

· 热点评述 ·

别开生面：被子植物受精机制研究的新发现

彭雄波, 孙蒙祥*

武汉大学生命科学学院, 杂交水稻全国重点实验室, 武汉 430072

摘要 被子植物受精调控机制一直是植物有性生殖领域的研究热点之一。近年来, 对于花粉管导向、防止多精入卵以及受精恢复系统启动等关键过程的研究有了快速进展。但迄今发现的主要调控途径均为基于助细胞功能、旨在确保双受精成功的机制, 而对基于中央细胞确保双受精成功的机制仍知之甚少。近期, 李红菊研究组在该领域取得了新的突破, 他们发现中央细胞也能够分泌吸引花粉管的小肽, 进而揭示了一条全新的不依赖于助细胞的受精恢复途径, 填补了对受精机制认识的一个空白。

关键词 受精恢复, 中央细胞, 花粉管导向, 助细胞

彭雄波, 孙蒙祥 (2023). 别开生面: 被子植物受精机制研究的新发现. 植物学报 58, 515–518.

在被子植物受精过程中, 花粉管在柱头上萌发后不断伸长, 途经花柱、胎座、珠柄和珠孔等结构, 将2个精细胞运输到卵细胞与中央细胞所在的胚囊, 完成双受精。这一过程受到不同机制的多重调控(Johnson et al., 2019; Cheung et al., 2022)。首先, 花粉管需要在雌配子体释放的各种信号引导下才能准确、及时地进入胚珠; 其次, 一般情况下只有1根花粉管可进入胚囊以确保双受精成功, 同时需要阻止其它花粉管再次进入, 以免浪费雄性生殖资源。此外, 如果第1根花粉管的2个精细胞因种种原因未能完成双受精, 植物可启动受精恢复系统, 引导第2根花粉管进入胚囊, 通过补偿额外的2个精细胞完成双受精。植物在长期进化中形成的这一精巧而高效的调控机制, 既可保证双受精的顺利完成, 又可避免多精入卵以维持植物的遗传稳定性。同时, 通过利用雄性生殖细胞资源使得受精成功率最大化, 从而最大限度地产生种子, 繁衍后代。在发现双受精后的百余年来, 人们对这一复杂调控机制的了解经过了极其艰难的历程。对上述3个方面机制的研究在近20年才有了较为快速的进展。

目前的研究表明, 胚囊内卵细胞的伴生细胞(即助细胞)是释放花粉管引导信号的主要场所(Higashiyama et al., 2001)。蓝猪耳(*Torenia fournieri*)中助细

胞分泌的一类小肽LUREs与拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)助细胞分泌的小肽AtLURE1s在将花粉管导入胚囊的过程中发挥重要作用(Okuda et al., 2009; Takeuchi and Higashiyama, 2012)。拟南芥AtLURE1s通过与花粉管表面的受体结合传递信号, 引导花粉管定向生长(Takeuchi and Higashiyama, 2016; Wang et al., 2016)。此外, 玉米(*Zea mays*) EA1 (EGG APPARATUS1) 和 AtLURE1s 的同源蛋白 XIUQIU以及TICKET亦具有花粉管引导作用(Márton et al., 2005; Meng et al., 2019; Zhong et al., 2019)。最近, 拟南芥花粉管的珠柄导向机理也明确了引导信号由雌配子体发出(Wang et al., 2023)。关于植物防止多花粉管进入胚珠的机制, 目前已发现至少有4个调控点。一是在胎座处, 通过来自花粉管的RALF (RAPID ALKALINIZATION FACTOR)小肽与胎座处表达的FERONIA等受体相互作用, 限制多根花粉管转向同一个珠柄(Zhong et al., 2022)。二是在胚囊珠孔端通过对AtLURE1s亚硝基化和果胶的脂化阻止第2根花粉管进入胚囊(Duan et al., 2020)。三是在卵细胞成功受精后可分泌蛋白酶ECS1 (EGG CELL-SPECIFIC1)和ECS2, 降解AtLURE1s使其在一定时间内无法继续吸引花粉管(Yu et al., 2021)。如果卵细

收稿日期: 2023-06-24; 接受日期: 2023-07-14

基金项目: 国家自然科学基金(No.32130031, No.32200702)

* 通讯作者。E-mail: mxsun@whu.edu.cn

胞未能受精，则ECS1/2不能分泌，助细胞分泌的AtLURE1s仍可继续吸引花粉管，行使受精恢复功能(Yu et al., 2021)。四是中央细胞成功受精后可与宿存助细胞融合，阻止AtLURE1s的继续分泌(Maruyama et al., 2015)。如果第1根花粉管进入胚珠后未正常受精，宿存助细胞不会消除，而是继续吸引第2根花粉管行使受精恢复功能(Maruyama et al., 2015)。如果多根花粉管进入胚囊后均未成功进行双受精，此时2个助细胞都已经消失，受精补偿系统将如何启动，仍是对受精机理认识的一个明显空白。

可喜的是，中国科学院遗传与发育生物学研究所李红菊研究组近期的一项成果终于填补了这一空白。该研究组揭示了中央细胞中的小肽直接参与花粉管引导与受精恢复过程，并证实这一机制发生在2个助细胞均被花粉管诱导凋亡之后(Meng et al., 2023)。鉴于目前已知的花粉管引导信号均从助细胞分泌，作者很巧妙地利用雄性受精缺陷突变体作为父本，与野生型杂交后诱导助细胞的消亡。*GCS1 (GENERATIVE CELL SPECIFIC 1)*亦称*HAP2 (HAPLESS 2)*，编码定位于精细胞的膜蛋白，参与配子融合过程(Mori et al., 2006; von Besser et al., 2006)。*gcs1*突变体的花粉管能够进入胚囊并释放精细胞，但其精细胞存在缺陷，不能与卵细胞和中央细胞融合，导致双受精失败。使用*gcs1*花粉授粉后32小时，2个助细胞都已经消亡，助细胞分泌的LURE1.2信号也随之消失，但是胚珠仍会吸引多于2根花粉管进入胚囊，暗示第3-4根花粉管进入胚珠并不依赖于助细胞。Meng等(2023)进一步利用体外系统显示，*gcs1*花粉授粉后32小时的胚珠仍然具有引导花粉管进入和诱导花粉管破裂的能力。更重要的是，体内*gcs1*花粉授粉后32小时再授粉野生型花粉，能够产生正常受精的种子。同时，通过转基因在助细胞中表达毒性蛋白DTA(*Diphtheria Toxin A Subunit*)后亦导致助细胞消亡和LURE信号的缺失，但该转基因株系中仍具有较高的花粉管吸引能力，并产生种子。上述结果表明，胚囊中存在不依赖于助细胞的花粉管引导信号，其在助细胞消亡后仍维持胚囊对花粉管的吸引能力。

该研究组早期的工作显示中央细胞中存在大量的CRPs (*Cysteine-Rich Peptides*)，其表达受到CCG (*CENTRAL CELL GUIDANCE*)与CBP1 (*CCG BINDING PROTEIN1*)的正向调控，可能作为信号分

子参与花粉管吸引(Chen et al., 2007; Li et al., 2015)。在助细胞中表达的转录因子MYB98通过控制LUREs的表达参与引导花粉管。Meng等(2023)发现*myb98*突变体中CCG的表达上调，因此，通过寻找在*ccg*中下调表达且在*myb98*中上调表达的多肽基因，鉴定到97个可能的信号分子。通过体外表达这些多肽及其同源蛋白并测试它们对花粉管的吸引能力，发现SAL1 (*SALVAGER1*)和SAL2在体外能高效吸引花粉管。有意思的是，SAL1能吸引拟南芥近缘种琴叶拟南芥(*A. lyrata*)的花粉管，但SAL2却不具备此功能。

野生型植株中，SAL1和SAL2在中央细胞中特异表达并限制在中央细胞内，但在突变体*myb98*中它们能够被分泌到珠孔和珠被。在助细胞和中央细胞中过表达SAL1和SAL2能够部分回复*myb98*的表型。虽然双突变体*sal1/sal2*没有明显的败育表型，但是三突变体*myb98/sal1/sal2*显示出比*myb98*更严重的花粉管吸引缺陷与败育表型。通过*gcs1*花粉授粉或者表达DTA消除助细胞后，SAL1和SAL2能够被分泌到珠孔。在用*gcs1*花粉授粉后，*sal1/sal2*植株中能够吸引超过2根花粉管的胚珠数量显著低于野生型。

综上所述，Meng等(2023)发现中央细胞可直接分泌小肽SAL1和SAL2吸引花粉管，揭示了中央细胞作为雌配子的新功能。该机制使胚珠在助细胞消亡或功能受损时仍能吸引花粉管，实施受精补偿作用(图1)。更为有趣的是，中央细胞的这一特殊功能，可使胚珠在授粉后较长一段时间内仍具有吸引花粉管的能力，从而最大程度地保证双受精的成功。该工作无疑拓展了我们对复杂受精调控机制的想象空间，也增进了我们对配子特性与功能的认识。

这项别开生面的工作也引发了人们对受精调控机制更多的思考。首先，Meng等(2023)研究显示，SAL1和SAL2可引导花粉管并且能结合到花粉管上，但是突变掉LURE受体后的花粉管仍然能够响应SAL1和SAL2，表明SAL1和SAL2的受体与LURE受体不一致。显然，鉴定SAL1和SAL2的受体将有助于解析其引导花粉管的机制。其次，触发SAL1和SAL2分泌的机制是什么？这一悬而未决的问题无疑更引人入胜。作为重要的受精补偿机制，启动信号来自何处也是非常值得思考的问题。此外，植物进化到被子植物才出现双受精，产生了第2个雌配子，即中央细胞。围绕中央细胞进化而来的功能(如参与花粉管吸

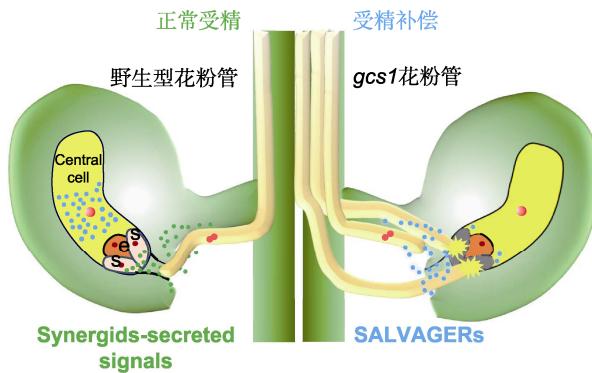


图1 中央细胞介导受精补偿的机制模型

在正常授粉条件下, 助细胞(s)分泌吸引信号, 引导花粉管进入胚囊, 释放2个精细胞, 分别与卵细胞(e)和中央细胞(central cell)融合, 实现双受精。这时中央细胞表达的SALVAGER小肽保存在中央细胞中。当花粉管携带的精细胞无受精能力时(如gcs1突变体精细胞), 2个助细胞都被花粉管消除, 但未发生双受精, 这时中央细胞中的SALVAGERs小肽向珠孔和珠柄分泌, 吸引新的花粉管进入。当新花粉管携带有功能的精细胞时, 双受精成功发生, 实现正常结实和后代繁衍。

Figure 1 A model of central cell-controlled fertilization recovery

At normal pollination condition, the synergids (s) secrete attractant to guide the pollen tube into the embryo sac and release the two sperm cells, which fuse with the egg (e) and central cell to accomplish double fertilization. At this condition, the central cell-expressed SALVAGER peptides are deposited in the central cell. When the sperm cells are sterile, like in the gcs1 mutant, the two synergids are consumed by two pollen tubes but the egg and central cell are not fertilized. At this condition, SALVAGERs are secreted to the micropyle and funiculus to guide the new coming pollen tubes. When the new arriving pollen tubes are fertile, double fertilization is recovered and reproductive success is achieved.

引), 体现了其不同于原有卵细胞系统的独特机制。其如何与卵细胞系统相互对接、整合, 以便协调一致, 成为完整、有序且精准的双受精调控系统, 可能是目前及今后进一步研究的方向。

参考文献

- Chen YH, Li HJ, Shi DQ, Yuan L, Liu J, Sreenivasan R, Baskar R, Grossniklaus U, Yang WC (2007). The central cell plays a critical role in pollen tube guidance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **19**, 3563–3577.
- Cheung AY, Duan QH, Li C, Liu MCJ, Wu HM (2022). Pollen-pistil interactions: it takes two to tangle but a molecular cast of many to deliver. *Curr Opin Plant Biol* **69**,

102279.

- Duan QH, Liu MCJ, Kita D, Jordan SS, Yeh FLJ, Yvon R, Carpenter H, Federico AN, Garcia-Valencia LE, Eyles SJ, Wang CS, Wu HM, Cheung AY (2020). FERONIA controls pectin- and nitric oxide-mediated male-female interaction. *Nature* **579**, 561–566.
- Higashiyama T, Yabe S, Sasaki N, Nishimura Y, Miyagishima SY, Kuroiwa H, Kuroiwa T (2001). Pollen tube attraction by the synergid cell. *Science* **293**, 1480–1483.
- Johnson MA, Harper JF, Palanivelu R (2019). A fruitful journey: pollen tube navigation from germination to fertilization. *Annu Rev Plant Biol* **70**, 809–837.
- Li HJ, Zhu SS, Zhang MX, Wang T, Liang L, Xue Y, Shi DQ, Liu J, Yang WC (2015). *Arabidopsis* CBP1 is a novel regulator of transcription initiation in central cell-mediated pollen tube guidance. *Plant Cell* **27**, 2880–2893.
- Márton ML, Cordts S, Broadhurst J, Dresselhaus T (2005). Micropylar pollen tube guidance by egg apparatus 1 of maize. *Science* **307**, 573–576.
- Maruyama D, Völz R, Takeuchi H, Mori T, Igawa T, Kurihara D, Kawashima T, Ueda M, Ito M, Umeda M, Nishikawa SI, Groß-Hardt R, Higashiyama T (2015). Rapid elimination of the persistent synergid through a cell fusion mechanism. *Cell* **161**, 907–918.
- Meng JG, Xu YJ, Wang WQ, Yang F, Chen SY, Jia PF, Yang WC, Li HJ (2023). Central cell-produced attractants control fertilization recovery. *Cell* **186**, 3593–3605.
- Meng JG, Zhang MX, Yang WC, Li HJ (2019). TICKET attracts pollen tubes and mediates reproductive isolation between relative species in Brassicaceae. *Sci China Life Sci* **62**, 1413–1419.
- Mori T, Kuroiwa H, Higashiyama T, Kuroiwa T (2006). GENERATIVE CELL SPECIFIC 1 is essential for angiosperm fertilization. *Nat Cell Biol* **8**, 64–71.
- Okuda S, Tsutsui H, Shiina K, Sprunck S, Takeuchi H, Yui R, Kasahara RD, Hamamura Y, Mizukami A, Susaki D, Kawano N, Sakakibara T, Namiki S, Itoh K, Otsuma K, Matsuzaki M, Nozaki H, Kuroiwa T, Nakano A, Kanaoka MM, Dresselhaus T, Sasaki N, Higashiyama T (2009). Defensin-like polypeptide LUREs are pollen tube attractants secreted from synergid cells. *Nature* **458**, 357–361.
- Takeuchi H, Higashiyama T (2012). A species-specific cluster of defensin-like genes encodes diffusible pollen tube attractants in *Arabidopsis*. *PLoS Biol* **10**, e1001449.
- Takeuchi H, Higashiyama T (2016). Tip-localized receptors control pollen tube growth and LURE sensing in *Arabi-*

- dopsis. *Nature* **531**, 245–248.
- von Besser K, Frank AC, Johnson MA, Preuss D** (2006). *Arabidopsis HAP2 (GCS1)* is a sperm-specific gene required for pollen tube guidance and fertilization. *Development* **133**, 4761–4769.
- Wang T, Liang L, Xue Y, Jia PF, Chen W, Zhang MX, Wang YC, Li HJ, Yang WC** (2016). A receptor heteromer mediates the male perception of female attractants in plants. *Nature* **531**, 241–244.
- Wang X, Liu XF, Yi XL, Wang M, Shi WX, Li RP, Tang WY, Zhang LY, Sun MX, Peng XB** (2023). The female germ unit is essential for pollen tube funicular guidance in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol* **238**, 155–168.
- Yu XB, Zhang XC, Zhao P, Peng XB, Chen H, Bleckmann A, Bazhenova A, Shi C, Dresselhaus T, Sun MX** (2021). Fertilized egg cells secrete endopeptidases to avoid polytubey. *Nature* **592**, 433–437.
- Zhong S, Li L, Wang ZJ, Ge ZX, Li QY, Bleckmann A, Wang JZ, Song ZH, Shi YH, Liu TX, Li LH, Zhou HB, Wang YY, Zhang L, Wu HM, Lai LH, Gu HY, Dong J, Cheung AY, Dresselhaus T, Qu LJ** (2022). RALF peptide signaling controls the polytubey block in *Arabidopsis*. *Science* **375**, 290–296.
- Zhong S, Liu ML, Wang ZJ, Huang QP, Hou SY, Xu YC, Ge ZX, Song ZH, Huang JY, Qiu XY, Shi YH, Xiao JY, Liu P, Guo YL, Dong J, Dresselhaus T, Gu HY, Qu LJ** (2019). Cysteine-rich peptides promote interspecific genetic isolation in *Arabidopsis*. *Science* **364**, eaau956.

Out of the Road: Novel Finding in Regulatory Mechanism of Angiosperm Fertilization

Xiongbo Peng, Meng-xiang Sun^{*}

State Key Laboratory of Hybrid Rice, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China

Abstract Angiosperm fertilization has been a hot topic in the field of sexual plant reproduction. In recent years, great advances have been made in the studies on some critical steps, such as pollen tube guidance, polytubey block, and fertilization recovery system. However, most of these known mechanisms are synergid cell-based for ensuring successful double fertilization, the counterpart system based on central cell remains poorly understood. A recently published paper from Hongju Li's lab revealed that the central cell could also secrete peptides as pollen tube attractants to guide the pollen tube entering embryo sac to ensure double fertilization. Interestingly, this mechanism is not synergid-dependent. Thus, the authors revealed a novel fertilization recovery system and bridged a gap in understanding the mechanism underlying double fertilization.

Key words fertilization recovery, central cell, pollen tube guidance, synergid cells

Peng XB, Sun MX (2023). Out of the road: novel finding in regulatory mechanism of angiosperm fertilization. *Chin Bull Bot* **58**, 515–518.

* Author for correspondence. E-mail: mxsun@whu.edu.cn

(责任编辑: 朱亚娜)