



高等植物受精过程中雌-雄相互作用的分子调控机制

刘敬婧, 侯英楠, 瞿礼嘉*

北京大学生命科学学院, 北京大学-清华大学生命科学联合中心, 蛋白质与植物基因研究国家重点实验室, 北京 100871

* 联系人, E-mail: qulj@pku.edu.cn

收稿日期: 2013-09-03; 接受日期: 2013-09-18

国家重大科学研究计划(批准号: 2012CB944801)资助项目

doi: 10.1360/052013-286

摘要 从广义上讲, 被子植物的受精过程是指花粉粒落到柱头上萌发形成花粉管, 花粉管穿过柱头沿着引导组织生长进入子房内, 最终在胚囊中实现精细胞与卵细胞以及中央细胞分别融合从而起始胚胎和胚乳的发育. 被子植物的精细胞由于不具有鞭毛而无法自由移动, 因此在受精过程中需要借助于花粉管来将精细胞运送到胚囊中. 花粉管通过与雌性的孢子体组织之间的相互作用和识别将精细胞准确地运送到胚珠附近, 而最终将精细胞准确地运送到胚囊内的过程则是受到了雌配子体细胞的控制. 可以说, 受精的成功实现有赖于雌性和雄性细胞之间的持续的识别和相互作用, 这种互作具有多样性和阶段特异性. 本文将主要综述被子植物受精过程中花粉粒以及花粉管与多种雌性孢子体组织以及雌配子体之间的信号互作研究.

关键词

被子植物
有性生殖
双受精
花粉管
雌雄互作

在数亿年的演化过程中, 植物经历了从单细胞到多细胞、水生到陆生的发展变化, 与之相对应, 植物的有性生殖器官以及生殖方式也经历了不断的演变. 陆生植物主要包括苔藓植物、蕨类植物以及种子植物(裸子植物和被子植物), 它们的性器官都是多细胞的. 苔藓植物和蕨类植物的受精过程仍然需要水的帮助, 它们可以产生具有游动能力的精子, 精子需要借助水的环境来游泳进入颈卵器内实现受精. 在种子植物(即裸子植物和被子植物)中, 其最大特征是形成了种子, 同时形成了花粉粒及花粉管来保护以及输送精细胞. 绝大多数种子植物的精子不具有鞭毛、不能游动, 它们的受精作用不需要水的环境条件, 而是依靠萌发的花粉管来将精细胞运送到雌配子体

内. 裸子植物和被子植物的区别在于, 裸子植物的胚珠裸露, 而被子植物的胚珠包裹在子房内发育, 并且还演化出最为特殊的受精方式, 即双受精^[1]. 被子植物的这些特点使得它们可以更好地传播后代, 后代的生活力更强, 从而成为了目前自然界中最占据优势地位的植物种群.

在被子植物中, 由于雌配子体(即胚囊)位于雌蕊的子房腔内, 花粉落到柱头上之后还需要经过一系列复杂的过程才能将精细胞送达胚囊完成受精. 根据已有的形态学和细胞学研究, 被子植物的受精过程又可以分为以下几个阶段: (i) 花粉粒黏附在柱头表面, 水合、萌发和长出花粉管; (ii) 花粉管在柱头乳突细胞的细胞间生长并穿过柱头和花柱; (iii)

引用格式: 刘敬婧, 侯英楠, 瞿礼嘉. 高等植物受精过程中雌-雄相互作用的分子调控机制. 中国科学: 生命科学, 2013, 43: 842-853

Liu J J, Hou Y N, Qu L J. Molecular mechanisms behind the male-female interaction in fertilization in higher plants. SCIENTIA SINICA Vitae, 2013, 43: 842-853, doi: 10.1360/052013-286

花粉管沿着引导组织生长; (iv) 花粉管离开引导组织, 穿出隔膜进入子房腔内, 并沿着珠柄生长; (v) 花粉管生长, 从珠孔进入胚囊内部, 释放出 2 个精细胞, 完成双受精过程. 花粉(管)和不同雌性组织之间的互作和识别保证了这个“漫长”过程的顺利进行, 以拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的受精过程为例, 其花粉管至少要与柱头、花柱、引导组织、隔膜、珠柄、珠被以及助细胞等 7 种不同类型的雌蕊组织(细胞)发生互作^[2](图 1).

在被子植物中, 大孢子母细胞经过减数分裂形成 4 个单倍体的大孢子(大孢子形成), 随后 3 个大孢子发生降解, 只有其中 1 个大孢子存活下来(功能大孢子), 经历一系列的核分裂和细胞化过程(大配子形成)形成多细胞的雌配子体. 大多数被子植物的雌配子体属于蓼型, 在具有蓼型雌配子体的植物中, 减数分裂后唯一存留下来的功能大孢子经过 3 次有丝分裂形成了具有 8 个单倍体核的雌配子体. 随后, 经过核的迁移、细胞化以及分化的过程最终形成了七细胞胚囊, 包括 3 个反足细胞、2 个助细胞、1 个卵细胞以及 1 个由两个极核形成的中央细胞^[3-5]. 包括拟南芥在内的很多植物中, 在花粉管到达胚囊前, 这两个极核会融合形成二倍体的中央细胞, 同时 3 个反足细胞会发生降解, 从而形成四细胞的雌配子体. 通常情况下, 单一的一根花粉管通过珠孔进入胚珠, 在助细胞中停止生长, 花粉管进而发生迸裂释放出 2 个精细

胞, 一个精细胞与胚囊中的卵细胞融合形成合子进而发育成胚胎, 而另一个精细胞则与胚囊中的中央细胞融合起始胚乳的发育^[6].

为保证花粉管“运送”精细胞整个过程的顺利进行, 雌蕊在各个不同的阶段为花粉管提供了多方面的“导航”信号. 过去 20 年中, 科学家们对参与受精过程中雌-雄相互作用的可能分子机制进行了大量的研究. 本文将着重综述在被子植物整个受精过程中雌-雄互作的研究进展.

1 花粉在黏附、水合以及萌发过程中与柱头间的相互作用

在传粉媒介的帮助下, 花粉最早降落到雌蕊的柱头上. 花粉黏附到柱头上之后, 成熟的柱头会对黏附其上的花粉粒有一个识别和接受的过程, 这个过程的时间在不同物种间差异很大, 短则一个小时, 长则几天. 柱头的表面为特化的乳突细胞所覆盖, 乳突细胞形状多为扁平、圆形或者长形, 可以形成宽大的接受表面, 柱头的这种特殊结构非常适合于捕捉花粉粒, 并为花粉粒萌发提供适合的条件. 根据雌蕊成熟时柱头表面是否存在明显的渗出物, 柱头可以分成湿柱头和干柱头 2 种类型^[1]. 在湿柱头上, 柱头表面的渗出物可促进花粉粒的黏附作用; 而在干柱头上, 一般则认为花粉粒的黏附作用是依赖于花

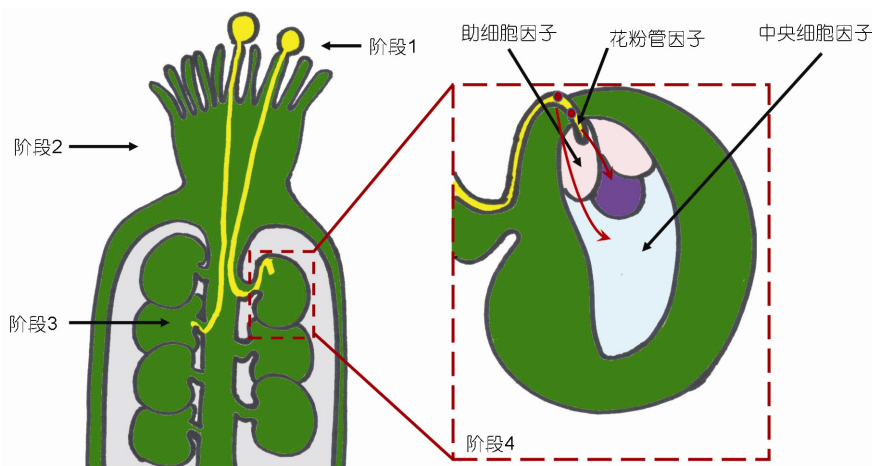


图 1 拟南芥花粉管受精过程示意图

阶段 1: 花粉在柱头上黏附、水合以及萌发; 阶段 2: 花粉管在引导组织中生长; 阶段 3: 花粉管穿过隔膜, 沿珠柄生长; 阶段 4: 花粉管进入胚珠的珠孔端, 停止生长, 释放精细胞. 助细胞因子: MYB98, ZmEA1, LURE, FER/SIR, NTA, ZmES4 和 LRE; 中央细胞因子: CCG 和 MAA; 花粉管因子: LIP1, LIP2, KZM1, ANXUR1, ANXUR2 和 ACA9

粉的外壁。对于柱头和花粉之间的识别和互作研究最多的是十字花科的植物(干柱头类型)。对十字花科内的几种不同植物进行种间杂交的实验表明,不同物种间杂交时的花粉黏附力差异较大,有些黏附力很差,而有些则可以获得较好的黏附效果,这种现象暗示着在花粉和柱头细胞黏附的这个阶段可能存在一定程度的特异性识别^[7]。有人认为,花粉外壁蛋白在这个特异性识别过程中发挥了重要作用,并且利用遗传学和生物化学的方法证明一些十字花科植物的花粉外壁蛋白参与了柱头和花粉识别的过程^[7-9]。但近年来在此方面的研究进展不大。

花粉黏附到柱头上之后,即开始吸水-水合准备萌发。在花粉粒水合的过程中,柱头为其提供水分以及萌发所需要的其他条件。黏附在湿柱头上的花粉粒可以直接从柱头渗出物中获得水分;而附着在干柱头上的花粉粒其水合作用则需要借助于花粉外壁流出的花粉覆盖物与柱头乳突细胞之间形成的界面。近年来的研究发现,油菜(*Brassica napus*)和拟南芥中的一个定位在柱头细胞膜上的蛋白 Exo70A1(exocyst subunit Exo70 family protein A1)是花粉粒吸水-水合所必需的,Exo70A1 的缺失或其表达量下调都会导致柱头上花粉粒的水合能力明显下降^[10]。Exo70A1 实际是在芸薹属(*Brassica*)植物的自交不亲和(self-incompatibility, SI)反应过程中发挥重要作用的一个蛋白,当亲和性的花粉落在柱头上时,Exo70A1 参与调控了花粉的水合过程,因此 Exo70A1 又被认为是一个柱头上的亲和因子。油菜和拟南芥的柱头如果缺失 Exo70A1 蛋白,则无法接受亲和性的花粉。有人推测认为,Exo70A1 有可能参与了将分泌型的囊泡运送到柱头乳突细胞的细胞膜处,通过此种转运过程来为花粉粒的水合提供其需要的组分^[10]。此外,人们还发现,磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol 4-phosphate, PI4P)也在柱头细胞响应亲和性花粉的过程中发挥了重要的作用^[11]。Root hair defective4-1 和 PI4-kinase $\beta 1/\beta 2$ 双突变体是 2 种 PI4P 水平受到不同程度影响的突变体。实验发现,花粉粒在这 2 个突变体的柱头上的水合速率明显降低,说明 PI4P 可能参与了柱头细胞中的信号转导过程,调控亲和花粉在柱头细胞上的水合过程^[11]。

花粉粒发生水合作用之后,在花粉萌发孔处形成突起,萌发伸长成为花粉管。在湿柱头型的植物中,柱头分泌区释放出的渗出物能够促进花粉的萌发以

及花粉管穿过柱头。后来的研究表明,湿柱头渗出物中的脂类是花粉管穿过柱头的必需物质^[12];而对于干柱头型的植物而言,花粉外壁则充当了类似于湿柱头中渗出物的作用^[12,13]。虽然在花粉体外萌发实验中给花粉粒提供的水分充足,但是花粉在体外条件下的萌发速率比体内要慢很多,说明柱头可能会产生一些因子促进花粉的萌发。从烟草(*Nicotiana tabacum*)和番茄(*Lycopersicon esculentum*)中分离到了一种耐热、耐酸、耐碱、耐 DTT(DL-dithiothreitol)以及耐蛋白酶降解的因子 STIL(style interactor for LePRKs),在花粉体外萌发的实验中添加 STIL 可以促进花粉管的伸长,并且这种促进作用与 STIL 的加入量呈正相关^[14]。近年来,通过质谱分析方法从拟南芥的雌蕊提取物中发现了一种小分子 sulfinate dazadecalins,这种小分子可以在体外条件下促进拟南芥花粉管的萌发,并且这种促进作用有物种特异性^[15]。

2 花粉管与雌蕊的花柱以及引导组织间的相互作用

在萌发之后,花粉管总是会沿着花柱往下生长,说明柱头和花柱中可能存在一些因子控制花粉管的生长导向。从百合(*Lilium longiflorum*)柱头中分离到一种能够在体外条件下吸引花粉管生长的碱性小蛋白 chemocyanin^[16],这个蛋白很有可能在柱头中发挥导向花粉管生长的功能。plantacyanin 是 chemocyanin 在拟南芥中的同系蛋白,在柱头上过量表达 plantacyanin 会导致花粉管导向生长的破坏,这两个蛋白从柱头到子房可以形成由低到高的浓度梯度,进一步支持它们作为花粉管导向信号的猜测^[17]。在花粉管通往引导组织和胚珠的道路上,花柱除了作为一个管道之外,还能够使花粉管“获能”(competence acquiring),即响应雌配子体释放的吸引信号的能力。这个过程从功能上类似于哺乳动物受精中精子的“获能”过程。实验证据表明,在体外培养条件下,穿过柱头生长的花粉管对胚珠的响应效率比纯体外生长的花粉管有显著的提升^[18]。通过比较拟南芥纯体外萌发的花粉管和穿过柱头生长的花粉管这 2 种样本中的基因表达情况,找出了在后者中特异表达或者表达量显著提升的一些基因^[19],试图以此来解析花粉管穿过柱头后“获能”的原因。此外,在番茄中

发现了 2 个在花粉粒和花粉管中特异表达的富含亮氨酸重复序列的类受体激酶(LRR-RLK)LePRK1 (pollen receptor kinase 1)和 LePRK2. 实验表明, 这 2 个类受体激酶在体外条件下形成的复合体非常稳定, 但是当加入雌蕊的提取物后复合体就会发生解离, 该过程很可能是由雌蕊组织使得 LePRK2 去磷酸化而引起的. 下调 LePRK2 的表达量会导致花粉管萌发和生长速率减慢, 暗示了 LePRK2 对于花粉管发挥正常功能很重要^[14]. 这些结果表明, 花柱组织可以通过调控花粉管中 LePRK2 的翻译后修饰来影响花粉管的功能. 尽管如此, 目前仍不清楚雌蕊究竟是通过怎样的修饰方式使得花粉管具有响应胚珠吸引的能力.

一旦花粉管穿过柱头进入花柱, 雌蕊胞外基质(extracellular matrix, ECM)会提供导向花粉管生长的信号以及花粉管生长所需要的养分. 通常认为, 雌蕊胞外基质中的化学吸引物质在把花粉管导向胚珠的生长过程中发挥了重要作用. 雌蕊中表达的阿拉伯半乳糖糖蛋白(arabinogalactan protein, AGPs)能够被运输到正在生长的花粉管处来调控信号转导和转运过程. 在烟草雌蕊胞外基质中分离到了一个约有 100 kD 的阿拉伯半乳糖糖蛋白(transmitting tract-specific, TTS), TTS 可以在体外条件下促进花粉管的生长^[20,21]. 沿着花粉管在引导组织中的生长方向, TTS 糖蛋白的糖基化修饰程度呈现逐渐增长的梯度^[22], 暗示了 TTS 蛋白可能是一种导向花粉管生长的化学吸引信号.

据报道, 有 2 种氨基酸很可能在花粉管和雌蕊花柱及引导组织的相互作用中起作用. 一种是 γ -氨基丁酸(gamma-aminobutyric acid, GABA)^[23], 另一种是稀有氨基酸 D-丝氨酸(D-Ser)^[24]. GABA 在原核生物和真核生物细胞的信号转导过程中都可以起作用. GABA 在花粉管导向过程中的作用是通过研究拟南芥 *pollen-pistil 2(pop2)* 突变体而发现的^[23]. GABA 转氨酶是负责降解 GABA 的, 而在 *pop2* 突变体中, 编码 GABA 转氨酶的一个基因发生了突变, 因而在 *pop2* 突变体的雌蕊中积累了过量的 GABA. 研究发现, GABA 在野生型雌蕊中呈现梯度分布, 从柱头到胚珠浓度由低到高, 暗示 GABA 有可能以一种化学趋化性的方式来导向花粉管的生长. 在体外条件下外源施加 GABA 也会影响花粉管的生长, 在低浓度时促进花粉管生长而在高浓度时则抑制花粉管生长^[23]. 最近的报道表明, 体内高浓度的 GABA 也会抑制花

粉管的伸长, 而且细胞壁相关的基因在 *pop2* 突变体中显著上调, 这与突变体中花粉管伸长的缺陷也是一致的^[25]. D-Ser 也可以调控花粉管在花柱、引导组织以及胚珠中的正常生长. 通过实验发现, D-Ser 是谷氨酸盐受体(glutamate receptors, GLRs)的关键激活剂, 在花粉管的尖端区域激活该受体的活性, 使 Ca^{2+} 内流进入细胞质中, 影响花粉管中 Ca^{2+} 的浓度和波动幅度, 从而调控体内花粉管的生长^[24]. 有证据表明, 细胞内的游离 Ca^{2+} 参与了花粉和雌蕊互作的多个信号转导事件^[26].

3 花粉管导向胚珠过程中花粉管与胚珠之间的相互作用

花粉管在引导组织中生长, 会受到多种引导信号的吸引, 从而穿出隔膜进入子房腔内, 并沿着珠柄生长, 通过胚珠的珠孔进入胚囊内部. 对于花粉管来说, 这一过程是顺利完成双受精的重要一步. 研究表明, 雌配子体是负责将花粉管吸引进入胚珠的主要组织^[27-29]. 该吸引过程又可以分为 2 个步骤: (i) 花粉管穿过隔膜后沿着珠柄生长, 即珠柄吸引; (ii) 从胚珠的珠孔端进入胚囊, 即珠孔端吸引. 这 2 个过程在 *magatama(maa)* 突变体中表现得最为明显^[29]. *maa* 突变体植株的雌配子体的发育迟缓, 花粉管能够沿珠柄生长, 但最终无法进入胚珠的珠孔端.

关于花粉管为什么可以沿着珠柄生长, 目前研究得还不充分. 人们普遍猜测有两种可能: (i) 成熟的雌配子体直接分泌吸引物质, 吸引物质沿着珠柄分布, 引导花粉管生长; (ii) 雌配子体分泌的信号激发珠柄等孢子体细胞(如珠柄细胞)产生吸引物质, 从而引导花粉管. 相关研究目前还很少. 在 K^+ 通道突变体 *chx21chx23* 中发现, 花粉管只能在引导组织中生长, 但无法穿过隔膜^[30]. 体外受精实验中, *chx21* 和 *chx23* 双突变体的花粉管无法被珠柄或胚珠吸引. 该结果说明, K^+ 可能在花粉管穿过隔膜、被珠柄吸引的过程中起作用. 具体的机制还需进一步研究.

近年来, 对花粉管的珠孔端吸引机制的研究取得了深入的成果. Higashiyama 等人^[31]在 2001 年以胚珠外凸的蓝猪耳(*Torenia fournieri*)为材料, 利用激光技术对胚囊内的各个细胞进行逐一切除. 实验证明, 当胚囊内的 2 个助细胞被同时切除后, 胚珠就失去了吸引花粉管的能力. 这一结果证明, 助细胞是分泌吸

引物质的主要部位。之后,又发现了一个助细胞中的 R2R3-MYB 转录因子 MYB98^[32]。在 *myb98* 突变体中,与分泌吸引物质密切相关的丝状器的组装出现异常,同时胚珠失去了吸引花粉管的能力。进一步证明了助细胞在引导花粉管生长中的重要作用。

为了找到助细胞分泌的吸引物质,首先对能够产生吸引作用的最大距离进行了研究。在利用蓝猪耳的胚珠吸引半体外萌发的蓝猪耳花粉管的实验中,只有当花粉管在距离胚珠 200 μm 之内的范围时才有吸引作用^[33]。而在拟南芥的体外受精体系中,这一距离只有大约 100 μm ^[18]。此外,胚珠对花粉管的吸引具有种属特异性,即在大多数物种中,花粉管只能识别同物种的胚珠,即使近缘物种的胚珠也不能识别^[34]。这些结果说明,吸引物质应该具备 3 种特征: (i) 由助细胞合成; (ii) 可分泌到胚珠外的小分子(≤ 85 kD); (iii) 在种间快速进化^[18]。

Márton 等人^[35]首先在玉米(*Zea mays*)中找到一种在助细胞大量表达的蛋白——EGG APPARATUS 1(ZmEA1)。ZmEA1 是由 94 个氨基酸组成的质膜蛋白。利用 RNAi 技术降低 ZmEA1 的表达后,受精异常的花粉管的比例大大上升,说明 ZmEA1 对于玉米胚珠吸引花粉管的作用是必要的。用拟南芥 MYB98 启动子驱动 ZmEA1 在拟南芥的助细胞中表达,可以使拟南芥胚珠打破种属界限,具有一定吸引玉米花粉管的能力^[36]。在体外表达 ZmEA1 的 N 端 49 个氨基酸,然后直接施加在花粉萌发培养基上,可以吸引半体外萌发的玉米花粉管^[37]。这些结果说明, ZmEA1 的存在是吸引玉米花粉管的充分条件。

Okuda 等人^[38]通过对蓝猪耳助细胞的 cDNA 文库进行 EST 分析,找到了一类可分泌的富含半胱氨酸的小肽(cysteine-rich polypeptides, CRPs)——LURE。免疫荧光定位显示, LURE 蛋白在助细胞合成后会分泌到丝状器。当利用反义核酸技术降低 LURE 的表达量后,胚珠的吸引能力大大下降。而纳摩尔浓度的 LURE 蛋白就可以吸引半体外萌发的花粉管。该实验室又根据吸引物质快速进化的特征,在拟南芥中找到了 5 个相应的 AtLURE 蛋白,它们同样定位在拟南芥胚珠的助细胞和丝状器;利用 RNAi 技术降低 AtLURE 的表达后,胚珠的吸引能力大大下降^[39]。原核表达的 AtLURE 也可以在体外吸引花粉管,而其中 AtLURE1.5 的吸引活性较弱,发现是它的其中一个保守的半胱氨酸发生了突变;将其重新突变为半胱

氨酸后,其吸引活性恢复到较高水平。这一结果说明,保守的半胱氨酸对 AtLURE 的生物学功能至关重要。用蓝猪耳 TtLURE2 启动子驱动,将拟南芥的 AtLURE 表达在蓝猪耳的助细胞中,结果使蓝猪耳的胚珠也具备了吸引拟南芥花粉管的能力,这也使得克服生殖隔离成为可能^[39]。

除助细胞参与花粉管的吸引外,卵细胞和中央细胞可能也参与了吸引作用。在拟南芥 *maa* 突变体胚珠中,2 个中央极核不融合,无法形成中央细胞,花粉管则不能正常进入胚珠^[29]。在中央细胞中表达的一个与酵母转录因子 IIB(transcription factor IIB, TFIIB)功能类似的蛋白 CCG(central cell guidance),其功能缺失突变体的珠孔端吸引出现异常^[40]。猜测 CCG 可能作为一个转录调控因子直接调控或者通过卵细胞和助细胞间接调控珠孔端对花粉管的吸引。另有研究表明,卵细胞中表达的一个质膜蛋白 GEX3(gamete expressed 3)的功能缺失也会导致珠孔端吸引异常^[41]。因此,卵细胞应该也参与了对珠孔端吸引的调控。

普遍认为,与胚囊分泌的雌性吸引信号相类似,在花粉管顶部有与之对应的受体来感受这些信号,实现花粉管的导向生长;但是长期以来对于花粉管中感受雌性吸引信号的受体知之甚少。最近,本实验室^[42]通过反向遗传学方法找到了 2 个类受体激酶 LIP1(lost in pollen tube guidance 1)和 LIP2,发现这 2 个类受体激酶定位在花粉管的顶端,同时敲除这 2 个类受体激酶,会使雄性基因传递率严重下降。进一步通过生物化学方法和生物成像技术,证明产生的雄性基因传递率下降的现象是由花粉管导向的错误导致的,即花粉管可以生长,但是找不到雌性细胞所在的位置,导致受精无法正常进行。最后证明, LIP1 和 LIP2 这 2 个类受体激酶部分参与了对吸引信号 AtLURE1 的感受。这是在模式植物拟南芥中第一次鉴定到控制花粉管导向的类受体激酶,是植物生殖生物学研究领域的一项重要进展。

4 进入胚囊后花粉管破裂过程中花粉管与胚囊内细胞间的相互作用

在拟南芥、蓝猪耳等物种中,花粉管进入珠孔端后,通过丝状器进入到其中一个助细胞中^[32]。此时,花粉管生长停滞,引起该助细胞的降解,花粉管进裂

释放出 2 个精细胞^[43]. 在这一过程中, 在花粉管及雌配子体各细胞间可能存在着大量的细胞间相互作用.

近几年, 相继发现了一些与花粉管接受及精细胞释放相关的突变体. 在拟南芥 *feronia(fer)* 和 *sirene(sir)* 杂合突变体中, 有一半的胚珠无法正常受精^[44,45]. 虽然花粉管可以进入珠孔端, 但是进入后生长无法终止, 花粉管会持续地在配囊中生长而无法释放精细胞. *FER* 和 *SIR* 编码同一个在助细胞中表达的类受体激酶, 它定位于质膜上, 聚集在丝状器, 因此它可能作为受体接受花粉管顶端发出的信号分子, 启动终止花粉管生长的信号途径, 使助细胞产生终止花粉管生长和促进精细胞释放的信号.

nortia(nta) 也是一个会引起花粉管在助细胞中过度生长的突变体^[46]. *NORTIA(NTA)* 是属于霉菌抗性位点 *o(mildew resistance locus o, MLO)* 蛋白家族的成员, 这一家族的蛋白主要在白粉菌感染中起作用. *NTA* 具有信号肽、七次跨膜结构和钙调蛋白结合结构域. 亚细胞定位分析显示, *NORTIA* 在成熟的胚珠中定位于助细胞, 当花粉管进入珠孔端后, 又重新分布聚集在丝状器. 但在 *fer* 的突变体中, *NTA* 则失去了这种极性定位的变化, 说明 *FER* 对于 *NTA* 的极性定位十分重要. 因为 *MLO* 家族蛋白可能参与了囊泡运输的调控, 所以 *FER* 可能在接收到花粉管到达的信号后, 启动下游信号途径, 导致 *NTA* 重新定位, 向外运输反馈信号, 抑制花粉管生长.

除了感受信号因子外, 也曾试图找到在花粉管接受和破裂过程中起作用的信号分子. *LORELEI(LRE)* 编码了一个糖基化磷脂酰肌醇锚定蛋白(glycosylphosphatidylinositol-anchored protein, GAP), 该蛋白在助细胞中表达, 可以通过糖基化磷脂酰肌醇的修饰锚定在质膜上^[47,48]. *lre* 突变体与 *fer* 的表型一致, 也会引起花粉管在胚珠内的过度生长. 因此, *LRE* 可能定位在助细胞表面, 作为信号分子参与了花粉管生长停滞的调控过程.

花粉管停止生长后就要破裂释放出精细胞. 花粉管破裂的机制在玉米中研究得较为深入. 玉米胚珠的助细胞表达一种防卫素类似蛋白——*ZmES4(Zea mays embryo sac 4)*^[49]. 体内降低 *ZmES4* 的表达, 会使结实率大大下降. 体外表达的重组 *ZmES4* 可以使花粉管的顶端迅速去极化而破裂. 受精之前, 可以在助细胞的分泌区域观察到 *ZmES4*^[37]. 根据这些结果猜测, 当雌配子体接收到花粉管到达助细胞的信

号后, 促进细胞内囊泡运输, 将 *ZmES4* 分泌到胞外, 激发玉米花粉管的破裂过程.

花粉管生长停滞和破裂是雌雄配子体相互协调的一个过程, 因此在花粉管中也相应地存在着一些调控因子. *ZmES4* 可以与定位在玉米花粉管顶端的 K^+ 通道 *KZM1* 相互作用, 从而打开 K^+ 通道, 促进花粉管破裂^[49]. 除了玉米外, 还在拟南芥花粉管中发现 2 个控制花粉管破裂的蛋白 *ANX1* 和 *ANX2(ANX1, ANX2)*^[50,51]. 它们是 *FER* 在花粉管中的同源蛋白, 定位在花粉管的顶端区域. *anx1* 和 *anx2* 双突变体的花粉可以正常萌发, 但萌发后的花粉管极易破裂, 无法完成受精. 因此, *ANX1* 和 *ANX2* 在维持花粉管形态上起着重要作用. 当花粉管进入助细胞后, 可能通过抑制 *ANX* 的功能促使花粉管破裂. 此外, 在花粉管中表达的 Ca^{2+} 泵蛋白 *ACA9* (autoinhibited Ca^{2+} ATPase 9) 可能在调控花粉管破裂中起作用^[52]. *aca9* 突变体的花粉管进入助细胞后可以正常终止, 但是不能破裂释放出精细胞. 首先, 这一发现说明花粉管破裂是发生在其停止生长之后; 其次且更为重要的是, 它暗示着 Ca^{2+} 可能作为下游分子或者直接的信号分子调控了花粉管的破裂.

5 在双受精过程中精细胞与雌配子细胞间的相互作用

正常情况下, 花粉管通过珠孔进入胚珠的一个助细胞后停止生长, 花粉管进而迸裂释放出 2 个精细胞, 其中一个精细胞与胚囊中的卵细胞融合形成合子, 而另一个精细胞则与胚囊中的中央细胞融合起始胚乳的发育^[6]. 运用活细胞动态成像的方法^[53], 发现 2 个精细胞从花粉管释放出来后, 首先到达卵细胞和中央细胞之间的一个区域, 经过短暂的停顿之后, 再分别与卵细胞和中央细胞融合. 经过统计后发现, 在拟南芥中这种融合与 2 个精子在花粉管中的前后位置无关, 是一个随机的过程^[53]. 精细胞与雌配子细胞融合的过程包括细胞迁移、配子识别、胞质融合以及核融合等过程, 其中必然涉及很多信号分子在起作用.

HAP2(HAPLESS 2)/GCS1(GENERATIVE CELL SPECIFIC 1) 是拟南芥精细胞中特异表达的一个膜蛋白, 具有 N 端信号肽、单次跨膜结构域与 C 端富含组氨酸结构域. 在 *hap2/gcs1* 突变体中, 精细胞可以

正常释放,但却不能与雌配子细胞进行融合^[54,55],说明 HAP2/GCS1 是一个关键的受精调控因子. HAP2/GCS1 在进化上极为保守,在衣藻(*Chlamydomonas*)和疟原虫(*Plasmodium*)中都可以找到其同源基因^[56].在这些物种中,如果 HAP2 功能缺失,配子则无法实现融合.这些结果暗示, HAP2 可能是配子间的融合剂.从逻辑上讲,融合剂应该定位在配子细胞表面,但是 HAP2 主要定位在内膜系统中,这一定位与其行使的功能相矛盾.

最近, Sprunck 等人^[57]的工作解释了这一矛盾的现象.通过对小麦卵细胞的转录组进行分析,发现了一类富含半胱氨酸的小肽 EC1(egg cell 1). 对其在拟南芥中的同源蛋白的研究显示, EC1 在成熟的卵细胞中表达,当精细胞被释放后, EC1 会向着被降解的助细胞分泌.在 EC1 功能缺失突变体中,被释放出的精细胞无法完成与雌配子细胞的融合,防止多管入卵的机制无法启动,在胚珠中可以观察到多对精细胞被释放的现象.当用体外合成的 EC1 处理精细胞时,本来定位在精细胞内膜系统的 HAP2/GCS1 会定位到细胞膜上.这一结果说明,精细胞中的 HAP2/GCS1 在受精之前需要卵细胞信号的激活.这与动物中精子与卵细胞接触后精子被激活从而完成受精的过程极为相似(图 2).

那么,中央细胞又是如何与精细胞融合的呢?在雌配子体 *glc(glauc)* 突变体中,中央细胞表达的一个 BAHD 乙酰转移酶功能缺失,导致只有卵细胞可以正常受精,中央细胞不能完成受精^[58].由于 BAHD 乙酰转移酶参与次级代谢,因此推测其与中央细胞合成信号分子的过程有关.

此外,有研究证明线粒体对于配子融合也十分重要.在雌雄配子体的线粒体中都会表达一种锚定蛋白 ANK6(ankyrin repeat protein 6),而且它的表达只是在受精之前.当 ANK6 功能缺失后,配子融合也无法实现,推测这可能与线粒体无法提供能量有关^[59].

6 避免“多精受精”的分子机制

当一根花粉管释放出的精细胞与雌配子细胞融合完成双受精后,需要启动一种机制终止胚珠对花粉管的吸引,阻止额外的花粉管进入胚珠,防止多精受精(polyspermy)^[60].在禾本科植物中,一般有多个

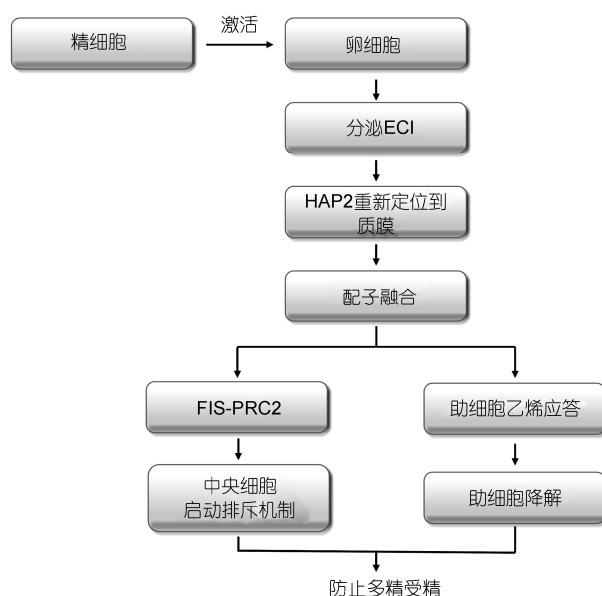


图2 配子融合过程示意图

花粉管穿过隔膜,向胚珠生长.最先到达珠孔端的花粉管被助细胞接受,先完成双受精.其他的花粉管则不会再被吸引,反而会被排斥^[18,61].因此,在正常情况下,不同花粉管所携带的精细胞同时授精同一组雌配子细胞的情况极为罕见.

那么,这种避免“多精受精”的机制是在哪里产生的?在拟南芥雌配子体发育异常的 *maa* 突变体中,可以观察到高比例的多个花粉管进入同一个胚珠的情况,说明排斥花粉管的信号可能是由雌配子体释放的.此外,花粉管之间的相互排斥可能也是防止多精受精的一种机制^[29].

这种排斥机制又是在什么阶段发生的?首先,它应该与配子融合有关.因为在促进配子融合的小肽 EC1 功能缺失后,会有多根花粉管被吸引进入胚珠^[57].进一步研究发现,在 *duo3* 和 *hap2* 的突变体中,精细胞无法与卵细胞和中央细胞融合.此时,胚珠内仍有一个助细胞存在,可以吸引其他的花粉管,导致多个花粉管进入胚珠,并释放精细胞^[62,63].这一现象被称作“受精补偿”.植物试图通过这种方式最大限度地完成生殖过程.当胚珠内 2 个助细胞都被降解后,吸引信号被终止,不能再吸引花粉管.而助细胞的完全降解则是由配子融合引起的^[62].由此推断,花粉管排斥机制应该发生在配子融合之后.

更有趣的是,人们发现在拟南芥中,如果卵细胞

和中央细胞中任意一个没有完成受精, 那么也会有第二根花粉管进入胚珠, 使得半成功受精的胚珠最终完成双受精^[64]. 这个现象说明, 卵细胞和中央细胞都可以独立控制对花粉管的排斥, 只有在其协同作用下, 才能完全阻止花粉管进入胚珠. FIS-PRC2 (FERTILIZATION INDEPENDENT SEED Polycomb repressive complex 2) 是一种中央细胞和胚乳细胞特异的染色质修饰复合体, 通过对组蛋白 H3 上 27 位赖氨酸的三甲基化参与了基因沉默^[65]. 在这一复合体的突变体, 如 *mea*, *fis2* 以及 *fie* 中, 大部分胚珠能够正常双受精, 但仍然出现一些多管入卵的情况. 这说明 FIS-PRC2 复合体介导的组蛋白甲基化通过中央细胞途径调控了防止多管入卵的过程. 它可能参与了排斥信号的形成^[64](图 2).

负责排斥花粉管的信号分子是什么? 关于该信号分子的特性目前还不太清楚, 但从逻辑上判断该信号分子应该能够对受精过程迅速反应. 因此, 最有可能的是可以快速分泌扩散的小分子. 目前已经有一些体外实验证据表明, NO 和 ROS(reactive oxygen species)具有一定排斥花粉管的能力^[66~68], 但这 2 种

分子的作用还有待在体内得到进一步证明.

最近有研究阐明了助细胞降解的具体机制. 在乙烯途径关键转录因子 *ein3* 和 *eil1* 的双突变体中, 因为一个助细胞不降解, 导致出现大量多精受精的现象. 而乙烯合成前体 ACC 可以促使助细胞降解. 这一发现说明, 双受精完成后可能会激活助细胞内的乙烯应答反应, 导致助细胞的程序性死亡, 从而抑制其他花粉管的进入^[69].

7 展望

最近几年, 人们对于花粉和雌蕊的相互作用有了更深入的了解. 花粉从附着到柱头上到最终完成双受精, 要经历柱头识别、引导组织生长、穿过隔膜、珠柄吸引、珠孔吸引、花粉管破裂、精细胞释放、配子融合等一系列复杂的过程, 每个过程都涉及到众多不同类型的识别和相互作用(表 1). 目前已经发现了一些在各个阶段起重要作用的因子和调控机制, 但这些发现与完全理解被子植物双受精的分子调节机制还有一定的距离.

表 1 本文中涉及的调控元件列表

作用阶段	名称	分子特性	生物学功能	参考文献
花粉管与柱头相互作用	Exo70A1	蛋白	花粉亲和因子, 可能参与囊泡运输	[10]
	PI4P	磷脂酰肌醇	促进花粉水合, 可能参与柱头细胞信号转导	[11]
	STIL	稳定的化学物质	体外促进花粉管的伸长	[14]
	sulfinylatedazadecalins	化学小分子	体外促进拟南芥花粉管的萌发	[15]
花粉管与引导组织相互作用	chemocyanin	质体蓝素蛋白	体外吸引花粉管	[16]
	plantacyanin	质体蓝素蛋白	影响花粉管在柱头的定向生长	[17]
	TTS	阿拉伯半乳聚糖糖蛋白(AGP)	体外促进花粉管生长	[20~22]
	LePRK2	类受体激酶	促进花粉管萌发和生长	[14]
	D-Ser	稀有氨基酸	激活谷氨酸盐受体(GLRs), 促进钙内流	[24]
花粉管与珠柄相互作用	POP2	γ -氨基丁酸(GABA)转氨酶	影响花粉管生长	[23]
	cation/H ⁺ antiporter 21, 23	K ⁺ 通道蛋白	运输 K ⁺ 和质子, 稳定花粉管内部离子平衡和 pH	[30]
胚珠吸引花粉管	MYB98	R2R3-MYB 转录因子	调控助细胞内基因转录	[32]
	ZmEA1	单次跨膜蛋白	体外吸引花粉管	[35~37]
	LURE	富含半胱氨酸多肽	助细胞分泌的花粉管吸引物质	[38,39]
	LIP1, LIP2	类受体激酶	参与花粉管内信号转导	[42]
	CCG	转录调节因子	调节中央细胞基因转录	[40]
	MAA	核酸解旋酶	影响中央极核的融合	[29]
	GEX3	卵细胞质膜蛋白	参与花粉管的吸引	[41]

				续表 1
作用阶段	名称	分子特性	生物学功能	参考文献
花粉管停止生长后 破裂	FER/SIR	类受体激酶	参与调控花粉管在助细胞内的 破裂过程	[44,45]
	NTA	具有七次跨膜的钙调蛋白	参与助细胞内信号转导	[46]
	ZmES4	防卫素类似蛋白	激发玉米花粉管破裂	[49]
	KZM1	K ⁺ 通道蛋白	调控玉米花粉管破裂	[49]
	ANXUR1, ANXUR2	类受体激酶	维持花粉管形态	[50,51]
	ACA9	Ca ²⁺ -ATPase 离子泵	调控花粉管破裂	[52]
	LRE	助细胞表达的糖基化磷脂酰肌醇 锚定蛋白	参与助细胞对花粉管的吸引及 花粉管破裂	[47,48]
配子融合	HAP2/GCS1	单次跨膜蛋白	参与雌雄配子的融合	[54-56]
	EC1	富含半胱氨酸的多肽	卵细胞分泌的信号分子, 激活雌雄配子的融合	[57]
	GLC	BAHD 乙酰转移酶	参与中央细胞内物质合成	[58]
	ANK6	线粒体锚定蛋白	参与线粒体供能	[59]
防止多精受精	FIS-PRC2	蛋白复合体	调控防止多管入卵	[64,65]
	EIN3, EIL1	转录因子	调控助细胞降解	[69]
排斥额外花粉管	NO	气体分子	体外排斥花粉管	[67,68]
	ROS	小分子	体外排斥花粉管	[66]

例如, 花粉穿过柱头后在引导组织中生长. 是什么机制调控它们先向底部生长, 而不是就近向顶部的胚珠发生偏转? 花粉管是如何穿过隔膜的, 这其中是否涉及细胞壁的降解? 哪些酶参与了这个过程? 珠柄对于花粉管的吸引目前也缺少相关的证据. 珠柄是否会分泌吸引物质? 吸引物质是否以一种浓度梯度的形式分布? 如果是, 这种浓度梯度又是如何形成的? 花粉管是如何感知这种浓度梯度的? 珠孔端吸引作为最有效率且最精确的引导过程, 是否有多种小分子在共同起作用? 花粉管顶部是否有多种不同的受体在感受吸引信号? 当花粉管进入珠孔端后, 会停止生长然后进裂释放出精细胞. 精细胞与雌

配子细胞融合完成双受精. 现在知道包括 FER, ZmES4, ANX1/ANX2 和 NTA 等蛋白都参与其中, 下一步就是要找到与这些元件相互作用的受体或供体.

未来的方向是综合生物化学、分子生物学、遗传学、基因组学等学科的方法, 结合高分辨率活细胞动态成像技术以及各种细胞类型的特异标记, 有针对性地解决以上提到的这些科学问题. 另外, 随着显微镜的速度和分辨率的提高以及单分子成像技术的发展, 未来有可能追踪单个分子在双受精过程中的运动轨迹, 这将使单个分子功能鉴定的证据更为实时及直接.

参考文献

1 胡适宜. 被子植物生殖生物学. 北京: 高等教育出版社, 2005

2 Palanivelu R, Tsukamoto T. Pathfinding in angiosperm reproduction: pollen tube guidance by pistils ensures successful double fertilization. Wiley Interdiscip Rev Dev Biol, 2012, 1: 96-113

3 Yang W C, Shi D Q, Chen Y H. Female gametophyte development in flowering plants. Annu Rev Plant Biol, 2010, 61: 89-108

4 Liu J, Qu L J. Meiotic and mitotic cell cycle mutants involved in gametophyte development in *Arabidopsis*. Mol Plant, 2008, 1: 564-574

5 Yadegari R, Drews G N. Female gametophyte development. Plant Cell, 2004, 16: S133-S141

6 Berger F, Hamamura Y, Ingouff M, et al. Double fertilization-caught in the act. Trends Plant Sci, 2008, 13: 437-443

7 Zinkl G M, Zwiebel B I, Grier D G, et al. Pollen-stigma adhesion in *Arabidopsis*: a species-specific interaction mediated by lipophilic molecules in the pollen exine. Development, 1999, 126: 5431-5440

8 Luu D T, Marty-Mazars D, Trick M, et al. Pollen-stigma adhesion in *Brassica* spp involves SLG and SLR1 glycoproteins. Plant Cell, 1999, 11: 251-262

9 Takayama S, Shiba H, Iwano M, et al. Isolation and characterization of pollen coat proteins of *Brassica campestris* that interact with S locus-related glycoprotein 1 involved in pollen-stigma adhesion. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97: 3765-3770

10 Samuel M A, Chong Y T, Haasen K E, et al. Cellular pathways regulating responses to compatible and self-incompatible pollen in

- Brassica* and *Arabidopsis* stigmas intersect at Exo70A1, a putative component of the exocyst complex. *Plant Cell*, 2009, 21: 2655–2671
- 11 Chapman L A, Goring D R. Misregulation of phosphoinositides in *Arabidopsis thaliana* decreases pollen hydration and maternal fertility. *Sex Plant Reprod*, 24: 319–326
 - 12 Wolters-Arts M, Lush W M, Mariani C. Lipids are required for directional pollen-tube growth. *Nature*, 1998, 392: 818–821
 - 13 Preuss D, Lemieux B, Yen G, et al. A conditional sterile mutation eliminates surface components from *Arabidopsis* pollen and disrupts cell signaling during fertilization. *Genes Dev*, 1993, 7: 974–985
 - 14 Wengier D L, Mazzella M A, Salem T M, et al. STIL, a peculiar molecule from styles, specifically dephosphorylates the pollen receptor kinase LePRK2 and stimulates pollen tube growth *in vitro*. *BMC Plant Biol*, 2010, 10: 33
 - 15 Qin Y, Wysocki R J, Somogyi A, et al. Sulfenylated azadecalins act as functional mimics of a pollen germination stimulant in *Arabidopsis pistils*. *Plant J*, 2011, 68: 800–815
 - 16 Kim S, Mollet J C, Dong J, et al. Chemocyanin, a small basic protein from the lily stigma, induces pollen tube chemotropism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 16125–16130
 - 17 Dong J, Kim S T, Lord E M. Plantacyanin plays a role in reproduction in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2005, 138: 778–789
 - 18 Palanivelu R, Preuss D. Distinct short-range ovule signals attract or repel *Arabidopsis thaliana* pollen tubes *in vitro*. *BMC Plant Biol*, 2006, 6: 7
 - 19 Qin Y, Leydon A R, Manziello A, et al. Penetration of the stigma and style elicits a novel transcriptome in pollen tubes, pointing to genes critical for growth in a pistil. *PLoS Genet*, 2009, 5: e1000621
 - 20 Wu H M, Wong E, Ogdahl J, et al. A pollen tube growth-promoting arabinogalactan protein from *Nicotiana glauca* is similar to the tobacco TTS protein. *Plant J*, 2000, 22: 165–176
 - 21 Cheung A Y, Wang H, Wu H M. A floral transmitting tissue-specific glycoprotein attracts pollen tubes and stimulates their growth. *Cell*, 1995, 82: 383–393
 - 22 Wu H M, Wang H, Cheung A Y. A pollen tube growth stimulatory glycoprotein is deglycosylated by pollen tubes and displays a glycosylation gradient in the flower. *Cell*, 1995, 82: 395–403
 - 23 Palanivelu R, Brass L, Edlund A F, et al. Pollen tube growth and guidance is regulated by POP2, an *Arabidopsis* gene that controls GABA levels. *Cell*, 2003, 114: 47–59
 - 24 Michard E, Lima P T, Borges F, et al. Glutamate receptor-like genes form Ca^{2+} channels in pollen tubes and are regulated by pistil D-serine. *Science*, 2011, 332: 434–437
 - 25 Renault H, El Amrani A, Palanivelu R, et al. GABA accumulation causes cell elongation defects and a decrease in expression of genes encoding secreted and cell wall-related proteins in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 2011, 52: 894–908
 - 26 Iwano M, Shiba H, Miwa T, et al. Ca^{2+} dynamics in a pollen grain and papilla cell during pollination of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2004, 136: 3562–3571
 - 27 Hulskamp M, Schneitz K, Pruitt R E. Genetic evidence for a long-range activity that directs pollen tube guidance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1995, 7: 57–64
 - 28 Ray S M, Park S S, Ray A. Pollen tube guidance by the female gametophyte. *Development*, 1997, 124: 2489–2498
 - 29 Shimizu K K, Okada K. Attractive and repulsive interactions between female and male gametophytes in *Arabidopsis* pollen tube guidance. *Development*, 2000, 127: 4511–4518
 - 30 Lu Y, Chanroj S, Zulkifli L, et al. Pollen tubes lacking a pair of K^{+} transporters fail to target ovules in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2011, 23: 81–93
 - 31 Higashiyama T, Yabe S, Sasaki N, et al. Pollen tube attraction by the synergid cell. *Science*, 2001, 293: 1480–1483
 - 32 Kasahara R D, Portereiko M F, Sandaklie-Nikolova L, et al. *MYB98* is required for pollen tube guidance and synergid cell differentiation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2005, 17: 2981–2992
 - 33 Higashiyama T, Kuroiwa H, Kawano S, et al. Guidance in vitro of the pollen tube to the naked embryo sac of *Torenia fournieri*. *Plant Cell*, 1998, 10: 2019–2032
 - 34 Higashiyama T, Inatsugi R, Sakamoto S, et al. Species preferentiality of the pollen tube attractant derived from the synergid cell of *Torenia fournieri*. *Plant Physiol*, 2006, 142: 481–491
 - 35 Márton M L, Cordts S, Broadhvest J, et al. Micropylar pollen tube guidance by Egg Apparatus 1 of maize. *Science*, 2005, 307: 573–576
 - 36 Márton M L, Fastner A, Uebler S, et al. Overcoming hybridization barriers by the secretion of the maize pollen tube attractant ZmEA1 from *Arabidopsis* ovules. *Curr Biol*, 2012, 22: 1194–1198
 - 37 Dresselhaus T, Márton M L. Micropylar pollen tube guidance and burst: adapted from defense mechanisms? *Curr Opin Plant Biol*, 2009, 12: 773–780
 - 38 Okuda S, Tsutsui H, Shiina K, et al. Defensin-like polypeptide LUREs are pollen tube attractants secreted from synergid cells. *Nature*,

- 2009, 458: 357–361
- 39 Takeuchi H, Higashiyama T. A species-specific cluster of defensin-like genes encodes diffusible pollen tube attractants in *Arabidopsis*. *PLoS Biol*, 2012, 10: e1001449
- 40 Li H J, Xue Y, Jia D J, et al. POD1 regulates pollen tube guidance in response to micropylar female signaling and acts in early embryo patterning in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2011, 23: 3288–3302
- 41 Alandete-Saez M, Ron M, McCormick S. GEX3, expressed in the male gametophyte and in the egg cell of *Arabidopsis thaliana*, is essential for micropylar pollen tube guidance and plays a role during early embryogenesis. *Mol Plant*, 2008, 1: 586–598
- 42 Liu J, Zhong S, Guo X, et al. Membrane-bound RLCKs LIP1 and LIP2 are essential male factors controlling male-female attraction in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 2013, 23: 993–998.
- 43 Sandaklie-Nikolova L, Palanivelu R, King E J, et al. Synergid cell death in *Arabidopsis* is triggered following direct interaction with the pollen tube. *Plant Physiol*, 2007, 144: 1753–1762
- 44 Huck N, Moore J M, Federer M, et al. The *Arabidopsis* mutant *feronia* disrupts the female gametophytic control of pollen tube reception. *Development*, 2003, 130: 2149–2159
- 45 Rotman N, Rozier F, Boavida L, et al. Female control of male gamete delivery during fertilization in *Arabidopsis thaliana*. *Curr Biol*, 2003, 13: 432–436
- 46 Kessler S A, Shimosato-Asano H, Keinath N F, et al. Conserved molecular components for pollen tube reception and fungal invasion. *Science*, 2010, 330: 968–971
- 47 Capron A, Gourgues M, Neiva L S, et al. Maternal control of male-gamete delivery in *Arabidopsis* involves a putative GPI-anchored protein encoded by the *LORELEI* gene. *Plant Cell*, 2008, 20: 3038–3049
- 48 Tsukamoto T, Qin Y, Huang Y, et al. A role for *LORELEI*, a putative glycosylphosphatidylinositol-anchored protein, in *Arabidopsis thaliana* double fertilization and early seed development. *Plant J*, 2010, 62: 571–588
- 49 Amien S, Kliwer I, Márton M L, et al. Defensin-like *ZmES4* mediates pollen tube burst in maize via opening of the potassium channel *KZM1*. *PLoS Biol*, 2010, 8: e1000388
- 50 Boisson-Dernier A, Roy S, Kritsas K, et al. Disruption of the pollen-expressed *FERONIA* homologs *ANXUR1* and *ANXUR2* triggers pollen tube discharge. *Development*, 2009, 136: 3279–3288
- 51 Miyazaki S, Murata T, Sakurai-Ozato N, et al. *ANXUR1* and 2, sister genes to *FERONIA/SIRENE*, are male factors for coordinated fertilization. *Curr Biol*, 2009, 19: 1327–1331
- 52 Schjøtt M, Romanowsky S M, Baekgaard L, et al. A plant plasma membrane Ca^{2+} pump is required for normal pollen tube growth and fertilization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 9502–9507
- 53 Hamamura Y, Saito C, Awai C, et al. Live-cell imaging reveals the dynamics of two sperm cells during double fertilization in *Arabidopsis thaliana*. *Curr Biol*, 2011, 21: 497–502
- 54 Mori T, Kuroiwa H, Higashiyama T, et al. *GENERATIVE CELL SPECIFIC 1* is essential for angiosperm fertilization. *Nat Cell Biol*, 2006, 8: 64–71
- 55 von Besser K, Frank A C, Johnson M A, et al. *Arabidopsis HAP2 (GCS1)* is a sperm-specific gene required for pollen tube guidance and fertilization. *Development*, 2006, 133: 4761–4769
- 56 Wong J L, Johnson M A. Is *HAP2-GCS1* an ancestral gamete fusogen? *Trends Cell Biol*, 2010, 20: 134–141
- 57 Sprunck S, Rademacher S, Vogler F, et al. Egg cell-secreted *EC1* triggers sperm cell activation during double fertilization. *Science*, 2012, 338: 1093–1097
- 58 Leshem Y, Johnson C, Wuest S E, et al. Molecular characterization of the glauce mutant: a central cell-specific function is required for double fertilization in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2012, 24: 3264–3277
- 59 Yu F, Shi J, Zhou J, et al. *ANK6*, a mitochondrial ankyrin repeat protein, is required for male-female gamete recognition in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 22332–22337
- 60 Scott R J, Armstrong S J, Doughty J, et al. Double fertilization in *Arabidopsis thaliana* involves a polyspermy block on the egg but not the central cell. *Mol Plant*, 2008, 1: 611–619
- 61 Lausser A, Kliwer I, Srilunchang K O, et al. Sporophytic control of pollen tube growth and guidance in maize. *J Exp Bot*, 2010, 61: 673–682
- 62 Beale K M, Leydon A R, Johnson M A. Gamete fusion is required to block multiple pollen tubes from entering an *Arabidopsis* ovule. *Curr Biol*, 2012, 22: 1090–1094
- 63 Kasahara R D, Maruyama D, Hamamura Y, et al. Fertilization recovery after defective sperm cell release in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 2012, 22: 1084–1089
- 64 Maruyama D, Hamamura Y, Takeuchi H, et al. Independent control by each female gamete prevents the attraction of multiple pollen tubes.

- Dev Cell, 2013, 25: 317–323
- 65 Köhler C, Wolff P, Spillane C. Epigenetic mechanisms underlying genomic imprinting in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2012, 63: 331–352
- 66 Nyathi Y, Baker A. Plant peroxisomes as a source of signalling molecules. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1763: 1478–1495
- 67 Prado A M, Porterfield D M, Feijó J A. Nitric oxide is involved in growth regulation and re-orientation of pollen tubes. *Development*, 2004, 131: 2707–2714
- 68 Prado A M, Colaço R, Moreno N, et al. Targeting of pollen tubes to ovules is dependent on nitric oxide (NO) signaling. *Mol Plant*, 2008, 1: 703–714
- 69 Völz R, Heydlauff J, Ripper D, et al. Ethylene signaling is required for synergid degeneration and the establishment of a pollen tube block. *Dev Cell*, 2013, 25: 310–316

Molecular Mechanisms behind the Male-Female Interaction in Fertilization in Higher Plants

LIU JingJing, HOU YingNan & QU LiJia

State Key Laboratory for Protein and Plant Gene Research, Peking-Tsinghua Center for Life Sciences, College of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China

In angiosperm, fertilization starts from pollen adhesion, hydration, and germination. Pollen tubes penetrate the stigma, grow into the transmitting tract, and then onto the funiculi by breaking through septums. Finally, one pollen tube is guided to enter micropyle and release two sperm cells that fuse with the egg cell and the central cell respectively to complete fertilization. Notably, the sperm cells of angiosperm, lack of flagellum, are transported into the embryo sac with the help of pollen tubes. It is well received that fertilization is tightly controlled by the male-female interaction at different stages. For example, the pollen tube recognizes and responds to the signals from the ovule so that it can grow into the tiny micropylar opening, and know the proper time to release sperm cells. Meanwhile, sperm cells fuse with the egg and the central cell respectively after signals from both sides are perceived. Therefore, the fertilization depends on the successful recognition and interaction between male and female gametophytes at different developmental stages. This review summarizes recent progress on these interactions during fertilization.

angiosperm, sexual reproduction, double fertilization, pollen tube, male-female interaction

doi: 10.1360/052013-286