

· 专题论坛 ·

被子植物胚柄研究进展

宋国琦, 王兴军*, 李爱芹, 李长生

山东省农业科学院高新技术研究中心, 山东省作物与畜禽品种改良生物技术重点实验室,
农业部黄淮海作物遗传改良与生物技术重点开发实验室, 济南 250100

摘要 胚柄在胚胎发育过程中是一个暂时性的结构, 但却起着为胚体提供营养和生长调节因子的作用。相对胚体而言, 胚柄具有细胞类型单一、结构相对独立及发育时间短等特点, 其在胚胎发育的基因调控和细胞命运决定研究中具有独特的优势。该文从胚柄的形成及特点、胚柄在胚胎发育中的作用、信号传递系统对胚柄的影响以及与胚柄相关基因的功能等方面进行综述, 以期研究胚柄在胚胎发育过程中所起的作用以及胚柄的命运决定提供参考信息。

关键词 被子植物, 胚胎发育, 胚体, 胚柄

宋国琦, 王兴军, 李爱芹, 李长生 (2012). 被子植物胚柄研究进展. 植物学报 47, 188–195.

胚柄(suspensor)发现于170年前, 最初被认为是花粉管的一部分(Nikiticheva, 2006)。自胚柄被发现以来, 人们从胚柄的形态学、生理学、细胞学、遗传学以及分子生物学等方面进行了大量的研究。在不同的植物中, 胚柄发育的形态与大小有很大的差异。胚柄在形态上多呈丝状体形、柱形、球形或无规则形, 也有少数植物没有成形的胚柄。有些植物的胚柄由单个细胞组成, 也有的由多个细胞组成, 并且胚柄与胚的关系紧密程度也各不相同(杨弘远, 2007)。例如, 红花菜豆(*Phaseolus coccineus*)的胚柄至少由200个细胞组成, 而模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的胚柄只由简单的7个细胞组成; 紫苞舌兰(*Spathoglottis plicata*)的胚柄仅由1个或几个高度液泡化的细胞组成(Kawashima and Goldberg, 2009)。在亚细胞形态学上, 胚柄细胞的典型特征是细胞壁具有凸出的指状突起。核细胞学研究表明, 胚柄细胞核存在一些有别于其它细胞核的特征, 例如, 细胞核内存在巨大染色体(giant chromosomes)、多线染色体(polytene chromosomes)或是具有染色质浓缩成大块的异常染色质等。还有一些研究表明, 胚柄细胞都较同龄胚细胞含有较多RNA与蛋白质, 但是当胚柄达到最大细胞数目时, 胚柄细胞则出现退化信号, 如核糖体耗尽、核酸与蛋白质丧失和核仁变小等

(杨弘远, 2007)。这些现象为阐明胚柄的功能提供了一定的信息。

近年来, 研究者利用遗传学及分子生物学方法研究了胚柄与胚之间的基本信号转导机制(Stadler et al., 2005)以及胚柄中基因表达和调控(Kawashima et al., 2009; Kawashima and Goldberg, 2009)。红花菜豆的胚柄特异表达基因G564启动子上游区域和松树胚柄特异基因PtNIP1;1的上游区域在烟草(*Nicotiana tabacum*)种子的球形胚时期均能激活GUS报告基因的转录, 表明在开花植物中G564启动子上游区域基因调控是保守的, 在被子植物和裸子植物中PtNIP1;1上游区域基因调控也是保守的(Kawashima et al., 2009; Kawashima and Goldberg, 2009)。也有一些分子生物学证据表明, 植物内源激素和信息传递系统参与到了胚柄基因调控网络中(Lukowitz et al., 2004; Möller and Weijers, 2009)。

胚柄和胚体分别源于合子第1次分裂形成的基细胞和顶细胞, 为什么到胚胎发育后期胚柄细胞便进入程序化死亡? 在胚胎发育过程中胚柄的作用是什么? 本文将从胚柄的形成及特点、胚柄在胚胎发育中的作用、信号传递系统对胚柄的影响以及与胚柄相关基因的功能等进行总结论述, 以期揭示胚柄在胚胎发育过程中所起的作用提供参考依据。

收稿日期: 2011-08-23; 接受日期: 2011-12-09

基金项目: 国家自然科学基金(No.30871324, No.31000720)和山东省自然科学基金(No.ZR2011CZ002)

* 通讯作者。E-mail: xingjunw@hotmail.com

1 胚柄的形成和胚柄细胞的特点

被子植物合子的第1次分裂是非对称性的, 形成体积较小、细胞质浓厚的顶细胞和体积较大、高度液泡化的基细胞(Goldberg et al., 1994)。在双子叶植物中, 顶细胞经过3次规则的分裂形成8细胞原胚, 这8个细胞各经过1次平周分裂形成16细胞原胚, 这时的胚体部分已经有了不同细胞类型, 即表皮细胞的分化(Möller and Weijers, 2009)。随着进一步的细胞分裂分化, 最终发育成胚的顶端分生组织、子叶、胚轴、胚根和部分胚根尖分生组织(蒋丽等, 2007)。基细胞的发育与顶细胞迥然不同, 如在烟草和拟南芥中, 基细胞经过若干次横向分裂形成一系列细胞, 即胚柄。胚柄最顶端的细胞与胚体结合在一起, 形成一个镜片状的细胞, 最终成为根分生组织的静止中心(蒋丽等, 2007; Möller and Weijers, 2009)。

尽管不同物种胚柄的形态和结构存在差异, 但是在亚细胞形态上胚柄细胞却有许多相似之处, 如细胞具有内生细胞壁和外生吸器以及胞间连丝等。在荠菜(*Capsella bursapactoris*)中, 胚柄细胞与胚细胞一样也具有典型的植物细胞的一切标志, 但胚柄细胞高度液泡化, 含有较多的内质网和高尔基体, 而核糖体相对较少。胚柄珠孔端的基部细胞具有一个被薄层细胞质包围的巨大液泡。在拟南芥中, 基部细胞的合点端壁以及其它胚柄细胞的端壁具有众多胞间连丝, 它们维持着胚、胚柄与基部细胞之间的共质体关系(Stadler et al., 2005)。但在胚柄及基部细胞与中央细胞的隔壁上没有胞间连丝。基部细胞的珠孔端和侧部的内壁上装饰着面向细胞质的、精巧的内陷网络(杨弘远, 2007)。基细胞和胚柄细胞的结构与胚细胞结构的细微差异, 暗示着胚柄维持着与胚体中不同的代谢类型。

大量的研究表明, 尽管在不同植物中胚柄的形态和大小差异较大, 但都具有共同的特点。胚柄细胞都是基细胞的直系细胞系, 细胞不再进一步分化, 细胞类型单一。在胚胎发育过程中, 胚柄将胚体推入胚乳组织中, 并从母体组织吸收营养物质向胚体运输, 或者胚柄本身合成特殊物质(如赤霉素), 为早期发育的胚胎提供营养物质和生长调节物质(Alpi et al., 1975; Schwartz et al., 1994; 胡骏, 2001)。与胚体的发育相比, 胚柄的发育是临时性的, 在胚胎发育后期, 胚柄

便进入程序化死亡而退化(Schwartz et al., 1997; Lombardi et al., 2007)。

近年来, 利用分子生物学信息数据库, 在一些双子叶植物球形胚胎的胚体和胚柄中进行了表达水平的研究。Le等(2007)系统研究了豆科作物胚胎发育过程中基因的表达差异, 分别构建了红花菜豆胚柄和胚体的cDNA文库, 对胚柄中的16 000条ESTs序列进行了功能分类。研究结果显示, 有300多条胚柄转录因子的ESTs分别属于不同的转录因子家族, 但是这些转录因子在胚柄中的功能还是未知的; 大豆(*Glycine max*)中胚柄的ESTs序列功能分类与红花菜豆胚柄中的ESTs功能分类相似。用含有37 593个大豆探针组的Affymetrix大豆基因芯片与红花菜豆胚体和胚柄的mRNA分别进行杂交, 结果显示, 红花菜豆序列和大豆ESTs序列具有较高的相似性。在红花菜豆胚柄和胚体中分别检测到相似序列2 950条和3 478条, 其中有2 686条为胚柄和胚体所共有; 在胚柄和胚体中单独表达的序列分别为264条(其中含转录因子19个)和792条(其中含转录因子40个)。上述结果暗示, 胚柄具有丰富的生物学功能。Hu等(2010)分离出烟草二细胞原胚的顶细胞和基细胞, 并构建了顶细胞和基细胞的抑制消减文库; 分析ESTs序列发现, 顶细胞和基细胞的基因表达存在差异, 并拥有各自特异的表达基因。据此推断, 顶细胞和基细胞中的特异基因也许是导致两者命运不同的原因(Hu et al., 2010; Ma et al., 2011)。

2 胚柄的作用

2.1 为胚体提供营养

胚柄在早期胚胎中的特殊位置和胚柄细胞的壁内突为胚柄是胚体的营养通道提供了间接证据。利用放射性标记的方法, 通过研究蔗糖和多胺分子在胚柄和胚体间的转移, 发现胚柄是胚胎发育所依赖的能量通道(Yeung, 1980; Nagl, 1990)。各种酶尤其是氧化代谢酶类的细胞化学检测表明, 油菜(*Brassica campestris*)在球形胚至鱼雷形胚时期的胚柄细胞呈代谢活跃状态; 旱金莲(*Tropaeolum majus*)在球形至早子叶期间胚柄及其吸器中的戊糖磷酸途径中的酶活性较胚中高。由以上结果推断, 胚柄通过各种方式促进养料的分泌, 同时从胚乳中吸收代谢产物转运至胚(杨弘

远, 2007)。

在研究参与火炬松(*Pinus taeda*)胚胎发育早期活动的基因中, 发现了一条EST序列具有极强的早期胚胎表达特异性, 并获得其全长cDNA序列(Xu et al., 1997; Ciavatta and Cairney, 2000)。随后该cDNA序列被命名为*PtNIP1;1*, 对其功能进行研究发现该基因在胚柄中优势表达, 并且*PtNIP1;1*在体细胞胚胎发生中的表达随着胚的成长剧烈减少, 在胚发育完全成熟时, *PtNIP1;1*在体细胞胚中不再表达。*PtNIP1;1*基因编码的蛋白与MIP(major intrinsic proteins)超级家族中NIP分支蛋白(the NIP Branch of the MIP Superfamily)非常相似。进一步研究发现*PtNIP1;1*是水-甘油跨膜输送的蛋白通道(aquaglyceroporin), 在胚胎发育中的营养运输过程中扮演着重要角色, 并且在胚柄伸长过程中起着维持组织膨胀的重要作用(Ciavatta et al., 2001)。利用拟南芥蔗糖转运蛋白基因*AtSUC3*启动子驱动GFP和tmGFP9(membrane-targeted GFP)的ORFs表达, 在*AtSUC3* promoter/tmGFP9转基因植株中的胚柄中观察到tmGFP9的荧光, 而在*AtSUC3* promoter/GFP转基因植株中的胚柄和胚中均观察到荧光, 表明GFP能从胚柄转移到胚体中。该结果暗示在胚柄和早期胚之间形成了单一的共质体(Stadler et al., 2005)。上述研究表明, 在拟南芥球形胚时期, 胚柄与胚体之间存在共质体连接途径。

2.2 为胚体提供生长调节因子

在胚胎的发育过程中, 胚柄不仅为胚体提供营养, 还为胚体提供生长调节因子。胚柄中合成的激素能够传递到生长中的胚。最初认为胚柄为胚体提供生长调节因子的证据是在红花菜豆胚柄中检测到了赤霉素(GA) (Alpi et al., 1975)、细胞分裂素(Lorenzi et al., 1978)与脱落酸(ABA) (Perata et al., 1990), 在旱金莲与金雀儿属植物*Cytisus laburnum*的胚柄中检测到吲哚乙酸(IAA)或GA(Przybyllok and Nagl, 1977; Picciarelli et al., 1984)。进一步研究发现, 红花菜豆胚柄中的GA含量为心形胚胚体中GA含量的30倍, 而子叶期胚柄激素含量急剧下降, 胚的器官发生部分的激素含量则显著增加。与胚体相比, 胚柄中存在大量编码赤霉素合成途径所需酶类的mRNA, GA在转录与翻译两个水平上均有活性(Le et al., 2007)。在外源

赤霉素存在的情况下, 胚柄的作用可以被取代, 这充分说明了(至少对红花菜豆而言)胚柄产生的赤霉素在胚胎发育过程中具有重要的作用(Cionini et al., 1976; Yeung and Sussex, 1979; Brady and Walthall, 1985; Walthall and Brady, 1986)。

在红花菜豆胚发育早期, 胚柄中含有大量的胚发育所需要的吲哚乙酸, 说明胚柄是植物生长素的合成点(Picciarelli et al., 2001)。在拟南芥胚胎发育过程中, 胚柄中的生长素通过胚柄特异性PIN7激素转运蛋白转运到胚体, 对胚的正常发育起到非常关键的作用(Möller and Weijers, 2009)。这些研究结果表明, 在胚的发育过程中, 胚柄向胚体转运其发育所需要的生长调节因子(Kawashima and Goldberg, 2009)。

3 胚柄和胚体的相互关系

在植物胚胎发育过程中, 胚柄和胚体之间存在相互依附和相互制约的关系。拟南芥胚体发育基因的缺失突变可导致胚柄获得与胚体相似的形状, 极端的现象是再生出一个新的胚胎。例如, 磺酸乙基甲烷(ethyl methane sulfonate, EMS)诱变的突变体或T-DNA插入突变体中, 胚体生长受抑制总是伴随着胚柄的异常生长。EMS诱导的拟南芥突变体, 其胚体的生长在球形胚时期停滞, 而胚柄继续增生, 形成具有多达160个细胞的多层构造, 并在充满种子之前终止, 随后开始出现胚柄细胞的退化(Marsden and Meinke, 1985)。*LEC1* (*Leafy Cotyledon 1*)基因是植物胚胎发育过程中重要的调控因子, 它负责激活胚胎形态分化和细胞分化基因的转录。在*lec1*突变体(Lotan et al., 1998)、*L1L* (*LEC1-LIKE*)的转基因植株(Kwong et al., 2003)以及转座子诱导的胚致死突变体*edd1* (*embryo-defective development 1*) (Uwer et al., 1998)中, 也报道了异常发育的多层细胞胚柄现象。*TWIN1* (*TWN1*)基因能够抑制拟南芥胚柄细胞的分化, 而*twn1*突变体中胚柄细胞的发育不再受到抑制, 从而产生孪生胚胎的现象(Vernon et al., 2001)。上述结果表明, 胚柄具有发育成类似胚体的潜能, 胚体向胚柄输送抑制信号, 使胚柄保持固有的分化状态。在全胚中发育调控严格平衡, 使胚体和胚柄保持固有的发育状态, 不完整的胚体会破坏这些信号使胚柄呈现出与

胚体相似的命运(Kawashima and Goldberg, 2009)。

4 胚柄与信号传递

4.1 胚柄中的激素信号

目前, 在植物胚柄中已发现了赤霉素、生长素、细胞分裂素、脱落酸等多种植物激素, 其中研究得最详细的是生长素。

Hobbie等(2000)描述了拟南芥生长素不敏感突变体*axr6* (*auxin-resistant 6*)胚柄的种种异常现象。虽然突变导致胚体和胚柄的细胞分裂均受到伤害, 但胚柄更易受到损伤, 它缺失胚根原, 并且在它的大部分长度上有两列或更多列细胞。也有研究发现, 拟南芥由于失去一个与生长素结合的蛋白引起胚发生致死突变, 其标志是胚根原畸形分裂并导致形成长胚柄(Chen et al., 2001)。这些观察结果表明, 生长素具有决定胚柄特性的调节作用, 这种调节可能直接或间接地通过一种介导生长素活动的受体而起作用。随着*PIN*(*PIN FOR MED*)基因被克隆, 生长素在控制胚胎发生中的作用也得到证实。到目前为止, *PIN*蛋白家族的8个成员已经从拟南芥中分离出来, 分别被命名为*PIN1*–*PIN8*。由*PIN5*、*PIN6*和*PIN8*组成的小群有一个较小的中间疏水环, 可能在内质网和胞液中调节生长素的变化(Mravec et al., 2009)。*PIN1*、*PIN2*、*PIN3*、*PIN4*和*PIN7*蛋白定位在质膜上, 是生长素的流出载体(Mravec et al., 2008; Petrášek and Friml, 2009), 通过影响生长素的定向转运来控制早期胚胎发生过程(Feraru and Friml, 2008; Möller and Weijers, 2009)。例如, *PIN7*在单细胞胚时期的基细胞顶部表达, *pin7*突变体的早期胚不能进行正常的极性分裂, 故不能形成正常的顶细胞和基细胞(Möller and Weijers, 2009)。

在拟南芥中调控胚胎发育模式的基因*MP* (*MONOPTEROS*)的表达被*BDL*(*BODENLOS*)所抑制(Hamann et al., 2002)。*MP*和*BDL*可能是生长素应答中心, *MP*编码生长素应答因子5(*auxin response factor 5*, *ARF5*); *BDL*编码*Aux/IAA*蛋白12(*IAA12*), 是一个假定的*MP*的抑制因子(Hamann et al., 2002)。*MP*功能的丢失或*BDL*功能的获得均会妨碍顶细胞的分化和胚根的形成, 但*MP/BDL*信号的直接靶基因尚不清楚。*WOX* (*WUS-RELATED HOMEODOMAIN*)基因

家族是参与胚胎早期发育的另一类转录因子, 其成员*WOX9*基因的表达与*MP/BDL*信号有关(Haecker et al., 2004); *WOX2*、*WOX8*和*WOX9*与胚柄发育有关, 在拟南芥卵细胞和合子中*WOX2*和*WOX8*均有表达。合子分化以后, *WOX2*在顶细胞中表达, 而*WOX8*在基细胞中表达。在8细胞胚中, *WOX2*、*WOX8*和*WOX9*的表达分布在4个不同的区域: *WOX2*在原胚顶层表达, *WOX9*在原胚底层表达, *WOX8*和*WOX9*均在胚柄细胞的最上层表达, 而在胚柄细胞的其它部分只有*WOX8*表达。从8细胞到16细胞时期, *WOX9*表达分布在8细胞原胚最下层的派生系中, 并在胚柄最上层的细胞中丢失。但*WOX9*从胚根原到胚体最下层细胞的转移需要*MP/BDL*信号的参与, 其证据是在*mp/bdl*双突变体中, 与野生型相比, *WOX9*基因的表达并没有从胚根原中转移到胚体中(Haecker et al., 2004)。这表明*WOX9*位于生长素信号的下游, 但还不清楚*WOX9*是否是*MP/BDL*的靶基因, 也不清楚它的功能是否是胚胎模式决定所需要的(Weijers and Jürgens, 2005)。有关*MP*的活性是如何被植物胚胎相邻细胞限制及何种基因被*MP*激活目前仍不清楚, 但*MP*的活动至少部分受到*BDL*活动所控制。

*MP*基因和*WOX*基因在表达水平上相互影响。在*wox2*突变体中, 细胞分裂以后的顶细胞区存在许多缺陷, 而在*wox2/mp*双突变体中顶细胞区的缺陷表现得更为明显, 在*mp/wox8/wox9*三突变体中也表现出相互促进的现象。在*wox8/wox9*双突变体中, 顶细胞和基细胞系的发育出现严重缺陷, 部分因为*WOX2*表达丢失, 并伴随着*PIN1*表达水平的降低和*DR5*表达的普遍存在。这些结果表明, *WOX2*、*WOX8*、*WOX9*和*MP*控制着相同的胚胎模式建成过程(Möller and Weijers, 2009; Petricka et al., 2009)。在植物胚胎发育过程中, 激素信号是一个复杂的系统, 而参与胚柄发育的仅仅是其中的一小部分, 其间的信号传递关系仍不清楚。

4.2 胚柄中的激酶信号

Lukowitz等(2004)在研究拟南芥的早期胚胎发育过程中, 发现了一个有丝分裂素激活蛋白激酶激酶(*mitogen-activated protein kinase kinase*, *MAPKK*)基因(被命名为*YODA*或*YDA*)。在该基因的功能缺失突变体中, 合子不能正常的伸长, 基细胞系也不再分化成

胚柄,而是与胚胎完全合成一体;而在该基因等位基因的功能获得突变体中,胚柄的过分生长在一定程度上抑制了胚胎发育,没有形成原胚。实验结果表明,YDA激酶在拟南芥胚胎的早期发育中具有重要的作用,YDA基因可能编码MAP激酶级联反应中的一个组成部分,并作为一个信号分子应答尚未确定的信号从而影响胚细胞的命运。进一步的研究证明,白细胞介素1受体相关激酶(interleukin-1 receptor-associated kinase, IRAK)/Pelle-like激酶基因(Pelle-like kinase gene)(SHORT SUSPENSOR, SSP)通过一个未知的父系效应调控YODA有丝分裂素激活蛋白激酶信号途径。在成熟的花粉中,SSP的转录产物并不被翻译,而是通过精细胞提供给合子和胚乳;在合子和胚乳中,SSP蛋白被暂时积累,而SSP蛋白在叶表皮中的异位表达能充分激活YDA依赖的信号。据此推测,在授粉前通过父本转录而产生的SSP蛋白激活了合子中YDA的活性,这为研究第1次非对称分裂的调控机制提供了重要线索(Bayer et al., 2009)。yda和ssp突变体在合子分化后并不能伸长,产生一个小的基细胞。SSP位于基因YDA的上游,能激活YDA MPKK激酶途径。SSP mRNA被从精细胞传送到卵细胞,然后在合子中翻译为SSP蛋白。上述结果显示,SSP-YDA信号途径在胚柄的分化中起着重要的作用,父系遗传参与了基细胞的特异性表达。也有研究表明,有丝分裂素激活蛋白激酶MPK3和MPK6均位于YDA途径下游,并且能够在体外将转录因子SPEECHLESS磷酸化,mpk3/mpk6双突变体的胚柄发育出现异常。SSP-YDA途径是如何与SPEECHLESS转录因子相互作用的,有待进一步研究(Bayer et al., 2009; Kawashima and Goldberg, 2009; Jeong et al., 2010)。

5 胚柄特异表达基因

目前,已鉴定的胚柄特异表达基因有WOX8、WOX9 (Hamann et al., 2002; Haecker et al., 2004; Ueda et al., 2011)、PtNIP1;1(Ciavatta et al., 2001, 2002)、PIN7(Petricka et al., 2009)和G564(Weterings et al., 2001)等。其中,WOX8和WOX9在胚胎发育早期应答生长素信号;PtNIP1;1是水-甘油跨膜输送的通道蛋白,在胚胎发育的营养运输过程中扮演着重要角色;PIN7位于基细胞的上层膜上,调节生长素从基细胞

流向顶细胞;G564基因是从红花菜豆中分离的胚胎发育早期胚柄的特异性基因,其功能未知。Weterings等(2001)以含有巨大胚柄的红花菜豆球形胚时期的种子为材料,构建了红花菜豆球形胚时期种子的cDNA文库,克隆了G564和C541两个基因,原位杂交结果显示它们均在球形胚时期的胚柄中特异表达。通过5'端缺失和功能获得(gain of function)等方法,初步分析了G564基因启动子不同区域的功能。在上述研究的基础上,Kawashima等(2009)详细分析了G564基因启动子的功能,进一步确定了能驱动GUS在转基因烟草胚柄中特异表达的最短序列-913- -764以及与胚柄特异表达密切相关的核心序列GAAAAGCGAA。该序列也存在于红花菜豆胚柄特异基因C541以及来源于松树的胚柄特异基因的启动子区域中。研究结果表明,在开花植物中G564基因启动子的核心序列GAAAAGCGAA具有保守性(Ciavatta et al., 2002; Kawashima et al., 2009)。

6 胚柄的退化

胚柄的降解过程是一种典型的程序化死亡过程。Lombard等(2007)利用末端转移酶介导的缺口末端标记法(terminal transferase-mediated dUTP nick end labelling, TUNEL)和电泳分析的方法研究了红花菜豆胚柄的降解过程。胚柄降解中的一个典型特征是在核DNA降解的现象。胚柄退化的过程中,首先是胚乳降解,然后胚柄开始降解,胚柄细胞的死亡过程是由与胚体相连的颈部细胞开始逐渐扩展到基部细胞。Lombard等(2007)同时还分离了红花菜豆心形胚时期和子叶期胚柄的基因组DNA,并利用琼脂糖凝胶电泳检测了胚柄基因组DNA的完整性,结果显示,子叶期胚柄基因组DNA在琼脂糖凝胶中呈现弥散状态,而心形胚时期胚柄基因组DNA在琼脂糖凝胶中呈现出一条清晰的且具有很高分子量的DNA条带。表明在红花菜豆中子叶期胚柄的DNA已经进入降解过程。

Blanvillain等(2011)在拟南芥中发现了一个能激活细胞程序化死亡的多肽,该多肽具有25个氨基酸,被命名为KOD。目前已对KOD两个等位基因的突变体kod-1和kod-2进行了研究。kod-1是GABI-kat(col-0)的等位基因,在kod-1的启动子区域插入T-DNA,种子中KOD的转录水平显著下降;kod-2是

TILLING(*coler-105*)的等位基因,在*kod-2*中通过P9S点突变改变KOD的折叠方式进而影响KOD的功能。通过对*kod-1*和*kod-2*的100个胚胎的胚柄形态进行观察,发现2种基因型的胚体发育正常,而胚柄出现死亡现象。*kod-1*胚胎中有32%的胚柄是完好的,没有进入程序化死亡的胚柄数是*col-0*的6倍;*kod-2*的胚胎中有44%的胚柄是完好的,没有进入程序化死亡的胚柄数是*coler105*的3倍。结果表明,在拟南芥中KOD的出现对胚柄的程序化死亡有直接或间接的影响。

7 研究展望

自胚柄被发现以来,相关的研究不断深入。目前已阐明了植物胚胎发育早期的营养供应问题,并提出了胚柄的主要功能是为胚体的发育提供营养和生长调节因子(Nagl, 1990; Weterings et al., 2001; Stadler et al., 2005)。在后来的对突变体的研究中,发现胚生长因突变受阻时,胚柄特异分裂甚至形成胚状结构,使人们对胚柄与胚之间的信号转导有了新的认识(Uwer et al., 1998),并对影响胚柄发育的生长素信号途径和激酶信号途径有了初步的了解(Lukowitz et al., 2004; Mravec et al., 2009; Moller and Weijers, 2009; Bayer et al., 2009)。但是,目前还没有全面回答顶细胞和基细胞发育命运不同的原因。诸如在顶细胞和基细胞中不均等分布的遗传调控因子是什么,在胚胎发育后期胚柄接收到了什么样的信号而进入程序化死亡,以及在胚胎的发育过程中胚体和胚柄之间的信号与物质是怎样传递和交流才使其沿着各自的命运轨道发展等问题还有待不断探索。随着生命科学的发展,上述问题将会得到逐步的回答,从而使人类对植物的胚胎发育过程有更准确的认识,并为人类利用或控制植物胚胎发育的某些过程(如提高种子中某些蛋白质或脂肪酸的含量等)提供理论基础。

参考文献

- 胡骏 (2001). 被子植物胚胎发育的分子遗传学研究. 中山大学研究生学刊(自然科学版) **22**, 46–57.
- 蒋丽, 齐兴云, 龚化勤, 刘春明 (2007). 被子植物胚胎发育的分子调控. 植物学通报 **24**, 389–398.
- Raghavan V (杨弘远译) (2007). 双受精——有花植物的胚和胚乳发育. 北京: 科学出版社. pp. 85–85.
- Alpi A, Tognoni F, D'Amato F (1975). Growth regulator levels in embryo and suspensor of *Phaseolus coccineus* at two stages of development. *Planta* **127**, 153–162.
- Bayer M, Nawy T, Giglione C, Galli M, Meinke T, Lukowitz W (2009). Paternal control of embryonic patterning in *Arabidopsis thaliana*. *Science* **323**, 1485–1488.
- Blanvillain R, Young B, Cai YM, Hecht V, Varoquaux F, Delorme V, Lancelin JM, Delseny M, Gallois P (2011). The Arabidopsis peptide kiss of death is an inducer of programmed cell death. *EMBO J* **30**, 1173–1183.
- Brady T, Walthall ED (1985). The effect of the suspensor and gibberellic acid on *Phaseolus vulgaris* embryo protein content. *Dev Biol* **107**, 531–536.
- Chen JG, Ullah H, Young JC, Sussman MR, Jones AM (2001). *ABP1* is required for organized cell elongation and division in Arabidopsis embryogenesis. *Genes Dev* **15**, 902–911.
- Ciavatta V, Cairney J (2000). Isolation of full-length cDNA clones using SMART cDNA and a biotin-streptavidin bead system. *Biotechniques* **29**, 444–446, 448, 450.
- Ciavatta VT, Egertsdotter U, Clapham D, von Arnold S, Cairney J (2002). A promoter from the loblolly pine *PtNIP1;1* gene directs expression in an early-embryogenesis and suspensor-specific fashion. *Planta* **215**, 694–698.
- Ciavatta VT, Morillon R, Pullman GS, Chrispeels MJ, Cairney J (2001). An aquaglyceroporin is abundantly expressed early in the development of the suspensor and the embryo proper of loblolly pine. *Plant Physiol* **127**, 1556–1567.
- Cionini PG, Bennici A, Alpi A, D'Amato F (1976). Suspensor, gibberellin and *in vitro* development of *Phaseolus coccineus* embryos. *Planta* **131**, 115–117.
- Feraru E, Friml J (2008). PIN polar targeting. *Plant Physiol* **147**, 1553–1559.
- Goldberg RB, de Paiva G, Yadegari R (1994). Plant embryogenesis: zygote to seed. *Science* **266**, 605–614.
- Haecker A, Groß-Hardt R, Geiges B, Sarkar A, Breuninger H, Herrmann M, Laux T (2004). Expression dynamics of *WOX* genes mark cell fate decisions during early embryonic patterning in *Arabidopsis thaliana*. *Development* **131**, 657–668.
- Hamann T, Benkova E, Bäurle I, Kientz M, Jürgens G (2002). The Arabidopsis *BODENLOS* gene encodes an auxin response protein inhibiting MONOPTEROS-mediated embryo patterning. *Genes Dev* **16**, 1610–1615.
- Hobbie L, McGovern M, Hurwitz LR, Pierro A, Liu NY,

- Bandyopadhyay A, Estelle M** (2000). The *axr6* mutants of *Arabidopsis thaliana* define a gene involved in auxin response and early development. *Development* **127**, 23–32.
- Hu TX, Yu M, Zhao J** (2010). Comparative transcriptional profiling analysis of the two daughter cells from tobacco zygote reveals the transcriptome differences in the apical and basal cells. *BMC Plant Biol* **10**, 167–182.
- Jeong S, Bayer M, Lukowitz W** (2010). Taking the very first steps: from polarity to axial domains in the early *Arabidopsis* embryo. *J Exp Bot* **62**, 1687–1697.
- Kawashima T, Goldberg RB** (2009). The suspensor: not just suspending the embryo. *Trend Plant Sci* **15**, 23–30.
- Kawashima T, Wang XJ, Henry KF, Bi YP, Weterings K, Goldberg RB** (2009). Identification of *cis*-regulatory sequences that activate transcription in the suspensor of plant embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**, 3627–3632.
- Kwong RW, Bui AQ, Lee H, Kwong LW, Fischer RL, Goldberg RB, Harada JJ** (2003). LEAFY COTYLEDON1-LIKE defines a class of regulators essential for embryo development. *Plant Cell* **15**, 5–18.
- Le BH, Wagmaister JA, Kawashima T, Bui AQ, Harada JJ, Goldberg RB** (2007). Using genomics to study legume seed development. *Plant Physiol* **144**, 562–574.
- Lombardi L, Ceccarelli N, Picciarelli P, Lorenzi R** (2007). DNA degradation during programmed cell death in *Phaseolus coccineus* suspensor. *Plant Physiol Biochem* **45**, 221–227.
- Lorenzi R, Bennici A, Cionini PG, Alpi A, D'Amato F** (1978). Embryo-suspensor relations in *Phaseolus coccineus*: cytokinins during seed development. *Planta* **143**, 59–62.
- Lotan T, Ohto MA, Yee KM, West MAL, Lo R, Kwong RW, Yamagishi K, Fischer RL, Goldberg RB, Harada JJ** (1998). *Arabidopsis* LEAFY COTYLEDON1 is sufficient to induce embryo development in vegetative cells. *Cell* **93**, 1195–1205.
- Lukowitz W, Roeder A, Parmenter D, Somerville C** (2004). A MAPKK kinase gene regulates extra-embryonic cell fate in *Arabidopsis*. *Cell* **116**, 109–119.
- Ma LG, Xin HP, Qu LH, Zhao J, Yang LB, Zhao P, Sun MX** (2011). Transcription profile analysis reveals that zygotic division results in uneven distribution of specific transcripts in apical/basal cells of tobacco. *PLoS One* **6**, e15971.
- Marsden MPF, Meinke DW** (1985). Abnormal development of the suspensor in an embryo-lethal mutant of *Arabidopsis thaliana*. *Am J Bot* **72**, 1801–1812.
- Möller B, Weijers D** (2009). Auxin control of embryo patterning. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **1**, a001545.
- Mravec J, Kubeš M, Bielach A, Gaykova V, Petrášek J, Skůpa P, Chand S, Benková E, Zažímalová E, Friml J** (2008). Interaction of *PIN* and *PGP* transport mechanisms in auxin distribution-dependent development. *Development* **135**, 3345–3354.
- Mravec J, Skůpa P, Bailly A, Hoyerová K, Křeček P, Bielach A, Petrášek J, Zhang J, Gaykova V, Stierhof YD, Dobrev PI, Schwarzerová K, Rolčík J, Seifertová D, Luschnig C, Benková E, Zažímalová E, Geisler M, Friml J** (2009). Subcellular homeostasis of phytohormone auxin is mediated by the ER-localized PIN5 transporter. *Nature* **439**, 1136–1140.
- Nagl W** (1990). Translocation of putrescine in the ovule, suspensor and embryo of *Phaseolus coccineus*. *J Plant Physiol* **136**, 587–591.
- Nikiticheva ZI** (2006). Suspensor. In: Batygina TB, ed. *Embryology of Flowering Plants: Terminology and Concepts*. Enfield: Science Publishers. pp. 198–202.
- Perata P, Picciarelli P, Alpi A** (1990). Pattern of variations in abscisic acid content in suspensors, embryos, and integuments of developing *Phaseolus coccineus* seeds. *Plant Physiol* **94**, 1776–1780.
- Petrášek J, Friml J** (2009). Auxin transport routes in plant development. *Development* **136**, 2675–2688.
- Petricka JJ, van Norman JM, Benfey PN** (2009). Symmetry breaking in plants: molecular mechanisms regulating asymmetric cell divisions in *Arabidopsis*. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **1**, a000497.
- Picciarelli P, Alpi A, Pistelli L, Scalet M** (1984). Gibberellinlike activity in suspensors of *Tropaeolum majus* L. and *Cytisus laburnum* L. *Planta* **162**, 566–568.
- Picciarelli P, Ceccarelli N, Paolicchi F, Calistri G** (2001). Endogenous auxins and embryogenesis in *Phaseolus coccineus*. *Aust J Plant Physiol* **28**, 73–78.
- Przybyllok T, Nagl W** (1977). Auxin concentration in the embryo and suspensors of *Tropaeolum majus*, as determined by mass fragmentation (single ion detection). *Z Pflanzenphysiol* **84**, 463–465.
- Schwartz BW, Vernon DM, Meinke DW** (1997). Development of suspensor: differentiation, communication, and programmed cell death during plant embryogenesis. In: Larkins BA, Vasil IK, eds. *Cellular and Molecular Biology of Plant Seed Development*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. pp. 53–72.

- Schwartz BW, Yeung EC, Meinke DW** (1994). Disruption of morphogenesis and transformation of the suspensor in abnormal suspensor mutants of *Arabidopsis*. *Development* **120**, 3235–3245.
- Stadler R, Lauterbach C, Sauer N** (2005). Cell-to-cell movement of green fluorescent protein reveals post-phloem transport in the outer integument and identifies symplastic domains in *Arabidopsis* seeds and embryos. *Plant Physiol* **139**, 701–712.
- Ueda M, Zhang ZJ, Laux T** (2011). Transcriptional activation of *Arabidopsis* axis patterning genes *WOX8/9* links zygote polarity to embryo development. *Dev Cell* **20**, 264–270.
- Uwer U, Willmitzer L, Altmann T** (1998). Inactivation of a glycyl-tRNA synthetase leads to an arrest in plant embryo development. *Plant Cell* **10**, 1277–1294.
- Vernon DM, Hannon MJ, Le M, Forsthoefel NR** (2001). An expanded role for the *tnv1* gene in embryogenesis: defects in cotyledon pattern and morphology in the *tnv1* mutant of *Arabidopsis* (Brassicaceae). *Am J Bot* **88**, 570–582.
- Walthall ED, Brady T** (1986). The effect of the suspensor and gibberellic acid on *Phaseolus vulgaris* embryo protein synthesis. *Cell Differ* **18**, 37–44.
- Weijers D, Jürgens G** (2005). Auxin and embryo axis formation: the ends in sight? *Curr Opin Plant Biol* **8**, 32–37.
- Weterings K, Apuya NR, Bi YP, Fischer RL, Harada JJ, Goldberg RB** (2001). Regional localization of suspensor mRNAs during early embryo development. *Plant Cell* **13**, 2409–2425.
- Xu NF, Johns B, Pullman G, Cairney J** (1997). Rapid and reliable differential display from minute amounts of tissue: mass cloning and characterization of differentially expressed genes from loblolly pine embryos. *Plant Mol Biol Rep* **15**, 377–391.
- Yeung EC** (1980). Embryogeny of phaseolus: the role of the suspensor. *Z Pflanzenphysiol* **96**, 17–28.
- Yeung EC, Sussex IM** (1979). Embryogeny of *Phaseolus coccineus*: the suspensor and the growth of the embryo-proper *in vitro*. *Z Pflanzenphysiol* **91**, 423–433.

Research Progress in Suspensor of Angiosperms

Guoqi Song, Xingjun Wang*, Aiqin Li, Changsheng Li

Key Laboratory of Crop Genetic Improvement and Biotechnology, Huanghuaihai, Ministry of Agriculture, Key Laboratory for Genetic Improvement of Crop Animal and Poultry of Shandong Province, High-Tech Research Center, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Ji'nan 250100, China

Abstract The suspensor is a terminal embryonic structure that provides nutrients and growth regulators to the embryo proper during embryo development. In contrast to the embryo proper, the suspensor has a simple structure and a one-cell type that has a unique advantage in studies of gene regulation and cell fate determination. This paper presents advances in studies of suspensor formation, characteristics of the suspensor cell, genes that may be involved in suspensor development, and possible roles that suspensors play during embryogenesis.

Key words angiosperms, embryo development, embryo proper, suspensor

Song GQ, Wang XJ, Li AQ, Li CS (2012). Research progress in suspensor of angiosperms. *Chin Bull Bot* **47**, 188–195.

* Author for correspondence. E-mail: xingjunw@hotmail.com