W dojrzałym woreczku zalążkowym na biegunie mikropylarnym znajdują się dwie synergidy. Podczas ich dojrzewania początkowo w cytoplazmie występuje obficie szorstkie retikulum endoplazmatyczne, które stopniowo zmienia charakter na gładkie. W dojrzałych synergidach cytoplazma zawiera liczne pęcherzyki, a niekiedy także wiele diktiosomów. Podobne zmiany ultrastruktury obserwuje się w różnych komórkach wydzielniczych u roślin. W partiach szczytowych synergid wykształca się aparat włókienkowy. Stanowią go ściany komórkowe o rozluźnionej strukturze. Podobnie jak ściany komórek tkanki transmisyjnej, aparat włókienkowy daje silną reakcję PAS. Rozbudowane operkulum i synergidy z aparatem włókienkowym stanowią swoisty szlak prowadzący do komórki jajowej, trudno jednak *in situ* zidentyfikować substancje chemotaktyczne, które mogłyby tu być wydzielane [13, 66, 69, 100].

ELEKTROTROPIZM

W zalążniach wielu roślin ze względów technicznych trudno zmierzyć różnice potencjału

elektrycznego między podstawą szyjki słupka a mikropyle zalążka, lub między tkanką ściany zalążni a aparatem włókienkowym woreczka zalążkowego.

U *Capsicum* i *Camellia* stwierdzono różnice potencjałów wynoszącą około 100 mV między tkankami znamienia a zalążnią, przy czym zalążnia wykazywała ładunek ujemny [65, 111]. *In vitro* wykazano, że łagiewki niektórych gatunków roślin reagują zmianą kierunku wzrostu pod wpływem pola elektrycznego. Łagiewki *Impatiens* i *Nicotiana* rosną w kierunku dodatniego bieguna pola elektrycznego, a łagiewki *Vinca* i *Narcissus* w kierunku ujemnego bieguna [102].

Łagiewki *Agapanthus umbellatus* w polu elektrycznym o natężeniu wynoszącym 750 mV mm⁻¹ licznie kierowały się ku katodzie, a kierunek wzrostu można było odwrócić zmieniając położenie elektrod. Zmianę wywoływały bodźce elektryczne stosowane przez 5 min. z przerwami 20-minutowymi. Zmiany w stężeniu glukozy znacznie modyfikowały reakcje łagiewek na działanie pola elektrycznego, co wiąże się z udziałem glukozy w pompach jonowych i z jej wpływem na przepuszczalność plazmolemy. Pole elektryczne wywołuje ruch jonów w otoczeniu łagiewki pyłkowej, co prowadzi do otwierania kanałów wapniowych w plazmolemie oraz do zmiany potencjału jonowego wewnątrz łagiewki. Zmiana potencjału jonowego związana jest głównie z transportem Mg²⁺, K⁺, Na⁺ i Cl⁻. Mechanizm oddziaływania pola elektrycznego na reakcję tropiczną łagiewki nie polega na jej bezpośrednim przyciąganiu lub odpychaniu jako komórki o pewnym ładunku elektrycznym. Zmienia się natomiast jej potencjał jonowy, co warunkuje zmianę polaryzacji łagiewki poprzez zmianę jej metabolizmu. Taki wpływ pola elektrycznego stwierdzono także w innych komórkach roślinnych, gdzie wyraźnie zaznaczyła się wzajemna zależność poziomu Ca²⁺, K⁺ i Mg²⁺, a także modulujący wpływ stężenia glukozy w komórkach i w środowisku [39, 56, 77, 86, 102, 110].

KONCENTRACJA JONÓW WAPNIA JAKO CZYNNIK TROPICZNY.

Wartość pola elektrycznego w tkance roślin-

nej związana jest z koncentracją oraz stopniem dysocjacji różnych jonów. Dotychczas najczęściej uwagi w badaniach nad tkanką transmisyjną i łagiewkami pyłkowymi poświęcono jonom Ca^{+2} [4, 5, 12, 13, 34, 70, 84, 85]. Przypuszcza się, że mogą być one czynnikiem tropicznym dla łagiewek, chociaż mechanizm ich oddziaływania nie jest całkowicie wyjaśniony. Zgodnie z wynikami badań Bednarskiej [4, 5] Ca^{+2} są pobierane przez rosnącą łagiewkę. Podwyższone stężenie Ca^{+2} wokół wierzchołka łagiewki tłumaczy się uwalnianiem tych jonów do otoczenia. Podwyższoną koncentrację Ca^{+2} stwierdzono w całym pasmie tkanki transmisyjnej [50, 57, 85]. Przypuszcza się, że wzrost łagiewki pyłkowej związany jest z gradientem Ca^{+2} . Koncentracja Ca^{+2} zmienia się w zakresach mikromolarnych, a powstający gradient jest bardzo subtelny i trudny do zmierzenia, niemniej jednak jest on wystarczający do regulacji wzrostu łagiewek. Doświadczalnie wykazano, że poziom Ca^{+2} niezbędny do utrzymania prawidłowego wzrostu łagiewki *Zea mays* jest nieco niższy niż poziom stymulujący kiełkowanie pyłku. Natomiast w przypadku łagiewek *Pennisetum glaucum* uzyskano przeciwne wartości. U obu gatunków różnice są tak niewielkie, że skomponowanie odpowiednich pożywek do hodowli łagiewek *in vitro* sprawia trudności [63, 70, 74].

Na podstawie badań cytochemicznych stwierdzono różnice koncentracji Ca^{+2} w tkankach dojrzałej zaląźni *Pennisetum glaucum*. Okazało się, że najczęściej Ca^{+2} jest w bogatym w polisacharydy i oligosacharydy płynie wypełniającym przestwory międzykomórkowe i kanał mikropylarny zalążka. W synergidach szczególnie wysokie stężenie Ca^{+2} stwierdzono w aparacie włókienkowym i w cysternach reticulum endoplazmatycznego. Poza tym wyższą koncentrację Ca^{+2} niż w pozostałych częściach zaląźni obserwowano w plazmolemie i w przestworach międzykomórkowych w pasmie komórek między woreczkiem zalążkowym a mikropyle, a także na powierzchni komórek osłonek w kanale mikropylarnym [12, 13, 74]. Tropiczne oddziaływanie gradientu wapniowego jest bardzo prawdopodobne w świetle doświadczeń *in vitro*, wykazujących, że łagiewki kiełkujące z rozsia-

nego na całej szalce pyłku rosły w kierunku pasma o wyższym stężeniu jonów wapniowych [Linskens – informacja ustna, 7].

Zmieniające się stężenie Ca^{+2} zostało stwierdzone w wielu tkankach roślinnych i coraz więcej badań potwierdza rolę wapnia w aktywacji niektórych enzymów czynnych w kilku szlakach metabolicznych, które decydują o morfogenezie i wzajemnym rozpoznawaniu się komórek [34, 49, 53]. W reakcjach współoddziaływania tkanek słupka i łagiewki pyłkowej rola Ca^{+2} prawdopodobnie jest zróżnicowana zależnie od miejsca w słupku i zaawansowania fazy progamicznej [4, 43, 45, 61].

WPLYW ZALAŻKÓW NA KIERUNEK WZROSTU ŁAGIEWEK

Po przerośnięciu szyjki łagiewki rosną po ścianie zaląźni lub po łożysku. W zaląźni *Lycopersicon*, *Cucumis sativus* i *Monotropa* łagiewki rozpraszają się po łożysku, które w tym stadium rozwoju jest pokryte komórkami gruczołowymi i śluzową wydzieliną. Śluz ułatwia łagiewkom rozchodzenie się do poszczególnych zalążków. Podobne warunki panują w zaląźniach roślin dwu- i jednoliściennych [61, 66, 69, 91]. W zaląźni *Gasteria* łagiewki rosną po łożysku lub po ścianie zaląźni [107].

Sposób wrastania łagiewki do zalążka zależy niekiedy od jego stopnia rozwoju. Do zalążków *Populus nigra* łagiewki pyłkowe mogą wrastać przez funiculus lub mikropyle. Kiedy zalązek jest młody łagiewki rosną wzdłuż sznureczka i wrastają w chalazę. Natomiast do dojrzałego zalążka wrastają od strony mikropylarnej, jakby były przywabiane przez gotowy do zapłodnienia woreczek zalążkowy. Według autorów zmiana kierunku wzrostu łagiewki pyłkowej sugeruje, że początkowo chalaza może wykazywać chemotropową aktywność w stosunku do łagiewki [100].

Zachowanie łagiewek w zaląźni *Juglans regia*, jest także zależne od stanu dojrzałości pojedynczego, ortotropowego zalążka. W kwiatach z niedojrzałym zalążkiem znamię jest mało receptywne i kiełkowanie pyłku jest hamowane. Niektóre łagiewki jednak zaczynają wrastać w tkanki słupka. Między zalążkiem a ścianą zaląźni

jest duża wolna przestrzeń, niemożliwa do pokonania dla łagiewek. Wzrost ich następuje wzdłuż powierzchni skrzydełkowatych wyrostków wykształcających się u podstawy zalążka. Te wyrostki pełnią rolę podobną jaką pełni obturator. Łagiewki pyłkowe rosną ku podstawie zalążka wzdłuż sznureczka i wrastają do zalążka przez chalazę. W późniejszym okresie rozwoju kwiatu w zalążni znajduje się już dojrzały duży zalążek. W części mikropylarnej ma on rozrośnięte osłonki, które ściśle przylegają do podstawy szyjki słupka. Komórki na szczycie osłonek mają charakter wydzielniczy i przypominają brodawkę na znamieniu. W tym przypadku łagiewka pyłkowa wrasta bezpośrednio z szyjki słupka do operkulum utworzonego przez osłonki zalążka i dociera do woreczka zalążkowego od strony mikropyle [55].

Wykazano pewne bariery niezgodności w zalążni na granicy mikropyle, bądź woreczka zalążkowego. Np. u *Capsicum* w krzyżówkach między białą i fioletową kwitnącymi gatunkami łagiewki pewnych gatunków są zdolne do wrastania aż do woreczka zalążkowego i do zapłodnienia komórki jajowej, ale zjawisko to nie zachodzi przy przeciwnym kierunku krzyżowania [111].

Bardzo dokładnie badano wzajemny wpływ genotypów łagiewki oraz zalążków w różnych kombinacjach zapylania międzygatunkowego u *Oenothera*. Genotyp łagiewki ma duży wpływ na tempo kielkowania i wzrostu łagiewki oraz na jej długość. Stwierdzono wyraźne preferencje do tworzenia się określonych połączeń kompleksów genetycznych w pokoleniu F₁, co dowodzi wybiórczego zapłodnienia i selekcji genotypów [72, 73, 76, 80, 81]. Doświadczenie wykazało wzajemne przyciąganie się określonych kompleksów genetycznych, ale nie wykluczyło dodatkowego, modyfikującego wpływu innych niż genetyczne czynników np. stanu dojrzałości słupka a szczególnie stanu dojrzałości zalążków [62, 67, 78, 79].

PODSUMOWANIE

Upłynęło ponad 170 lat od odkrycia kielkowania łagiewek pyłkowych dokonanego przez

G. B. Amiciego w 1824 roku. Od tego czasu nasza wiedza o fazie progamicznej znacznie się poszerzyła. Udowodniono wzajemne oddziaływanie tkanek słupka i rosnącej łagiewki oraz wzajemny wpływ gametofitów jeszcze zanim się one bezpośrednio skontaktują. Efektem jest wybiórcze zapłodnienie dowiedzione np. u *Oenothera*, *Rhododendron* i *Cucurbita pepo* convar. *giromantiina* [81, 91, 108]. Fizjologiczny mechanizm tych oddziaływań nadal pozostaje niewyjaśniony, mimo określenia roli pewnych enzymów. Nie znamy także jednoznacznej odpowiedzi czy łagiewki podczas wzrostu są samożywne, czy też korzystają z substancji zawartych w tkankach słupka [53].

Wiedza na temat fazy progamicznej jest rozwijana głównie przez embriologów i fizjologów roślin, lecz ma duże znaczenie dla hodowców nowych odmian uprawnych. Znajomość współzależności między słupkiem a łagiewką pyłkową pozwala na kontrolowanie procesu zapłodnienia, dzięki któremu możliwe jest polepszenie plonu nasion i owoców lub zwiększenie wigoru roślin mieszańcowych.

LITERATURA

- [1] AI Y., SINGH A., COLEMAN E. C., IOERGER T. R., KHEYR-POUR A., 1990. Self-incompatibility in *Petunia inflata*: isolation and characterization of cDNA encoding three S-allele-associated proteins. *Sex Plant Reprod.* 3: 130–138.
- [2] AIZEN M. A., SEARCY K. B., MULCAHY D. L. 1990. Among and within flower comparisons of pollen tube growth following self- and cross-pollination in *Dianthus chinensis* (Caryophyllaceae). *Am. J. Bot.* 77(5): 671–676.
- [3] ASCHER P. D., PELOQUIN S. J. 1966. Effect of floral aging on the growth of compatible and incompatible pollen tubes in *Lilium longiflorum*. *Amer. J. Bot.* 53: 90–102.
- [4] BEDNARSKA E. 1988. Wpływ jonów Ca²⁺ na wzrost łagiewek pyłkowych i syntezę kalozy łagiewkowej – badania z użyciem ⁴⁵Ca²⁺ oraz regulatorów wewnątrzkomórkowego poziomu wapnia. *Mechanizmy regulacji morfo-genezy układów roślinnych*. IV Ogólnopolska Konferencja Rogów, 9–10 VI 1988: 97.
- [5] BEDNARSKA E. 1992. Interakcje międzykomórkowe podczas płciowego rozmnażania roślin kwiatowych. *Postępy Biol. Kom.* 19(4): 293–310.
- [6] BREDEMEIJER G. M. M. 1984. The role of peroxidase in pistil-pollen interactions (review). *Theor. Appl. Genet.* 68: 193–206.
- [7] BREWBAKER J. L., KWACK B. H. 1963. The essential

- role of calcium ion in pollen germination and pollen growth. *Am. J. Bot.* **50**: 859–865.
- [8] BYSTEDT P.-A. 1988. The stylar transmitting tissue of *Trimezia fosteriana* (Steym) *Iridaceae*. W: CRESTI M., GORI P., PACINI E. (red.), *Sexual Reproduction in Higher Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokio. ss. 464.
 - [9] CARRARO L., GEROLA P. G., LOMBARDO G., GEROLA F. M. 1989. Peroxidase activity and gametophytic incompatibility: bud-pollination in *Petunia hybrida*. *Caryologia* **42**(3–4): 225–234.
 - [10] CARRARO L., GEROLA P. D., LOMBARDO G., GEROLA F. G. 1990. Pseudo-self-compatibility in ultraviolet irradiated plants of *Primula acualis*. *J. Cell Sci.* **95**: 659–665.
 - [11] CHARLESWORTH D., CHARLESWORTH B. 1992. The effects of genetic load of selection in the gametophyte stage. W: OTTAVIANO E., MULCAHY D. L., SARI-GORLA M., BERGAMINI-MULCAHY G. (red.), *Angiosperm pollen and ovules*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokio. ss. 401–407.
 - [12] CHAUBAL R., REGER B. J. 1990. Relatively high calcium is localized in synergid cells of wheat ovaries. *Sex. Plant Reprod.* **3**: 98–102.
 - [13] CHAUBAL R., REGER B. J. 1992. Calcium in the synergid cells and other regions of pearl millet ovaries. *Sex. Plant Reprod.* **5**: 34–46.
 - [14] CIAMPOLINI F., CRESTI M., KAPIL R. N. 1983. Fine structural and cytochemical characteristics of style and stigma in olive. *Caryologia* **36**(3): 211–230.
 - [15] CIAMPOLINI F., CRESTI M., SARFATTI G., TIEZZI A. 1981. Ultrastructure of the stylar canal cells of *Citrus limon* (*Rutaceae*). *Plant Syst. Evol.* **138**: 263–274.
 - [16] CIAMPOLINI F., SHIVANNA K. R., CRESTI M. 1988. The structure and cytochemistry of the pistil of *Hypericum calycinum*: the style. *Sex. Plant Reprod.* **1**: 248–255.
 - [17] CIAMPOLINI F., SHIVANNA K. R., CRESTI M. 1990. The structure and cytochemistry of the pistil of *Sternbergia lutea* (*Amaryllidaceae*). *Ann. Bot.* **66**: 703–712.
 - [18] CLARKE A. E. 1989. Style self-incompatibility gene products of *Nicotiana glauca* are ribonucleases. *Nature* **342**: 955–957.
 - [19] CLARKE A. E., ANDERSON M. A., ATKINSON A., BACIC A., EBERT P. R., JAHNEN W., LUSH M., MAU S.-L., WOODWARD J. R. 1989. Recent developments in the molecular genetics and biology of self-incompatibility. *Plant Mol. Biol.* **23**: 267–271.
 - [20] CLIFFORD S. V., OWENS J. 1990. The stigma style and ovarian transmitting tract in the *Oncidinae* (*Orchidaceae*) – morphology, developmental anatomy and histochemistry. *Bot. Gaz.* **151**(4): 440–451.
 - [21] CORNISH E. C., ANDERSON M. A., CLARKE A. E. 1988. Molecular aspects of fertilization in flowering plants. *Cell Biol.* **4**: 209–228.
 - [22] CRESTI M., CIAMPOLINI F., SANSAVINI S. 1980. Ultrastructural and biochemical features of pistil of *Malus communis*; the stylar transmitting tissue. *Sci. Hort.* **12**: 327–337.
 - [23] CRESTI M., VAN WENT J. L., PACINI E., WILLEMSE M. T. M. 1976. Ultrastructure of transmitting tissue of *Lycopersicon peruvianum* style: development and histochemistry. *Planta* **132**: 305–312.
 - [24] DAVIS L. E., STEPHENSON A. G., WINSOR J. A. 1987. Pollen competition improves performance and reproductive output of the common Zucchini squash under field conditions. *J. Amer. Soc. Sci.* **112**(4): 712–716.
 - [25] DULBERGER R. 1990. Release of proteins from the pollen wall of *Linum grandiflorum*. *Sex. Plant Reprod.* **3**: 18–22.
 - [26] ECKENBRUGGE G. C. 1990. The progamic phase in *Cichorium intybus* L. Pollen tube growth in the style, incompatibility reaction and gametophytic competition. *Euphytica* **48**: 17–23.
 - [27] EGEA J., BURGOS L., GARCIA J. E., EGEA L. 1991. Stigma receptivity and style performance in several apricot cultivars. *J. Hort. Sci.* **66**(1): 19–25.
 - [28] ELLEMAN C. J., DICKINSON H. G. 1990. The role of the exine coating in pollen-stigma interactions in *Brassica oleracea* L. *New Phytol.* **114**: 514–518.
 - [29] ELLIS M. F., SEDGLEY M., GARDNER J. A. 1991. Interspecific pollen – pistil interaction in *Eucalyptus* L'Her (*Myrtaceae*). Effect of taxonomic distance. *Ann. Bot.* **68**: 185–194.
 - [30] ENGELL K. 1988. Embryology of Barley: synergids and egg cell, 26 zygote and embryo development. W: CRESTI M., GORI P., PACINI E. (red.), *Sexual Reproduction in Higher Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokio. ss. 383–388.
 - [31] FERRARI T., WALLACE D. 1981. Isolation of the plant-glyco- protein involved with control of intercellular recognition. *Plant Physiol.* **67**: 270–277.
 - [32] FRANKLIN-TONG V. E., FRANKLIN F. CH. H. 1992. Gametophytic self-incompatibility in *Papaver rhoeas* L. *Sex. Plant Reprod.* **5**: 1–7.
 - [33] FUKUI H., DEMACHI M., YAMADA M., NAKAMURA M. 1990. Effect of temperature and cross- and self-pollination on pollen tube growth in styles of Japanese *Persimmon* "Nishimurawase". *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* **59**(2): 275–280.
 - [34] GILROY S., BETHKE P. C., JONES R. L., 1993. Calcium homeostasis in plants. *J. Cell Sci.* **106**: 453–462.
 - [35] HARING V., GRAY J. E., McLURE B. A., ANDERSON M. A., CLARKE A. E. 1990. Self-incompatibility as a model of cell-cell recognition in plants. *Science* **250**: 937–941.
 - [36] HARTE C. 1984. Genetic control of the development of the haploid generation. *Acta Soc. Bot. Pol.* **53**: 279–295.
 - [37] HERRERO M., ARBELOA A. 1989. Influence of the pistil on pollen tube kinetics in peach (*Prunus persica*). *Amer. J. Bot.* **76**(10): 1441–1447.
 - [38] HERRERO M., DICKINSON H. G. 1980. Pollen tube growth following compatible and incompatible interspecific pollination in *Petunia hybrida*. *Planta* **148**: 217–221.
 - [39] HESLOP-HARRISON J. S., REGER B. J. 1986. Chloride and potassium ions and turgidity in the grass stigma. *J. Plant Physiol.* **124**: 55–60.
 - [40] HIRATSUKA S., TEZUKA T., YAMAMOTO Y. 1989. Analysis of self-compatibility reaction in Easter Lily by

- using heat treatments. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **114**(3): 505–508.
- [41] HIRATSUKA S., TOMITA A. 1989. Incompatible pollen tube growth and protein composition in styles of Japanese pear following high temperature treat. *Euphytica* **43**: 191–196.
- [42] HIROUCHI T., SUDA S. 1975. Tigmtotropism of lily pollen tubes. *Plant cell Physiol.* **16**: 337–341.
- [43] HOGENBOOM N. G. 1983. Bridging a gap between related fields of research: pistil-pollen relationship and the distinction between incompatibility and incongruity... *Phytopathology* **73**(3): 381–383.
- [44] IOERGER T. R., GOHLKE J. R., XU B., KAO F. H. 1991. Primary structural features of the self-incompatibility protein in Solanaceae. *Sex. Plant Reprod.* **4**: 81–87.
- [45] JACKSON J. F., LINSKENS H. F. 1990. Bioassay for incompatibility. *Sex. Plant Reprod.* **3**: 207–212.
- [46] JAHNEN W., LUSH W., CLARKE A. E. 1989. Inhibition of in vitro pollen tube growth by glycoproteins of *Nicotiana glauca*. *Plant Cell* **1**: 501–510.
- [47] JANSON J. 1988. Placental pollination of *Lilium longiflorum* to study pollen tube growth. W: CRESTI M., GORI P., PACINI E. (red.), *Sexual Reproduction in Higher Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokio. ss. 475.
- [48] JOHANSEN B. 1990. Incompatibility in *Dendrobium* (Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* **103**: 165–196.
- [49] KACPERSKA A. 1988. Rola wapnia w regulacji wzrostu i rozwoju roślin. W: *Mechanizmy regulacji morfogenezy układów roślinnych*, IV Ogólnopolska Konferencja, Rogów, 9–10 VI 1988.
- [50] KANDASAMY M. K., KRISTEN U. 1987. Pollen tube growth in the style of *Nicotiana sylvestris* is neither influenced by the ovary nor directed by a gradient. *J. Plant Physiol.* **131**: 495–500.
- [51] KANDASAMY M. K., KRISTEN U. 1990. Developmental aspects of ultrastructure and histochemistry of the stilar transmitting tissue of *Nicotiana sylvestris*. *Bot. Acta* **109**: 384–391.
- [52] KNOX R. B. 1984. Pollen-pistil interactions. W: LINSKENS H. F., HESLOP-HARRISON J. (red.), *Cellular interactions* Springer, Berlin, ss. 508–608.
- [53] LINSKENS H. F. 1988. Present status and future prospects of sexual reproduction research in higher plants. W: CRESTI M., GORI P., PACINI E. (red.), *Sexual Reproduction in Higher Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokio. ss. 451–457.
- [54] LU J., MAYER A., PICKERSGILL B. 1990. Stigma morphology and pollination in *ARACHIS* L. (Leguminosae). *Ann. Bot.* **66**: 73–82.
- [55] LUZA I. G., POLITO V. S. 1991. Porogamy and chalazogamy in walnut (*Juglans regia* L.). *Bot. Gaz.* **152**(1): 100–106.
- [56] MALHO R., FEIJO J. A., PAIS M. S. 1992. Effect of electrical fields and external ionic currents on pollen-tube orientation. *Sex. Plant Reprod.* **5**: 57–63.
- [57] MASCARENHAS J. P. 1978. Sexual chemotaxis and chemotropism in plants. W: HAZELBAUER G. L., (red.), *Receptors and Recognition*. Chapman and Hall, London. ss. 171–203.
- [58] MASCARENHAS J. P. 1989. The male gametophyte of flowering plants. *The Plant Cell* **1**: 657–664.
- [59] MASCARENHAS J. P. 1990. Gene activity during pollen development. *Annu. Rev. Plant Physiol. - Plant Mol. Biol.* **41**: 317–38.
- [60] MASCARENHAS J. P., STINSON J. R., WILLING R. P., PE M. E. 1986. Genes and their expression in the male gametophyte of flowering plants. W: MULCAHY D. L., BERGAMINI-MULCAHY G., OTTAVIANO F. (red.), *Biotechnology and ecology of pollen*. Springer, New York, ss. 39–44.
- [61] MAU S.-L., WILLIAMS E. G., ANDERSON M. A., CORNISH E. C., GREGO B., SIMPSON R. J., KHEYR-POUR A., CLARKE A. E. 1986. Style proteins of a wild tomato (*Lycopersicon peruvianum*) associated with expression of self-incompatibility. *Planta* **169**: 184–191.
- [62] MULCAHY D. L., CURTIS P. S., SNOW A. A. 1983. Pollen competition in a natural population. W: JONES C. E., LITTLE R. J. (red.), *Experimental Pollination Biology*. Sci. and Acad. 330–337.
- [63] MULCAHY G. B., MULCAHY D. L. 1985. Ovarian influence on pollen tube growth, as indicated by the semi-vivo technique. *Am. J. Bot.* **72**: 1078–1080.
- [64] MULCAHY D. L., MULCAHY G. B. 1987. The effects of pollen competition. *Amer. Sci.* **75**: 44–50.
- [65] NAKAMURA N., FUKUSHIMA A., IWAYAMA H., SUZUKI H. 1991. Electrotropism of pollen tubes of *Camellia* and other plants. *Sex. Plant Reprod.* **4**: 138–143.
- [66] OLSON A. R. 1991. Gynoecial pathway for pollen tube growth in the genus *Monotropa*. *Botanical Gazette* **152**: 2.
- [67] OTTAVIANO E., SARI-GORLA M., FROVA C. 1988. Male gametophytic selection in higher plants. W: CRESTI M., GORI P., PACINI E. (red.), *Sexual Reproduction in Higher Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokio. ss. 35–42.
- [68] OWENS J., McGRATH S., FRASER A., FOX L. R. 1984. The anatomy, histochemistry and ultrastructure of stigmas and styles in *Commelinaceae*. *Ann. Bot.* **54**: 591–603.
- [69] PECK C. J., LERSTEN M. R. 1991. Gynoecial ontogeny and morphology and pollen tube pathway in Black Maple, *Acer saccharum* ssp. *nigrum* (Aceraceae). *Amer. J. Bot.* **78**(2): 247–259.
- [70] PICTON J., STEER M. W. 1983. Evidence for the role of Ca^{2+} ions in tip extension in the pollen tubes. *Protoplasma* **115**: 11–17.
- [71] PLYUSHCH T. J. 1992. On the problem of synergids function in angiosperms. W: BATYGINA T. B. (red.), *Embryology and seed reproduction – XI International Symp.* St. Petersburg – Nauka. ss. 433–434.
- [72] QUASADA M., SCHLICHTING C. D., WINSOR J. A., STEPHENSON A. G. 1991. Effects of genotype on pollen performance in *Cucurbita pepo*. *Sex. Plant Reprod.* **4**: 208–214.
- [73] QUASADA M., WINSOR J., STEPHENSON A. G. 1993. Effects of pollen competition on progeny performance in a heterozygous cucurbit. *Amer. Natur.* **142**, **4**: 694–706.
- [74] REGER B. J., CHAUBAL R., PRESSEY R. 1992. Chemo-

- tropic responses by pearl millet pollen tubes. *Sex. Plant Reprod.* **5**: 47–56.
- [75] REIJNEN W. H., VAN HERPEN M. M. A., DE GROOT P. F. M., OLMEDILLA A., SCHRAUWEN J. A. M., WETERINGS K. A. P., WULLEMS G. J. 1991. Cellular localization of a pollen-specific mRNA by situ hybridization and confocal laser scanning microscopy. *Sex. Plant Reprod.* **4**: 254–257.
- [76] RICHARDSON T. E., STEPHENSON A. G. 1992. Effects of parentage and size of the pollen load on progeny performance in *Campanula americana*. *Evolution* **46**(6): 1731–1739.
- [77] ROBINSON K. R. 1985. The response of cells to electrical fields: a review. *J. Cell Biol.* **101**: 2023–2027.
- [78] ROCHA O. J., STEPHENSON A. G. 1990. Effect of ovule position on seeds production in *Phaseolus coccineus* L. *Amer. J. Bot.* **77**(10): 1320–1329.
- [79] ROCHA O. J., STEPHENSON A. G. 1991. Order of fertilization within the ovary in *Phaseolus coccineus* (Leguminosae). *Sex. Plant Reprod.* **4**: 126–131.
- [80] SCHLICHTING C. D., STEPHENSON A. G., DAVIS L. E., WINSOR J. A. 1987. Pollen competition and offspring variance. *Evolutionary Trends in Plants* **1**(1): 35–39.
- [81] SCHWEMMLE J. 1968. Selective fertilization in *Oenothera*. *Adv. Genetics.* **14**: 225–323.
- [82] SEDGLEY M. 1975. Flavonoids in pollen and stigma of *Brassica oleracea* and their effects on pollen germination in vitro. *Ann. Bot.* **39**: 1091–1095.
- [83] SHIVANNA K. R., CIAMPOLINI F., CRESTI M. 1989. The structure, and cytochemistry of the pistil of *Hypericum calycinum*: the stigma. *Ann. Bot.* **63**: 613–620.
- [84] SINGH A., PAOLILLO D. J. jr. 1990. Role of calcium in the callose response of self-pollinated *Brassica* stigmas. *Amer. J. Bot.* **77**(1): 128–133.
- [85] SINGH A., PERDUE T. D., PAOLILLO D. J. Jr. 1989. Pollen-pistil interactions in *Brassica oleracea*: cell calcium in self and cross pollen grains. *Protoplasma* **151**: 57–61.
- [86] SPERBER D. 1984. Das Wachstum Pflanzlicher Zellen und Organe im Magnetischen und Elektrischen Feld. Konstanzer Dissertationen Nr. 51. Konstanz, Hartung, Gorre.
- [87] STANLEY R. G., LINSKENS H. F. 1967. Oxygen tension as a control mechanism in pollen tube rupture. *Science* **157**: 833.
- [88] STEER M. V., STEER J. W. 1989. Pollen tube tip growth. *New Phytol.* **23**: 323–358.
- [89] STEPHENSON A. G., LAU F. C., QUASADA M., WINSOR J. 1992. Factors that affect pollen performance. W: WYATT R. (red.), *Ecology and evolution of plant reproduction*. Chapman and Hall Co. New York, ss. 119–136.
- [90] STEPHENSON A. G., WINSOR J., RICHARDSON T. E., SINGH A., Kao T-H. 1992. Effects of style age on the performance of self- and cross pollen in *Campanula rapunculoides*. W: OTTAVIANO E., MULCAHY D. L., SARI-GORLA M., BERGHAMINI-MULCAHY G. (red.), *Angiosperms pollen and ovules* Springer, Berlin ss. 117–121.
- [91] STEPHENSON A. G., WINSOR J. A., SCHLICHTING C. D. 1988. Evidence for non-random fertilization in the common zucchini, *Cucurbita pepo*. W: CRESTI M., GORI P., PACINI E. (red.), *Sexual Reproduction in Higher Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokio. ss. 333–338.
- [92] STODDARD F. L. 1986. Floral viability and pollen tube growth in *Vicia faba*. *J. Plant Physiol.* **123**: 249–262.
- [93] ŚNIEŻKO R., VISSER T., PIJNACKER-HORDIJK J., DUBOIS L. 1988. Wiązanie nasion i wzrost łagiewek pyłkowych po zapyleniu róż odm. "Sonia" pyłkiem "Red Success". IV Konferencja Embryologów Rastlin, Zvolen. ss. 57–59.
- [94] ŚNIEŻKO R., WINIARCZYK K. 1991. Pollen tube growth in the pistils of some *Cruciferae*. *Acta Univ. N. Copernici* (w druku).
- [95] TANG PEI-HUA, ZHU YING-MIN. 1988. Nucleic acid and protein synthesis and release during development of male gametophyte (MG) of *Clivia nobilis* in vitro. W: CRESTI M., GORI P., PACINI E. (red.), *Sexual Reproduction in Higher Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokio. ss. 485.
- [96] TILTON V. R., PALMER R. G., WILCOX L. W., ALBERTSEN C. 1984. Stigma, style and obturator of soybean. *Amer. J. Bot.* **71**(5): 676–686.
- [97] TISNE-AGOSTINI D., ORSINI A. 1990. L'incompatibilité pollinique chez le clementinier: observation in vivo de la croissance des tubes polliniques. *Agronomie* **10**: 525–532.
- [98] UWATE W. J., LIN J., RYUGO K., STALLMAN V. 1982. Cellular components of the mid stilar transmitting tissue of *Prunus avium*. *Can. J. Bot.* **60**: 98–104.
- [99] VASIL K. 1974. The histology and physiology of pollen germination and pollen tube growth on the stigma and in the style. W: LINSKENS H. F. (red.), *Fertilization in higher plants*. NorthHolland, Amsterdam ss. 105–118.
- [100] VILLAR M., GAGET M., DUMAS C. 1987. The route of the pollen tube from stigma to ovule in *Populus nigra*: a new look. *Ann. Sci. For.* **44**(2): 259–264.
- [101] VISSER T., ŚNIEŻKO R., MARCUCCI C. M. 1988. The effect of pollen load on pollen tube performance in apple, pear and rose styles. W: CRESTI M., GORI P., PACINI E. (red.), *Sexual Reproduction in Higher Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokio. ss. 75–80.
- [102] WANG C., RATHORE K. S., ROBINSON K. R. 1989. The response of pollen to applied electrical fields. *Dev. Biol.* **136**: 405–410.
- [103] WEBB M. C., WILLIAMS E. G. 1987. The pollen tube pathway in the pistil of *Lycopersicon peruvianum*. *Ann. Bot.* **61**: 415–423.
- [104] WELK M., MILLINGTON W. F., ROSEN W. G. 1965. Chemotropic activity and the pathway of the pollen tube in *Lyli*. *Amer. J. Bot.* **52**: 774–781.
- [105] WET DE E., ROBERTSE P. J., COETZEE J. 1990. Ultrastructure of the stigma and style *Mangifera indica* L. *S-Afr. Tydsk. Plant* **56**(2): 206–213.
- [106] WILLEMSSE M. T. M., FRANSSEN-VERHEIJEN M. A. W. 1986. Stylar development in the open flower of *Gaste-*

- ria verrucosa* (Mill.) H. Duval. *Acta Bot. Neerl.* **35**(3), 297–309.
- [107] WILLEMSE M. T. M., FRANSSEN-VERHEIJEN M. A. W. 1988. Ovular development and pollen tube growth in the ovary of *Gasteria verrucosa* (Mill.) H. Duval. as condition for fertilization. W: CRESTI M., GORI P., PACINI E. (red.), *Sexual Reproduction in Higher Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokio. ss. 357–362.
- [108] WILLIAMS E. G., ROUSE J. L. 1988. Disparate style lengths contribute to isolation of species *Rhododendron*. *Aust. J. Bot.* **36**: 183–191.
- [109] XU B., GRUN P., KHEYPOUR A., KAO T. H. 1990. Identification of pistil-specific proteins associated with three selfincompatibility alleles in *Solanum chacoense*. *Sex. Plant Reprod.* **3**: 54–60.
- [110] ZEJLEMAKER F. C. J. 1956. Growth of pollen tubes in vitro and their reaction on potential differences. *Acta Bot. Neerl.* **5**: 179–186.
- [111] ZIJLSTRA S., PURIMAHUA C., LINDHOUT P. 1991. Pollen tube growth in interspecific crosses between *Capsicum* species. *Hort. Science* **26**(5): 85–86.