

从柱头到胚囊——花粉管发育研究进展

华志明 陈睦传 沈明山

(厦门大学生物学系, 厦门 361005)

摘要 花粉管的生长和发育是植物有性生殖过程中重要环节。本文首先介绍了花粉管的结构及其脉冲生长方式。然后介绍了花粉粒在柱头上萌发、花粉管在花柱道中生长及其进入胚囊的一些特点, 同时还介绍了雌蕊在花粉管生长发育所起的重要作用。

关键词 花粉管 脉冲生长 花粉管与花柱互作 授粉信号

被子植物受精过程从花粉被柱头捕捉开始, 经花粉与柱头相互识别和花粉管在花柱引导组织中生长, 到雌雄配子融合等一系列前后相关的不同阶段。传粉到雌雄配子融合之前的阶段是植物受精过程中不可缺少的重要环节, 这期间通过花粉管的生长发育来传递雄配子并进入胚囊。自八十年代以来, 被子植物花粉生物学成为一个十分活跃的研究领域, 取得了不少研究成果。根据花粉管发育特点, 从传粉到受精可划分为4个不同的阶段: (1) 花粉粒在柱头上的识别及萌发, (2) 花粉管在雌蕊引导组织中生长, (3) 花粉管定向生长穿过珠孔和(4) 花粉管进入胚囊释放2个精细胞。上述花粉管生长发育的过程在不同的物种中经历的时间不同, 从禾本科如水稻的几小时到裸子植物如银杏几个月不等。

1 花粉管的结构与脉冲式生长

花粉管生长是一种依赖末端生长的极性过程。当花粉管生长到一定长度后, 花粉粒细胞内容物全部转移到花粉管的末端。一般生长的花粉管可明显地划分为4个区段^[1]。(1) 顶端区又称帽区, 是花粉管最末端的半透明区域, 充满高尔基小泡等细胞质, 供应花粉管末端和质膜形成所需之物质; 花粉管末端壁很薄, 主要由果胶质和纤维素组成。(2) 次末端区是细胞器区, 富含各种细胞器和细胞质, 代谢活跃, 合成壁的前体和胞质蛋白; 壁除含果胶质和纤维素外, 还

含有胼胝质, 以增加花粉管的韧性和稳定性。(3) 第3区是含有生殖核和营养核区。生殖核(或2精细胞)和营养核的运动与微丝骨架有关。在此区基端周期性形成胼胝质塞, 限制生殖核和营养核(或2精细胞)的回流。有实验证明即使花粉粒或花粉管基部被切除, 花粉管仍能正常生长, 并能保证正常受精。(4) 第4区是液泡区, 不含细胞器仅由花粉管生长后留下的花粉管壁组成。通常花粉管壁由三层结构组成, 即最外层是果胶层, 中层是微纤丝状纤维素层和内层的胼胝质层^[2]。花粉管壁也含少量蛋白质^[2]。

花粉管在花柱生长表现为脉冲式生长^[3, 4], 一般经过10—20秒较短的快速生长后, 便进入相对较长的缓慢生长阶段(一般以分为单位)。花柱中生长的花粉管外壁周期性甲基化和酸化形成果胶质环, 这种结构和花粉管脉冲式生长密切相关。Li等发现酸化果胶质在花粉管外聚结形成的环状结构与花粉管缓慢生长有关^[3]。Geitmann等发现当花粉管壁较薄时, 花粉管发生快速生长, 证明膨压可能是花粉管细胞生长的重要推动力。用细胞松弛素D和秋水仙素处理生长的花粉管, 发现花粉管不表现脉冲式生长^[4], 这表明细胞骨架在花粉管脉冲式生长中起着重要作用。Pierson等发现花粉管中 Ca^{2+} 浓度的变化对花粉管生长速度产生直接影响^[5]。 Ca^{2+} 浓度的变化对花粉管脉冲生长的影响可能与花粉管末端 Ca^{2+} 输入和花粉管内内

质网整合 Ca^{2+} 的不平衡有关。因此 Ca^{2+} 对花粉管生长发育起着重要作用。最近的研究表明, Ca^{2+} 浓度梯度不仅对花粉管生长, 而且对花粉管生长方向也起着重要作用^[5]。在花柱中生长的花粉管末端 Ca^{2+} 与果胶质酯化/脱酯化、细胞骨架控制细胞器运动及花粉管顶端分泌泡的融合等活动有关。

2 花粉与柱头的识别作用及花粉粒的萌发

花粉粒被柱头捕捉后, 通过识别反应, 花粉粒发生细胞质重组和形态变化, 使花粉粒与柱头间形成联接, 发生水合反应。新近发现水孔蛋白参与水合反应^[6], 使水分从柱头进入花粉细胞, 因此花粉粒从柱头上吸收水分是花粉粒萌发的基本特征^[7]。湿型柱头在传粉时就有分泌物, 为花粉粒萌发提供了必需的物质条件, 花粉粒在其上发生水合作用, 很快萌发。干型柱头通过传粉刺激, 使乳突细胞产生分泌物, 接着花粉粒很快发生水合作用, 促使花粉萌发。成熟花粉粒由内外两层壁组成, 内壁是由花粉细胞自身合成的, 含有纤维素、果胶质和蛋白质等物质; 外壁富含色素类物质, 是由花药孢子体分泌的, 脂类和蛋白质类物质包埋在称作含油层外壁表层。花粉粒表层含油层物质能扩散到柱头表面, 对花粉粒水合作用起着重要作用, 如拟南芥突变体 pop_1 的花粉粒缺少含油层, 在正常柱头上不能发生水合作用, 但通过野生型花粉提取的含油层物质处理后, pop_1 花粉能正常萌发。这表明含油层在花粉和柱头间直接或间接起着信号分子作用^[8]。

类黄酮缺陷型玉米花粉和类黄酮含量低的转基因矮牵牛花粉是不育的^[9, 10]。花粉表层类黄酮、山奈酚(四羟基黄酮)能恢复类黄酮缺陷型花粉育性和花粉管生长。实验还表明山奈酚是野生型柱头分泌物的重要成份, 能使缺陷型花粉粒萌发。正常花粉和柱头都能产生这类物质以保证花粉成功地萌发。尽管类黄酮对玉米和矮牵牛花粉萌发是必须的, 但缺乏类黄酮物质的拟南芥花粉育性并不受影响^[11]。由此可以认为类黄酮并不是所有花粉萌发所必须的。

在十字花科植物中, 花粉粒与柱头间的识别作用是通过花粉表层贮藏的蛋白质、碳水化合物、脂类和小分子物质来调节的。如拟南芥的一种突变体, 由于花粉粒表层物质缺失, 柱头拒绝花粉粒, 因而在花粉粒接触的柱头乳突细胞处产生胼胝质以阻止花粉粒水合作用的发生^[8]。研究发现这种突变体花粉粒表层长链脂类的合成受阻, 表明长链脂类在花粉-柱头识别反应中起着重要信号分子作用^[12]。在花粉粒含油层中, 富含羟脯氨酸的糖蛋白(HR GPs)^[13]和称作变态反应原的一类蛋白质在花粉-柱头识别反应中也承担重要角色。如基因 pex-1 编码的花粉特异伸展蛋白(extensin) 在花粉-柱头识别反应中可能起重要作用, 也是花粉管重要结构成分^[13]。

自交不亲和植物的雌雄组织具有复杂的识别系统, 以保证区分遗传相似个体的花粉。在芸苔属和罂粟属植物中, 这种作用机理保证了花粉管在消耗柱头有用资源物质之前使花粉管夭亡^[14]。芸苔属自交不亲和由一个多态 S 位点基因控制, 其编码两个柱头蛋白 SLG (S 位点糖蛋白) 和 SRK (S 受体激酶)。 SLG 定位于柱头乳突细胞壁上, 而 SRK 是柱头乳突细胞质膜上一种跨膜蛋白^[15], SRK 或 SLG 基因突变导致自交亲和。在罂粟的自交不亲和反应中, 花粉粒中至少有一种成份发生磷酸化, 使依赖 Ca^{2+} 的钙调蛋白的信号途径也发生改变。^[16]

花粉内壁在花粉粒萌发中同样起着关键作用, 随着花粉水合作用的进行, 内壁贮藏的果胶质、蛋白质在萌发孔处释放出来, 并最终从花粉粒萌发孔内壁处长出花粉管。

3 花粉管在花柱中生长

成熟花柱引导组织存在大的胞间隙并充满胞间衬质(ECM)。这种 ECM 富含各种分泌物质, 主要包括大量游离单糖、多糖、糖基化蛋白质、脂类及多种氨基酸。当花粉管进入引导组织后, 碳水化合物明显减少, 淀粉含量显著下降。花粉管进入花柱后刺激引导组织表皮细胞发生编程性细胞死亡, 为花粉管生长发育提供营养

物质和生长空间^[17]。因而花粉管在花柱中生长除利用花粉自身的贮藏物质外,同时也从花柱组织吸取大量营养,此外引导组织在引导花粉管定向生长过程也起着重要作用。

引导组织中胞间衬质蛋白包括不同种类的糖蛋白,如阿拉伯半乳聚糖蛋白(AGPs)和富含羟脯氨酸糖蛋白(HRGP),这些蛋白质可能是引导组织细胞壁的重要组成成分之一,有些可能直接参与花粉管生长过程。AGPs在引导组织中可能还起连粘着花粉管作用。大分子物质之一的TTS(引导组织特异)蛋白在烟草花粉管生长中起重要作用^[18]。在转基因植物烟草中,当TTS蛋白减少到一个较低水平时,花粉管生长受到明显抑制。体外培养试验证明,TTS蛋白促进花粉管生长,同时具有吸引花粉管定向生长的作用。有趣的是加到花粉管生长培养基上的TTS蛋白发生脱糖基化,参与花粉管壁形成。体内试验也得出相似的结果。这些观察清楚地证明TTS蛋白是花粉管生长发育的一种重要营养物质,结合到花粉管顶端和花粉管表面。在转基因烟草中,发现花粉粒能在糖基化TTS蛋白表达的花萼上萌发、生长^[19]。

离体试验表明, Ca^{2+} 能诱导花粉管定向生长。在花柱引导组织中, Ca^{2+} 含量是丰富的。金鱼草花柱引导组织从柱头到子房 Ca^{2+} 浓度呈增加趋势,这对花粉管定向生长起着重要作用。在烟草引导组织中,TTS蛋白在子房端糖基化程度更高;花柱引导组织细胞TTS蛋白糖基化梯度与花粉管生长方向一致,表明TTS蛋白糖基化梯度与花粉管定向生长有关^[19]。

花粉管在花柱中生长,同花柱引导组织表皮细胞(TTE)发生粘合作用^[20]。这种粘合作用可能是通过花粉管和引导组织之间形成果胶质- Ca^{2+} -果胶质桥而形成的。酯化的果胶质结合到花粉管顶端的分泌泡与膜联结的AGPs上,当花粉管顶端分泌泡与质膜融合时,果胶质发生脱酯化,形成非酯化果胶质。花粉管壁上非酯化的果胶质与TTE的果胶质通过 Ca^{2+} 桥而相互联接。花粉管同花柱引导组织表皮细胞间的粘合作用(adhesion)也可能通过“粘合物质

AGPs”而形成的^[20]。花粉管与引导组织TTE间的粘合或连接可能位于花粉管果胶质环上。这种粘合或连接过程的发生可能是导致花粉管脉冲式生长过程中花粉管缓慢生长的重要原因。

4 花粉管进入胚珠

花粉管在子房中沿着生胚珠的胎座表面不断生长,通过珠孔进入胚珠。有时花粉管生长方向发生明显改变。最近研究发现引导花粉管进入胚珠的信号物质是胚珠自身产生的。在拟南芥中,花粉管从引导组织向最近的胚珠方向生长,由珠孔进入胚珠;败育胚珠突变体不能引导花粉管进入珠孔,花粉管在子房中呈无方向生长;在无胚囊的败育胚珠中这种现象表现更为突出^[21]。这些结果说明从引导组织伸出的花粉管进入胚珠,胚珠自身起着重要诱导作用。

花粉管在雌蕊中生长的后期阶段,向化性物质可能直接引导花粉管进入胚珠。最近研究发现珠孔处覆盖一层糖基化的分泌物,这可能是引导花粉管进入胚珠的重要物质^[22]。在正常情况下仅一条花粉管到达胚珠,在珠柄处花粉管是互相排斥的,这可能是防止多精入卵的一种有效手段^[22]。

从上可以看出胚珠是引导花粉管定向生长的信号源,但具体的信号分子仍需深入研究才能确定。最近发现的一种拟南芥突变体,其雌蕊结构和花粉管生长速率是正常的,但花粉管不能进入胚珠,在这种突变体中,花粉管在珠孔近处无序生长,花粉管与胚珠细胞接触不紧密,不能进入胚囊。研究发现这种突变体的花粉和雌蕊互作的2个功能基因 POP_2 和 POP_3 缺失,因而导致自花不育。这两个基因产物在雌、雄组织识别反应和花粉管进入胚珠中可能起关键的信号作用^[23]。

5 花粉管进入胚囊

花粉管穿过珠孔进入胚囊后,花粉管破裂,释放出2个精子,一个预定同卵细胞融合形成合子,另一个定向同中央细胞融合形成初生胚

乳核。由于这个过程时间很短, 确定信号分子较困难。向化性物质在诱导花粉管进入胚囊中起着重要作用是确定无疑的, 这种向化性物质可能来自助细胞。在多数情况下, 花粉管进入胚囊之前, 助细胞便死亡降解, 使 Ca^{2+} 浓度突然增高, 这对花粉管进入胚囊具有重要意义。花粉管进入退化助细胞后, 在超高 Ca^{2+} 环境中破裂释放精子, 精子沿退化助细胞转移到受精靶区实现双受精。退化助细胞微丝可能参与精子转移到受精靶区的过程^[24]。

植物有性生殖是受复杂遗传系统调控的。通过鉴定花粉——柱头相互作用的识别分子, 以阐明亲和与不亲和的作用机理。通过花粉管生长异常的突变体来确定向化性物质, 也是一个重要的研究途径。由于花粉管生长与动物的细胞迁移具有许多相似性, 通过对比研究, 可能获得许多有益的启发, 从而确定一些候选分子; 除了确定花粉管生长发育的重要分子及其功能外, 弄清这些重要分子生物合成的途径, 也是花粉生物学的重要研究内容。而植物有性生殖过程基因表达的调控将成为今后研究的主要内容之一。

参考文献

- [1] Pierson E, Cresti M. 1992, *Int Rev Cytol*, 140: 73- 125
- [2] Heslop-Harrison J. 1987, *Int Rev Cytol*, 107: 1- 78
- [3] Li YQ et al 1996, *Planta*, 200: 41- 49
- [4] Geitmann A et al 1996, *Bot Acta*, 109: 373- 381
- [5] Pierson E et al 1996, *Dev Biol*, 174: 160- 173
- [6] Ikeda S et al 1997, *Science*, 276: 1564- 1566
- [7] Dickson H. 1995, *Sex Pl Reprod*, 8: 1- 10
- [8] Preuss D et al 1993, *Genes Dev*, 7: 974- 985
- [9] Taylor LP et al 1992, *J Hered*, 83: 11- 17
- [10] Mo Y et al 1992, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 89: 7213- 17
- [11] Burbulis JE et al 1996, *Pl Cell*, 8: 1013- 25
- [12] Hulskamp M et al 1996, *Plant J*, 8: 703- 714
- [13] Rubinstein AL, et al 1995, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92: 3086- 90
- [14] Nasrallah JB et al 1994, *Science*, 266: 1505- 08
- [15] Hiscok SJ et al 1996, *Trends Cell Biol*, 6: 421- 428
- [16] Rudd JJ et al 1996, *Plant Cell*, 8: 713- 724
- [17] Wang H et al 1996, *Plant J*, 9: 715- 727
- [18] Wu H-m et al 1995, *Cell*, 82: 394- 403
- [19] Cheung A Y et al 1996, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93: 3853- 58
- [20] Jauh GY et al 1996, *Planta*, 199: 251- 261
- [21] Hulskamp M et al 1995, *Plant Cell*, 7: 57- 64
- [22] Franssen-Verheijen AAW et al 1993, *Am J Bot*, 80: 253- 262
- [23] Wilhelm L K et al 1996, *Science*, 274: 1535- 37
- [24] Huang B-Q et al 1994, *Planta*, 194: 200- 214

From stigma to embryo sac-recent advances in pollen tube development

Hua Zhiming Chen Muchuan Shen Mingshan

(Dept of biology, Xiamen university, Xiamen 361005)

Abstract Pollen grains of flowering plants are highly specialized two- to three- cell gametophytes that deliver sperm to the egg. After maturation, pollen grain must interact specifically with the receptive female tissues and germinate a highly polarized pollen tube that rapidly grows through the style to the ovule for fertilization. Some observation of pollen tubes show that these tubes grow in a pulsatory fashion through the style. Recent analyses of pollen surface molecules and extra-cellular matrix molecules along the pollen tube growth pathway have produced insights into the molecular and biochemical bases of some of these interactions. These studies, together with the genetic analysis of sexual reproduction, are elucidating the molecular mechanism underlying pollination and fertilization.

Key words pollen tube, pulsatory growth, pollen tube and style interaction, pollination signals