

· 综述 ·

# 被子植物受精过程中细胞骨架的动态变化

邱义兰<sup>1,2</sup>, 刘如石<sup>1</sup>, 田惠桥<sup>2</sup>

(1. 湖南师范大学 生命科学学院, 中国湖南 长沙 410081, 2. 厦门大学 生命科学学院 细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室, 中国福建 厦门 361005)

摘要: 系统地总结了被子植物受精过程中某些重要事态的细胞骨架的动态变化及其生物学意义。

关键词: 受精; 细胞骨架; 动态

中图分类号: Q949.32

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2005)02-0105-05

## Dynamic Alterations of Cytoskeleton During Fertilization Process in Angiosperms

QIU Yi-lan<sup>1,2</sup>, LIU Ru-shi<sup>1,2</sup>, TIAN Hui-qiao<sup>2</sup>

(1. College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 410081, Hunan, China; 2. The Key Laboratory of Education Ministry for Cell Biology and Tumor Cell Engineering, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)

**Abstract:** Changes of cytoskeleton in some important process during fertilization and its biological significance are comprehensively summarized.

**Key words:** fertilization; cytoskeleton; dynamic changes

(*Life Science Research*, 2005, 9(2): 105 ~ 109)

被子植物广义的受精始于花粉落在柱头上。在亲和条件下, 花粉在柱头上萌发, 形成的花粉管通过花柱、胎座、珠孔等雌蕊组织进入胚囊退化的助细胞, 在其中释放包含两个精细胞的内含物, 两个精细胞转移至受精靶区分别与卵细胞和中央细胞融合, 从而完成双受精过程。普遍存在于细胞中的微丝和微管细胞骨架与花粉萌发、花粉管生长、生殖细胞和精细胞运动等过程密切相关。因此, 研究被子植物受精过程中细胞骨架动态是受精作用中的一个重要内容。

由于花粉管便于培养和操作, 花粉管中的胞

质环流和细胞器运动非常明显, 使之成为研究植物细胞骨架的模式材料。近十几年来, 不断有新的有关花粉管细胞骨架的综述总结其研究成果<sup>[1-3]</sup>。然而, 胚囊被层层体细胞包围, 难以对其进行操作, 对胚囊细胞骨架的研究相对落后。近年来, 随着研究技术的不断改进使该方面取得了新的进展。本文对被子植物受精过程中一些重要事态的细胞骨架的动态变化进行系统总结。

### 1 花粉萌发过程中细胞骨架的动态变化

花粉经水合和活化后, 花粉内壁及部分细胞

收稿日期: 2004-12-16; 修回日期: 2005-01-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30170060)

作者简介: 邱义兰(1973-), 女, 湖南涟源人, 湖南师范大学讲师, 博士, 主要从事植物生殖生物学研究, Tel: +86-0731-8872451, E-mail: yilanqiu@126.com; 田惠桥(1955-), 男, 甘肃宁夏人, 厦门大学教授, 博士, 博士生导师, 通讯作者, 主要从事植物发育生物学研究, Tel: +86-0592-2186486, E-mail: hqtian@jingxian.xmu.edu.cn.

质从萌发孔或萌发沟向外突出的过程称为花粉萌发。微丝在花粉萌发过程中发生了明显变化。早在 20 世纪 80 年代, Heslop-Harrison 等<sup>[4]</sup>就观察到, 英地百合未萌发的花粉中肌动蛋白以梭形颗粒聚集贮存, 花粉刚开始萌发时则变成丝状, 花粉萌发后, 这种肌动蛋白丝在花粉管中排列成精细的微丝网络。最近, 李岩等<sup>[5]</sup>对麝香百合花粉萌发过程中微丝的变化进行了详尽观察, 发现花粉刚开始水合时微丝骨架主要存在于生殖细胞及营养核附近; 花粉即将萌发时微丝在萌发沟处形成纵向的微丝束; 花粉管形成后微丝主要以微丝束的方式沿花粉管连续纵向排列, 这些微丝束从花粉粒延伸至花粉管内, 同时花粉粒内存在明显的微丝网络。任东涛等<sup>[6]</sup>在麝香百合花粉中未发现贮存形式的编码肌动蛋白的 mRNA, 花粉萌发过程中也无编码肌动蛋白的 mRNA 重新合成, 即没有肌动蛋白的重新合成, 从而推测萌发花粉中网状结构的肌动蛋白形式是由储存形式的肌动蛋白转变而来的。

在所调查的被子植物中, 70% 为二胞型花粉和 30% 为三胞型花粉。二胞花粉的贮藏寿命、生活力和萌发能力均强于三胞花粉<sup>[7]</sup>。该差异与花粉萌发过程中微丝的状态有关。如属于三胞型的小麦花粉在充满水分还未萌发时, 微丝都早已聚集在萌发孔周围, 因此萌发很快, 假如花粉因缺水而变干时, 这些微丝结构便受到破坏, 从而影响萌发<sup>[8]</sup>。而属于二胞型花粉的西洋梨花粉, 微丝在花粉水合后才向萌发孔聚集<sup>[9]</sup>。因此二胞花粉可以抗御多轮干、湿循环而不影响其萌发, 但三胞花粉则不能。

微管在花粉萌发过程中也发生显著变化。采用免疫荧光技术, 在经冰冻断裂法去除细胞壁得到的西洋梨干花粉原生质的营养细胞质中未检测到微管。培养在正常培养基中的西洋梨干花粉营养细胞质中立即重现微管, 首先在周质中靠近质膜的功能域附近出现短束和分散的荧光, 表明该区域存在高浓度的未组装的微管。随着花粉的进一步活化, 出现更多的并具很多分枝的微管。花粉萌发后, 微管形成一个网络状充满花粉整个营养细胞质<sup>[10]</sup>。

因此, 花粉萌发过程中微丝和微管细胞骨架均发生变化, 这些变化对花粉的萌发可能具有调节作用。

## 2 花粉管生长过程中细胞骨架的动态变化

### 2.1 花粉管细胞骨架

早在 20 世纪 70 年代, 有研究者就发现微丝和微管是花粉管细胞质的结构成分<sup>[11]</sup>。随着植物细胞免疫化学及相关研究方法的发展, 可观察到微丝与微管在花粉管中的分布方式。李岩等<sup>[5]</sup>通过化学固定及 TRITC 标记的鬼笔碱定位微丝, 经共聚焦激光扫描显微镜观察发现, 花粉管中的微丝主要呈束状连续纵向排列。Kost 等<sup>[12]</sup>用标记微丝骨架的绿色荧光蛋白基因结合鼠 Talin 基因蛋白的短暂表达, 也证实了花粉管中的微丝具有相似的分布。然而, 微丝在花粉管顶端的存在方式不同研究者持不同的观点。早期的研究者认为, 微丝在花粉管顶端构成浓密的网络<sup>[13, 14]</sup>。最近, 用显微注射和活体观察发现, 花粉管顶端并不存在明显的微丝网络<sup>[15]</sup>。生长的花粉管顶端存在一个明显的  $Ca^{2+}$  梯度<sup>[16-18]</sup>。花粉管顶端微丝缺乏可能与该区域的高  $Ca^{2+}$  浓度有关。有关动物细胞研究证明了高浓度  $Ca^{2+}$  使 F- 肌动蛋白解聚和抑制其聚合<sup>[19, 20]</sup>。在植物体中也发现高浓度  $Ca^{2+}$  使花粉管中的 F- 肌动蛋白断裂<sup>[21]</sup>。有研究者进一步发现, 花粉管顶端存在一个类似于  $Ca^{2+}$  梯度的 G- 肌动蛋白梯度, 咖啡因处理使  $Ca^{2+}$  梯度和 G- 肌动蛋白梯度消失, F- 肌动蛋白延伸至花粉管顶端, 从而推测花粉管顶端的高  $Ca^{2+}$  使大部分的 F- 肌动蛋白解聚成 G- 肌动蛋白, 使该区域缺乏 F- 肌动蛋白束<sup>[22]</sup>。

花粉管中的微管主要与花粉管纵轴平行的方向分布在周质中。通过共聚焦激光扫描显微镜对花粉管纵轴进行连续光切片观察发现, 微管在这些区域主要存在于花粉管的质膜下面。但在花粉管顶端 10 ~ 20  $\mu\text{m}$  的区域内, 微管却不再仅仅分布于周质中, 而且也不再彼此平行排列, 而是形成相互交错的立体的微管网络, 同时每个微管的末端都紧密地与花粉管顶端的质膜连接在一起<sup>[5]</sup>。但在烟草幼嫩的花粉管顶端区只观察到微管单体或寡聚体, 推测微管的发源地可能位于花粉管亚顶端区<sup>[23]</sup>。

花粉管中的微丝与微管存在共分布现象。Pierson 等<sup>[24]</sup>用荧光标记的微管抗体和罗丹明-鬼笔环肽微丝探针, 观察到烟草花粉管中的微管与微丝的共分布现象。后来, Lancelle 和 Hepler<sup>[25]</sup>用免疫胶体金双标记微管与微丝的细胞化学定位, 进一

步证实了烟草花粉管中的微丝与许多周边微管平行排列。李岩等<sup>[5]</sup>对微管和微丝进行荧光双标,结合共聚焦激光扫描显微镜观察到百合花粉管内存在微管与微丝共分布的现象,但这种共分布主要存在于花粉管的质膜下,而且也仅仅是少数微管与微丝相互平行排列,花粉管内多数微丝并不与微管平行排列。在微管与微丝的共分布中,微管为微丝提供机械支持作用,二者协同完成细胞内的运动。

## 2.2 花粉管生长与细胞骨架

花粉管生长是只限于顶端的极性生长,即由高尔基体产生的分泌小泡不断融合到花粉管顶端的质膜上,为花粉管的伸长提供新的质膜和细胞壁成分<sup>[26-28]</sup>。生长的花粉管中存在活跃的胞质环流。微丝与花粉管胞质环流密切相关。用微丝药物如松胞素 B 或 D 处理花粉管使花粉管中的微丝解聚,胞质环流停止,表明微丝为胞质环流提供轨道<sup>[11, 21]</sup>。在生长的花粉管中,胞质环流具有双向流动的特点。而花粉管中双向的胞质环流要求花粉管中的微丝双向排列<sup>[29]</sup>。Tominaga 等<sup>[30]</sup>在根毛中观察到 F-肌动蛋白呈双向排列,认为 F-肌动蛋白的极性与根毛细胞中的胞质环流一致。最近, Li 等<sup>[22]</sup>用三种肌动蛋白标记技术观察到花粉管的微丝骨架主要以迂回的 F-肌动蛋白束存在,甚至还发现一些连续的迂回的 F-肌动蛋白,它们可以在两个方向排列,从而形成花粉管中细胞器双向运输的轨道。

花粉管的顶端生长主要是通过肌动蛋白-肌球蛋白动力系统起作用。免疫细胞化学研究表明,分泌小泡、细胞器、生殖细胞和营养核表面存在肌球蛋白<sup>[31, 32]</sup>。在离体实验中,从花粉管中分离的细胞器能沿轮藻肌动蛋白纤维移动<sup>[21]</sup>,从而间接证明了花粉管中的细胞器也能沿肌动蛋白纤维运动。在花粉管生长中,肌动蛋白微丝与肌球蛋白相互作用,将 ATP 的化学能转变为机械能,使花粉管胞质产生流动,从而把高尔基体产生的小泡运输到花粉管顶端<sup>[33]</sup>。

虽然有关微管对花粉管生长的确切功能不清楚,但已有的研究表明,微管和微管马达蛋白对控制花粉管的极性具有重要的作用<sup>[34, 35]</sup>。一些研究发现微管马达蛋白,如驱动蛋白在花粉管顶端存在,并与高尔基体衍生的小泡结合,因此认为在小泡结合质膜之前,微管-驱动蛋白结合体有助于小泡定位于花粉管顶端<sup>[36, 37]</sup>。另一类微管马达蛋

白为动力蛋白,它能转变 ATP 的化学能成为细胞器沿微管运动的机械运动。

花粉管内共同存在微丝与微管,它们在花粉管生长中可能以某种方式协同发生作用。例如在动物上皮细胞中,分泌小泡首先由微管运送至上皮细胞的周质部分,然后再由微丝运至目的地<sup>[38]</sup>。花粉管中微丝与微管可能也是通过以上的方式共同对花粉管生长起作用。

## 2.3 精细胞-生殖细胞在花粉管中的运动与细胞骨架

在花粉管中,精细胞-生殖细胞与营养核总是保持物理连结而形成雄性生殖单位<sup>[39]</sup>。在雄性生殖单位中,精细胞与营养核之间没有直接的膜的融合,而两个精细胞之间由一横壁结合,且两个精细胞共同被营养细胞的内质膜所包围。在这个内质膜上分布许多肌球蛋白<sup>[40]</sup>。肌球蛋白有多种异构体,它们具有不同的功能,肌球蛋白 I 参与精细胞与生殖细胞运动,而肌球蛋白 IV 和 V 与花粉管细胞器结合参与花粉管的伸长<sup>[41]</sup>。在花粉管细胞质中纵向排列丰富的 F-肌动蛋白纤维。因此,精细胞-生殖细胞在花粉管中的运动主要是通过肌动蛋白-肌球蛋白动力系统起作用。

精细胞-生殖细胞在花粉管中的运动通过依赖于 ATP 的肌动蛋白-肌球蛋白动力系统还可从另一方面得到验证。松胞素 B 可抑制花粉管中雄性生殖细胞的运动,它是通过使花粉管营养细胞质中的微丝解聚和抑制 ATP 的消耗而起作用,这两者是肌动蛋白-肌球蛋白动力系统为基础的运动所必须的因素<sup>[42]</sup>。

## 3 胚囊受精过程中细胞骨架的动态变化

胚囊是花粉管生长的终点,雌雄性细胞融合的场所。在受精过程中雌性生殖细胞的细胞骨架发生很大的变化,这些变化与花粉管的到达、助细胞的退化和受精过程中配子的融合是相互协调的,因此可认为对受精起着重要的作用。

胚囊受精过程中细胞骨架的一个重要变化是肌动蛋白冠的形成。最初在不具有助细胞的白花丹的研究中发现,授粉后花粉管进入胚囊的过程中,肌动蛋白束聚集在花粉管生长途径附近和精细胞传送部位,结果在卵细胞与中央细胞之间的受精靶区形成“冠状”结构<sup>[43]</sup>。后来,在具有两个助细胞的烟草<sup>[44]</sup>、玉米<sup>[45, 46]</sup>、蓝猪耳<sup>[46, 47]</sup>和兰花<sup>[48]</sup>等植物的研究中发现,授粉后至受精前,在胚囊退

助细胞、以及卵细胞和中央细胞之间出现两条明显的肌动蛋白冠<sup>[44]</sup>。肌动蛋白冠的出现是被子植物受精过程中的一个普遍现象。

肌动蛋白冠的形成主要是助细胞微丝的贡献。成熟胚囊助细胞珠孔端的微丝一般与细胞长轴平行分布,而合点端则是随机分布,授粉后数小时,这些微丝开始断裂成片段,然后解聚成肌动蛋白聚集在助细胞的合点端。与此同时,由于助细胞的退化,部分肌动蛋白渗透到助细胞与卵细胞和中央细胞之间<sup>[44, 46]</sup>。胚囊受精过程中卵细胞微丝也发生很大变化,首先是珠孔端的膜下微丝片断化和解聚,结果聚集成一条明显的肌动蛋白带,从而推测这条带是冠状冠的一个组成部分,在花粉管释放内含物后,冠状带变得更为浓密<sup>[46, 47]</sup>。中央细胞微丝在受精过程中也发生类似的变化,这种肌动蛋白的动态变化可能涉及次生核的移动。对蓝猪耳中央细胞受精过程中不同阶段的微丝动态研究表明,授粉前,微丝在成熟的中央细胞周质中呈短束状随机分布。在授粉发生后不久,分布在珠孔端的微丝发生片断化,此时次生核与卵器相邻。受精后,初生胚乳细胞核从卵细胞处移开,在初生胚乳细胞中微丝又重组形成清晰的网络结构。用 LAT-A 和细胞松弛 B 破坏微丝骨架,可极大抑制中央细胞中核的迁移<sup>[49]</sup>。

因此,肌动蛋白冠的形成对使卵细胞核和中央细胞核相互靠近配子融合部位,并使两个精细胞核分别与相应的雌配子核融合具有重要作用。

然而,精细胞由花粉管释放出来后又是怎样运动到融合地点?曾有研究者根据胚囊受精前后形成的肌动蛋白冠假设它与精子起作用而把它带到融合地点<sup>[40]</sup>。肌动蛋白是与肌球蛋白作用而产生动力。但是精细胞表面不存在肌球蛋白。当精细胞一旦由花粉管释放到胚囊中就与营养核分离,失去花粉细胞的内质膜,其表面仅为精细胞质膜。而肌球蛋白仅存在于花粉细胞的内质膜上,在精细胞质膜上没有肌球蛋白<sup>[50, 51]</sup>。根据白花丹精细胞和带有负电荷的小胶珠沿丽藻节间细胞中的肌动蛋白束移动,同时电泳分析表明精细胞表面带有负电荷。从而推测肌球蛋白可被物体表面的负电荷所吸附,当精细胞从花粉管中释放后,虽然精细胞膜表面没有肌球蛋白,但其表面的负电荷可从助细胞的细胞质中获得可溶性肌球蛋白,它们与肌动蛋白冠相互作用而运动至融合部位<sup>[50]</sup>。但是这一假设至今没有进一步的实验证据来验证。因

此精细胞是怎样运动到受精靶区是植物生殖生物学中一个至今尚没有解决的难题。

#### 4 结语

被子植物的受精过程与细胞骨架的活动密切相关。由于花粉管易于操作,同时具有活跃的胞质环流,使花粉管成为研究细胞骨架的模式材料。相对于花粉管而言,胚囊细胞骨架的研究非常有限。随着一些细胞骨架蛋白和基因的鉴定和研究技术的改进,雌雄配子体细胞骨架的研究已开始深入分子水平,这对了解被子植物受精过程中细胞骨架的动态和生物学意义具有非常重要的意义。

#### 参考文献 (References):

- [1] PIERSON E S, CRESTI M. Cytoskeleton and cytoplasmic organization of pollen and pollen tubes[J]. *Int Rev Cyto*, 1992, 140: 73-125.
- [2] LI Y Q, MOSCATELLI A, CAI G, *et al.* Functional interactions among cytoskeleton, membranes and cell wall in the pollen tube of flowering plants[J]. *Int Rev Cytol*, 1997, 176: 133-199.
- [3] RAUDASKOSKI M, ASTROM H, LAITAINEN E. Pollen tube cytoskeleton: structure and function[J]. *J Plant Growth Regul*, 2001, 20: 113-130.
- [4] HESLOP-HARROSON J, HESLOP-HARRISON Y, CRESTI M, *et al.* Actin during pollen germination[J]. *J Cell Sci*, 1986, 86: 1-8.
- [5] 李岩, 阎隆飞, 徐是雄. 百合花粉及花粉管内微丝和微管的分布[J]. *植物学报* (LI Yan, YAN Long-fei, XU Shi-xiong. Distribution of F-actin and microtubules in pollen and pollen tube of *Lilium davidii* [J]. *Acta Bot Sin*), 1998, 40 (10): 890-894.
- [6] 任东涛, 韩生成, 阎隆飞. 百合花粉萌发过程中的肌动蛋白和肌球蛋白的研究[J]. *科学通报*, (REN Dong-tao, HAN Sheng-cheng, YAN Long-fei. Studies of actin and myosin in pollen germination and tube growth of *Lilium davidii* [J]. *Chin Sci Bull*). 1998, 43 (5): 514-519.
- [7] BREWBAKER J L. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms[J]. *Amer J Bot*, 1967, 54: 1069-1083.
- [8] HESLOP-HARROSON J, HESLOP-HARRISON Y. Intracellular motility, the actin cytoskeleton and germinability in the pollen of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Sex Plant Reprod*, 1992, 5: 247-255.
- [9] TIWARI S C, POLITO V S. Organization of the cytoskeleton in pollen tube of *Pyrus communis*: a study employing conventional and freeze-substituted electron microscopy, immunofluorescence, and rhodamine-phalloidin[J]. *Protoplasma*, 1998, 147: 100-112.
- [10] TIWARI S C, POLITO V S. The initiation and organization of

- microtubules in germination pear (*Pyrus communis* L.) pollen [J]. *Eur J Cell Biol*, 1990, 53: 384-389.
- [11] FRANKE W W, HERTH W, van der WOUDE W J, *et al.* Tubular filamentous structures in pollen tubes: possible involvement as guide elements in protoplasmic streaming and vectorial migration of secretory vesicles[J]. *Planta*, 1972, 105: 317-341.
- [12] KOST B, SPIELHOFER P, CHUA N H. A GFP-mouse talin fusion protein labels plant actin filaments *in vivo* and visualizes the actin cytoskeleton in growing pollen tubes[J]. *Plant J*, 1998, 16: 393-401.
- [13] PICTON J M, STEER M W. A model for the mechanism of tip extension in pollen tubes [J]. *J Theor Bio*, 1982, 98: 15-20.
- [14] PIERSON E S. Rhodamine-phalloidin staining of F-actin in pollen after dimethyl-sulphoxide permeabilization[J]. *Sex Plant Reprod*, 1988, 1: 83-97.
- [15] MILLER D D, LANCELE S A, HEPLER P K. Actin microfilaments do not form a dense mesh-work in *Lilium longiflorum* pollen tube tips[J]. *Protoplasma*, 1996, 195: 123-132.
- [16] PIERSON E S, MILLER D D, CALLAHAM D A, *et al.* Pollen tube growth is coupled to the extracellular calcium ion flux and the intracellular calcium gradient: effect of BAPTA-type buffers and hypertonic media[J]. *Plant Cell*, 1994, 6: 1815-1826.
- [17] PIERSON E S, MILLER D D, CALLAHAM D A, *et al.* Tip-localized calcium entry fluctuates during pollen tube growth[J]. *Dev Biol*, 1996, 174: 160-173.
- [18] HEPLER P K. Tip growth in pollen tubes: calcium leads the way[J]. *Trends Plant Sci*, 1997, 2: 79-80.
- [19] STOLZ B, BEREITER-HAHN J. Increase of cytosolic calcium results in formation of F-actin aggregates in endothelial cells [J]. *Cell Biol Int Rep*, 1988, 12: 321-329.
- [20] CONSTANTIN B, MEERSCHAERT K, VAN DEK ERCKHOVE J, *et al.* Disruption of the actin cytoskeleton of mammalian cells by the capping complex action-fragment is inhibited by actin phosphorylation and regulated by  $Ca^{2+}$  ions[J]. *J Cell Sci*, 1998, 111: 1695-1706.
- [21] KOHNO T, SHIMMEN T. Mechanism of  $Ca^{2+}$  inhibition of cytoplasmic streaming in lily pollen tubes[J]. *J Cell Sci*, 1988, 91: 501-509.
- [22] LI Y, ZEE S Y, LIU Y M, *et al.* Circular F-actin bundles and a G-actin gradient in pollen and pollen tubes of *Lilium davidii* [J]. *Planta*, 2001, 213: 722-730.
- [23] DERKSEN J, PIERSON E S, TRAAS J A. Microtubules in vegetative and generative cells of pollen tubes[J]. *Eur J Cell Biol*, 1985, 38: 142-148.
- [24] PIERSON E S, KENGEN H M P, DERKSEN J. Microtubules and actin filaments co-localize in pollen tubes of *Nicotiana tabacum* L. and *Lilium longiflorum* [J]. *Protoplasma*, 1989, 150: 75-77.
- [25] LANCELE S A, HEPLER P K. Association of actin with cortical microtubules revealed by immunogold localization in *Nicotiana* Pollen tubes[J]. *Protoplasma*, 1991, 165: 167-172.
- [26] HESLOP-HARRISON J. Pollen germination and pollen tube growth[J]. *Int Rev Cytol*, 1987, 107: 1-78.
- [27] STEER M W, STEER J M. Pollen tube tip growth[J]. *New Phytol*, 1989, 111: 323-358.
- [28] HESLOP-HARRISON J, HESLOP-HARRISON Y, CRESTI M, *et al.* Ultrastructural features of pollen tubes of *Endymion non-scriptus* modified by cytochalasin D[J]. *Sex Plant Reprod*, 1991, 4: 73-80.
- [29] CAI G, MOSCATELLI A, CRESTI M. Cytoskeleton organization and pollen tube growth[J]. *Trends Plant Sci*, 1997, 2(3): 86-91.
- [30] TOMINAGA M, YOKOTA E, VIDALI L, *et al.* The role of plant villin in the organization of the actin cytoskeleton, cytoplasmic streaming and the architecture of the transvacuolar strand in root hair cells of *Hydrocharis* [J]. *Planta*, 2000, 210: 863-843.
- [31] TANG X L, HEPLER P K, SCORDILIS S P. Immunocytochemical and immunocytochemical identification of a myosin heavy chain polypeptide in *Nicotiana* pollen tube[J]. *J Cell Sci*, 1989, 92: 569-574.
- [32] HESLOP-HARRISON J, HESLOP-HARRISON Y. Myosin associated with the surface of organelles, vegetative nuclei and generative cells in angiosperm pollen grains and tubes[J]. *J Cell Sci*, 1989, 94: 319-325.
- [33] 滕晓月, 庄丽霞. 肌动蛋白在丝瓜花粉管顶端生长中的作用 [J]. *植物生理学报*, (TENG Xiao-yue, ZHUANG Li-xia. The role of actin tip growth of pollen tube[J]. *Acta Physiol Sin*), 1997, 23(3): 239-244.
- [34] TERASAKA O, NIITSU T. Differential roles of microtubule and actin-myosin cytoskeleton in the growth of *Pinus* pollen tubes [J]. *Sex Plant Reprod*, 1994, 7: 264-272.
- [35] JOOS U, AKEN J, KRISTEN U. Microtubules are involved in maintaining the cellular polarity in pollen tubes of *Nicotiana sylvestris* [J]. *Protoplasma*, 1994, 179: 5-15.
- [36] CAI G, BARTALESI A, DEL CASINO C, *et al.* The kinesin-immunoreactive homologue from *Nicotiana tabacum* pollen tube: biochemical properties and sub-cellular localization[J]. *Planta*, 1993, 191: 496-506.
- [37] LIU G Q, CAI G, DEL CASINO C, *et al.* Kinetics in-related polypeptide is associated with vesicles from *Corylus avellana* pollen[J]. *Cell Motile Cytoskeleton*, 1994, 29: 155-166.
- [38] FATH K R, TRIMBUR G M, BURGESS D R. Molecular motors are differentially distributed on Golgi membranes from polarized epithelial cells[J]. *J Cell Biol*, 1994, 126: 661-675.
- [39] MOGENSEN H L. The male germ unit: concept, composition and signification[J]. *Int Rev Cytol*, 1992, 140: 129-147.
- [40] RUSSELL S D. Attraction and transport of male gametes for fertilization[J]. *Sex Plant Reprod*, 1996, 9: 337-342.
- [41] MILLER D D, SCORDILIS S P, HEPLER P K. Identification and localization of three classes of myosins in pollen tubes of *Lilium Longiflorum* and *Nicotiana alata* [J]. *J Cell Sci*, 1995, 108: 2549-2563.

(下转第 172 页)

- 比较研究[J]. 生态学杂志 (JIA Zhi-yun. The comparative study on the time budget and social behavior of David's deer from rutting until post rutting season[J]. Journal of Ecology), 1996, 15(3): 6-10.
- [4] 蔡桂全. 麋鹿发情期主要活动时间分配及行为研究[J]. 兽类学报 (CAI Gui-quan. Study of the time budget and behavior of David's deer during the rutting season[J]. Acta Theriologica Sinica), 1988, 8(3): 166-171.
- [5] ZHANG E. Daytime activity budgets of the Chinese water deer [J]. Mammalia, 2000, 2: 163-172.
- [6] 高行宜. 新疆的马鹿 [J]. 野生动物 (GAO Xing-yi. Deer of Xinjiang [J]. China Wild Life), 1985, 2: 24-26.
- [7] GAO Xing-yi, HU De-fu. Status of wild and farmed red deer in Xinjiang[A]. OHTAISHI N, SHENG H. Deer of China: Biology and Management[C]. Amsterdam: Elsevier Scientific Publication, 1993. 159-164.
- [8] 谷景和, 高行宜, 向礼陔. 罗布泊地区科学考察与研究[M]. 北京: 科学出版社 (GU Jin-he, GAO Xing-yi, XIANG Li-hai. Red Deer in Western Lopnor District-scientific Survey and Research in Lopnor [M]. Beijing: Science Press, 1987. 226-234.
- [9] 罗宁. 塔里木马鹿的现状 & 保护利用对策 [A]. 新疆动物学会. 内陆干旱区动物学集刊 [C]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社 (LUO Ning. Status of Yarkand deer and strategy for its conservation and utilization[A]. Zoological Society of Xinjiang. Acta Zoologica Arid Inland[C]. Urumqi: People's Publishing House of Xinjiang, 1993. 1: 38-41.
- [10] 乔建方. 塔里木马鹿食性, 栖息地和现状分析 [D]. 乌鲁木齐: 中国科学院新疆生态地理研究所 (QIAO Jian-fang. Food habit, habitat and status of Yarkand Red deer (*c. e. yarkan densis*) [D]. Urumqi: Institute of Eco-geography in Xinjiang), 1996.
- [11] ALTMANN J. Observational study of behavior: sampling method [J]. Behavior, 1974, 49: 227-267.
- [12] KLAUSE I I. Introduction to Ethology[M]. New York: Plenum Press, 1980. 129-202.
- [13] 盛和林, 徐宏发. 脊椎动物野外研究方法[M]. 北京: 中国林业出版社 (SHENG He-lin, XU Hong-fa. Field Investigation Method of Mammalian[M]. Beijing: China Forestry Publishing House), 1992.
- [14] HAFEZ E S E. The Behaviour of Domestic Animals [M]. Bailliere: Tindalland Cox, 1962. 67-84.
- [15] POST W, BAULU J. Time budget of Macaca mulatta [J]. Primates, 1978, 19(1): 125-140.
- [16] OZOGA J J, VERME L J. Activity pattern of white tailed deer during estrus [J]. Journal of Wild Life Management, 1975, 39: 679-683.
- [17] REYEA R A, DEMARIS S. Activity of desert mule deer during the breeding season [J]. Journal of Mammalogy, 1994, 75 (1): 18-23.

### (上接第 109 页)

- [42] HESLOP-HARRISON J, HESLOP-HARRISON Y. Actomyosin and movement in the angiosperm pollen tube: An interpretation of some recent results[J]. Sex Plant Reprod, 1989, 2: 199.
- [43] HUANG B Q, PIERSON E S, RUSSELL S D, *et al.* Cytoskeletal organization and modification during pollen tube arrival, gamete delivery and fertilization in *Plumbago zeylanica* [J]. Zygote, 1993, 1: 143-154.
- [44] HUANG B Q, RUSSELL S D. Fertilization in *Nicotiana tabacum*: Cytoskeletal modifications in the embryo sac during synergid degeneration[J]. Planta, 1994, 194: 200-214.
- [45] HUANG B Q, SHERIDAN F W. Actin coronas in normal and indeterminate gametophyte 1 embryo sacs of maize[J]. Sex Plant Reprod, 1998, 11: 257-264.
- [46] HUANG B Q, FU Y, ZEE S Y, *et al.* Three-dimensional organization and dynamic changes of the actin cytoskeleton in embryo sac of *Zea mays* and *Torenia fournieri*[J]. Protoplasma, 1999, 209: 105-119.
- [47] FU Y, YUAN M, HUANG B Q, *et al.* Chang in actin organization in the living egg apparatus cells of *Torenia Fournieri* during fertilization[J]. Sex Plant Reprod, 2000, 12: 315-322.
- [48] YE X L, YEUNG E C, ZEE S Y. Sperm movement during double fertilization of a flowering plant, *Phaius tankervilleae*[J]. Planta, 2002, 215: 60-66.
- [49] 袁明, 傅纛, 王凤, 等. 蓝猪耳受精过程中中央细胞和初生胚乳细胞中微丝骨架的组装和细胞核的迁移 [J]. 中国科学 (C 辑) (YUAN Ming, FU Ying, WANG Feng, *et al.* Organization of microtubules and nuclear migration in the central cell and primary endosperm cell of *Torenia fournieri* during fertilization[J]. Sci Chi (Series C)), 2002, 1: 13-22.
- [50] ZHANG Z, RUSSELL S D. Sperm cell surface characteristics of *Plumbago zeylanica* L. in relation to transport in the embryo sac[J]. Planta, 1999, 208: 539-544.
- [51] ZHANG Z, TIAN H Q, RUSSELL S D. Localization of myosin on sperm-cell-associated membranes of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [J]. Protoplasma, 1999, 208: 123-128.