

EL POLEN COMO INDIVIDUO INTERACTIVO

Hormaza, J.I. & Herrero, M.

Manuscrito recibido el 20 de Junio de 1995, aceptado el 7 de Julio de 1995

Unidad de Fruticultura, S.I.A.-D.G.A. Campus de Aula Dei.
Apartado 727. 50080 Zaragoza.

RESUMEN: El polen constituye la generación gametofítica masculina de las plantas superiores. Debido a su reducido tamaño y a su corta existencia, su papel como organismo independiente ha quedado soterrado y generalmente ha sido considerado como un vector pasivo para el transporte de los gametos. En esta revisión se reivindica el papel del polen como un individuo interactivo recopilando la información disponible que ilustra que el polen interactúa tanto con el medio como con sus congéneres y se analiza el significado que puede tener esta capacidad de interactuar a la luz de la teoría de la selección gametofítica.

PALABRAS CLAVE: polen, gametofito, interacción polen-pistilo

SUMMARY: Pollen is the male gametophytic generation of higher plants. As a result of its reduced size and life span, its role as an interactive organism has been neglected and it has been generally considered as a passive vector whose only function was the transport of the male gametes into the embryo sac. In this review we look at the interactive nature of pollen stressing the fact that pollen actually interacts with the environment as well as with other male gametophytes and female tissues. The implications that this interaction may play in gametophytic selection are analyzed.

KEY WORDS: pollen, gametophyte, pollen-pistil interaction

INDICE

Introducción	6
Interacción con el medio	6
Respuesta a factores externos	6
Salinidad	6
Metales pesados	7
pH	7
Temperatura	7
Otros agentes	7
Significado de esta respuesta	7
Solape en la expresión genética entre gametofito y esporofito	8
Transmisión de caracteres seleccionados a la generación esporofítica	8
Interacción con otros individuos	9
Interacción polen-polen	9
Competencia entre gametofitos masculinos	9
Efecto sinérgico	9
Interacción polen-pistilo	11
Estigma	11
Estilo	11
Ovario	11
Significado de esta interacción	12
Bibliografía	13

INTRODUCCIÓN

Un hecho conservado en plantas es la alternancia de dos generaciones: el esporofito (generalmente diploide) y el gametofito (generalmente haploide). No obstante, conforme avanzamos en la escala evolutiva, la importancia de la fase gametofítica respecto a la esporofítica ha ido progresivamente disminuyendo tanto en la duración de su tiempo de vida como en su tamaño. Esta reducción alcanza su máximo valor en Angiospermas en las que el gametofito masculino (polen) está formado por tres células (la célula vegetativa y las dos células espermáticas) y el femenino (saco embrionario) por seis células situadas en el interior de una célula binucleada. Estos dos gametofitos producen los gametos; el gametofito masculino produce dos células espermáticas y el saco embrionario produce la ovocélula. Debido a esta progresiva reducción de la fase gametofítica, y salvo excepciones a principios de este siglo (JONES, 1928), generalmente se ha considerado al gametofito masculino como un mero vector para la transmisión del genoma a la siguiente generación esporofítica y se ha hablado de él como la generación olvidada (HESLOP-HARRISON, 1979). Sin embargo, en los últimos años, está emergiendo información desde distintos flancos que apunta a que el polen no es simplemente un vector transmisor del genoma de una generación esporofítica a la siguiente. Así, se ha comprobado que el polen expresa gran parte de su información genética, que presenta un comportamiento similar al del esporofito que lo ha producido frente a numerosos factores externos y que puede ser objeto de selección para modificar la composición genética de la generación esporofítica resultante (HORMAZA & HERRERO, 1994). Todo esto es posible y viene mediatizado por la capacidad del polen para interactuar tanto con el medio como con otros individuos. En este sentido, el estudio de la relación del polen con el ecosistema se ha concentrado fundamentalmente en la adaptación a su transporte mediante insectos polinizadores, tema ampliamente revisado (WASER, 1983; PELLMYR, 1992) y

que ha puesto de manifiesto el alto grado de coevolución entre distintos organismos. Sin embargo, hay también otro tipo de interacciones que, por encontrarse dispersas en la literatura, quedan diluidas. En esta revisión se recoge la evidencia existente que subraya esta capacidad de interacción del polen, tanto con el medio como con otros individuos, y se analiza el significado que puede tener esta interacción.

INTERACCIÓN CON EL MEDIO

En principio, la relación directa del polen con el medio es escasa ya que vive protegido primero en el interior de los tejidos de la antera de su planta madre y posteriormente en el interior de los tejidos de la planta madre del gametofito femenino con el que va a aparearse. Su contacto directo con el medio ambiente se vería reducido a la polinización, fase en que es transportado de una planta a otra. Esto podría hacer pensar que el gametofito masculino no requiere interactuar con el medio. Sin embargo, hay evidencias que indican que el polen sí responde a factores externos.

RESPUESTA A FACTORES EXTERNOS

Los primeros trabajos surgieron de ecólogos que observaron como las plantas que crecían sometidas a determinado estrés producían polen que presentaba una mayor resistencia a ese estrés que polen procedente de plantas no expuestas a esas condiciones. Los ejemplos son numerosos.

Salinidad. *Armeria maritima* es una planta que crece en zonas costeras. Se comprobó que polen procedente de poblaciones de *Armeria* que viven más cerca del mar es más resistente a la presencia de agua marina en el medio de germinación que polen procedente de poblaciones de *Armeria* que viven más alejadas de la costa (EISIKOWITCH & WOOD-DELL, 1975). Un caso similar se ha observado en *Rosa* (WEBER & REIMANN-PHILIPP, 1989).

Metales pesados. También en este caso plantas que crecen en lugares que presentan altas concentraciones de metales pesados, como puede ser el caso de minas abandonadas, producen polen más tolerante a la presencia de metales en su medio de germinación que polen producido por plantas alejadas de esas minas. Como ejemplos podemos citar: zinc en *Silene* (SEARCY & MULCAHY, 1985a), cobre en *Mimulus* (SEARCY & MULCAHY, 1985a), aluminio en *Lycopersicon* (SEARCY & MULCAHY, 1990).

pH. En especies forestales se ha comprobado que la tolerancia del polen está estrechamente relacionada con las condiciones de pH del suelo en el que crecen los árboles que lo producen (COX, 1986).

Temperatura. Un ejemplo claro ocurre en el género *Lycopersicon*. *Lycopersicon hirsutum* es una especie originaria de la cordillera andina a grandes altitudes y el polen que produce germina mejor a bajas temperaturas que el polen producido por *Lycopersicon esculentum*, originaria de condiciones subtropicales (ZAMIR & al., 1981; PATTERSON & al., 1987). Comportamientos similares se han encontrado en otras especies vegetales tanto en la adaptación a altas como a bajas temperaturas: *Zea* (HERRERO & JOHNSON, 1980), *Phaseolus* (WEAVER & al., 1985), *Juglans* (LUZA & al., 1987), *Pistacia* (POLITO & al., 1988), o *Solanum* (KRISTJANSDOTTIR, 1990).

Otros agentes. Por otra parte, se ha visto que el polen también es capaz de responder a presiones de selección con las que no necesariamente ha convivido previamente la planta que lo produce. En este sentido podemos resaltar la respuesta a herbicidas en *Beta* (SMITH & MOSER, 1985; SMITH, 1986), *Zea* (SARIGORLA & al., 1992a; 1994a; FRASCAROLI & al., 1994) o *Lolium* (RICHTER & POWLES, 1993), a antibióticos en plantas transgénicas de *Lycopersicon* (BINO & al., 1987; BINO & STEPHENSON, 1988), a toxinas fúngicas en *Zea* (LAUGHNAN & GABAY, 1973), *Brassica* (HODGKIN & MCDONALD, 1986; HODGKIN, 1990; SHIVANNA

& SAWHNEY, 1993), *Lycopersicon* (BINO & al., 1988; DARAKOV, 1995) y *Dianthus* (SCHIVA & al., 1991) o a ozono en *Nicotiana* y *Petunia* (FEDER & SULLIVAN, 1969; FEDER, 1986) y en *Prunus* (HORMAZA & al., 1995).

SIGNIFICADO DE ESTA RESPUESTA

Parece claro que el polen es capaz de responder a diversos agentes externos y que hay diferencias entre individuos en la respuesta obtenida. El hecho que una generación que, en principio, no tendría necesidad de interactuar con el medio esté preparada para responder a él nos lleva a pensar en cual puede ser el sentido de esta capacidad de respuesta. Una posible explicación es que, dado que el polen es una célula albergada dentro de otra célula, se verá afectado por todo aquello que altere el metabolismo celular. Cualquiera que sea el agente estresante, si éste produce un efecto en la planta, tiene que producir en primera instancia un efecto a nivel celular. Así, se ha propuesto que el empleo de polen puede ser aprovechado con éxito en estudios de contaminación atmosférica (WOLTERS & MARTENS, 1987) o en estudios toxicológicos en los que se sustituyan animales de laboratorio por polen (STRUBE & al., 1991) llevando a la realidad la propuesta que hizo ROSEN (1975) hace veinte años de que en el futuro el polen se emplearía de un modo similar a como se habían empleado canarios para conocer la presencia de concentraciones tóxicas de monóxido de carbono en minas de carbón.

Sin embargo podría haber algo más. El hecho que las respuestas del polen frente al medio se correspondan con las del esporofito que lo produce pone de manifiesto que estas respuestas tienen una base genética. Esto unido a que hay diferencias de respuesta entre individuos, es decir variabilidad, lleva a pensar que en la fase gametofítica podría haber una selección de individuos y, como resultado de esta selección, los gametofitos masculinos mejor adaptados a un determinado medio ambiente tendrían más posibilidades de intervenir en la

en el estigma, la competición entre gametofitos masculinos procedentes de un individuo heterocigótico puede iniciarse durante su desarrollo en la antera (MULCAHY & al., 1982) o incluso dentro de una misma tétrada (WILLIAMS & ROUSE, 1990; MULCAHY & al., 1992). Una vez completado su desarrollo en la antera, el envejecimiento de los granos de polen conlleva una progresiva reducción en su viabilidad pero también aquí puede tener lugar una selección durante el proceso de mortalidad del polen, de forma que los granos de polen capaces de sobrevivir durante más tiempo en los pasos previos a la germinación van a tener también más posibilidades de intervenir en la fecundación (MULCAHY & al., 1982).

Una vez que los granos de polen llegan al estigma también se producen situaciones de competencia. La más extrema es la alelopatía que consiste en la inhibición de la germinación o del crecimiento de los tubos polínicos por la presencia de polen o de extractos de polen de otros individuos, y que ha sido descrita tanto *in vitro* como *in vivo* en distintas especies vegetales. *In vivo*, la competición directa entre gametofitos masculinos en el estigma mediante la supresión de la actividad de otros gametofitos fue descrita primeramente en cruzamientos interespecíficos (KANCHAN & JAYACHANDRA, 1980; THOMSON & al., 1981; MURPHY & AARSEN, 1989, 1995). Recientemente el fenómeno ha sido también descrito en cruzamientos intraespecíficos (D'ECKENBRUGGE, 1990).

Posteriormente, a lo largo del crecimiento de los tubos polínicos en el estilo, también se produce una situación de competencia, de forma que sólo una proporción de los granos de polen que han llegado a germinar en un estigma es capaz de producir tubos polínicos que lleguen hasta el óvulo. Los gametofitos masculinos con una mayor tasa de crecimiento van a ser los que, en igualdad de condiciones, tengan mayores probabilidades de intervenir en la fecundación. Se han descrito diferencias entre individuos en la velocidad de crecimiento de los tubos polínicos (SNOW & SPIRA, 1991) y se ha visto que estas diferencias tienen un

componente genético (SARI-GORLA & al., 1992b, 1994b). Por otra parte se ha discutido hasta qué punto el éxito reproductivo depende de que se trate de mejores machos o de mejores apareamientos (MARSHALL & FOLSOM, 1991) ya que el resultado final de la fecundación no sólo está condicionado por el grado de competitividad del gametofito masculino sino que también es el resultado de una interacción con la hembra y con el ambiente, de forma que un determinado polen puede tener gran éxito reproductivo en una hembra y/o ambiente determinado pero poco éxito en otras condiciones.

Efecto sinérgico. Sobrepuesta a esta situación de competencia entre los gametofitos masculinos, se produce también una serie de efectos sinérgicos que tienen como denominador común que los granos de polen que no consiguen pasar a la generación siguiente, de algún modo, ayudan a los que sí lo consiguen. El primero de estos efectos se registra durante la germinación del polen y se denominó efecto población. Se observó en experimentos *in vitro* en diversas especies (revisado en VASIL, 1987) y consistía en que generalmente granos de polen aislados no eran capaces de una buena germinación; cuando ese mismo polen se encontraba en compañía de otros granos de polen la germinación era normal. Posteriormente, se comprobó que este efecto estaba mediatizado por los niveles de calcio en el medio de germinación (BREWBAKER & KWACK, 1963). Cada grano de polen libera al medio una pequeña cantidad de calcio que no es suficiente para posibilitar la germinación, mientras que al reunir la de varios granos de polen se alcanza el umbral requerido para su germinación.

Este efecto sinérgico se observa también tras la germinación durante el crecimiento de los tubos polínicos a lo largo del estilo. En polinizaciones con mezclas de polen autoincompatible y compatible, que es la situación que normalmente se da en la naturaleza, se ha observado que el crecimiento de los tubos polínicos compatibles es más rápido que en polinizaciones efectuadas sólo con polen compati-

ble (HERRERO & DICKINSON, 1980). Este comportamiento podría estar asociado con la activación general del pistilo que se produce tras la polinización (DEURENBERG, 1976) y que también tiene un efecto alargando la vida del saco embrionario (HERRERO & GAS-CÓN, 1987).

INTERACCIÓN POLEN-PISTILO

Todas estas interacciones entre los granos de polen no pueden entenderse si se desligan del escenario donde ocurren, que es el pistilo. La fase progámica, que comprende desde la polinización a la fecundación, parece estar especialmente diseñada para propiciar la interacción macho-hembra. Esta interacción se va desarrollando en el tiempo y en el espacio a través de las distintas estructuras que el tubo polínico atraviesa en su camino hacia el óvulo.

Estigma. El estigma interactúa con el polen proporcionando un medio adecuado para su germinación (HESLOP-HARRISON & HESLOP-HARRISON, 1985). Este medio en algunas especies consiste en la producción de una secreción (estigmas húmedos) y en otras en la producción de una película (estigmas secos) (HESLOP-HARRISON & SHIVANNA, 1977). La germinación del polen en el estigma está controlada por cambios en el medio producido por el tejido estigmático (GONZALEZ & al. 1995a). Este medio no es idóneo para polen de cualquier especie vegetal, lo que explica una buena parte de las barreras que dificultan la obtención de cruzamientos interespecíficos. La incapacidad de un determinado polen para germinar en un determinado estigma ocurre también en las especies que presentan incompatibilidad intraespecífica de tipo esporofítico (ELLEMAN & DICKINSON, 1994), aunque en este caso no se trata de un mecanismo de incongruencia (HOGEMBOOM, 1975) sino de un sistema finamente regulado (NASRALLAH & NASRALLAH, 1993). El tamaño del estigma y su receptividad afectan a la cantidad de polen que se puede depositar en él. Tanto la prolongación del período de receptivi-

dad estigmática como el incremento de la superficie estigmática pueden favorecer la competición gametofítica incrementando el número de granos de polen depositados sobre el estigma.

Estilo. En el estilo se produce también un apoyo al crecimiento de los tubos polínicos. El rápido crecimiento de los tubos polínicos implica una gran fabricación de pared celular y las reservas para fabricar esta pared se obtienen de los tejidos del estilo. Al abrirse la flor, los tejidos del pistilo están llenos de reservas de almidón. A medida que los tubos polínicos atraviesan los tejidos del estilo, estas reservas van desapareciendo (HERRERO & DICKINSON, 1979). Este hecho ha sido observado en muy diferentes especies que presentan un estilo sólido (SEDGLEY, 1979; HERRERO & ARBELOA, 1989; GONZALEZ & al., 1995b). Del mismo modo, en especies que presentan un canal estilar se ha observado tanto la aparición de una secreción en este canal (LABARCA & LOEWUS, 1973) como la incorporación de este material en los tubos polínicos durante su crecimiento (KROH & al., 1971). Todo esto pone de manifiesto que los tubos polínicos tienen una dependencia trófica del pistilo. Esta dependencia hace que el pistilo controle la velocidad de crecimiento de los tubos polínicos (HERRERO & ARBELOA, 1989) y también juega un papel importante propiciando una competencia entre los tubos polínicos (HORMAZA & HERRERO, 1994). En varias especies se ha observado una reducción en el número de tubos polínicos a medida que éstos atraviesan el estilo (LORD & KOHORN 1986; HESLOP-HARRISON & al., 1985; CRUZAN 1986, 1989, 1990; HERRERO, 1992). Esto es debido a la peculiar arquitectura en forma de embudo del tejido transmisor del estilo por el que crecen los tubos polínicos, de forma que se va estrechando conforme aumenta la distancia desde el estigma, dejando cada vez menos espacio utilizable para el crecimiento de los tubos al mismo tiempo que se produce una reducción en la cantidad de nutrientes disponible (HERRERO, 1992).

Ovario. El ovario es un escenario menos explorado, pero todo parece indicar que en él también ocurre una intensa interacción (HERRERO & al., 1988) habiéndose comprobado en diversos casos que el acceso de los tubos polínicos al óvulo es un proceso estrictamente regulado. En este sentido, en muchas especies se ha descrito una protuberancia en la placenta que se enfrenta al micropilo: el obturador. En melocotonero se ha observado que este obturador juega un papel importante regulando el paso de los tubos polínicos, de forma que ese paso sólo es posible cuando el obturador entra en una fase secretora (ARBELOA & HERRERO, 1987). Este comportamiento produce detenciones en el crecimiento de los tubos polínicos (HERRERO & ARBELOA, 1989). Una estrategia similar, aunque mediada por un mecanismo diferente, el ponticulus, se ha observado en pistachero, una especie calazógama (MARTINEZ-PALLÉ & HERRERO, 1995). Por otra parte en kiwi, una especie que tiene una alta tasa reproductiva, se ha comprobado que la secreción de los obturadores se produce durante un largo periodo de tiempo (GONZALEZ & al., 1995b). También se han observado procesos de retraso en la fecundación una vez que los tubos polínicos han llegado a la base del estilo en una serie de especies (WILLSON & BURLEY, 1983). Estos retrasos son especialmente importantes en Gimnospermas aunque también ocurren en algunas Angiospermas. En este sentido es interesante señalar que la presencia del estilo como medio en el que se produce la interacción entre los gametofitos masculinos y con los tejidos femeninos es exclusivo de las Angiospermas, por lo que parte de la selección entre los gametofitos masculinos ya ha sido realizada antes de la llegada de éstos a la base del estilo, no siendo éste el caso en Gimnospermas. Queda por conocer el papel que juegan estas detenciones, pero se ha propuesto que de algún modo juegan un papel en la reducción de la población de gametofitos femeninos (HERRERO, 1992) con lo que podrían estar implicadas en lo que se ha denominado selección de pareja en plantas (MARRSHALL & FOLSOM, 1991).

SIGNIFICADO DE ESTA INTERACCIÓN

Los diferentes eventos, que van ocurriendo a lo largo del viaje del tubo polínico a través del pistilo, comparten una misma filosofía y es que el pistilo los controla a través del sustento que proporciona a los tubos polínicos. El pistilo, a lo largo de sus diferentes estructuras propicia un medio adecuado para la germinación del polen y el crecimiento de los tubos polínicos. La dependencia de los tubos polínicos de este sustento para poder seguir creciendo es la clave por la que el pistilo controla el crecimiento de los tubos ya que el suministro no es *ad libitum* sino que se produce de modo discreto en distintos momentos y estructuras, lo que conduce a que se produzcan aceleraciones y deceleraciones a lo largo del crecimiento del tubo polínico (HERRERO Y ARBELOA, 1989). Por otra parte, el que la disponibilidad de nutrientes no sea siempre la misma sino que vaya disminuyendo a medida que los tubos polínicos se adentran en el pistilo hace que cada vez el acceso a esos nutrientes sea más restringido, con lo que se produce una reducción en el tamaño inicial de la población de gametofitos masculinos (HERRERO, 1992).

El pistilo parece pues especialmente bien diseñado para favorecer la competencia entre gametofitos masculinos. Esta competencia propicia una situación de selección entre estos gametofitos. Hay aspectos de esta selección que son bien conocidos y establecidos, como puede ser la eliminación de individuos con genes letales (CHASAN & WALBOT, 1993), de individuos de otras especies a través de los sistemas de incompatibilidad interespecífica (de NETTANCOURT, 1977), o de individuos emparentados a través de los mecanismos de incompatibilidad intraespecífica (LEWIS, 1994), que evitan la cosanguinidad. Sin embargo, evidencias que van emergiendo desde distintos flancos sugieren que esta selección podría tener un marco más amplio y podría estar implicada en seleccionar los mejores individuos. La pregunta que surge entonces es qué es ser mejor. Mientras que se han registrado diferencias genotípicas entre individuos en lo que se refiere a su velocidad de crecimiento (SNOW &

SPIRA, 1991), si la selección operase de modo absoluto, el razonamiento de WALSH & CHARLESWORTH (1992) de que ello conduciría a la fijación de los caracteres que controlan la velocidad de crecimiento del tubo polínico sería válido. De ahí que ser mejor se refiere a ser mejor para una hembra determinada en un medio determinado. Se conoce que en plantas sometidas a un estrés se produce una reducción en la viabilidad de los gametofitos masculinos que producen (YOUNG & STANTON, 1990) y también se sabe que presiones de selección modifican las descendencias obtenidas en esas condiciones. Queda por valorar hasta qué punto la selección gametofítica participa en este proceso. Una característica peculiar del polen es que comparte con los microorganismos dos de las características que permiten una rápida evolución de esos seres vivos: gran tamaño de población y haploidía (MULCAHY, 1979). A esto hay que añadir que el polen responde a agentes externos y que tiene lugar una intensa competencia entre individuos, lo que lleva a una situación de selección propiciada por la interacción polen-pistilo. Son éstas las evidencias indirectas que convergen en apuntar a que la selección gametofítica podría jugar un papel relevante en el proceso evolutivo de las Angiospermas, aunque todavía no tenemos una visión clara de cómo ocurre el proceso. Lo que sí parece claro es que el polen es un organismo interactivo tanto con el medio como con otros granos de polen y con los tejidos del pistilo y que esa interacción tiene importantes implicaciones en selección sexual y en determinar qué gametofitos masculinos van a transmitir sus genes a la siguiente generación esporofítica.

BIBLIOGRAFÍA

- ARBELOA, A. & HERRERO, M. (1987). The significance of the obturator in the control of pollen tube entry into the ovary in peach (*Prunus persica*). *Ann. Bot.* 60:681-685.
- BARNABÁS, B. & KOVÁCS, G. (1988). Perspectives of pollen and male gamete selection in cereals. In: H.J. WILMS & C.J. KEIJZER (eds) *Plant sperm cells as emerging tools for crop biotechnology*, pp. 137-147. Pudoc, Wageningen.
- BELL, P.R. (1995). Incompatibility in flowering plants: adaptation of an ancient response. *The Plant Cell* 7:5-16.
- BINO, R.J. & STEPHENSON, A.G. (1988). Selection and manipulation of pollen and sperm cells. In: H.J. WILMS & C.J. KEIJZER (eds) *Plant sperm cells as emerging tools for crop biotechnology*, pp. 125-135. Pudoc, Wageningen.
- BINO, R.J.; HILLE, J. & FRANKEN, J. (1987). Kanamycin resistance during *in vitro* development of pollen from transgenic tomato plants. *Plant Cell Rep.* 6:333-336.
- BINO, R.J.; FRANKEN, J.; WITSENBOER, H.M.A.; HILLE, J. & DONS, J.J.M. (1988). Effects of *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* toxins on pollen. *Theor. Appl. Genet.* 76(2):204-208.
- BOCSI, J.; KOVÁCS, G. & BARNABÁS, B. (1990). Pollen storage effect on seed germination ability at low temperature in maize (*Zea mays* L.). *Cereal Res. Commun.* 18(4):347-354.
- BREWBAKER, J. & KWACK, B. (1963). The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *Am. J. Bot.* 50(9):859-865.
- CHARLESWORTH, D. (1988). Evidence for pollen competition in plants and its relationship to progeny fitness: a comment. *Am. Nat.* 132(2):298-302.
- CHARLESWORTH, D.; SCHEMSKE, D.W. & SORK, V.L. (1987). The evolution of plant reproductive characters; sexual versus natural selection. In: S.C. STEARNS (ed.) *The evolution of sex and its consequences*, pp. 317-335. Birkhäuser Verlag, Basel Boston.
- CHASAN, R. & WALBOT, V. (1993). Mechanisms of plant reproduction: questions and approaches. *The Plant Cell* 5:1139-1146.
- CRUZAN, M.B. (1986). Pollen tube distributions in *Nicotiana glauca*: evidence for density dependent growth. *Am. J. Bot.* 73(6):902-907.
- CRUZAN, M.B. (1989). Pollen tube attrition in *Erythronium grandiflorum*. *Am. J. Bot.* 76(4):562-570.

- CRUZAN, M.B. (1990). Pollen-pollen and pollen-style interactions during pollen tube growth in *Erythronium grandiflorum* (Liliaceae). *Am. J. Bot.* 77(1):116-122.
- COX, R.M. (1986). *In vitro* and *in vivo* effects of acidity and trace elements on pollen function. In: D.L. MULCAHY, B. MULCAHY & E. OTTAVIANO (eds) *Biotechnology and ecology of pollen*, pp. 95-100. Springer-Verlag, New York.
- DARAKOV, O.B. (1995). Gametophyte selection of tomatoes for resistance to early blight disease. *Sex. Plant Reprod.* 8:95-98.
- D'EECKENBRUGGE, 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.
- DEURENBERG, J.J.M. (1976). Activation of protein synthesis in ovaries from *Petunia hybrida* after compatible and incompatible pollination. *Acta Bot. Néerl.* 25:221-226.
- DICKINSON, H.G. (1994). The regulation of alternation of generation in flowering plants. *Biol. Rev.* 69:419-422.
- EISIKOWITZ, D. & WODELL, S. (1975). Some aspects of pollination ecology of *Armeria maritima* in Britain. *New Phytol.* 74:307-322.
- ELLEMAN, C.J. & DICKINSON, H.G. (1994). Pollen-stigma interaction during sporophytic self-incompatibility in *Brassica oleracea*. In: E.G. WILLIAMS, B.R. KNOX & A.E. CLARKE (eds) *Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants*, pp. 67-87. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands.
- EVANS, D.E.; ROTHNIE, N.E.; SANG, J.P.; PALMER, M.V.; MULCAHY, D.L.; SINGH, M.B. & KNOX, R.B. (1988). Correlations between gametophytic (pollen) and sporophytic (seed) generations for polyunsaturated fatty acids in oilseed rape *Brassica napus* L. *Theor. Appl. Genet.* 76(3):411-419.
- FEDER, W.A. (1986). Predicting species response to ozone using a pollen screen. In: D.L. MULCAHY; G. MULCAHY & E. OTTAVIANO (eds) *Biotechnology and ecology of pollen*, pp. 89-94. Springer-Verlag, New York.
- FEDER, W. & SULLIVAN, F. (1969). Differential susceptibility of pollen grains to ozone injury. *Phytopathology* 59:399.
- FRASCAROLI, E.; GALLETI, S. & LANDI, P. (1994). Haplo-diploid gene expression and pollen selection for tolerance to acetochlor in maize. *Theor. Appl. Genet.* 88:780-784.
- FROVA, C.; PORTALUPPI, P.; VILLA, M. & SARI-GORLA, M. (1995). Sporophytic and gametophytic components of thermotolerance affected by pollen selection. *J. Hered.* 86:50-54.
- GONZÁLEZ, M.V.; COQUE, M. & HERRERO, M. (1995a). Stigmatic receptivity limits the effective pollination period in kiwifruit. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 120(2):199-202.
- GONZÁLEZ, M.V.; COQUE, M. & HERRERO, M. (1995b). Pollen-pistil interaction in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, Actinidiaceae). *Am. J. Bot.* (in press).
- HAWTHORN, L.R.; BOHART, G.E. & TOOLE, E.H. (1956). Carrot seed yield and germination as affected by different levels of insect pollination. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.* 67:384-389.
- HERRERO, M. (1992). Mechanisms in the pistil that regulate gametophytic population in peach (*Prunus persica*). In: E. OTTAVIANO, D.L. MULCAHY, M. SARI-GORLA & G.B. MULCAHY (eds) *Angiosperm pollen and ovules*, pp. 377-381. Springer-Verlag, New York.
- HERRERO, M. & ARBELOA, A. (1989). Influence of the pistil on pollen tube kinetics in peach (*Prunus persica*). *Am. J. Bot.* 76(10):1441-1447.
- HERRERO, M. & DICKINSON, H.G. (1980). Pollen tube growth following compatible and incompatible intraspecific pollinations in *Petunia hybrida*. *Planta* 148:217-221.
- HERRERO, M. & DICKINSON, H.G. (1979). Pollen-pistil incompatibility in *Petunia hybrida*, changes in the pistil following compatible and incompatible intraspecific crosses. *J. Cell Sci.* 36:1-18.
- HERRERO, M. & GASCON, M. (1987). Prolongation of embryo sac viability in pear (*Pyrus communis*) following pollination or treatment with gibberellic acid. *Ann. Bot.* 60:287-293.
- HERRERO, M.; ARBELOA, M. & GASCÓN, M. (1988). Pollen pistil interaction in the ovary in fruit trees. In: M. CRESTI, P. GORI & E. PACINI (eds) *Sexual Reproduction in Higher Plants*, pp. 297-302. Springer-Verlag, Berlin.

- HERRERO, M.P. & JOHNSON, R. (1980). High temperatures and pollen viability in maize. *Crop Sci.* 20:796-800.
- HESLOP-HARRISON, J. (1979). The forgotten generation: some thoughts on the genetics and physiology of angiosperm gametophytes. In: D.R. DAVIES & D.A. HOPWOOD (eds). *The Plant Genome*, 4th J. Innes Symposium, pp. 1-14. Norwich.
- HESLOP-HARRISON, J. & HESLOP-HARRISON, Y. (1985). Surfaces and secretions in the pollen-stigma interaction: a brief review. *J. Cell Sci. Suppl.* 2:287-300.
- HESLOP-HARRISON, J. & SHIVANNA, K.R. (1977). The receptive surface of the angiosperm stigma. *Ann. Bot.* 41:1233-1258.
- HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y. & REGER, B.J. (1985). The pollen-stigma interaction in the grasses. 7. Pollen tube guidance and the regulation of tube number in *Zea mays* L. *Acta Bot. Néerl.* 34:193-211.
- HODGKIN, T. (1988). *In vitro* pollen selection in *Brassica napus* L. In: M. CRESTI, P. GORI & E. PACINI (eds). *Sexual Reproduction in Higher Plants*, pp. 57-62. Springer-Verlag, Berlin.
- HODGKIN, T. (1990). *In vitro* pollen selection in *Brassica napus* L. for resistance to phytotoxic compounds from *Alternaria brassicicola* (Schw.) Wilts. *Sex. Plant Reprod.* 3(2):116-120.
- HODGKIN, T. & MCDONALD, M.V. (1986). The effect of a phytotoxin from *Alternaria brassicicola* on *Brassica* pollen. *New Phytol.* 104:631-636.
- HOGENBOOM, N.G. (1975). Incompatibility and incongruity: two different mechanisms for the non-functioning of intimate partner relationships. *Proc. R. Soc. Ser. B* 188:361-375.
- HORMAZA, J.I. & HERRERO, M. (1994). Gametophytic competition and selection. In: E.G. WILLIAMS, B.R. KNOX & A.E. CLARKE (eds). *Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants*, pp. 372-400. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands.
- HORMAZA, J.I., PINNEY, K. & POLITO, V.S. (1995). Correlation in the tolerance to ozone between sporophytes and male gametophytes of several fruit and nut tree species (Rosaceae). *Sex. Plant Reprod.* (en prensa).
- JONES, D.F. (1928). *Selective fertilization*. University of Chicago Press, Chicago.
- KANCHAN, S. & JAYACHANDRA. (1980). Pollen allelopathy a new phenomenon. *New Phytol.* 84:739-746.
- KOVÁCS, G. & BARNABÁS, B. (1992). Production of highly cold tolerant maize inbred lines by repeated gametophytic selection. In: E. OTTAVIANO, D.L. MULCAHY, M. SARI-GORLA & G.B. MULCAHY (eds). *Angiosperm pollen and ovules*, pp. 359-363. Springer Verlag, New York.
- KRISTJANSDOTTIR, I.S. (1990). Pollen germination *in vitro* at low temperature in european and andean tetraploid potatoes. *Theor. Appl. Genet.* 80:139-142.
- KROH, M.; LABARCA, L. & LOEWUS, F. (1971). Use of pistil exudate for pollen tube wall biosynthesis in *Lilium longiflorum*. In: HESLOP-HARRISON (ed). *Pollen Development and Physiology*, pp. 273-278. Butterworths, London.
- LABARCA, C. & LOEWUS, F. (1973). Nutritional role of pistil exudate in pollen tube wall formation in *Lilium longiflorum*. II. Production and utilization of exudate from stigma and stylar canal. *Plant Physiol.* 52:87-92.
- LAUGHNAN, J. & GABAY, S. (1973). Reaction of germinating maize pollen to *Helminthosporium maydis* pathotoxins. *Crop Sci.* 13(4):681-684.
- LEWIS, D. (1994). Gametophytic-sporophytic incompatibility. In: E.G. WILLIAMS, B.R. KNOX & A.E. CLARKE (eds). *Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants*, pp. 88-101. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands.
- LORD, E.M. & KOHORN, L.U. (1986). Gynoecial development, pollination, and the path of pollen tube growth in the tepary bean, *Phaseolus acutifolius*. *Am. J. Bot.* 73:70-78.
- LUZA, J.G.; POLITO, V.S. & WEINBAUM, S.A. (1987). Staminate bloom date and temperature responses of pollen germination and tube growth in two walnut (*Juglans*) species. *Am. J. Bot.* 74(12):1898-1903.
- LYAKH, V. (1992). Competence of the pollen of wild species and the cultivar of tomato to affect fertilization at low temperature. *Sex. Plant Reprod.* 5(2):128-130.

- MARSHALL, D. & FOLSOM, M. (1991). Mate choice in plants: an anatomical to population perspective. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 22:37-63.
- MARTÍNEZ-PALLÉ, E. & HERRERO, M. (1995). The ponticulus: a structure bridging pollen tube access to the ovule in *Pistacia vera*. *Sex. Plant Reprod.* 8(4):217-222.
- MASCARENHAS, J.P. (1989). The male gametophyte of flowering plants. *The Plant Cell* 1:657-664.
- MASCARENHAS, J.P. (1993). Molecular mechanisms of pollen tube growth and differentiation. *The Plant Cell* 5:1303-1314.
- MULCAHY, D. (1979). The rise of angiosperms: a genealogical factor. *Sci.* 206:20-23.
- MULCAHY, D.L. & MULCAHY, G.B. (1987). The effects of pollen competition. *Am. Sci.* 75:44-50.
- MULCAHY, D.L.; MULCAHY, G.B. & SEARCY, K.B. (1992). Evolutionary genetics of pollen competition. In: R. WYATT (ed.) *Ecology and evolution of plant reproduction*, pp. 25-36. Chapman & Hall, New York, London.
- MULCAHY, G.B.; MULCAHY, D. & PFHALER, P. (1982). The effect of delayed pollination in *Pennisetum hybridum*. *Acta Bot. Néerl.* 31:97-103.
- MURPHY, S.D. & AARSSSEN, L.W. (1989). Pollen allelopathy among sympatric grassland species. *In vitro* evidence in *Phleum pratense* L. *New Phytol.* 112(2):295-305.
- MURPHY, S.D. & AARSSSEN, L.W. (1995). *In vitro* allelopathic effects of pollen from three *Hieracium* species (Asteraceae) and pollen transfer to sympatric Fabaceae. *Am. J. Bot.* 82(1):37-45.
- NASRALLAH, J.B. & NASRALLAH, M.E. (1993). Pollen-stigma signaling in the sporophytic self-incompatibility response. *The Plant Cell* 5:1325-1335.
- de NETTANCOURT, D. (1977). *Incompatibility in Angiosperms*. Springer-Verlag, Berlin.
- OTTAVIANO, E., PETRONI, D. & PÉ, M.E. (1988). Gametophytic expression of genes controlling endosperm development in maize. *Theor. Appl. Genet.* 75:252-258.
- PALMER, T.D. & ZIMMERMAN, M. (1994). Pollen competition and sporophyte fitness in *Brassica campestris*: does intense pollen competition result in individuals with better pollen? *Oikos* 69:80-86.
- PATTERSON, B.D.; MUTTON, L.; PAULL, R.E. & NGUYEN, V.Q. (1987). Tomato pollen development: stages sensitive to chilling and a natural environment for the selection of resistant genotypes. *Plant Cell Environ.* 10:363-368.
- PELLMYR, O. (1992). Evolution of insect pollination and angiosperm diversification. *Trends Ecol. Evol.* 7(2):46-49.
- PETOLINO, J.F.; COWEN, N.M.; THOMPSON, S.A. & MITCHELL, J.C. (1990). Gamete selection for heat stress tolerance in maize. *J. Plant Physiol.* 136:219-224.
- POLITO, V.S.; LUZA, J.G. & WEINBAUM, S.A. (1988). Differential low temperature germination responses by pollen of *Pistacia vera* clones with different bloom dates. *Sci. Horti.* 35:269-274.
- RICHTER, J. & POWLES, S.B. (1993). Pollen expression of herbicide target site resistance genes in annual ryegrass (*Lolium rigidum*). *Plant Physiol.* 102:1037-1041.
- RODRIGUEZ-GARAY, B. & BARROW, J.R. (1988). Pollen selection for heat tolerance in cotton. *Crop Sci.* 28(5):857-859.
- ROSEN, W.G. (1975). Pollen/pistil interactions. In: J.G. DUCKETT & P.A. RALEY (eds). *The biology of the male gamete*, pp. 153-164. Supplement n° 1 to the Biological Journal of the Linnean Society vol. 7. Academic Press, London.
- SACHER, R.F., MULCAHY, D.L. & STAPLES, R.C. (1983). Developmental selection during self pollination of *Lycopersicon x Solanum* F1 for salt tolerance of F2. In: D.L. MULCAHY & E. OTTAVIANO (eds) *Pollen: biology and implications for plant breeding*, pp. 329-334. Elsevier, New York.
- SARI-GORLA, M.; MULCAHY, D.L.; GIANFRANCESCO, L. & OTTAVIANO, E. (1988). Gametophytic selection for salt tolerance. *Genetica Agraria* 42(1):92-93.
- SARI-GORLA, M.; OTTAVIANO, E.; FRASCAROLI, E. & LANDI, P. (1989). Herbicide-tolerant corn by pollen selection. *Sex. Plant Reprod.* 2:65-69.
- SARI-GORLA, M.; FERRARIO, S.; GIANFRANCESCO, L. & VILLA, M. (1992a). Herbicide tolerance in maize - Genetics and pollen selection. In: E. OTTAVIANO, D.L. MULCAHY, M. SARI-GORLA & G.B. MULCAHY (eds) *Angiosperm Pollen and Ovules*, pp. 364-369. Springer-Verlag, New York.

- SARI-GORLA, M.; PÉ, M.E.; MULCAHY, D.L. & OTTAVIANO, E. (1992b). Genetic dissection of pollen competitive ability in maize. *Hered.* 69:423-430.
- SARI-GORLA, M.; FERRARIO, S.; FRASCAROLI, E.; FROVA, C.; LANDI, P. & VILLA, M. (1994a). Sporophytic response to pollen selection for Alachlor tolerance in maize. *Theor. Appl. Genet.* 88:812-817.
- SARI-GORLA, M.; PÉ, M.E. & ROSSINI, L. (1994b). Detection of QTLs controlling pollen germination and growth in maize. *Hered.* 72:332-335.
- SCHIVA, T.; MERCURI, A.; BARATTA, G.; FENOGLIO, G. & BURCI, G. (1991). Gametophytic selection in carnation for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *anthi*. International symposium on angiosperm pollen and ovules. Basic and applied aspects. Villa Olmo, Como Italy, June, 1991.
- SCHÖN, C.; HAYES, P.; BLAKE, T. & KNAPP, S. (1991). Gametophytic selection in a winter x spring barley cross. *Genome* 34(6):918-922.
- SEARCY, K.B. & MULCAHY, D.L. (1985a). The parallel expression of metal tolerance in pollen and sporophytes of *Silene dioica* (L.) Clairv., *Silene alba* (Mill.) Krause and *Mimulus guttatus* DC. *Theor. Appl. Genet.* 69:597-602.
- SEARCY, K.B. & MULCAHY, D.L. (1985b). Pollen selection and the gametophytic expression of metal tolerance in *Silene dioica* (Caryophyllaceae) and *Mimulus guttatus* (Scrophulariaceae). *Am. J. Bot.* 72(11):1700-1706.
- SEARCY, K.B. & MULCAHY, D.L. (1990). Comparison of the response to aluminum toxicity in gametophyte and sporophyte of four tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 80:289-295.
- SEDGLEY, M. (1979). Structural changes in the pollinated and unpollinated avocado stigma and style. *J. Cell Sci.* 38:49-60.
- SHIVANNA, K.R. & SAWINEY, V.K. (1993). Pollen selection for *Alternaria* resistance in oilseed brassicas: responses of pollen grains and leaves to a toxin of *A. brassicae*. *Theor. Appl. Genet.* 86(2-3):339-344.
- SMITH, G.A. (1986). Sporophytic screening and gametophytic verification of phytotoxin tolerance in sugarbeet (*Beta vulgaris* L.). In D.L. MULCAHY, G. MULCAHY & E. OTTAVIANO (eds) *Biotechnology and Ecology of Pollen*, pp. 83-88. Springer-Verlag, New York.
- SMITH, G.A. & MOSER, H.S. (1985). Sporophytic-gametophytic herbicide tolerance in sugarbeet. *Theor. Appl. Genet.* 71:231-237.
- SNOW, A. & SPIRA, T. (1991). Pollen vigour and the potential for sexual selection in plants. *Nature* 352(6338):796-797.
- STRUBE, K.; JANKE, D.; KAPPLER, R. & KRISTEN, U. (1991). Toxicity of some herbicides to *in vitro* growing tobacco pollen tubes (the pollen test). *Environ. Exp. Bot.* 31(2):217-222.
- TANKSLEY, S.D.; ZAMIR, D. & RICK, C.M. (1981). Evidence for extensive overlap of sporophytic and gametophytic gene expression in *Lycopersicon esculentum*. *Science* 213:453-455.
- TER-AVANESIAN, D.V. (1978). The effect of varying the number of pollen grains used in fertilization. *Theor. Appl. Genet.* 52:77-79.
- THOMSON, J.; ANDREWS, B. & PLOWRIGHT, R. (1981). The effect of a foreign pollen on ovule development in *Diervilla lonicera* (Caprifoliaceae). *New Phytol.* 90:777-783.
- VASIL, I.K. (1987). Physiology and culture of pollen. *Int. Rev. Cytol.* 107:127-174.
- WALSH, N. & CHARLESWORTH, D. (1992). Evolutionary interpretations of differences in pollen tube growth rates. *Q. Rev. Biol.* 67(1):19-37.
- WASER, N.M. (1983). The adaptive nature of floral traits: ideas and evidence. In: L. REAL (ed.), *Pollination Biology*, pp. 241-285. Academic Press, Orlando.
- WEAVER, M.L.; TIMM, H.; SILBERNAGEL, M.J. & BURKE, D.W. (1985). Pollen staining and high-temperature tolerance of bean. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 110(6):797-799.
- WEBER, J. & REIMANN-PHILIPP, R. (1989). Influence of NaCl and NaHCO₃ on the foliage and pollen germination of rose rootstock plants grown in Mitocherit pots. *Acta Hort.* 246:353-354.
- WILLIAMS, E.G. & ROUSE, J.L. (1990). Relationships of pollen size, pistil length and pollen tube growth rates in *Rhododendron* and their influence on hybridization. *Sex. Plant Reprod.* 3:7-17.
- WILLSON, M. & BURLEY, N. (1983). Mate choice in plants: tactics, mechanisms and consequences.

- Monogr. Pop. Biol. no. 19. Princeton University Press, Princeton.
- WOLTERS, J.H.B. & MARTENS, M.J.M. (1987). Effects of air pollutants on pollen. *Bot. Rev.* 53(3):372-414.
- YOUNG, H.J. & STANTON, M.L. (1990). Influence of environmental quality on pollen competitive ability in wild radish. *Science* 248:1631-1633.
- ZAMIR, D. & GADISH, I. (1987). Pollen selection for low temperature adaptation in tomato. *Theor. Appl. Genet.* 74(5):545-548.
- ZAMIR, D. & VALLEJOS, E.C. (1983). Temperature effects on haploid selection of tomato microspores and pollen grains. In: D.L. MULCAHY & E. OTTAVIANO (eds) *Pollen: biology and implications for plant breeding*, pp. 335-342. Elsevier, New York.
- ZAMIR, D.; TANKSLEY, S.D. & JONES, R.A. (1981). Low temperature effect on selective fertilization by pollen mixtures of wild and cultivated tomato species. *Theor. Appl. Genet.* 59:235-238.
- ZAMIR, D., TANKSLEY, S. & JONES, R. (1982). Haploid selection for low temperature tolerance of tomato pollen. *Genetics* 101:129-137.