



细胞骨架系统调控花粉管发育的研究进展

李彤辉¹, 王婷^{1*}, 任海云^{1,2*}

1. 北京师范大学生命科学学院, 细胞增殖与调控生物学教育部重点实验室, 北京 100875;

2. 北京师范大学珠海校区自然科学高等研究院, 生物科技研究中心, 珠海 519085

* 联系人, E-mail: twang@bnu.edu.cn; hren@bnu.edu.cn

收稿日期: 2022-07-28; 接受日期: 2022-12-06; 网络版发表日期: 2023-04-18

国家自然科学基金(批准号: 91854206)和青年科学基金(批准号: 32100279)资助

摘要 细胞骨架是真核细胞的重要组成成分, 广泛参与了包括细胞形态建成、细胞器运动、胞内物质运输和信息传递等在内的许多细胞生理活动. 已有研究表明, 细胞骨架系统在开花植物有性生殖的重要环节——花粉萌发及花粉管生长过程中发挥重要作用. 本文针对该过程中细胞骨架系统的组织结构、动态变化及功能调控等进行系统综述, 以期使读者深入理解细胞骨架系统在花粉极性建立和维持过程中的重要作用.

关键词 花粉萌发, 花粉管生长, 微丝, 微管

花粉管发育包括花粉萌发和花粉管生长两个过程, 是被子植物有性生殖的关键环节, 对于植物繁衍后代具有重要意义. 花粉粒经由各种途径落到雌蕊柱头, 在柱头分泌物的刺激下吸附和水合, 萌发并长出花粉管. 顶端极性生长的花粉管穿过花柱通道进入子房并到达胚囊后, 花粉管顶端破裂, 释放出两个精细胞. 其中一个精细胞与卵细胞融合后形成受精卵, 进而发育成胚; 另一个则与中央细胞融合后形成受精极核, 之后发育为胚乳, 完成被子植物特有的双受精现象^[1]. 花粉粒的适时萌发以及花粉管的极性生长为高等植物受精作用的完成提供了重要保证. 因此, 深入研究花粉管发育的分子调控机制对于理解被子植物有性生殖过程具有重要意义.

由微丝和微管组成的细胞骨架在植物细胞中广泛参与了细胞器运动、物质运输和细胞分裂等各种重要

生理活动. 越来越多的研究表明, 细胞骨架在花粉萌发和花粉管生长过程中发挥重要作用. 研究发现, 花粉粒中微丝聚合产生的驱动力促使分泌囊泡的定向运输, 两者协同调控花粉萌发过程中的极性建立; 花粉管中的微丝骨架则为胞内各类细胞器的长距离运输提供轨道. 与微丝骨架相比, 目前关于花粉中微管骨架功能的解析相对较少. 早期的药理学分析表明, 花粉中微管的聚合动态不影响花粉的萌发和花粉管的生长. 近期利用在花粉中特异性表达的荧光标记植株, 人们发现在花粉精细胞周围存在特异的微管分布, 暗示了微管骨架可能对精细胞在花粉管中的精准运送具有重要的动态调控功能. 本文将对花粉萌发及花粉管生长过程中细胞骨架的动态结构及调控机制进行系统性综述, 以期使读者深入理解细胞骨架系统在花粉萌发及花粉管生长中的作用.

引用格式: 李彤辉, 王婷, 任海云. 细胞骨架系统调控花粉管发育的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 763–774

Li T H, Wang T, Ren H Y. Advances in the study of cytoskeleton system regulating pollen tube development (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 763–774, doi: [10.1360/SSV-2022-0183](https://doi.org/10.1360/SSV-2022-0183)

1 微丝骨架在花粉管发育过程中的作用

高等植物的花粉中肌动蛋白含量占可溶性总蛋白的2%~20%^[2~5], 其丰度暗示了该蛋白在花粉中的重要作用。同时多种微丝结合蛋白在花粉中含量丰富^[6~8], 可能参与花粉中微丝结构及动态的精细调控。早期的药理学研究结果表明, 低浓度的微丝解聚药物Latrunculin B(LatB)处理会显著降低花粉的萌发率和花粉管的伸长速率^[9]。后来在分析花粉中特异性表达的肌动蛋白ACT11功能的过程中发现, 其编码基因突变后会显著改变微丝的动态, 进而影响花粉的萌发及花粉管的生长, 该遗传学结果为微丝骨架调节花粉萌发和花粉管伸长提供了直接证据^[10,11]。

研究者们早期主要利用间接荧光免疫和鬼笔环肽荧光染色的方法观察和研究花粉的微丝骨架。但由于物种间的差异、染色方法及观察手段不同, 关于花粉管顶端及亚顶端的微丝排布存在很大争议。使用传统染色的方式观察到西洋梨花粉粒中微丝呈扇形分布在距离萌发孔的远端位置, 在萌发的进程中逐渐向萌发孔处聚集; 同时观察也发现在花粉管顶端存在致密的微丝结构^[12]。然而也有报道指出, 利用显微注射的方法将荧光标记的鬼笔环肽导入生长活跃的百合花粉管中, 在其顶端并未检测到明显的微丝结构^[13]。直到2005年, 同样是在百合花粉管中, 研究者们利用快速冷冻固定的方法检测到了距离顶端1~5微米处的致密微丝束(F-actin fringe)^[14]。此外, 微丝活体探针的引入进一步证实了花粉管中微丝的分布模式。其中, Lifeact是在酵母菌中发现的一种含有17个氨基酸的短肽, 具有稳定结合微丝的特性, 作为微丝的活体探针被广泛应用^[15]。带有荧光标签的Lifeact肽段已在烟草、百合及拟南芥花粉管中清晰标出各部分微丝结构^[16~18]。基于此, 人们认为花粉管中微丝的排列方式分为三部分: 基干部的微丝呈束状排列, 平行于花粉管的长轴; 亚顶端分布有短小且致密的平行微丝束; 花粉管顶端存在较短且高度动态的微丝。

1.1 微丝在花粉萌发过程中的动态分布及调控

2015年, Vogler等人^[19]使用tagRFP-T-Lifeact荧光标签对拟南芥花粉粒的微丝结构进行动态分析, 结果显示在水合的花粉粒中, 微丝在周质和营养核核周均有分布; 在花粉萌发前, 微丝在距离未来萌发位点的

远端位置聚集; 当花粉萌发长出花粉管后, 平行排列的微丝束从花粉粒延伸到新长出花粉管的凸起处; 最终在新生成的花粉管中呈现有规律的排布。该研究还利用ARO1(Armadillo Repeat Only 1)蛋白标记花粉中的分泌囊泡, 发现其在特定的位点聚集, 该位点即未来的萌发位点^[19,20]。在萌发位点处微丝的动态结构和分泌囊泡的聚集作为花粉极性建立的关键事件, 两者之间是否存在协同互作的关系, 是值得探究的科学问题。2018年, 本课题组^[21]利用转盘式激光共聚焦显微镜对拟南芥花粉中Lifeact荧光标记的微丝动态进行了长时程的活体动态观察。研究发现, 微丝骨架首先在水合的花粉粒中发生高度动态的规律性旋转运动, 而后在特定位点形成类似刷状环(actin fringe)的结构, 随后花粉从该位置萌发。同时研究发现, 微丝聚合和延伸产生的驱动力推动分泌囊泡在质膜的定向运输, 进而促进花粉的萌发^[21,22]。该结果不仅深入解析了微丝骨架在花粉极性建立中的调控作用, 而且首次在植物细胞中提出了以微丝骨架聚合作为驱动力的囊泡运送方式。在花粉萌发过程中, 微丝骨架在分泌囊泡的定向转运中发挥重要作用, 其是否也参与了分泌囊泡与质膜栓系和融合的过程, 值得深入探讨。微丝骨架发挥作用需要不同的微丝结合蛋白参与调控, 因此解析萌发过程中参与的微丝结合蛋白至关重要。

花粉微丝骨架的结构及动态受到包括成核因子Formin、肌动蛋白单体结合蛋白Profilin、微丝解聚因子ADF和成束蛋白Fimbrin等在内的一系列微丝结合蛋白的调控(图1, 表1)。本课题组的研究发现, 微丝成核因子AtFH5特异定位于分泌囊泡, 能够促进微丝的聚合与延伸。AtFH5的这种特异定位将微丝骨架与分泌囊泡连接并形成一个连续的动态聚合体, 共同决定了花粉的萌发位点, 并最终建立花粉的极性^[21]。在成熟花粉中特异性表达的肌动蛋白单体结合蛋白Profilin成员Profilin4和Profilin5是微丝聚合的正向调控因子, 其在花粉中的表达量与聚合的微丝含量呈正相关^[23]。在微丝聚合驱动分泌囊泡运输的过程中, Profilin蛋白可以结合AtFH5蛋白的FH1结构域, 协同调节微丝的聚合动态, 进而控制分泌囊泡的运动速率^[21,23,24]。最新的研究对微丝解聚因子ADF家族成员ADF7和ADF10在花粉萌发过程中的特异性定位和功能进行了分析: ADF7和ADF10在花粉粒中均具有丝状定位和胞质定位两种排布方式; 相较ADF10蛋白,

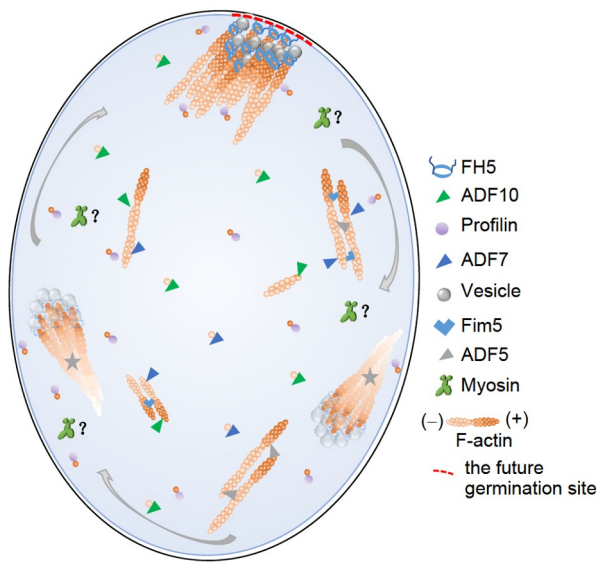


图 1 花粉粒中微丝结合蛋白的定位及功能示意图. 花粉萌发过程中, 花粉粒中的微丝骨架驱动分泌囊泡在花粉粒中的定向运动, 并最终在未来的萌发位点形成微丝环状结构. 图中箭头标注为分泌囊泡的运动方向, 星号标注为分泌囊泡在花粉粒中的运动轨迹

Figure 1 Localization and function of actin binding proteins in pollen grain. During pollen germination, the actin filaments drive the directional movement of secretory vesicles in the pollen grain, and finally forms a collar-like actin structure in the future germination site. In the picture, the arrows mark the movement direction of secretory vesicles, and the asterisks mark the movement track of secretory vesicles in the pollen grain

ADF7在花粉中的荧光信号更强, 丝状定位的占比更高; 在花粉萌发并产生花粉管凸起的过程中, ADF7比ADF10更早地在萌发孔处积累, 且ADF7的丝状结构更快地进入新形成的花粉管^[25]. 同时研究发现, *adf10*突变体花粉粒比*adf7*突变体花粉粒更耐受高浓度的LatB解聚, 表明ADF7促进花粉中微丝动态周转的活性弱于ADF10^[25]. 此外, 非典型的微丝解聚因子ADF5能够成束微丝, 对微丝起到稳定的作用; 在*adf5*突变体花粉粒中微丝的数量及束化程度显著低于野生型, 造成了微丝骨架组装及动态的缺陷, 进而延迟了微丝极性排布的建立, 导致花粉萌发时间滞后^[26]. 上述不同ADF蛋白在花粉中的特异性定位及其对微丝的不同调控作用, 暗示了它们在花粉萌发过程中具有精细而独特的功能. 有研究表明, 微丝成束蛋白Fimbrin家族成员FIM5在花粉粒中能够标记微丝束, 其缺失突变加剧了花粉粒中微丝的束化程度, 最终导致花粉萌发滞后^[27]. 这些已报道的微丝结合蛋白在花粉粒中的特异定位及

其对微丝的动态调控, 表明了微丝骨架在萌发过程中动态调控的精细和复杂性. 肌球蛋白家族(myosin)是目前微丝系统中唯一确认的分子马达, 但其在花粉萌发过程中的功能尚不清晰. 药理学实验表明, 利用BDM(2,3-butanedione monoxime)抑制肌球蛋白的ATP酶活性, 可能影响分泌囊泡在花粉粒中旋转的运动速度, 但并不改变微丝与分泌囊泡之间的动态运动关系^[21]. 肌球蛋白如何与微丝骨架互作, 以及如何调控分泌囊泡在胞内的动态还有待进一步研究. 花粉粒中高度动态的微丝网络除了参与分泌囊泡的定向运输, 是否也参与其他细胞器的运动, 其可能的调控机理以及生物学意义还有待进一步探究.

1.2 微丝在花粉管中的动态分布及调控

微丝骨架在花粉管中具有特定的排列方式, 与其在花粉管极性生长中的功能相对应. 在基干部, 微丝平行于花粉管的长轴呈束状排列, 目前的研究认为这部分微丝主要是为细胞器的长距离运输提供轨道, 将生长所需的材料快速地运送到顶端以支持质膜扩张和细胞壁合成. 在花粉管的亚顶端, 大量短的微丝束有序排列成致密的刷状环结构(actin fringe)^[14], 一般认为该结构可将大的细胞器阻挡, 小的囊泡继续向前运动并聚集在花粉管顶端. 也有研究指出, 花粉管亚顶端的微丝刷状环结构与花粉管生长方向存在相关性^[28,29]. 花粉管的顶端富含大量的囊泡, 几乎不含有细胞器, 故又称之为透明区(clear zone)^[30]. 目前的观点认为, 在花粉管顶端存在较短、分布随机且高度动态的微丝, 推测其可能在囊泡的栓系和融合过程中发挥重要作用^[16,17,31,32].

药理学实验表明, 低浓度的微丝解聚药物LatB处理不会影响花粉管基干部的纵向微丝束, 但会破坏亚顶端和顶端的微丝, 进而抑制花粉管的生长, 这表明亚顶端及顶端区域的微丝骨架与花粉管的生长密切相关^[33,34]. 利用细胞生物学及遗传学等手段研究发现, 花粉管亚顶端及顶端的微丝骨架受到多种微丝结合蛋白的调控^[35](图2, 表1). 微丝成核因子Formin在调控花粉管亚顶端及顶端微丝聚合中发挥重要作用. *AtFH1*的过量表达会造成花粉管顶端质膜出现过量的微丝束并导致质膜变形, 花粉管生长变慢且失去极性^[36]. *AtFH3*的过量表达导致基干部的微丝变多变长, 并延伸到花粉管顶端^[37]. 在*fh3*, *fh5*单突变体及*fh3 fh5*双突变体中,

表 1 微丝结合蛋白在花粉萌发及花粉管生长中的作用

Table 1 The role of actin binding proteins in pollen germination and pollen tube growth

阶段	微丝结合蛋白	表型	功能	参考文献
花粉萌发阶段	FH5	<i>AtFH5</i> 突变后, 花粉粒内微丝呈短棒状分布而非丝状, 微丝束化程度显著下降, 且花粉萌发率降低	调控微丝的动态进而调控花粉萌发过程中细胞极性建立的过程	[21]
	Profilin	<i>prf4prf5</i> 双突变体中, 微丝的整体含量及束化程度下降, 花粉萌发率显著降低	协同Formin调控微丝的动态进而调控花粉萌发过程中细胞极性建立的过程	[23]
	FIM5	缺失突变会加剧花粉粒中微丝的束化程度, 导致花粉萌发滞后	成束并稳定微丝	[27]
	ADF5	突变体花粉粒中微丝的数量及束化程度显著低于野生型, 导致花粉萌发滞后	成束并稳定微丝	[26]
	ADF7	LatB处理后, <i>adf7</i> 突变体的花粉萌发率显著高于野生型, 且高浓度LatB处理后, 花粉粒中微丝数量显著高于野生型	促进微丝解聚, 调控微丝的动态周转	[25]
	ADF10	<i>adf10</i> 突变体花粉粒比 <i>adf7</i> 突变体花粉粒更耐受高浓度的LatB解聚	促进微丝解聚, 调控微丝的动态周转	[25]
花粉管生长阶段	FH1	<i>AtFH1</i> 过量表达会造成花粉管顶端质膜出现过量的微丝束并导致质膜变形, 花粉管生长变慢且失去极性	促进微丝聚合	[36]
	FH3	<i>AtFH3</i> 表达量的下调会影响基干部微丝的形成, 胞质环流的倒喷泉模式被破坏, 花粉管短粗, 丧失极性; <i>AtFH3</i> 的过量表达会造成花粉管基干部的微丝变多变长, 延伸至花粉管顶端	促进微丝聚合	[37]
	FH5	在 <i>fh3</i> , <i>fh5</i> 单突变体及 <i>fh3 fh5</i> 双突变体中, 花粉管顶端微丝的数量显著减少, <i>fh3 fh5</i> 双突变体顶端微丝更趋于碎片化和无序化	促进微丝聚合	[38]
	Profilin	功能丧失会导致花粉管顶端的微丝不能正常延伸, 造成顶端及亚顶端的微丝含量下降, 排布紊乱	与G-actin以1:1的形式结合形成profilin-actin复合体, 被顶端质膜的Formin利用, 驱动顶端的微丝聚合	[40]
	ADF7	花粉管基干部微丝的切割频率和解聚速率显著降低, 微丝束化程度增加, 抑制花粉管的伸长	促进微丝解聚, 调控微丝的动态周转	[42]
	ADF10	<i>adf10</i> 突变体花粉管中顶端微丝显著减少, 且微丝与花粉管生长轴之间的夹角变大, 微丝分布更随机; 功能缺失突变体中单根微丝的解聚速率和切割频率显著降低, 微丝的寿命延长	促进微丝解聚, 调控微丝的动态周转和有序排列	[43]
	ADF5	<i>adf5</i> 突变体花粉管中微丝的束化程度明显降低, 花粉管生长变慢且对LatB高度敏感	成束并稳定微丝	[26]
	LIM1	过量表达LILIM1会抑制花粉管生长, 花粉管短且肿胀; 花粉管中的微丝排布紊乱, 花粉管顶端出现星状的微丝及内膜结构	成束并稳定微丝	[45]
	FIM5	<i>fim5</i> 缺失突变体花粉管中微丝排布发生改变, 微丝束延伸到花粉管顶端, 且胞质环流的方向及速度也发生改变, 造成花粉管生长变慢	成束并稳定微丝	[27]
	VLN2 VLN5	<i>vln2 vln5</i> 双突变体花粉管中的微丝排布异常且束化减少, 微丝刷状环结构异常, 同时花粉管顶端聚集大量的微丝束, 花粉管扭曲变宽	成束并稳定微丝	[17,47,48]
	CROLIN1	<i>CROLIN1</i> 缺失突变体的花粉粒和花粉管对LatB高度敏感	稳定微丝并使微丝束交联成网状结构	[46]
	MAP18	<i>MAP18</i> 缺失后, 花粉管中纵向排布的微丝伸入花粉管顶端, 亚顶端及顶端的微丝束化程度明显升高, 花粉管顶端微丝显著减少, 花粉管生长方向存在缺陷	通过其微丝切割活性来调控花粉顶端及亚顶端微丝的组织 and 动态	[68]
	MDP25	突变体花粉管中微丝的切割频率下降, 亚顶端微丝密度显著增加, 造成花粉管生长速率明显变快	通过其微丝切割活性来调控花粉管亚顶端微丝动态	[69]
	RIC1	<i>ric1</i> 突变体的花粉管中, 顶端和亚顶端的微丝显著增加, 单根微丝的切割频率显著降低, 微丝的寿命延长且最大长度增加; RIC1过量表达会造成顶端和亚顶端的微丝显著减少, 单根微丝的切割频率增加, 微丝的寿命缩短且最大长度减少	通过其微丝切割活性来调控花粉管顶端微丝动态	[70]

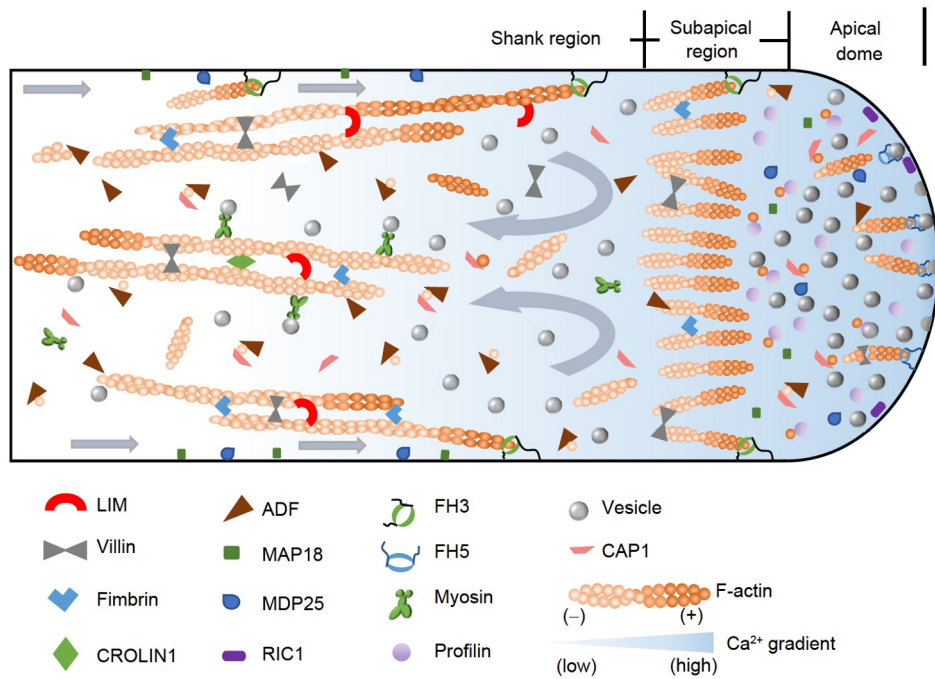


图 2 花粉管中微丝结合蛋白的定位及功能示意图. 在花粉管中, 靠近细胞周质的微丝正端指向花粉管顶端, 中间部分的微丝正端指向花粉粒, 形成“倒喷泉”式的胞质环流, 箭头表示花粉管中胞质环流的运动方向

Figure 2 Localization and function of actin binding proteins in pollen tube. In the pollen tube, the barded end of the actin filaments near the cortical region points to pollen tube tips, and the pointed end of the actin filaments in the middle part points to pollen grain, forming a “V-shaped inverted cone” cytoplasmic streaming. The arrows indicate the direction of movement of the cytoplasmic streaming in the pollen tube

花粉管顶端微丝的数量显著减少, 且 $fh3$ 中顶端微丝的数量更少, 表明AtFH3及AtFH5均参与调节花粉管顶端微丝的聚合, 且AtFH3发挥更重要的作用^[38]. 百合花粉中LIFH1控制花粉管亚顶端微丝刷状环结构的形成^[39]. Profilin作为一类肌动蛋白单体结合蛋白, 能够与G-actin以1:1的形式结合形成profilin-actin复合体, Profilin功能丧失会导致花粉管顶端的微丝不能正常延伸, 进而造成亚顶端及顶端的微丝含量下降, 排布紊乱^[40]. 体外生化数据表明, 花粉管顶端质膜定位的AtFH5能够利用profilin-actin复合体进行微丝聚合^[40]. 腺苷酸环化酶相关蛋白(adenylyl cyclase-associated protein, CAP)家族成员AtCAP1可以协同微丝解聚因子ADF和Profilin以促进花粉中微丝的动态周转: 一方面AtCAP1通过其C端结构域增强ADP-G-actin转换成ATP-G-actin的核苷酸交换能力, 使ATP-G-actin与Profilin形成Profilin-ATP-G-actin复合体, 促进Formin蛋白在花粉管顶端的微丝聚合能力; 另一方面AtCAP1通过其N端结构域结合并促进ADF介导微丝的切割和解聚以释放ADP-G-actin^[41]. 微丝解聚因子ADF7和

ADF10具有不同的亚细胞定位: ADF7主要定位于花粉管基干部, 其缺失突变会导致基干部微丝的切割频率和解聚速率显著降低, 微丝束化程度增加, 最终抑制花粉管的伸长^[42], 而ADF10主要与亚顶端的微丝结构共定位, 通过其解聚活性来促进花粉管顶端微丝的动态周转和排列^[43]. 微丝解聚因子的另一个成员ADF5则作为一个微丝成束蛋白通过调节微丝束的生成、组织及维持在花粉管生长中发挥重要作用^[26].

花粉管基干部存在较粗的长微丝束, 微丝成束蛋白的交联和稳定作用对这种高度有序的微丝束结构的形成至关重要. 目前花粉管中已知的成束因子主要有Fimbrin, LIM, CORLIN和Villin等蛋白家族(图2, 表1). Fimbrin家族成员含有两个高度保守的微丝结合结构域(actin binding domain, ABD), 该结构域以反向平行的形式存在, 能够交联两个相邻的微丝进行成束^[44]. 拟南芥基因组有5个编码Fimbrin的基因($AtFIM1$ ~ $AtFIM5$), 其中在成熟花粉中高表达的 $AtFIM5$ 基因的功能缺失会改变花粉粒及花粉管中的微丝排布, 微丝束延伸到花粉管顶端, 造成花粉萌发延迟, 花粉管生长

变慢^[27]。LIM是花粉中另一类重要的成束因子, 过量表达LILIM1会造成花粉管生长缓慢且形态异常, 花粉管顶端“透明区”出现一些星状微丝及内膜结构^[45]。CRO-LIN是近年来新发现的一类仅在植物中表达的微丝结合蛋白^[46]。拟南芥基因组中有6个编码CROLIN蛋白的基因, 其中CROLIN1特异地在成熟花粉中表达, 生化分析显示其能够结合并稳定微丝, 并且能够使微丝束交联成网状结构^[46]。CROLIN1功能缺失突变体的花粉粒及花粉管对微丝解聚药物LatB高度敏感^[46]。Villin是植物中最早发现的一类微丝成束蛋白。研究发现, 拟南芥*vln2 vln5*双突变体花粉管中的微丝排布异常且束化减少, 导致微丝刷状环结构异常; 同时微丝切割频率的下降造成花粉管顶端聚集了大量的微丝束, 进而严重影响花粉管的伸长^[17,47,48]。这些研究结果表明, 花粉管基干部微丝束的减少或者过量都可能影响由微丝骨架系统驱动的胞质环流, 使其特有的倒喷泉式环流模式被破坏, 沿微丝轨道运输的各类细胞器和膜组分在胞质中的运输受阻, 进而抑制花粉管的生长。

基于以上研究, 有研究者提出了花粉管顶端质膜微丝聚合的调控模型: 微丝成核因子Formin定位于花粉管顶端质膜上, 利用细胞质中的profilin-actin复合物起始微丝聚合, ADF及其辅助因子和微丝切割蛋白促进微丝的动态周转, 并通过其切割和解聚活性控制微丝长度^[49]。在多种成束/交联蛋白的参与下, 膜起源的微丝被组织成不同的结构, 并在花粉管的皮层及内部呈现不同的分布^[49]。现有的研究认为, 花粉管亚顶端和顶端高度动态的微丝结构对于大量囊泡在顶端的稳态平衡、分泌囊泡与质膜的栓系和融合可能都具有重要的动态调控作用, 但是目前关于顶端区域微丝的动态分布及其与分泌囊泡、其他信号分子之间的动态互作关系仍有待进一步探究。

在真核细胞中, 肌球蛋白利用水解ATP产生的能量沿着微丝骨架运动。在植物中存在VIII型和XI型两种肌球蛋白^[50]。其中, XI型肌球蛋白被报道可以为胞质环流和各类细胞器的长距离运输提供动力^[51~53](图2, 表1)。在拟南芥花粉管中Myo11C2和Myo11B1与过氧化物酶体、高尔基体和分泌囊泡等多种细胞器具有一定的共定位关系^[54,55], 但是关于肌球蛋白是否通过微丝骨架参与调控该过程以及两者之间是否存在相互作用, 有待进一步研究。目前对VIII型肌球蛋白的研究较少, 仅有的研究表明, VIII型肌球蛋白可能作为慢速马

达蛋白参与了内吞作用、细胞通讯及细胞分裂等过程^[56~61]。根据拟南芥eFP Browser数据库(<http://bbc.botany.utoronto.ca/efp/cgi-bin/efp>)分析发现, VIII型肌球蛋白中有两个成员(ATM2和VIIIIB)在成熟花粉中高度表达, 暗示其在花粉管发育中可能发挥作用, 但具体的调控作用及相关的分子机制有待进一步研究。

2 微管骨架在花粉管发育过程中的作用

2.1 微管骨架的动态分布

与微丝骨架相比, 目前对于花粉中微管结构的研究较少。前期研究利用免疫荧光标记的方法发现, 花粉管基干部的微管呈现出长且轴向排列的束状结构, 而在花粉管的亚顶端或者顶端区域, 微管多为随机分布的短片段^[62]。研究人员进一步利用微管正端结合蛋白AtEB1作为活体标记证实了该结构, 同时指出, 花粉管基干部的微管要比近顶端区域的微管更加稳定^[63]。最近, 本课题组通过筛选获得了花粉中稳定表达的微管荧光标记植株, 对花粉萌发及花粉管生长过程中微管的时空动态分布进行了系统观察。研究发现, 花粉粒中的微管骨架呈网络状分布, 花粉管中的微管骨架平行于长轴呈束状排列(未发表数据)。

2.2 微管骨架的动态调控机制

早期研究发现, 微管结合蛋白MAP18, MDP25和RIC1等在营养组织中通过与微管结合发挥功能^[64~67]。但目前的研究表明, 在生殖生长阶段MAP18通过调控花粉管顶端和亚顶端微丝的组织 and 动态从而影响花粉管的生长方向^[68]; 微管去稳定蛋白MDP25能够结合并切割微丝, 其通过调节花粉管亚顶端区域微丝的组织 and 动态来负调控花粉管生长^[69]; 微管结合蛋白RIC1是ROP信号途径的下游效应子, 通过其微丝切割活性在花粉管顶端质膜切割微丝来调控顶端微丝的动态, 从而调控花粉管生长^[70](图2, 表1)。由此看来, 这些微管结合蛋白更倾向于通过调节微丝动态来影响花粉管的极性生长。接下来非常值得探究的是这些微管结合蛋白是如何实现微丝和微管调控功能的转换, 深入分析这些蛋白的结构和生化特性, 阐明其工作的分子机制将帮助人们深入理解细胞骨架系统在植物细胞中的功能。

在花粉中, 两个精细胞与营养核串联形成一个称

为“雄性生殖单位”的整体进行运输。已有的研究认为, 微管骨架的动态结构可能对花粉的萌发和花粉管的极性生长无显著影响, 但是其在雄性生殖单位周围存在特异分布, 暗示了微管结构在其中的特异功能^[9,71]。在烟草花粉管中, 微管在精细胞周围高度束化, 并形成笼状结构将其包裹^[71]。当解聚微管后, 雄性生殖单位进入花粉管的比例明显下降, 表明微管对于雄性生殖单位迁移必不可少^[72]。2021年, 有研究人员提出了花粉管中的精细胞运动的拔河模型^[73]。该模型认为, 微管在精细胞周围随机排列, 沿着微管负向运动的驱动蛋白家族成员KCH(kinesins with calponin homology domain)根据所结合微管的方向使精细胞前后往复运动, 向前的速度大于向后的速度, 最终精细胞向前迁移^[73], 但该研究并未解释沿随机排列的微管运动的KCH蛋白为何会使精细胞产生向前的速度大于向后速度。解析微管骨架调控植物雄性生殖单位迁移的具体分子机理以及相关的调控因子, 是值得探究的科学问题。本课题组近期的研究发现, 微管-驱动蛋白系统为雄性生殖单位运输提供主要轨道并稳定其定向迁移, 而雄性生殖单位的往复运动则与微丝系统相关(未发表数据)。该研究为深入理解花粉雄性生殖单位迁移的分子机制提供了进一步证据。筛选和鉴定参与该过程的关键微管结合蛋白和驱动蛋白将为解析微管骨架在花粉中的功能提供重要思路。

3 信号分子对花粉管发育的调控

在花粉萌发及花粉管生长过程中, 存在多个信号通路相互交叉, 形成一个复杂的网络, 它们通过将信号传递给微丝骨架及相关的微丝结合蛋白, 从而调控花粉萌发及花粉管极性生长。目前已知的一些信号分子主要包括 Ca^{2+} 、小G蛋白和磷脂信号等^[74]。

Ca^{2+} 是花粉萌发和花粉管生长的重要调控因子, 也是花粉体外萌发培养基的必要组分^[75,76]。研究表明, 在花粉粒的萌发位点会有较高浓度 Ca^{2+} 的积累, 并且在正常生长的花粉管中也存在着明显的 Ca^{2+} 浓度梯度, 花粉管顶端的 Ca^{2+} 浓度能达到2~10微摩尔, 从顶端向后的20微米范围内浓度降低至200纳摩尔^[76]。使用钙通道抑制剂会使花粉管的 Ca^{2+} 浓度梯度消失, 同时花粉管生长停止^[77]。研究表明, Ca^{2+} 参与了分泌囊泡与质膜融合的过程^[78,79]。此外, 大量研究发现, 花粉管

中 Ca^{2+} 通过影响微丝结合蛋白的活性来调控微丝骨架。 Ca^{2+} 可以促进Villin家族成员以及MDP25对微丝的切割活性, 体外生化分析结果显示, Profilin对单体肌动蛋白的螯合作用受 Ca^{2+} 调控, Ca^{2+} 的浓度增高, 螯合作用越强^[47,69,80]。这些受钙调控的微丝结合蛋白定位在花粉管的不同区域并调控微丝的组织及动态。

ROP GTPase在植物中广泛存在。拟南芥中存在11个ROPs, 其中ROP1, ROP3和ROP5在花粉中表达, 且ROP1在花粉中特异性高表达, 成为花粉管中ROPs信号调控网络中的主要研究对象^[81,82]。目前的研究发现ROP1定位在花粉管顶端质膜上, 是决定分泌囊泡进行胞吐作用的关键调控因子, 下游主要由RIC3和RIC4介导的两条信号途径对花粉管顶端的胞吐作用进行调控^[83]。其中, RIC3通过调节顶端质膜 Ca^{2+} 的内流来促进微丝解聚, 进而促进囊泡在顶端的融合; RIC4则通过促进微丝聚合进而促进花粉管顶端囊泡的聚集, 这两条信号途径共同调控花粉管生长^[83]。对于ROP1信号通路的调控已有较为详尽的论述, 在此不再赘述^[74,84,85]。

磷脂酰肌醇(phosphatidyl inositols, PIs)是一类重要的磷脂, 在花粉管极性生长过程中参与调控微丝骨架的动态排布以及囊泡运输等过程。磷脂酰肌醇4,5-二磷酸(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP2)是调控花粉管极性生长的关键因子, 其产生依赖于磷脂酰肌醇-4磷酸5激酶(phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase, PI4P-5K)活性^[86-88]。研究发现, 在烟草花粉管中过表达PIP5K10或PIP5K11导致花粉管顶端膨大和微丝排布发生改变, 这与烟草花粉管中过表达ROP蛋白NtRac5表型相似, 表明PIP2通过影响微丝骨架以及ROP信号通路来调节花粉管顶端膨大^[89]。最新的研究发现, 在烟草花粉管顶端质膜上, PIP2的分布呈现纳米域和弥散分布两种方式, 这两种分布模式的PIP2能够将NtRac5导向不同的RIC蛋白, 从而协调花粉管生长过程中微丝的动态变化与胞吐过程^[90]。此外, PIP2经磷脂酶D(phospholipase D, PLD)催化生成磷脂酸(phosphatidic acid, PA)。据报道, 细胞内PA水平的变化会显著影响微丝动态^[91,92], 如拟南芥加帽蛋白CP(capping protein, CP)与PA结合会抑制其封端活性, 从而促进微丝聚合, 该调节方式对于花粉管顶端生长至关重要^[92]。

以上信号通路相互交织, 形成一个复杂的网络, 表

明花粉萌发和花粉管生长受到精密调控, 但是整体的信号通路有待进一步研究。

4 展望

随着荧光标记技术和显微成像技术的发展, 花粉萌发和花粉管生长过程中细胞骨架系统的排布方式、动态变化和功能调控等方面的研究已取得新的进展, 但仍有许多待解之谜。例如, 花粉如何感知萌发信号?

花粉水合后的萌发过程中, 微丝聚合产生的驱动力推着分泌囊泡定向运输作为一种新的囊泡运送方式, 其中的动态互作关系如何建立和维持? 微管骨架在花粉管发育中的功能及分子机制? 细胞骨架的马达蛋白如何参与花粉萌发和花粉管顶端极性生长, 及其在生殖单位运输中的作用等方面可能是未来研究的重要内容。相信该领域工作的不断深入, 将会推进细胞骨架在花粉极性建立和维持中作用的解析, 亦为利用植物雄配子体解决植物分子设计育种提供新思路。

参考文献

- 1 Berger F, Hamamura Y, Ingouff M, et al. Double fertilization—caught in the act. *Trends Plant Sci*, 2008, 13: 437–443
- 2 Andersland J M, Jagendorf A T, Parthasarathy M V. The isolation of actin from pea roots by DNase I affinity chromatography. *Plant Physiol*, 1992, 100: 1716–1723
- 3 Liu X, Yen L F. Purification and characterization of actin from maize pollen. *Plant Physiol*, 1992, 99: 1151–1155
- 4 Vidali L, Hepler P K. Characterization and localization of profilin in pollen grains and tubes of *Lilium longiflorum*. *Cell Motil Cytoskeleton*, 1997, 36: 323–338
- 5 Ren H, Gibbon B C, Ashworth S L, et al. Actin purified from maize pollen functions in living plant cells. *Plant Cell*, 1997, 9: 1445–1457
- 6 Asada T, Collings D. Molecular motors in higher plants. *Trends Plant Sci*, 1997, 2: 29–37
- 7 Staiger C J, Gibbon B C, Kovar D R, et al. Profilin and actin-depolymerizing factor: modulators of actin organization in plants. *Trends Plant Sci*, 1997, 2: 275–281
- 8 de Ruijter N C A, Emons A M C. Actin-binding proteins in plant cells. *Plant Biol*, 1999, 1: 26–35
- 9 Gossot O, Geitmann A. Pollen tube growth: coping with mechanical obstacles involves the cytoskeleton. *Planta*, 2007, 226: 405–416
- 10 Chang M, Huang S. *Arabidopsis* ACT11 modifies actin turnover to promote pollen germination and maintain the normal rate of tube growth. *Plant J*, 2015, 83: 515–527
- 11 Chang M, Li Z, Huang S. Monomeric G-actin is uniformly distributed in pollen tubes and is rapidly redistributed via cytoplasmic streaming during pollen tube growth. *Plant J*, 2017, 92: 509–519
- 12 Tiwari S C, Polito V S. Organization of the cytoskeleton in pollen tubes of *Pyrus communis*: a study employing conventional and freeze-substitution electron microscopy, immunofluorescence, and rhodamine-phalloidin. *Protoplasma*, 1988, 147: 100–112
- 13 Miller D D, Lancelle S A, Hepler P K. Actin microfilaments do not form a dense meshwork in *Lilium longiflorum* pollen tube tips. *Protoplasma*, 1996, 195: 123–132
- 14 Lovy-Wheeler A, Wilsen K L, Baskin T I, et al. Enhanced fixation reveals the apical cortical fringe of actin filaments as a consistent feature of the pollen tube. *Planta*, 2005, 221: 95–104
- 15 Riedl J, Crevenna A H, Kessenbrock K, et al. Lifeact: a versatile marker to visualize F-actin. *Nat Methods*, 2008, 5: 605–607
- 16 Vidali L, Rounds C M, Hepler P K, et al. Lifeact-mEGFP reveals a dynamic apical F-actin network in tip growing plant cells. *PLoS ONE*, 2009, 4: e5744
- 17 Qu X, Zhang H, Xie Y, et al. *Arabidopsis* villins promote actin turnover at pollen tube tips and facilitate the construction of actin collars. *Plant Cell*, 2013, 25: 1803–1817
- 18 Dong H, Pei W, Haiyun R. Actin fringe is correlated with tip growth velocity of pollen tubes. *Mol Plant*, 2012, 5: 1160–1162
- 19 Vogler F, Konrad S S A, Sprunck S. Knockin' on pollen's door: live cell imaging of early polarization events in germinating *Arabidopsis* pollen. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 246
- 20 Gebert M, Dresselhaus T, Sprunck S. F-actin organization and pollen tube tip growth in *Arabidopsis* are dependent on the gametophyte-specific armadillo repeat protein ARO1. *Plant Cell*, 2008, 20: 2798–2814

- 21 Liu C, Zhang Y, Ren H. Actin polymerization mediated by AtFH5 directs the polarity establishment and vesicle trafficking for pollen germination in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 2018, 11: 1389–1399
- 22 Ruan H, Li J, Wang T, et al. Secretory vesicles targeted to plasma membrane during pollen germination and tube growth. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 8: 615447
- 23 Liu C, Zhang Y, Ren H. Profilin promotes formin-mediated actin filament assembly and vesicle transport during polarity formation in pollen. *Plant Cell*, 2021, 33: 1252–1267
- 24 Romero S, Le Clainche C, Didry D, et al. Formin is a processive motor that requires profilin to accelerate actin assembly and associated ATP hydrolysis. *Cell*, 2004, 119: 419–429
- 25 Jiang Y, Lu Q, Huang S. Functional non-equivalence of pollen ADF isovariants in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2022, 110: 1068–1081
- 26 Zhu J, Nan Q, Qin T, et al. Higher-ordered actin structures remodeled by *Arabidopsis* ACTIN-DEPOLYMERIZING FACTOR5 are important for pollen germination and pollen tube growth. *Mol Plant*, 2017, 10: 1065–1081
- 27 Wu Y, Yan J, Zhang R, et al. *Arabidopsis* FIMBRIN5, an actin bundling factor, is required for pollen germination and pollen tube growth. *Plant Cell*, 2010, 22: 3745–3763
- 28 Cheung A Y, Niroomand S, Zou Y, et al. A transmembrane formin nucleates subapical actin assembly and controls tip-focused growth in pollen tubes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 16390–16395
- 29 Qu X, Zhang R, Zhang M, et al. Organizational innovation of apical actin filaments drives rapid pollen tube growth and turning. *Mol Plant*, 2017, 10: 930–947
- 30 de Win A H N, Pierson E S, Derksen J. Rational analyses of organelle trajectories in tobacco pollen tubes reveal characteristics of the actomyosin cytoskeleton. *Biophys J*, 1999, 76: 1648–1658
- 31 Rounds C M, Hepler P K, Winship L J. The apical actin fringe contributes to localized cell wall deposition and polarized growth in the lily pollen tube. *Plant Physiol*, 2014, 166: 139–151
- 32 Lee Y J, Szumlanski A, Nielsen E, et al. Rho-GTPase-dependent filamentous actin dynamics coordinate vesicle targeting and exocytosis during tip growth. *J Cell Biol*, 2008, 181: 1155–1168
- 33 Gibbon B C, Kovar D R, Staiger C J. Latrunculin B has different effects on pollen germination and tube growth. *Plant Cell*, 1999, 11: 2349–2363
- 34 Vidali L, McKenna S T, Hepler P K. Actin polymerization is essential for pollen tube growth. *Mol Biol Cell*, 2001, 12: 2534–2545
- 35 Fu Y. The cytoskeleton in the pollen tube. *Curr Opin Plant Biol*, 2015, 28: 111–119
- 36 Cheung A Y, Wu H M. Overexpression of an *Arabidopsis* formin stimulates supernumerary actin cable formation from pollen tube cell membrane. *Plant Cell*, 2004, 16: 257–269
- 37 Ye J, Zheng Y, Yan A, et al. *Arabidopsis* Formin3 directs the formation of actin cables and polarized growth in pollen tubes. *Plant Cell*, 2009, 21: 3868–3884
- 38 Lan Y, Liu X, Fu Y, et al. *Arabidopsis* class I formins control membrane-originated actin polymerization at pollen tube tips. *PLoS Genet*, 2018, 14: e1007789
- 39 Li S, Dong H, Pei W, et al. LIFH 1-mediated interaction between actin fringe and exocytic vesicles is involved in pollen tube tip growth. *New Phytol*, 2017, 214: 745–761
- 40 Liu X, Qu X, Jiang Y, et al. Profilin regulates apical actin polymerization to control polarized pollen tube growth. *Mol Plant*, 2015, 8: 1694–1709
- 41 Jiang Y, Chang M, Lan Y, et al. Mechanism of CAP1-mediated apical actin polymerization in pollen tubes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 12084–12093
- 42 Zheng Y, Xie Y, Jiang Y, et al. *Arabidopsis* ACTIN-DEPOLYMERIZING FACTOR7 severs actin filaments and regulates actin cable turnover to promote normal pollen tube growth. *Plant Cell*, 2013, 25: 3405–3423
- 43 Jiang Y, Wang J, Xie Y, et al. ADF10 shapes the overall organization of apical actin filaments by promoting their turnover and ordering in pollen tubes. *J Cell Sci*, 2017, 130: 3988–4001
- 44 Klein M G, Shi W, Ramagopal U, et al. Structure of the actin crosslinking core of fimbrin. *Structure*, 2004, 12: 999–1013
- 45 Wang H J, Wan A R, Jauh G Y. An actin-binding protein, LILIM1, mediates calcium and hydrogen regulation of actin dynamics in pollen tubes. *Plant Physiol*, 2008, 147: 1619–1636
- 46 Jia H, Li J, Zhu J, et al. *Arabidopsis* CROLIN1, a novel plant actin-binding protein, functions in cross-linking and stabilizing actin filaments. *J Biol Chem*, 2013, 288: 32277–32288

- 47 Zhang H, Qu X, Bao C, et al. *Arabidopsis* VILLIN5, an actin filament bundling and severing protein, is necessary for normal pollen tube growth. [Plant Cell](#), 2010, 22: 2749–2767
- 48 Zhao W, Qu X, Zhuang Y, et al. Villin controls the formation and enlargement of punctate actin foci in pollen tubes. [J Cell Sci](#), 2020, 133: jcs237404
- 49 Xu Y, Huang S. Control of the actin cytoskeleton within apical and subapical regions of pollen tubes. [Front Cell Dev Biol](#), 2020, 8: 614821
- 50 Reddy A S, Day I S. Analysis of the myosins encoded in the recently completed *Arabidopsis thaliana* genome sequence. [Genome Biol](#), 2001, 2: research0024.1
- 51 Avisar D, Abu-Abied M, Belausov E, et al. Myosin XIX is a major player in cytoplasm dynamics and is regulated by two amino acids in its tail. [J Exp Bot](#), 2012, 63: 241–249
- 52 Tominaga M, Ito K. The molecular mechanism and physiological role of cytoplasmic streaming. [Curr Opin Plant Biol](#), 2015, 27: 104–110
- 53 Ueda H, Tamura K, Hara-Nishimura I. Functions of plant-specific myosin XI: from intracellular motility to plant postures. [Curr Opin Plant Biol](#), 2015, 28: 30–38
- 54 Wang X, Sheng X, Tian X, et al. Organelle movement and apical accumulation of secretory vesicles in pollen tubes of *Arabidopsis thaliana* depend on class XI myosins. [Plant J](#), 2020, 104: 1685–1697
- 55 Tian X, Wang X, Li Y. Myosin XI-B is involved in the transport of vesicles and organelles in pollen tubes of *Arabidopsis thaliana*. [Plant J](#), 2021, 108: 1145–1161
- 56 Avisar D, Prokhnevsky A I, Dolja V V. Class VIII myosins are required for plasmodesmatal localization of a closterovirus Hsp70 homolog. [J Virol](#), 2008, 82: 2836–2843
- 57 Golomb L, Abu-Abied M, Belausov E, et al. Different subcellular localizations and functions of *Arabidopsis* myosin VIII. [BMC Plant Biol](#), 2008, 8: 3
- 58 Van Damme D, Bouget F Y, Poucke K V, et al. Molecular dissection of plant cytokinesis and phragmoplast structure: a survey of GFP-tagged proteins. [Plant J](#), 2004, 40: 386–398
- 59 Haraguchi T, Tominaga M, Matsumoto R, et al. Molecular characterization and subcellular localization of *Arabidopsis* class VIII myosin, ATM1. [J Biol Chem](#), 2014, 289: 12343–12355
- 60 Wu S Z, Bezanilla M. Myosin VIII associates with microtubule ends and together with actin plays a role in guiding plant cell division. [Elife](#), 2014, 3: e03498
- 61 Yuan Z, Chen H, Chen Q, et al. The early secretory pathway and an actin-myosin VIII motility system are required for plasmodesmatal localization of the NSvc4 protein of Rice stripe virus. [Virus Res](#), 2011, 159: 62–68
- 62 Idilli A I, Morandini P, Onelli E, et al. Microtubule depolymerization affects endocytosis and exocytosis in the tip and influences endosome movement in tobacco pollen tubes. [Mol Plant](#), 2013, 6: 1109–1130
- 63 Cheung A Y, Duan Q H, Costa S S, et al. The dynamic pollen tube cytoskeleton: live cell studies using actin-binding and microtubule-binding reporter proteins. [Mol Plant](#), 2008, 1: 686–702
- 64 Wang X, Zhu L, Liu B, et al. *Arabidopsis* MICROTUBULE-ASSOCIATED PROTEIN18 functions in directional cell growth by destabilizing cortical microtubules. [Plant Cell](#), 2007, 19: 877–889
- 65 Li J, Wang X, Qin T, et al. MDP25, a novel calcium regulatory protein, mediates hypocotyl cell elongation by destabilizing cortical microtubules in *Arabidopsis*. [Plant Cell](#), 2011, 23: 4411–4427
- 66 Fu Y, Xu T, Zhu L, et al. A ROP GTPase signaling pathway controls cortical microtubule ordering and cell expansion in *Arabidopsis*. [Curr Biol](#), 2009, 19: 1827–1832
- 67 Lin D, Cao L, Zhou Z, et al. Rho GTPase signaling activates microtubule severing to promote microtubule ordering in *Arabidopsis*. [Curr Biol](#), 2013, 23: 290–297
- 68 Zhu L, Zhang Y, Kang E, et al. MAP18 regulates the direction of pollen tube growth in *Arabidopsis* by modulating F-actin organization. [Plant Cell](#), 2013, 25: 851–867
- 69 Qin T, Liu X, Li J, et al. *Arabidopsis* microtubule-destabilizing protein 25 functions in pollen tube growth by severing actin filaments. [Plant Cell](#), 2014, 26: 325–339
- 70 Zhou Z, Shi H, Chen B, et al. *Arabidopsis* RIC1 severs actin filaments at the apex to regulate pollen tube growth. [Plant Cell](#), 2015, 27: 1140–1161
- 71 Laitinen E, Nieminen K M, Vihinen H, et al. Movement of generative cell and vegetative nucleus in tobacco pollen tubes is dependent on

- microtubule cytoskeleton but independent of the synthesis of callose plugs. *Sex Plant Reprod*, 2002, 15: 195–204
- 72 Åström H, Sorri O, Raudaskoski M. Role of microtubules in the movement of the vegetative nucleus and generative cell in tobacco pollen tubes. *Sex Plant Reprod*, 1995, 8: 61–69
- 73 Schattner S, Schattner J, Munder F, et al. A tug-of-war model explains the saltatory sperm cell movement in *Arabidopsis thaliana* pollen tubes by kinesins with calponin homology domain. *Front Plant Sci*, 2021, 11: 601282
- 74 Fu Y. The actin cytoskeleton and signaling network during pollen tube tip growth. *J Integr Plant Biol*, 2010, 52: 131–137
- 75 Boavida L C, McCormick S. Temperature as a determinant factor for increased and reproducible *in vitro* pollen germination in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2007, 52: 570–582
- 76 Steinhorst L, Kudla J. Calcium—a central regulator of pollen germination and tube growth. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833: 1573–1581
- 77 Holdaway-Clarke T L, Feijo J A, Hackett G R, et al. Pollen tube growth and the intracellular cytosolic calcium gradient oscillate in phase while extracellular calcium influx is delayed. *Plant Cell*, 1997, 9: 1999–2010
- 78 Picton J M, Steer M W. The effects of ruthenium red, lanthanum, fluorescein isothiocyanate and trifluoperazine on vesicle transport, vesicle fusion and tip extension in pollen tubes. *Planta*, 1985, 163: 20–26
- 79 Schapire A L, Valpuesta V, Botella M A. Plasma membrane repair in plants. *Trends Plant Sci*, 2009, 14: 645–652
- 80 Kovar D R, Drøbak B K, Staiger C J. Maize profilin isoforms are functionally distinct. *Plant Cell*, 2000, 12: 583–598
- 81 Li H, Wu G, Ware D, et al. *Arabidopsis* Rho-related GTPases: differential gene expression in pollen and polar localization in fission yeast. *Plant Physiol*, 1998, 118: 407–417
- 82 Yang Z. Cell polarity signaling in *Arabidopsis*. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2008, 24: 551–575
- 83 Gu Y, Fu Y, Dowd P, et al. A Rho family GTPase controls actin dynamics and tip growth via two counteracting downstream pathways in pollen tubes. *J Cell Biol*, 2005, 169: 127–138
- 84 Feiguelman G, Fu Y, Yalovsky S. ROP GTPases structure-function and signaling pathways. *Plant Physiol*, 2018, 176: 57–79
- 85 Guo J, Yang Z. Exocytosis and endocytosis: coordinating and fine-tuning the polar tip growth domain in pollen tubes. *J Exp Bot*, 2020, 71: 2428–2438
- 86 Malhó R, Liu Q, Monteiro D, et al. Signalling pathways in pollen germination and tube growth. *Protoplasma*, 2006, 228: 21–30
- 87 Krichevsky A, Kozlovsky S V, Tian G W, et al. How pollen tubes grow. *Dev Biol*, 2007, 303: 405–420
- 88 Lee Y J, Yang Z. Tip growth: signaling in the apical dome. *Curr Opin Plant Biol*, 2008, 11: 662–671
- 89 Ischebeck T, Stenzel I, Hempel F, et al. Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate influences Nt-Rac5-mediated cell expansion in pollen tubes of *Nicotiana tabacum*. *Plant J*, 2011, 65: 453–468
- 90 Fratini M, Krishnamoorthy P, Stenzel I, et al. Plasma membrane nano-organization specifies phosphoinositide effects on Rho-GTPases and actin dynamics in tobacco pollen tubes. *Plant Cell*, 2021, 33: 642–670
- 91 Pleskot R, Pejchar P, Bezvoda R, et al. Turnover of phosphatidic acid through distinct signaling pathways affects multiple aspects of pollen tube growth in tobacco. *Front Plant Sci*, 2012, 3: 54
- 92 Huang S, Gao L, Blanchoin L, et al. Heterodimeric capping protein from *Arabidopsis* is regulated by phosphatidic acid. *Mol Biol Cell*, 2006, 17: 1946–1958

Advances in the study of cytoskeleton system regulating pollen tube development

LI TongHui¹, WANG Ting¹ & REN HaiYun^{1,2}

1 Key Laboratory of Cell Proliferation and Regulation Biology of Ministry of Education, College of Life Science, Beijing Normal University, Beijing 100875, China;

2 Center for Biological Science and Technology, Institute of Natural Science, Beijing Normal University, Zhuhai 519085, China

Cytoskeleton is an important component of eukaryotic cells, which is widely involved in a variety of physiological activities, including cell morphogenesis, organelle movement, intracellular transport and communication. Previous studies have shown that cytoskeleton system plays an important role in pollen germination and pollen tube growth, both are the essential steps for flowering plant sexual reproduction process. In this review, the organizational structure, dynamic changes and functional regulation of cytoskeleton system during pollen germination and pollen tube growth were summarized, in order that readers can deeply understand the significant role of cytoskeleton system during pollen polarity establishment and maintenance.

pollen germination, pollen tube growth, microfilaments, microtubule

doi: [10.1360/SSV-2022-0183](https://doi.org/10.1360/SSV-2022-0183)