# 被子植物助细胞中钙含量的变化

王秋红, 张旸, 聂玉哲, 李玉花*
东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040

**提要:** 助细胞是被子植物受精过程中花粉管进入胚囊并释放精子及其内容物的场所, 而助细胞中不同时期的钙含量与受精作用的顺利完成密切相关。在大多数植物中, 助细胞是成熟胚囊中钙含量最高的细胞。传粉后在花粉管中所产生的信号诱导下, 助细胞中钙含量还可能继续增加。花粉管进入退化助细胞后, 在超高钙环境中破裂并释放精子, 精子沿退化助细胞转移到受精靶区实现双受精。随后助细胞中的钙含量迅速降低。因此钙在吸引花粉管、雄配子释放甚至雄配子转移等过程中都发挥了重要作用。

**关键词:** 被子植物; 钙; 助细胞

# Changes of Calcium Concentration in Synergids of Angiosperms

WANG Qiu-Hong, ZHANG Yang, NIE Yu-Zhe, LI YU-Hua*
*College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China*

**Abstract:** Synergid cell is the place where pollen tube enters the embryo sac, releases sperms and its contents during the fertilization in angiosperms. And in the different development stages of synergid cell, calcium concentration and fertilization is closely related. In most plants, synergid cell is the most abundant cell of calcium in mature embryo sac. By the inducement of signals in pollen tubes after pollination, the calcium concentration continues to increase possibly. After entering the degenerated synergid, the pollen tube breaks and releases the sperms in the ultra-high calcium environment, and then, the sperms transfer to the target region of fertilization in order to complete the double fertilization. Calcium concentration in synergid cell rapidly reduces soon after. So calcium plays an important role during the process of attracting the pollen tube, releasing and transferring the male gamete.

**Key words:** angiosperms; calcium; synergid

在绝大多数被子植物中, 助细胞是胚囊内完成受精所必需的细胞, 与卵细胞相邻。传粉后, 花粉管从珠孔进入胚珠, 并从助细胞进入胚囊。大多数植物的助细胞在花粉管进入前发生细胞程序性死亡, 并在花粉管进入其中后停止伸长, 随后释放其内容物, 包括2个精细胞。然后这2个精细胞分别移动并靠近卵细胞和中央细胞, 进行雌雄配子的融合, 完成双受精(Lord 和 Russell 2002; Weterings 和 Russell 2004)。成熟的助细胞具有独特的结构——丝状器, 也是花粉管进入胚囊的唯一通道。前人已对助细胞做了许多结构方面的观察, 并推测其生理功能主要是吸引花粉管进入(Willemse 和 van Went 1984; Huang 和 Russell 1992a)。在花粉管进入助细胞前后, 助细胞中钙的分布及相关机理研究成为了许多学者十分关注的问题。

钙作为第二信使在植物信号转导中的作用, 一直是植物生理学、细胞生物学和发育生物学等学科研究的热点。细胞内的钙直接或通过钙调蛋白间接地调控植物的细胞分裂、极性形成、生长、分化、凋亡等生命过程(Bush 1993, 1995; Gilroy 等 1993; Sanders 等 1999), 是植物体中无所不在的信号分子。在受精过程中花粉管及雌蕊组织内钙信号的调控等研究也是目前研究的热点问题(Hepler 1997; Taylor 和 Hepler 1997; Yang 1998; Franklin-Tong 1999a, b; McClure 和 Franklin-Tong 2006; Ge 等 2007)。因此, 综述被子植物生殖过程中有关钙信号及助细胞中钙分布的时空特征等研究进展, 对深入探讨钙在受精过程中的作用机理有重要理论意义。

## 1 钙在植物细胞中的功能简介

细胞中的钙可分为游离钙(free calcium)、结

收稿 2010-06-02 修定 2010-06-17
资助 国家科技部“863”项目(2008AA10Z156)。
* 通讯作者(E-mail: lyhshen@126.com; Tel: 0451-82191783)。

合钙(bound calcium)和贮存钙(stored calcium)。贮存钙与游离钙相比, 数量较多, 常存在于细胞中的一些特定部位; 与结合钙相比, 亲和力较弱, 与糖类、磷化物等结合得不紧, 可被转化成其他形式的钙或被运输到细胞其他部位。因而, 贮存钙也可称为松弛结合或可被交换的钙(Wick和Hepler 1982)。细胞对各种刺激信号的最初反映是胞质游离钙的瞬间变化, 由此诱发了一系列的信号转导事件(杨弘远2002)。而胞质游离钙的瞬间增加是由细胞外钙离子通过钙离子通道进入细胞内, 或者是由细胞内的钙库(如内质网、液泡等)释放出来的。钙信号通过钙靶蛋白进行信号转导。钙调素(CaM)是迄今为止已证明的分布最广、功能最多、分子量小而在真核细胞中结构高度保守的钙靶蛋白。钙靶蛋白又通过和其他靶蛋白分子(如各种蛋白激酶)结合而启动基因表达与细胞生命活动, 从而构成钙信号转导的复杂体系。不同形式的钙在细胞中有严格的空间分布, 也具有不同的生理功能。在一定生理条件下, 不同类型的钙也可互相转换(Bush 1993; Gilroy等1993; McAinsh等1995; Terwavas和Malhó 1998), 从而保证各项细胞生命活动的平衡, 实现细胞结构与功能的统一。由于花粉管和助细胞的结构特征不同, 对不同形式的钙分布的研究方法也不一样。

## 2 成熟胚囊中助细胞的钙含量

花粉管进入胚囊是受精成功的关键, 而助细胞的吸引才是花粉管进入胚囊的关键(Higashiyama等2001)。1965年, Jensen应用显微灰化方法发现棉花助细胞中富含灰分, 推测其主要成分是钙。近年来, 应用X射线微区分析、超微细胞化学、荧光检测等方法, 在多种植物中证实了这一推测(杨弘远2002)。应用X射线微区分析法研究胡桃的合点受精时观察到花粉管生长途径的雌蕊组织含有较多的钙, 其中退化助细胞的钙含量最高。应用冰冻替代制样和X射线微区分析(Chaubal和Reger 1990), 发现小麦两个助细胞均有高含量的钙, 而卵细胞中并不多。在珍珠谷中又应用X射线微区分析和焦锑酸盐沉淀(pyroantimonate precipitation)两种方法发现在所测定的胚珠组织中, 2个助细胞含钙量相近, 均显著高于胚囊中其他细胞(Chaubal和Reger 1992b)。在甘蓝型油菜中应用图像分析技术对焦锑酸钙沉淀进行了定量统计, 结果表明传粉前助细胞中的钙沉淀的体密度显著高于胚囊中的其他细胞, 为卵的2.5倍和中央细胞的1.9倍, 钙沉淀颗粒的等效圆直径则较小, 约为卵细胞和中央细胞的2/3 (余凡立等1998)。何才平和杨弘远(1992)应用焦锑酸盐沉淀法研究向日葵传粉前后助细胞中钙含量的变化。传粉前1 d, 两个助细胞总钙的分布相近, 且均呈现由珠孔端向合点端递增的梯度。在上述植物, 小麦、珍珠谷、向日葵和油菜等的成熟胚囊中, 姊妹助细胞的钙含量没有明显差异, 但在烟草和矮牵牛中, 姊妹助细胞中钙含量差异明显(Huang和Russell 1992b; Tirlapur等1993), 其中烟草退化助细胞中的钙含量高于宿存助细胞。后来有研究证实(Tian和Russell 1997), 花粉管正是进入钙含量较高的退化助细胞中。

因此, 在大多数植物中, 助细胞是成熟胚囊细胞中钙含量最高的成员, 而且姊妹助细胞的钙含量没有明显差异, 并呈极性分布。在助细胞中从珠孔端到合点端钙含量递减或递增, 尤其是丝状器中积累了丰富的钙。

## 3 传粉后助细胞中钙含量的变化

通常情况下, 传粉后花粉管到达前, 在花粉管中所产生的信号的诱导下, 其中一个或两个助细胞钙含量超常增加。过高的钙含量导致细胞器的破坏和整个细胞的退化。退化助细胞产生向化性物质(其中包含钙)吸引花粉管进入(杨弘远1994)。如油菜传粉前两个助细胞中钙含量和分布相似, 传粉后, 两个助细胞均开始退化, 其中一个退化程度较高, 其钙沉淀的体密度增长为传粉前的2.4倍, 沉淀颗粒的等效圆直径则减小至传粉前的1/3以下, 也就是说接受花粉管的助细胞中钙沉淀颗粒较小(余凡立等1998)。

向日葵自传粉后至花粉管到达以前, 由珠孔端向合点端钙含量递增的梯度依然保持, 但两个助细胞的钙含量出现差异, 其中近珠柄侧助细胞(即退化助细胞)中钙含量激增。受精后, 退化助细胞中的钙含量剧增(何才平和杨弘远1992), 钙沉淀密集不可分辨, 宿存助细胞则无明显变化。另外, 应用金霉素(CTC)荧光染色法同样显示, 在烟草去雄后5 d的花中, 助细胞丝状器仍含有丰富的钙, 只有花粉管进入胚囊后, 丝状器中的钙含量才迅速降低(Tian

和Russell 1997)。这可能也具有防止其他多余花粉管进入胚囊的作用(Chaubal和Reger 1990, 1992b)。从这些研究结果可以看出花粉管与助细胞之间存在一种相互作用的信号传导机制: 助细胞中的钙引导着花粉管进入胚囊, 而即将到达的花粉管又引起助细胞中钙含量与分布的变化(Ge等2007)。

小麦和珍珠谷传粉后, 2个助细胞的钙含量仍然相类似。传粉前2个助细胞均有一定程度退化, 细胞器的退化程度和钙含量呈正相关。助细胞的细胞质中退化的细胞器(线粒体、质体)有很多钙盐沉淀(Chaubal和Reger 1992a)。这两种禾本科植物助细胞退化是一种钙调节的凋亡过程, 主要由母体控制而与传粉刺激无关(Chaubal和Reger 1990, 1992a, b, 1993, 1994)。同属于禾本科的水稻情况又有所不同: 在传粉前2个助细胞已出现差异, 其中一个呈退化状态, 在合点端环抱着卵细胞呈牛角状, 助细胞中钙明显增多, 而胞基质和小液泡中则无钙沉淀分布, 另一助细胞保持原状(余凡立等1999)。与小麦和珍珠谷一样, 水稻中助细胞退化不由传粉诱导, 但传粉前2个助细胞在退化与否上有差异, 这又和小麦等明显不同。

无论助细胞退化是由传粉所诱导还是与传粉无关, 是1个助细胞退化还是2个助细胞同时退化, 退化和钙的超常水平有关是毫无疑问的。目前研究已得知钙离子的浓度会影响细胞骨架的组装, 当钙离子浓度高于4.5 μmol·$L^{-1}$时, 微丝解聚, 细胞器的运动性低(孙大业等2001)。花粉管进入退化助细胞后, 在超高钙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。被子植物的精子没有自主运动能力, 其在花粉管中的运动主要依赖钙调节的肌动蛋白肌球蛋白驱动系统(Pierson和Cresti 1992)。花粉管释放内含物时的冲力可能将游离的精子带至助细胞合点端, 并由此处通向受精靶区——在卵细胞和中央细胞的两层质膜间存在的弧形间隙带。在此间隙带中利用超微细胞化学法已定位了钙(余凡立等1998, 1999; 何才平和杨弘远1992)。鬼笔环肽萤光检测发现, 受精前烟草胚囊中的相应部位出现暂时的冠状肌动蛋白带, 推测它负责精子的转移(Huang和Russell 1994)。应用免疫细胞化学与原位杂交方法又在烟草胚囊中分别定位到卵器与中央细胞之间出现暂时的CaM (傅缨等1998)和CaM mRNA (Li等1999)区带, 这又从钙信号系统角度为上述推测提供了相关可能的佐证。

另外, 助细胞中的钙还可能与雄性生殖单位的解体有关。在花粉管中, 相互联结在一起的两个精细胞与营养核构成了雄性生殖单位, 这种结构对于精细胞在花粉管中的运输很有好处, 但却不利于姊妹精细胞与卵细胞和中央细胞的选择性融合。花粉管在退化助细胞中释放内含物后, 姊妹精细胞之间的这种相互联结的状态才会被解开(Russell 1992)。另有研究显示花粉管中的微管微丝参与姊妹精细胞的相互联结(Palevitz和Tiezzi 1992), 而过高浓度的钙又将破坏花粉管中的细胞骨架(Kohno和Shimmen 1987), 因此退化助细胞中的高钙环境可能导致雄性生殖单位解体, 也为解体后的姊妹精细胞接下来分别与卵细胞和中央细胞融合提供可能。

综上所述, 在花粉管进入胚囊前后, 助细胞中尤其是在其退化过程中钙的超常含量, 被认为在吸引花粉管、雄配子释放甚至雄配子转移等过程中发挥了重要作用。

## 参考文献


傅缨, 陈以峰, 梁世平, 杨弘远, 周嫦(1998). 烟草受精前后胚囊中钙调素的免疫化学定位. 植物学报, 40: 683~687

何才平, 杨弘远(1992). 向日葵助细胞与珠孔区钙的超微细胞化学定位. 中国细胞生物学学会第五次会议论文摘要汇编, 175

孙大业, 郭艳林, 马力耕, 崔素娟(2001). 细胞信号转导. 第3版. 北京: 科学出版社, 333~352

杨弘远(1994). 受精过程中助细胞退化机理的研究进展. 植物学通报, 11: 1~5

杨弘远(2002). 钙在植物受精过程中的作用. 见: 胡适宜, 杨弘远编. 被子植物受精生物学. 北京: 科学出版社, 116~127

余凡立, 梁世平, 杨弘远, 汪艳(1998). 甘蓝型油菜授粉前后珠孔和胚囊中钙分布的超微细胞化学定位. 植物学报, 40: 591~597

余凡立, 赵洁, 梁世平, 杨弘远(1999). 水稻雌蕊与胚囊中钙的超微细胞化学定位. 植物学报, 41: 125~129

Bush DS (1993). Regulation of cytosolic calcium in plants. Plant Physiol, 103: 7~13

Bush DS (1995). Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 46: 95~122

Chaubal R, Reger BJ (1990). Relatively high calcium is localized in synergid cells of wheat ovaries. Sex Plant Reprod, 3: 98~102

Chaubal R, Reger BJ (1992a). Calcium in the synergid cells and other regions of pearl millet ovaries. Sex Plant Reprod, 5: 34~46

Chaubal R, Reger BJ (1992b). The dynamics of calcium distribution in the synergid cells of wheat after pollination. Sex Plant Reprod, 5: 206~213

Chaubal R, Reger BJ (1993). Prepollination degeneration in mature synergids of pearl millet: an examination using antimonite fixation to localize calcium. Sex Plant Reprod, 6: 225~238

Chaubal R, Reger BJ (1994). Dynamics of antimonate-precipitated calcium and degeneration in unpollinated pearl millet synergids after maturity. Sex Plant Reprod, 7: 122~134

Franklin-Tong VE (1999a). Signaling and the modulation of pollen tube growth. Plant Cell, 11: 727~738

Franklin-Tong VE (1999b). Signaling in pollination. Curr Opin Plant Biol, 2: 490~495

Ge LL, Tian HQ, Russell SD (2007). Calcium function and distribution during fertilization in angiosperms. Am J Bot, 94: 1046~1060

Gilroy S, Bethke PC, Jones RL (1993). Calcium homeostasis in plants. J Cell Sci, 106: 453~462

Hepler PK (1997). Tip growth in polen tubes: calcium leads the way. Trends Plant Sci, 2: 79~80

Higashiyama T, Yabe S, Sasaki N, Nishimura Y, Miyagishima S, Kuroiwa H, Kuroiwa T (2001). Pollen tube attraction by the synergid cell. Science, 293: 1480~1483

Huang BQ, Russell SD (1992a). Female germ unit: organization, isolation, and function. Int Rev Cytol, 140: 233~292

Huang BQ, Russell SD (1992b). Synergid degeneration in *Nicotiana*: a quantitative, fluorochromatic and chlorotetracycline study. Sex Plant Reprod, 5: 151~155

Huang BQ, Russell SD (1994). Fertilization in *Nicotiana tabacum*: cytoskeletal modifications in the embryo sac during synergid degeneration. A hypothesis for short-distance transport of sperm cells prior to gamete fusion. Planta, 194: 200~214

Jensen WA (1965). The composition and ultrastructure of the nucellus in cotton. J Ultrastructure Res, 13: 112~118

KohnoT, Shimmen T (1987). $Ca^{2+}$-induced fragmentation of actin filaments in pollen tubes. Protoplasma, 141: 177~179

Li ST, Chen SR, Lu YT, Yang HY, Zhou C (1999). Using isolated embryo sacs and early proembryos for localization of calmodulin mRNA before and after fertilization in *Nicotiana*. Acta Bot Sin, 41: 686~689

Lord EM, Russell SD (2002). The mechanisms of pollination fertilization in plants. Annu Rev Cell Dev Biol, 18: 81~105

McAinsh MR, Webb AAR, Taylor JE, Hetherington AM (1995). Stimulus-induced oscillations in guard cell cytosolic free calcium. Plant Cell, 7: 1207~1219

McClure BA, Franklin-Tong (2006). Gametophytic selfincompatibility: understanding the cellular mechanisms involved in ‘‘self’’ pollen tube inhibition. Planta, 224: 233~245

Palevitz BA, Tiezzi A (1992). Organization, composition, and function of the generative cell and sperm cytoskeleton. Int Rev Cytol, 140: 149~186

Pierson ES, Cresti M (1992). Cytoskeleton and cytoplasmic organization of pollen and pollen tubes. Int Rev Cytol, 140: 73~125

Russell SD (1992). Double fertilization. Int Rev Cytol, 140: 357~388

Sanders DC, Brownlee C, Harper JF (1999). Communicating with calcium. Plant Cell, 11: 691~706

Taylor LP, Hepler PK (1997). Pollen germination and tube growth. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 48: 461~491

Terwavas AJ, Malhó R (1998). $Ca^{2+}$ signaling in plant cells: the big network! Curr Opin Plant Biol, 1: 428~433

Tian HQ, Russell SD (1997). Calcium distribution in fertilized and unfertilized ovules and embryo sacs of *Nicotiana tabacum* L. Planta, 202: 93~105

Tirlapur UK, van Went JL, Cresti M (1993). Visualization of membrane calcium and calmodulin in embryo sacs *in situ* and isolated from *Petunia hybrida* L. and *Nicotiana tabacum* L. Ann Bot, 71: 161~167

Weterings K, Russell SD (2004). Experimental analysis of the fertilization process. Plant Cell, 16 (Suppl): S107~S118

Wick SM, Hepler PK (1982). Selective localization of intracellular $Ca^{2+}$ with potassium antimonate. J Histochem Cytochem, 30: 1190~1204

Willemse MTM, van Went JL (1984). The female gametophyte. In: Johri BM (ed). Embryology of Angiosperms. Berlin: Springer, 159~196

Yang Z (1998). Signaling tip growth in plants. Curr Opin Plant Biol, 1: 525~530