

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Bakalářská práce

„It takes two to tango“-

Partnerské signály a impulzy v rostlinném světě

Signal perception during male-female interaction in flowering plants

Jonáš Vlasák

Vedoucí práce: prof. RNDr. David Honys, Ph.D

Praha, 2022

Poděkování

Rád bych poděkoval především prof. RNDr. Davidu Honysovi, Ph.D. za odborné vedení, vstřícnost a trpělivý přístup. Díky patří i mé rodině a přátelům za jejich podporu při psaní této práce a během studia.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 5.5.2022

Podpis:

Abstrakt

Tato práce shrnuje současné poznatky o komunikaci partnerů během progamické fáze pylu se zaměřením na rostliny čeledi brukvovitých. Po specifickém přichycení pylu na bliznu stejného druhu se peptidy pylového tryfinu vážou na receptory papilární buňky. Peptidy PCP (POLLEN COAT PEPTIDE) kompetitivně inhibují autokrinní signalizaci vnímanou receptorem FERONIA v papilární buňce a tím umožní přijetí pylu. Naopak pylový protein SCR (S-LOCUS CYSTEIN RICH PROTEIN) detekovaný receptorem SRK (S-LOCUS RECEPTOR KINASE) určuje inkompatibilitu pylu. Pro růst pylové láčky je zásadní regulace orientované sekrece. Během růstu láčky čnělkou a vodícím pletivem jsou vnímány komponenty extracelulární matrix i přímo tuhost prostředí a tlak. Na své cestě k vajíčku láčka dozrává, dochází ke změnám genové exprese a získává kompetenci k vnímání signálů. Láčka z vodícího pletiva zahýbá na poutko díky ovulárním signálům. Láčka je přijata synergidami, komunikace probíhá pomocí peptidů RALF (RAPID ALKALIZATION FACTOR) a receptoru FERONIA. Signalizace vyústí v prasknutí pylové láčky a dopravení spermatických buněk k samičím gametám. Spermatické buňky se navážou na vaječnou buňku a centrální buňku zárodečného vaku a po potvrzení správného rozmístění se samičími gametami fúzí. Po oplodnění vaječná buňka degraduje signální molekuly a perzistentní synergida degraduje. Při neúspěšném oplození perzistentní synergida může přilákat další pylovou láčku.

Klíčová slova: samčí gametofyt, pylová láčka, progamická fáze, signalizace, vedení pylové láčky

Abstract

This thesis summarizes the current understanding of the communication between partners during the progamic phase of pollen with focus on the cruciferous family. After attachment of conspecific pollen to stigma, pollen coat peptides (PCP) competitively inhibit the signaling perceived by the FERONIA receptor in the papillary cell and thus allow pollen acceptance. Contrary, the interaction of pollen protein SCR (S-LOCUS CYSTEIN RICH PROTEIN) with SRK receptor (S-LOCUS RECEPTOR KINASE) determines pollen incompatibility. The regulation of oriented secretion is essential for pollen tube (PT) growth. During the growth of the PT, the components of the extracellular matrix as well as stiffness and pressure are perceived. On its way to the egg, the PT matures and acquires the competence to perceive signals. The PT exits the transmitting tract thanks to the ovular signalisation. The PT is accepted by synergids, communication takes place involving RALF peptides (RAPID ALKALIZATION FACTOR) and the FERONIA receptor. The signaling results in the rupture of the PT and the transport of sperm cells to the female gametes. Sperm cells bind to the egg cell and the central cell and after confirmation, fuse with the female gametes. After fertilization, the egg cell degrades signaling molecules and the persistent synergid also degrades. If fertilization fails, the persistent synergid may attract additional pollen tube.

Keywords: male gametophyte, pollen tube, pollen-pistil interaction, progamic phase, signalling, pollen tube guidance

Seznam použitých zkratek

ACA13	AUTOINHIBITED CA ²⁺ ATPASE 13
AGP	arabinogalaktanové proteiny
ANJ	ANJEA
ANX	ANXUR
ARC1	ARM REPEAT CONTAINING 1
BUPS1	BUDDHA'S PAPER SEAL 1
DEFL	DEFENSIN-LIKE
DMP	DOMAIN-OF-UNKNOWN-FUNCTION-679 MEMBRANE PROTEIN
EC1	EGG CELL 1
ECS	EGG CELL-SPECIFIC
ENODL	EARLY NODULIN-LIKE
ER	endoplazmatické retikulum
FER	FERONIA
GABA	kyselina γ -aminomáselná
GDP	guanosindifosfát
GEX2	GAMETE EXPRESSED 2
GLR	GLUTAMETE RECEPTOR-LIKE CHANNEL
GPI	glykosylfosfatidylinositol
GTP	guanosintrifosfát
HAP2	HAPLESS 2
HERK	HERCULES RECEPTOR KINASE
LIP	LOST IN POLLEN TUBE GUIDANCE
LLG	LORELEI-LIKE GPI-ANCHORED PROTEIN
LRE	LORELEI
LRX	LEUCIN-RICH-REPEAT EXTENSIN
MDIS1	MALE DISCOVERER 1
MIK	MDIS1-INTERACTING RECEPTOR-LIKE KINASE
NADPH	nikotinamidadeninukleotidfosfát
NTA	NORTIA
PCP	POLLEN COAT PEPTIDE
PRK	POLLEN-SPECIFIC RECEPTOR-LIKE KINASE
RALF	RAPID ALKALIZATION FACTOR
RIC	ROP-INTERACTIVE CRIB MOTIF-CONTAINING PROTEIN
RIP1	ROP INTERACTIVE PARTNER 1
ROP	RHO-LIKE GTPASE OF PLANTS
ROPGEF	ROP GUANINE NUCLEOTIDE EXCHANGE FACTOR
ROS	reaktivní formy kyslíku
SCR	S-LOCUS CYSTEIN RICH PROTEIN
SLG	S-LOCUS GLYKOPROTEIN
SLR	SLG-LIKE RECEPTOR
SRK	S-LOCUS RECEPTOR KINASE
TIC	TICKET
wt	divoký typ

1 Obsah

2	Úvod	2
3	Rozmnožování krytosemenných rostlin.....	2
4	Adheze a hydratace pylového zrna.....	5
4.1	<i>Přichycení pylu a adheze.....</i>	5
4.2	<i>Autoinkompatibilita</i>	5
4.3	<i>Hydratace pylu</i>	7
5	Klíčení a prorůstání pylové láčky bliznou.....	10
5.1	<i>Klíčení.....</i>	10
5.2	<i>Mechanismus apikálního růstu</i>	10
5.3	<i>Růst bliznou.....</i>	11
6	Růst pestíkem	12
6.1	<i>Role extracelulární matrix.....</i>	12
6.2	<i>Vnímání vzácných aminokyselin</i>	13
6.3	<i>Vnímání tlaku – durotropismus.....</i>	13
6.4	<i>Dozrávání pylové láčky.....</i>	13
7	Interakce pylové láčky a vajíčka	14
7.1	<i>Ovulární signalizace</i>	14
7.2	<i>Přijetí pylové láčky synergidou.....</i>	15
7.3	<i>Puknutí pylové láčky.....</i>	17
8	Dvojité oplození a blokace polyspermie	19
8.1	<i>Navádění spermatických buněk</i>	20
8.2	<i>Zábrana polyspermie</i>	22
9	Závěr.....	23
10	Literatura	24

2 Úvod

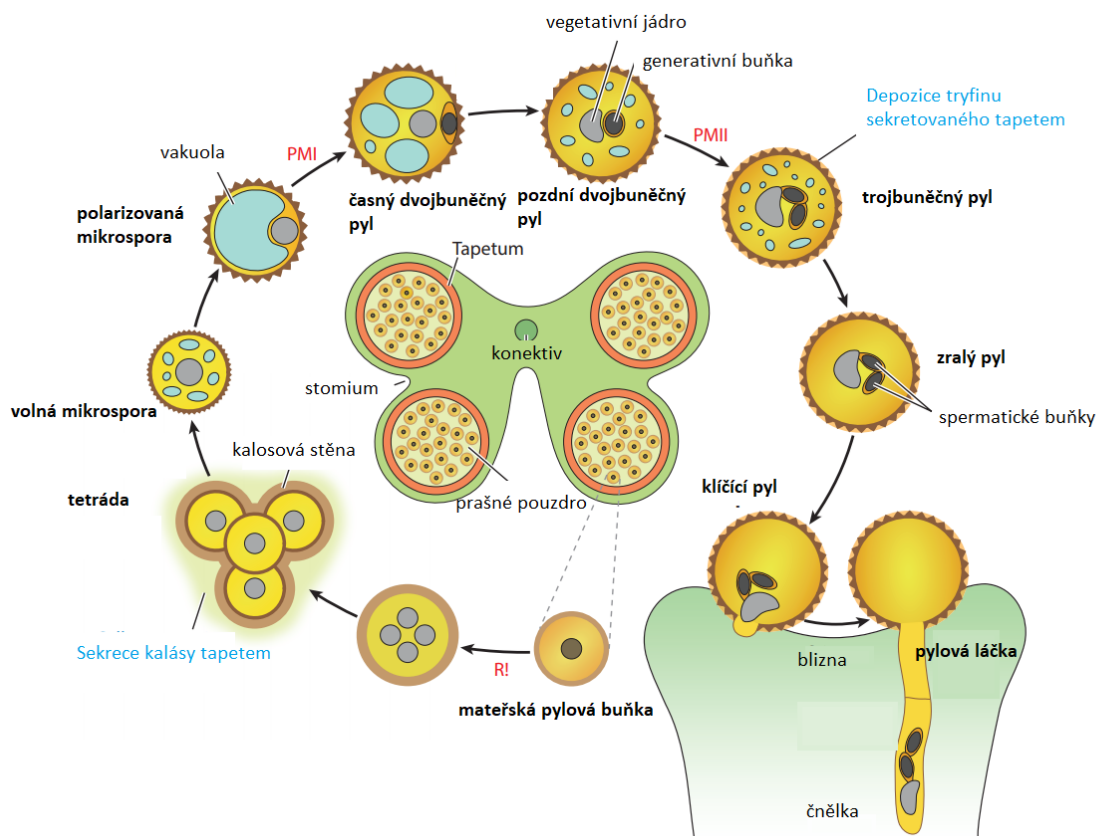
Cílem práce je shrnout současné poznatky ohledně průběhu progamické fáze pylu, kde podobně jako tanečníci tanga spolu partneři důmyslně komunikují. Tato fáze vývoje pylu začíná dosednutím pylu na bliznu a končí dvojitým oplozením. Zaměření je především na čeleď *Brassicaceae* a druh *Arabidopsis thaliana*. Progamická fáze se dělí na několik fází, podle kterých je členěna i tato práce. Po adhezi pylu dochází k jeho hydrataci. U čeledi brukvovitých se suchou bliznou musí pro úspěšnou hydrataci pylu papilární buňka zahájit sekreci vody. Díky tomu může nastat přísná kontrola kompatibility pylu a jen kompatibilním pylovým zrnům je umožněna hydratace a vyklíčení. Po vyklíčení jsou dvě spermatické buňky potřebné pro dvojitě oplození dopraveny pylovou láčkou k vajíčku. Zdá se, že pro cestu láčky pestíkem až do jejího prasknutí uvnitř vajíčka dostačuje vegetativní buňka, a tedy spermatické buňky se jeví jako pasivní náklad (Zhang et al., 2017). Během růstu láčky dochází ke změnám genové exprese a získávání kompetence k vnímání různých signálů. To může být pozorováno na rozdílu *in vitro* a *semi-in vivo* experimentů. V prvním případě pylová láčka roste i klíčí v umělém médiu, v druhém případě láčka klíčí na blizně, prorůstá čnělkou a až poté roste v připraveném médiu. V práci jsou uváděny objevené dynamiky intracelulárního vápníku, protože, díky jeho roli druhého posla, mohou nastínit průběh buněčné signalizace. Rostliny často využívají stávající mechanismy k novým funkcím. Je tomu tak i v případě signalizace pylové láčky. Receptorová kináza FERONIA, která kromě dále zmíněných funkcí při přijetí pylového zrna a přijetí pylové láčky má roli i v rostlinné imunitě (Zhang et al., 2020)*. Rodina peptidů DEFL (DEFENSIN-LIKE) obsahuje peptidy, které se přímo podílejí na obraně proti patogenům svými inhibičními účinky. Do DEFL rodiny ale patří i LURE peptidy lákající pylovou láčku na cestě k vajíčku (Dresselhaus and Márton, 2009)*. Odpověď na pylovou láčku je tedy silně spojena s mechanismy odpovědi na patogeny.

3 Rozmnožování krytosemenných rostlin

Pro pochopení souvislostí je vhodné zaměřit se na rozmnožování krytosemenných rostlin a jeho evoluci. Během životního cyklu rostlin, diploidní sporofyt produkuje haploidní spory, z kterých vzniká gametofyt. V rámci evoluce vyšších rostlin se několikrát nezávisle na sobě vyvinula heterosporie. Jedná se o tvorbu spor různých velikostí (Bateman and DiMichele, 1994)*. Při heterosporii dochází k rozdělení spor na mikrospory a megaspory na základě

optimalizace investice zdrojů do jejich tvorby. Do velkých megaspor je investováno více pro zvýšení životaschopnosti nového jedince, tím pádem mikrospory nemusí přinášet takové množství energie a jsou produkovány s minimální možnou investicí zdrojů ve velkém množství. Heterosporie se tedy velmi podobá anisogamii, neboli rozdělení gamet na menší samčí a větší samičí (Petersen and Burd, 2017)*. Další inovací je uzavření megasporangií uvnitř sporofytu odkud už nedochází k uvolňování megaspor. Tím je zvýšena ochrana a výživa megaspor a pohlavní rozmnožování semenných rostlin tedy není přímo vázané na vodní prostředí. Spolu s uzavřením megasporangií je nutná produkce odolných mikrospor obsahujících redukovaný gametofyt. Ty se pak mohou šířit vzduchem a dopravit se k samičímu gametofytu umístěnému i vysoko na sporofytu (Wang and Bai, 2019)*. Oproti nahosemenným rostlinám mají krytosemenné dva vaječné obaly místo jednoho a vajíčka chráněna uvnitř pestíku. Pylová láčka tak tomu musí za pomoci komunikace s okolními tkáněmi prorůstat pestíkem až k vajíčku.

Samičí megaspory vznikají v megasporangiu, tím je nucellus vajíčka. Zde z mateřské buňky zárodečného vaku (megasporocyt) meiózou vnikají čtyři haploidní megaspory. Tři z nich odumírají, zůstává jediná, ta se nazývá mladý zárodečný vak. Následně třikrát po sobě proběhne jaderné dělení, výsledný zralý zárodečný vak obsahuje osm jader. Cytokinezí vzniká šest haploidních buněk – 3 antipody, 2 synergidy, vaječná buňka a jedna diploidní centrální buňka zárodečného vaku.



Obr. 1: Souhrnné schéma vývoje pylu

V prašném pouzdru neboli mikrosporangiu se meioticky dělí mateřské pylové buňky (mikrosporocyty). Vytváří se čtyři haploidní mikrospory, které jsou kalosou spojeny do tetrád. Tetrády se rozvolňují za pomoci enzymu kalasy sekretovaného vnitřní vrstvou prašného pouzdra – tapetem. Mikrospory si vytvářejí buněčnou stěnu, která je složena ze dvou vrstev – vnitřní intina, vnější exina. Během dozrávání mikrospor se na tvorbě exiny podílejí i buňky tapeta. Ve volných mikrosporách dochází k vytvoření velké vakuoly a přitisknutí jádra k buněčné stěně. Takto polarizovaná buňka se asymetricky rozdělí a vzniká velká vegetativní a malá generativní buňka, toto dělení se nazývá pylová mitóza I. Generativní buňka se následně vnořuje do buňky vegetativní. Dále podstupuje pylovou mitózu II a vznikají dvě spermatické buňky. Načasování druhého dělení se u rostlin liší, může nastat ve zrajícím pylu – vzniká trojbuněčný pyl, ten se vyskytuje například v čeledi brukvovitých, nebo až po vyklíčení pylu – tvoří se dvojbuněčný pyl. Vývoj pylového zrna je zakončen akumulací rezerv a dehydratací. Dehydratace umožní odlehčení pylových zrn potřebné pro jejich správné rozšíření. Použité zkratky: R!, meiosa; PMI, pylová mitóza I; PMII, pylová mitóza II. Převzato a upraveno z (Hafidh and Honys, 2021)*.

Pyl během svého vývoje využívá mechanismy stresové odpovědi. Zejména proteiny teplotního šoku („heat shock protein“), které při dehydrataci a následně rehydrataci pomáhají správnému uložení a aktivaci rezerv RNA a proteinů. Proto je pyl obzvláště citlivý na teplotní stres, který ovlivní stejné mechanismy a naruší jejich fyziologické funkce (Sze et al., 2021).

4 Adheze a hydratace pylového zrna

4.1 Přichycení pylu a adheze

Po přistání pylového zrna dochází ke specifickému přichycení („pollen capture“), jehož síla je závislá na příbuznosti pylu a samičí rostliny. U *Arabidopsis* pro prvotní přichycení dostačují lipofilní molekuly exiny (Zinkl et al., 1999). Mohlo by se jednat o sporopolenin, protože mutanti v enzymech jeho syntézy (LESS ADHESIVE POLLEN – LAP) se vyznačují nízkou adhezivitou pylu a samčí sterilitou (Kim et al., 2010).

V bakulích uvnitř exiny je uschován tryfin („pollen coat“, „tryphine“) pocházející z buněk sporofytického tapeta. Je tvořen převážně lipidickými látkami, proteiny a peptidy, může obsahovat i celé organely (Dickinson et al., 2000*; Piffanelli et al., 1998*). Po přichycení pylu se tryfin uvolní z bakulí a rozleje po povrchu papilární buňky (Elleman and Dickinson, 1990). Po promísení s kutikulou papilární buňky expanduje její buněčná stěna (Elleman et al., 1992). K tomuto dochází po několika minutách, během 10 minut se pyl polarizuje a u místa kontaktu s papilou se akumulují váčky (Kandasamy et al., 1994). Ke komunikaci mezi pylem a papilární buňkou dochází interakcí peptidů pylového tryfinu – PCP (POLLEN COAT PEPTIDE) a receptorů v buněčné stěně papilární buňky SLG (S-LOCUS GLYCOPROTEIN) a SLR1 (SLG-LIKE RECEPTOR 1) (Doughty et al., 1993; Hiscock et al., 1995). Navázání PCP na SLG a SLR1 zvyšuje adhezi, experimentální zablokování exprese SLR1 nebo zablokování SLG a SLR1 pomocí protilátek adhezi sníží (Luu et al., 1999).

4.2 Autoinkompatibilita

Při samoopylení rostlin dochází k zvyšování podílu homozygotů v populaci a tím se mohou snadněji projevit negativní recesivní alely. Tento jev se nazývá imbrední deprese. Také nedochází k míchání genomů rodičů, které zvyšuje genetickou variabilitu populace. Z těchto důvodů se samoopylení většina rostlin snaží zabránit pomocí prostorového či časového oddělení produkce pylu a vajíček, nebo pomocí autoinkompability. Při autoinkompabilitě se uplatňují geny S loku, přičemž pylu se stejnou alelou S loku pestík znemožní oplození. Pokud záleží pouze na genotypu pylu a samičí rostliny jedná se o gametofytickou autoinkompabilitu, pokud se v pylu projevují obě rodičovské varianty S loku je autoinkompabilita sporofytická. Brukvovité rostliny využívají sporofytické inkompability. Některé rostliny (např. *A. thaliana*)

samoopylení využívají, jelikož umožňuje snadné opylení bez potřeby partnera (Buchanan et al., 2015)*.

Receptory SRK (S-LOCUS RECEPTOR KINASE) a SLG jsou hlavní samičí determinanty sporofytické inkompatibility, přičemž nezbytná je přítomnost pouze SRK, ale sekretovaný SLG zvyšuje její účinnost (Takasaki et al., 2000). Transmembránová receptorová kináza SRK má extracelulární doménu homologní k SLG. Geny *SRK* a *SLG* jsou polymorfní a v genové vazbě (Stein et al., 1991). Ligandem SRK nacházejícím se v pylovém tryfinu, je polypeptid SCR, známý také jako SP11 (S-LOCUS CYSTEINE-RICH PROTEIN/ S-LOCUS PROTEIN 11), který je také polymorfní (Schopfer et al., 1999).

Navázáním ligandu se SRK fosforyluje, aktivuje a s pomocí další kinázy vázané na plasmatickou membránu - MLPK (M-LOCUS PROTEIN KINASE) aktivuje protein ARC1 (ARM REPEAT CONTAINING 1) (Kakita et al., 2007; Stone et al., 2003). ARC1, E3 ubikvitin ligáza, zastavuje inkompatibilní pyl ubikvitinací papilárních proteinů nezbytných pro hydrataci pylu a jeho vyklíčení, jako je Exo70A1 (Samuel et al., 2009). Exo70A1 je peptid, který je součástí exocyst komplexu. Ten řídí kotvení váčků k membráně a účastní se orientované sekrece (Žárský et al., 2009)*.

Při opylení nekompatibilním pylem nastane zvýšení koncentrace cytoplazmatického Ca^{2+} v papilární buňce. Z molekul pylu je pro tento jev nezbytný pouze nekompatibilní SCR, papilární buňka potřebuje funkční kanál GLR (GLUTAMATE RECEPTOR-LIKE CHANNEL) a i umělé navýšení Ca^{2+} v papilární buňce způsobí odmítnutí pylu (Iwano et al., 2015). Pro autoinkompatibilní reakci je nutná přítomnost ROS (reaktivní formy kyslíku) na blizně, nekompatibilní pyl způsobí zvýšení jejich koncentrace (Zhang et al., 2021).

U *Solanaceae*, *Rosaceae* a *Plantaginaceae* je mechanismus autoinkompatibility založen na produkci toxických S-RNáz v pestíku, které mohou být degradovány SLF (S-LOCUS F-BOX) proteinem jiné S alely (Hua et al., 2008*; Kubo et al., 2010*).

4.3 Hydratace pylu

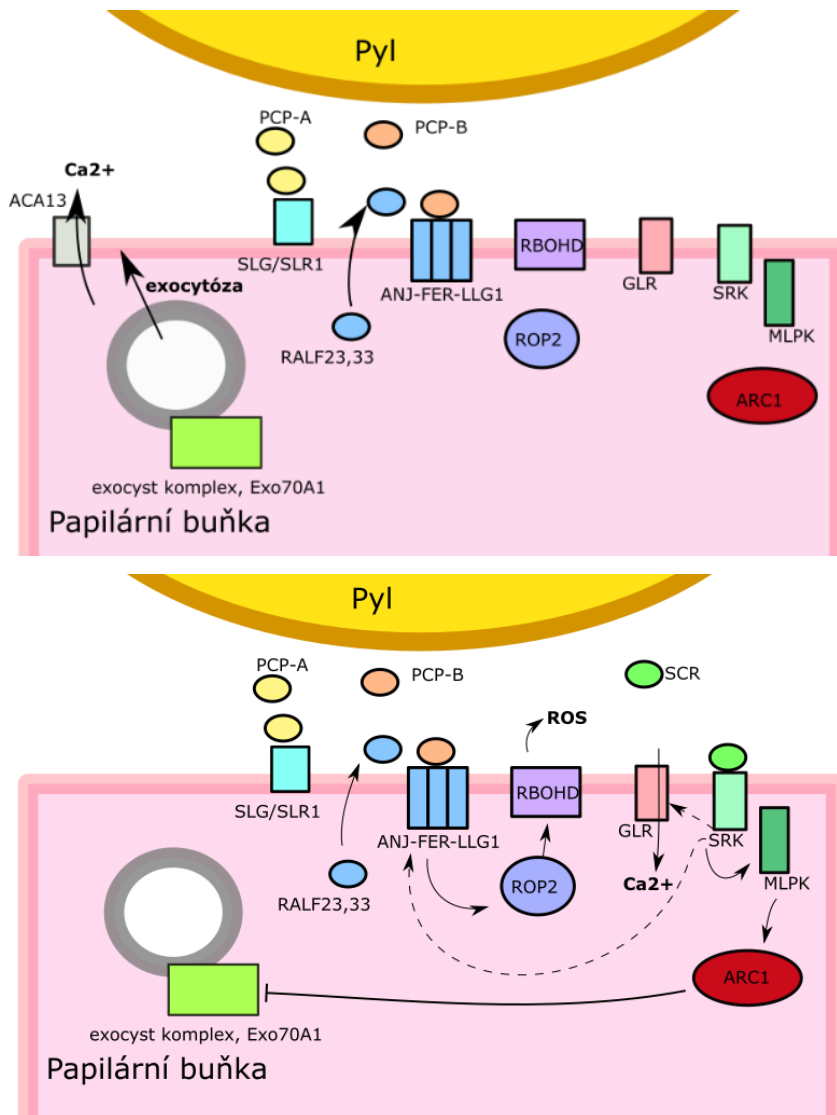
Zralá pylová zrna jsou dehydratována a pro obnovení metabolické aktivity a růst pylové láčky potřebují přijmout vodu. V rámci tryfinu je i množství enzymů a proteinů interagujících s lipidy a během vylití z bakulí dochází k jeho přeuspořádání (Elleman and Dickinson, 1986). Právě složení lipidů a proteinů tryfinu má vliv na úspěšnost a rychlost hydratace (Fiebig et al., 2000; Mayfield and Preuss, 2000; Preuss et al., 1993).

Kromě výše zmíněné adheze jsou peptidy PCP, konkrétně PCP-B potřebné ke správnému zahájení hydratace (Wang et al., 2017). Nové poznatky C. Liu kol. (2021) osvětlují mechanismus působení PCP-B jako signálu pro přijetí pylového zrna. Pro jeho pochopení se nejprve musíme zaměřit na funkci receptorové kinázy FER (FERONIA), která byla zjištěna výzkumem kořenů. FER společně s GPI (glykosylfosfatidylinositol) kotveným proteinem LLG (LORELEI-LIKE GPI-ANCHORED PROTEIN) aktivuje GTPázu ROP (RHO-LIKE GTPASE OF PLANTS). Aktivovaná ROP indukuje tvorbu ROS pomocí NADPH (nikotinamidadenindinukleotidfosfát) oxidázy RBOHD (RESPIRATORY BURST OXIDASE HOMOLOG D) (Duan et al., 2010; Li et al., 2015). V papilární buňce se v komplexu s FER vyskytuje další receptorová kináza ze stejné rodiny genů ANJ (ANJEA). Komplex ANJ-FER spolu s LLG1 váže autokrinně sekretované peptidy RALF23, 33 (RAPID ALKALINIZATION FACTOR 23, 33), aktivací ROP2 a RBOHD indukuje produkci ROS na blizně. Tato signalizace je narušena uvolněním PCP-B z pylu, které se také vážou na ANJ-FER a kompetitivně inhibují RALF22, 33 signalizaci. Tím se přeruší tvorba ROS, a následné snížení jejich koncentrace umožní hydrataci a klíčení pylu. U mutantů v této dráze se sníženou koncentrací ROS na blizně dochází k rychlejší hydrataci pylu (C. Liu et al., 2021). Při autoinkompatibilní reakci dochází neznámým způsobem k aktivování stejné dráhy a tedy ke zvýšení produkce ROS (Zhang et al., 2021). Na blizně se vyskytující se ROS mohou být zhašeny oxidem dusnatým přítomným v pylových zrnech (McInnis et al., 2006).

V apikální části papilární buňky, která je v kontaktu s pylovým zrnem dojde ke zvýšení koncentrace cytoplazmatického Ca^{2+} . Následuje vytvoření pregerminačního gradientu Ca^{2+} v pylovém zrnu. Pro jeho vytvoření a pro klíčení jsou potřebné Ca^{2+} kanály (Iwano et al., 2004). Pregerminační gradient je nezbytný pro vyklíčení pylové láčky (Heslop-Harrison and Heslop-Harrison, 1992). V papilární buňce dojde k oscilacím koncentrace vápníku se třemi maximy, postupně: před hydratací, vyklíčením pylu a po proniknutí pylové láčky do buněčné stěny papily (Iwano et al., 2004).

Signalizace složkami tryfinu kompatibilního pylu indukuje změny v aktinovém cytoskeletu papilární buňky. Je zvýšena polymerizace aktinu a dochází ke vzniku svazků aktinových vláken („actin bundles“) v apikální části buňky. Tyto změny vedou k přeorientování vakuolárního systému směrem k místu kontaktu. Naopak inkompatibilní pyl vyvolává depolymerizaci aktinu a narušení struktury vakuol, podobně, narušení polymerizace aktinu zamezí vyklíčení pylu (Iwano et al., 2007). Goring (2018)* porovnává zjištěné koncentrace Ca^{2+} při kompatibilní (Iwano et al., 2004) a nekompatibilní (Iwano et al., 2015) stigmatické reakci. Koncentrace při kompatibilní reakci odpovídá dříve zjištěné koncentraci podporující tvorbu aktinových svazků pomocí villinů. Během nekompatibilní reakce je koncentrace Ca^{2+} vyšší a odpovídá koncentraci, při které jsou aktinová vlákna štěpena villiny a profiliny vyvazují monomerní aktin.

Výskyt sekrečních váčků v papilární buňce *B. oleracea* po kompatibilním opylení i výskyt váčků v buněčné stěně byly zjištěny již dříve, ale extracelulární váčky byly pokládány za artefakty (Elleman et al., 1992; Elleman and Dickinson, 1996). Jejich přítomnost byla vysvětlena pozorováním exocytózy multivezikulárních tělísek (Safavian and Goring, 2013). U *Arabidopsis* byla pozorována exocytóza jen jednoduchých váčků. Exocytóza váčků je přítomna pouze u kompatibilní reakce, při odmítnutí pylu jsou váčky dokonce odstraňovány autofagií (Safavian and Goring, 2013). Jedna z molekul, která je při kompatibilní reakci transportována váčky na plazmatickou membránu papilární buňky v místě kontaktu s pylovým zrnem, je ACA13 (AUTOINHIBITED Ca^{2+} ATPASE 13), ATPáza pumpující vápenaté ionty ven z buňky. Exprese ACA13 je po opylení zvýšena v papilárních buňkách i buňkách vodícího pletiva („transmitting tract“) (Iwano et al., 2014).



Obr. 2: Souhrnné schéma komunikace pylu a papilární buňky

První obrázek znázorňuje přijetí kompatibilního pylu. Pylové peptidy PCP-A se vážou na receptory v buněčné stěně papilární buňky a podílejí se na adhezí pylu. Peptidy PCP-B kompetují s RALF peptidy o vazbu na ANJ-FER-LLG1 komplex a blokují tím jeho aktivaci, a tedy i aktivaci ROP2 a tvorbu ROS pomocí RBOHD. Dochází k exocytóze a transportu ACA13 na membránu. Druhý obrázek ukazuje autoinkompatibilní reakci. Hlavním signálem je pylový peptid SCR, který se váže na SRK receptorovou kinázu. Pomocí MLPK kinázy se signál přenáší na ARC1 ubikvitin ligázu, ta ubikvitinací Exo70A1 inhibuje exocytózu. Zatím neznámým mechanismem je aktivována FER dráha aktivující produkci ROS (na obrázku přerušovaná šipka ukazuje možnost aktivace FER pomocí SRK kinázy). Kanál GLR je neznámým mechanismem aktivován přítomností SCR a způsobuje zvýšení koncentrace Ca²⁺ v papilární buňce, které má za následek odmítnutí pylu (na obrázku přerušovaná šipka naznačuje možnost aktivace fosforylací pomocí SRK kinázy).

5 Klíčení a prorůstání pylové láčky bliznou

5.1 Klíčení

Výzkumem klíčení pylu bylo objeveno mnoho látek, které na klíčení mají prokazatelný vliv, ale jejichž funkce je nejasná. Sulfinylované azadekaliny, které mimikují strukturu látek produkovaných bliznou, zvyšují klíčivost pylu (Qin et al., 2011). Brassinosteroidy zvyšují klíčivost pylu i rychlost růstu pylové láčky *in vitro*. Výsledná rychlost se více podobá růstu *in vivo*. Pylové láčky na rostlinách s poškozenou syntézou brassinosteroidů rostou významně kratší (Vogler et al., 2014). Také složení kutikuly samičí rostliny ovlivňuje klíčení pylu, přítomnost dlouhých mastných kyselin způsobí klíčení pylu i mimo bliznu (Wolters-Arts et al., 1998).

Během klíčení a růstu pylové láčky dochází ke zvýšení a změnám transkripce oproti zralému pylovému zrnu (Wang et al., 2008). Výsledky pokusů s inhibitory transkripce a translace se mírně liší, především ve významu transkripce během klíčení. Podle Honyse a Twella (2004), inhibice translace významně sníží klíčivost a téměř zastaví růst pylové láčky, ale inhibice transkripce omezí klíčení jen slabě. Podle Wanga a kol. (2008), inhibice transkripce významně sníží klíčivost i růst pylové láčky. Klíčící pyl vykazuje zvýšenou expresi zejména kalmodulinů, CHX (CATION/HYDROGEN EXCHANGER) a proteinů teplotního šoku (Wang et al., 2008). Kalmoduliny v apoplastu jsou potřebné pro udržení apikálního gradientu Ca^{2+} a správnou funkci pektinů při růstu pylové láčky (Wang et al., 2013).

5.2 Mechanismus apikálního růstu

Apikální růst je oproti růstu difúznímu orientovaný a rostoucí buňka je silně polarizovaná. K tvorbě buněčné stěny dochází pouze na špičce rostoucí buňky. Mimo pylové láčky apikálním růstem rostou i kořenové vlásky.

Pro růst láčky je nutná sekrece velkého množství složek buněčné stěny a jejich přísná regulace. Ve špičce jsou exocytovány pektiny v esterifikovaném stavu. Spolu s nimi jsou sekretovány pektin methylesterázy blokové svými inhibitory. Po disociaci inhibitorů v postranní části špičky mohou methylesterázy pektin demethylovat, čímž je umožněna vazba Ca^{2+} na

karboxylové skupiny. Vápenaté ionty provazují pektinové řetězce navzájem a tím je zvýšena tuhost buněčné stěny (Mollet et al., 2013)*.

Klíčovým regulátorem růstu jsou malé GTPázy ROP. Pokud mají navázán GTP (guanosintrifosfát) jsou aktivní, samovolně se deaktivují hydrolýzou GTP na GDP (guanosindifosfát). Aktivaci i deaktivaci mohou napomáhat další faktory. ROP efekторы RIC3 a RIC4 (ROP-INTERACTIVE CRIB MOTIF-CONTAINING PROTEIN 3, 4) antagonisticky regulují dynamiku aktinu. RIC4 podporuje skládání apikálního aktinu, RIC3 pomocí Ca^{2+} signalizace potlačuje formování apikálního aktinu a růst láčky (Gu et al., 2005). Dalším efektořem je RIP1 (ROP INTERACTIVE PARTNER 1 známý také jako INTERACTOR OF CONSTITUTIVE ACTIVE ROPS 1), který, pomocí SEC3 podjednotky exocyst komplexu, ovlivňuje exocytózu (Lavy et al., 2007). ROP a jejich regulační faktory jsou ovlivňovány fosforylací, do které je zapojeno mnoho enzymů včetně receptorových kináz, mitogenem aktivovaných kináz a na vápníku závislých kináz (Fehér and Lajkó, 2015)*. Oscilace koncentrace cytoplazmatického Ca^{2+} jsou navrženy jako synchronizační mechanismus růstové mašinerie (Johnson et al., 2019)*.

5.3 Růst bliznou

Pylová láčka prorůstá kutikulu papily v místě pokrytém tryfinem. Roste vrchní a spodní vrstvou buněčné stěny, u *A. thaliana* byly pozorovány i pylové láčky rostoucí mezi plazmatickou membránou a buněčnou stěnou (Elleman et al., 1992). Pro narušení kutikuly a buněčné stěny jsou potřeba enzymy, esterázy a kutinázy. Byly nalezeny jak v pylu, tak v blizně (Lavithis and Bhalla, 1995). Jejich inhibice neovlivní klíčení pylu, ale prorůstání kutikulou je značně narušeno (Hiscock et al., 2002).

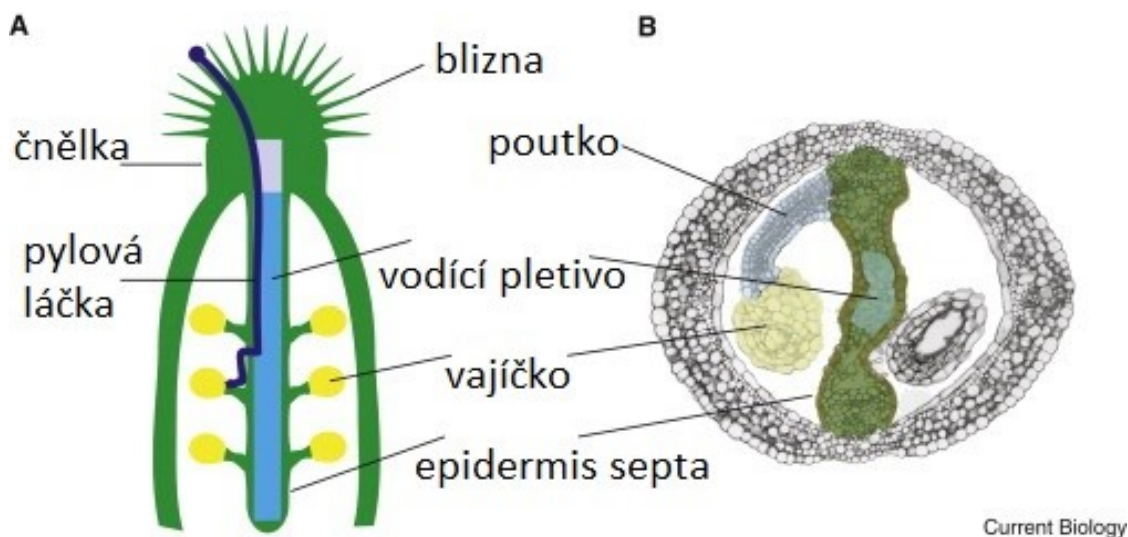
U rostlin s velkou bliznou je potřebné nasměřovat pylovou láčku k čnělce. U lilí vykazuje pylová láčka chemotropismus k proteinu chemocyaninu patřícímu do rodiny proteinů vázajících měď - plantacyaninů (Kim et al., 2003). I v pestíku *Arabidopsis* se vyskytuje gradient plantacyaninu s nejvyšší koncentrací ve vodícím pletivu semeníku. Pylové láčky reagují na zvýšenou expresi plantacyaninu neorientovaným růstem na blizně, ale přímý chemotropismus nebyl potvrzen (Dong et al., 2005).

Po růstu bliznou musí pylová láčka proniknout rozhraním mezi bliznou a čnělkou („stigma-style interface“). OTF1 (O-FUCOSYLTRANSFERASE), enzym lokalizovaný v Golgiho aparátu, u rostlin pravdě podobně provádí O-fukosylaci. Jeho přítomnost byla identifikována jako klíčová pro

penetraci tohoto rozhraní. Mechanismus jeho funkce je zatím neznámý, ale autoři navrhuji možnou aktivaci sekretovaných enzymů štěpících buněčnou stěnu, nebo možnost účasti na syntéze složek buněčné stěny láčky (Smith et al., 2018).

6 Růst pestíkem

V pestíku se nachází vodící pletivo, které slouží k usnadnění a usměrnění růstu pylové láčky. Pestík *Arabidopsis* se nazývá plný, protože vodící pletivo obsahuje jen velmi malou dutinu a je vyplněné extracelulární matrix. Ta je produkována podlouhlými sekretorními buňkami, které během dozrávání květu odumírají a tím usnadňují růst pylové láčky (Pereira et al., 2021)*. Tato kapitola postupně představí hlavní faktory, které interagují s pylovou láčkou na cestě pestíkem a následně podstatu dozrávání láčky.



Obr. 3: Schéma stavby pestíku *Arabidopsis*

Schéma podélného řezu pestíkem (A). Dobarvený příčný řez semeníkem (B).

Převzato a upraveno z: (Crawford and Yanofsky, 2008)*

6.1 Role extracelulární matrix

Glykoproteiny TTS (TRANSMITING TRACT SPECIFIC), patřící mezi arabinogalaktanové proteiny (AGP), jsou součástí extracelulární matrix vodícího pletiva a zvyšují rychlost růstu pylové láčky u rostlin *Nicotiana*. V semi-*in vivo* experimentech láčky přitahují (Cheung et al., 1995). Míra jejich glykosilace se zvyšuje v bazipetálním směru, pylová láčka je deglykosiluje a zabudovává do své buněčné stěny (Wu et al., 1995). AGP jsou exprimovány i v pylové láčce *Arabidopsis* a nacházejí se na její špičce (Pereira et al., 2006). Modelové AGP stechiometricky vážou vápenaté iony, při snížení pH se vápník uvolní. Vzhledem k umístění a schopnosti vázat a

uvolnit vápník byla navržena možná role při udržování oscilací Ca^{2+} ve špičce láčky (Lampport and Várnai, 2013).

6.2 Vnímání vzácných aminokyselin

Kyselina γ -aminomáselná (GABA) stimuluje růst pylové láčky *in vitro*, ale vysoká koncentrace působí inhibičně. Transaminázy POP2 degradují GABA a vytvářejí její gradient k otvoru klovému. U *pop2* rostlin je v pestíku GABA nadbytek a dochází k zastavení *pop2* pylových láček. Pylové láčky divokého typu („wild type“) v *pop2* pestících rostou normálně, pro správný růst tedy postačují transaminázy přítomné v láčce (Palanivelu et al., 2003). Další aminokyselina podílející se na signalizaci pylové láčce je D-serin. Aktivuje GLR kanály na špičce láčky, tím umožňuje vtok Ca^{2+} a ovlivňuje Ca^{2+} oscilace (Michard et al., 2011). Za vznik D-serinu je zodpovědná serinová racemáza. Ta se v rostlinách nachází v pestíku a vysoká exprese je ve vajíčku (Boavida et al., 2011; Michard et al., 2011).

6.3 Vnímání tlaku – durotropismus

Pylové láčky vnímají tuhost prostředí. Láčky *Nicotiana tabacum*, rostliny s plným pestíkem, zrychlí růst, pokud se tuhost prostředí zvýší a rozhraním měkčího a tužšího prostředí snadno pronikají. Naopak láčky *Lilium longifolium*, rostliny s dutým pestíkem, snižují rychlost růstu se zvyšující se tuhostí okolí a do tužšího prostředí pronikají hůře. Tyto rozdíly nejsou podmíněny různou schopností láček vytvářet penetrační sílu. Tato skutečnost dokazuje, že láčky rostlin jsou na tuhost pestíku adaptované a dokáží tlak vnímat (Reimann et al., 2020). Na změny tlaku při růstu z čnělky do otevřenějšího vodícího pletiva reaguje membránová receptorová kináza BUPS1 (BUDDHA'S PAPER SEAL 1). Pomocí interakce s ROPGEF (ROP GUANINE NUCLEOTIDE EXCHANGE FACTOR) aktivuje ROP1 GTPázu, která ovlivňuje exocytózu a stavbu buněčné stěny, signál je zesílen autokrinní sekrecí RALF4, který opět aktivuje BUPS1. Pylová láčka tak zesílí svou buněčnou stěnu a vyrovná se se změnou okolního tlaku (Zhou et al., 2021).

6.4 Dozrávání pylové láčky

Růstem pestíkem získá pylová láčka kompetenci k vnímání signálů vydávaných vajíčkem, *in vitro* rostoucí láčky vajíčkem přitahovány nejsou (Higashiyama et al., 1998; Palanivelu and Preuss, 2006). Jako faktor AMOR, způsobující kompetenci pylové láčky, byl u *Torenia fournieri* z čeledi pušticzkovitých identifikován methyl-glukuronosyl arabinogalaktan, ale pro tuto funkci postačuje koncový disacharid. AMOR je produkován vajíčkem a způsobí vnímavost pylové

láčky k LURE peptidům (Mizukami et al., 2016). Obdoba tohoto faktoru zatím nebyla u *Arabidopsis* potvrzena. Transkripční faktory MYB97, 101 a 120 regulují expresi pylové láčky. Jsou nezbytné pro její úspěšné přijetí a jejich exprese je indukována růstem pestíkem (Leydon et al., 2013; Liang et al., 2013; Qin et al., 2009). Tyto transkripční faktory regulují řadu genů několika funkčních kategorií: transmembránové transportéry, proteiny s aktivitou spojenou s uhlovodíky, malé sekretované proteiny (Leydon et al., 2017, 2013). Během růstu pestíkem v semi-*in vivo* pokusech se mění genová exprese pylu. Je zvýšena u receptorů typu TIR-NBS-LRR (TOLL/INTERLEUKIN 1 - NUCLEOTIDE BINDING SITE - LEUCIN RICH REPEAT), které patří do skupiny receptorů vnímajících patogeny (Qin et al., 2009; Burch-Smith and Dinesh-Kumar, 2007*).

7 Interakce pylové láčky a vajíčka

7.1 Ovulární signalizace

Pylová láčka musí z vodícího pletiva proniknout na poutko, po kterém pokračuje směrem k mikropylárnímu otvoru. Navádění pylové láčky směrem k vajíčku se děje pomocí signálů vydávaných vajíčkem. Synergidy na mikropylárním konci mají tzv. filiformní aparát, jedná se o zvrásnění buněčné stěny a membrány. Dochází zde k sekreci těchto signálních molekul, ale i k recepci signálů pylové láčky. Ovulární atrakci je možné rozdělit na dvě fáze, funikulární a mikropylární, které jsou na sobě částečně nezávislé (Shimizu and Okada, 2000). Peptidy bohaté cysteinem LURE, patřící do rodiny DEFL (DEFENSIN-LIKE) peptidů, slouží ke komunikaci s pylovou láčkou. Jsou produkovány synergidami a jsou úzce druhově specifické (Takeuchi and Higashiyama, 2012). Receptorové kinázy s extracelulárními LRR (leucin-rich repeat) doménami MDIS1 (MALE DISCOVERER 1), MIK1 a MIK2 (MDIS1-INTERACTING RECEPTOR-LIKE KINASE 1,2) se vyskytují jako heteromery, které vážou LURE. Vazba LURE aktivuje kinázovou aktivitu pouze MIK1. Stejně jako LURE jsou druhově specifické (Wang et al., 2016). Receptorové kinázy PRK (POLLEN-SPECIFIC RECEPTOR-LIKE KINASE) také reagují na peptidy LURE, obsahují extracelulární LRR domény a jsou druhově specifické. PRK6 je lokalizován na špičce pylové láčky a na extracelulární LURE reaguje láčka asymetrickým rozmístěním PRK6 směrem ke zdroji LURE. PRK6 interaguje s ROPGEF, sám se sebou, PRK3 a LIP1,2 (LOST IN POLLEN TUBE GUIDANCE 1,2) (Takeuchi and Higashiyama, 2016). Receptorové kinázy LIP1, 2 jsou vázány na membránu palmitoylovou kotvou a cíleny do špičky pylové láčky. Dvojití mutanti mají

zhoršenou reakci na LURE. Jedná se pravděpodobně o koreceptor, protože nemá extracelulární doménu (Liu et al., 2013).

Další cysteinem bohaté peptidy TIC (TICKET) a XIUQIU se také podílejí na navádění pylové láčky. Podobně jako LURE je i TIC druhově specifický. U *tic* knockoutu pylové láčky vykazují horší navigaci a mírně pokroucený růst, ale celková fertilita není ovlivněna (Meng et al., 2019). XIUQIU je naopak konzervovaný pro celou čeleď *Brassicaceae*, *semi-in vivo* přitahuje pylové láčky, nezávisle na PRK6 a LURE. Signalizace druhově specifickým LURE spolu s nespecifickým XIUQIU umožňuje časnější zahnutí konspecifických pylových láček z vodícího pletiva k vajíčku. Tím se udržuje mezidruhová bariéra (Zhong et al., 2019). V experimentu zkoumajícím přitažlivost kompetujících wt (divoký typ) vajíček a vajíček neprodukujících LURE1 byla wt vajíčka výrazně úspěšnější v atrakci pylových láček. Pokud byly ve stejném experimentu použity mutantní *prk6* láčky nebyl mezi atraktivitou wt a *lure1* vajíček významný rozdíl. Pro vnímání specifické LURE1 signalizace je tedy PRK6 nezbytný. Při kompetici *A. thaliana* a *A. lyrata* pylu na rostlině *A. thaliana* neprodukující LURE, dojde k proniknutí významně většího množství pylových láček jiného druhu do vajíčka než u wt (M. Liu et al., 2021). Tyto experimenty ukazují, že druhově specifická LURE1/PRK6 signalizace je láčkami vnímána silněji, ale pro správnou atrakci láček a fertilitu rostliny postačuje signalizace méně specifickými peptidy jako je XIUQIU. Signalizace LURE1/PRK6 se projevuje zvýhodněním konspecifických pylových láček a udržováním mezidruhové bariéry.

7.2 Přijetí pylové láčky synergidou

Po proniknutí mikropylárním otvorem pylová láčka zastaví a dochází ke komunikaci se synergidou (Palanivelu and Preuss, 2006). Pro správný vývoj synergid a filiformního aparátu je nezbytný transkripční faktor MYB98 (Kasahara et al., 2005). Pro správnou atrakci láčky vajíčkem jsou potřebné PRP8A, B (PRE-MRNA PROCESSING FACTOR 8) proteiny spliceosomu. Stejné faktory jsou nutné i v pylové láčce pro správné vnímání ovulárních signálů (Kulichová et al., 2020).

Pylová láčka roste nejprve pomalu a obě synergidy na ni reagují ustanovením oscilací cytoplazmatického Ca^{2+} , oscilace se šíří od mikropylárního k chalazálnímu konci. V pylové láčce se poté zvýší koncentrace cytoplazmatického Ca^{2+} , láčka zrychlí růst a proniká kolem receptivní synergidy. V receptivní synergidě oscilace nahradí stálé zvýšení koncentrace vápníku,

v perzistentní synergidě oscilace pokračují. Před puknutím pylové láčky se koncentrace Ca^{2+} v obou synergidách dále zvýší, přičemž v perzistentní synergidě dosáhne vyšších hodnot než v receptivní. Po smrti receptivní synergidy se v druhé synergidě objeví nové oscilace s nižší amplitudou a delší periodou, které přetrvávají po nejméně hodinu (Hamamura et al., 2014; Ngo et al., 2014).

FER (FERONIA, známá také jako SIRENE) je receptorová kináza lokalizovaná do filiformního aparátu synergidy. U *feronia*^{-/-} rostlin, se pylová láčka nezastaví a dojde k jejímu přerůstání. Podobný fenotyp nastane i při mezidruhovém křížení, a tedy FER a její ligand jsou druhově specifické (Escobar-Restrepo et al., 2007; Huck et al., 2003; Rotman et al., 2003). V jiných funkcích FER váže RALF peptidy, tato signalizace se uplatňuje při potlačení růstu kořene nebo imunitní reakci (Haruta et al., 2014; Stegmann et al., 2017).

Protein kotvený pomocí GPI – LRE (LORELEI) váže extracelulární doménu FER, jeho mutace má stejný fenotyp jako *fer*. LRE je specificky exprimovaný ve vajíčku, v ostatních částech rostliny je produkovaný protein LLG (LORELEI-LIKE GPI-ANCHORED PROTEIN), který má také funkci koreceptoru FER. Asociace FER a LRE probíhá už v ER (endoplazmatické retikulum) a pokud není LRE přítomen nedochází k správnému transportu FER na plazmatickou membránu filiformního aparátu (Li et al., 2015). Tomuto pozorování ale odporuje výzkum X. Liu a kol. (2016), podle kterého může být funkce LRE v synergidě nahrazena LRE exprimovaným na povrchu pylové láčky.

FERONIA v kořenech interaguje s ROPGEF a pomocí NADPH oxidázy ovlivňuje produkci ROS (Duan et al., 2010). Pravděpodobně podobný mechanismus se uplatňuje i při produkci ROS synergidou, ta je také kontrolována FER. Vysoká koncentrace ROS, zejména hydroxylových radikálů, způsobuje prasknutí pylové láčky. Pro prasknutí pylové láčky je dále nutné, aby proběhlo zvýšení koncentrace cytoplazmatického Ca^{2+} láčky (Duan et al., 2014). LRE a FER jsou potřebné i pro ustanovení dynamiky vápníku v synergidách (Ngo et al., 2014). Signalizace FER způsobí polarizované rozmístění NTA (NORTIA), transmembránového proteinu s kalmodulinovou doménou, který je potřebný pro udržení signalizace vápníkem (Kessler et al., 2010; Ngo et al., 2014). ENODL 14 (EARLY NODULIN-LIKE 14) je další GPI kotvený protein lokalizovaný do filiformního aparátu. ENODL 14 interaguje s extracelulární částí FER a je nezbytný pro přijetí pylové láčky (Hou et al., 2016). Mutace proteinů EVAN a TURAN má

podobný projev jako *fer*. Jsou lokalizovány v ER a podílejí se na N-glykosilaci (Lindner et al., 2015).

Receptorové kinázy HERK (HERCULES RECEPTOR KINASE) a ANJ (ANJEA) jsou navzájem zastupitelné, ale dvojití mutanti mají opět podobný fenotyp jako *fer* s přerůstáním pylové láčky. Obě se nacházejí ve filiformním aparátu a interagují s FER a LRE. Jsou potřebné pro reakci NTA proteinu, avšak ne pro správnou tvorbu ROS. Pro jejich funkci není potřeba kinázová doména (Galindo-Trigo et al., 2020). Receptor FER-ANJ-HERK1 interaguje s peptidovými ligandy RALF6, 7, 16, 36, 37 produkovanými pylovou láčkou a tím je umožněno přijetí láčky. Pylové láčky, které neprodukují tyto peptidy, nejsou správně zaznamenány synergidami a nedochází k jejich puknutí. K tomuto ale dochází zhruba v polovině případů, synergidy tedy pravděpodobně mají další mechanismus vnímání láčky (Zhong et al., 2022).

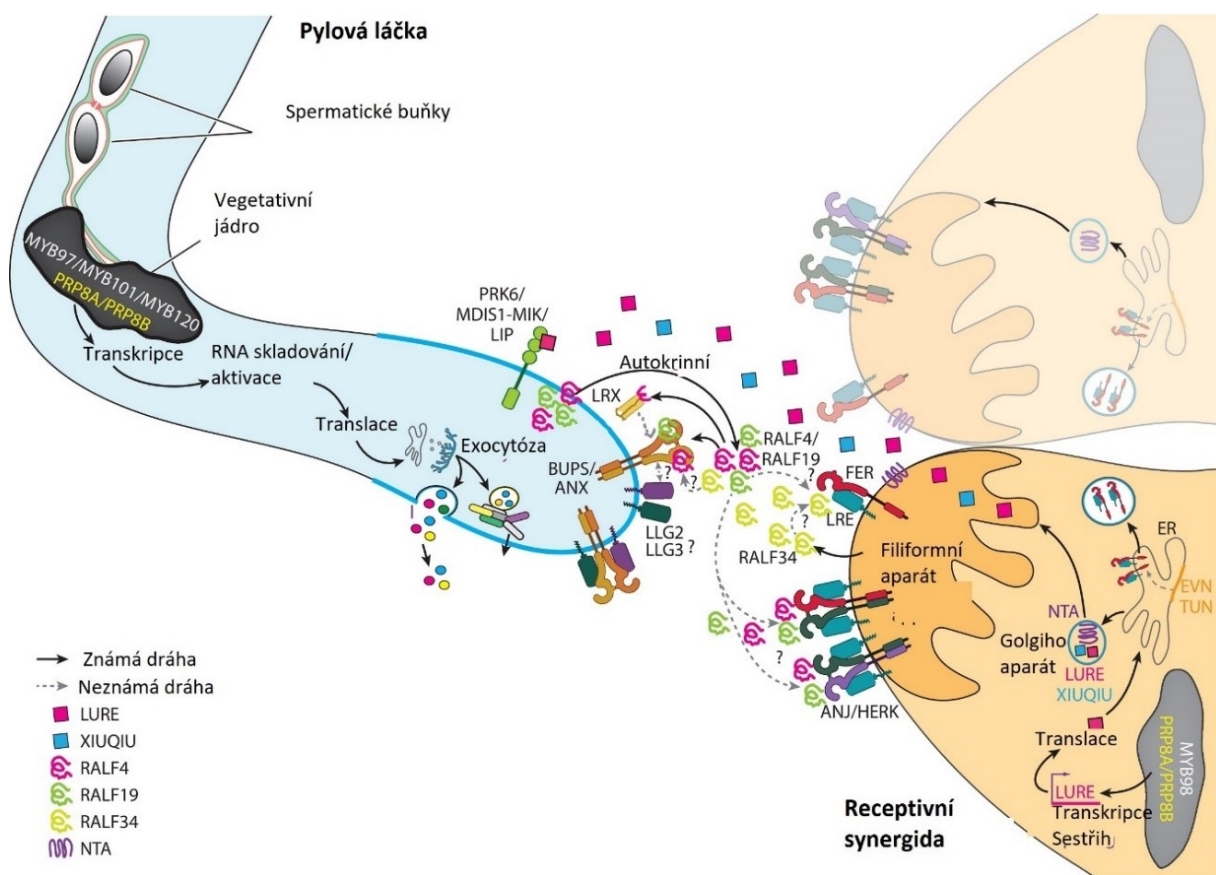
7.3 Puknutí pylové láčky

U kukuřice samičí gametofyt produkuje ES (EMBRYO SAC) proteiny z rodiny DEFL, na které pylová láčka reaguje zastavením a puknutím. ES přímo ovlivňuje draselný kanál láčky (Amien et al., 2010). Receptorová kináza RUPO (RUPTURED POLLEN TUBE) lokalizovaná na špičce láčky rýže opět interaguje s draselným transportérem a tím reguluje integritu láčky (L. Liu et al., 2016). Avšak blokáce draselných kanálů u *Arabidopsis* prasknutí pylové láčky neovlivní (Duan et al., 2014).

Receptorové kinázy blízké příbuzné FER lokalizované na špičce pylové láčky ANX1 (ANXUR 1) a ANX2 se mohou navzájem nahradit, ale dvojitá mutace způsobí předčasné prasknutí pylové láčky (Boisson-Dernier et al., 2009; Miyazaki et al., 2009). ANX stimuluje sekreci komponent buněčné stěny, jejich zvýšená exprese zastaví růst láčky nadměrnou depozicí buněčné stěny. Tato stimulace působí přes NADPH oxidázy, které generují ve špičce lokalizované pulzy H_2O_2 , ty zas ovlivňují gradient Ca^{2+} (Boisson-Dernier et al., 2013).

BUPS1, 2, další receptorové kinázy se také nacházejí na špičce láčky. BUPS1 vytváří buď homodimery, nebo heterodimery s BUPS2. Oba proteiny interagují s extracelulárními doménami ANX1 a ANX2. Mutace BUPS1 se projeví buď nafouknutými pylovými láčkami, které nejsou schopny fertilizace, nebo jejich předčasným prasknutím, mutace BUPS2 má pouze mírný projev (Ge et al., 2017; Zhu et al., 2018). BUPS 1 a 2 vážou láčkou produkované peptidy RALF4 a RALF19, mutace těchto peptidů také způsobí předčasné prasknutí láčky.

V synergidách je exprimován RALF34. Ten dokáže přímo kompetovat s RALF4 a 19, tím narušit jejich signalizaci a způsobit prasknutí láčky (Ge et al., 2017). Jako koreceptor BUPS/ANX heteromeru, nezbytný pro jeho funkci a udržení integrity láčky, slouží LLG2 a 3. Oba proteiny interagují přímo s ligandy RALF4, 19 i s receptory BUPS/ANX, vazba ligandu zesiluje jejich interakci s receptory (Ge et al., 2019). Pro sekreci RALF4 a 19 jsou potřebné LRX (LEUCIN-RICH-REPEAT EXTENSIN), které jsou sekretovány do buněčné stěny. LRX dimerizují a oba monomery vážou RALF (Moussu et al., 2020). LRX jsou potřebné pro signalizaci RALF s BUPS/ANX i jiným mechanismem než asistencí při sekreci RALF, ovlivňují totiž signalizaci i při experimentálním dodání syntetických RALF peptidů (Mecchia et al., 2017).



Hafidh S, Honys D. 2021
 Annu. Rev. Plant Biol. 72:581–614

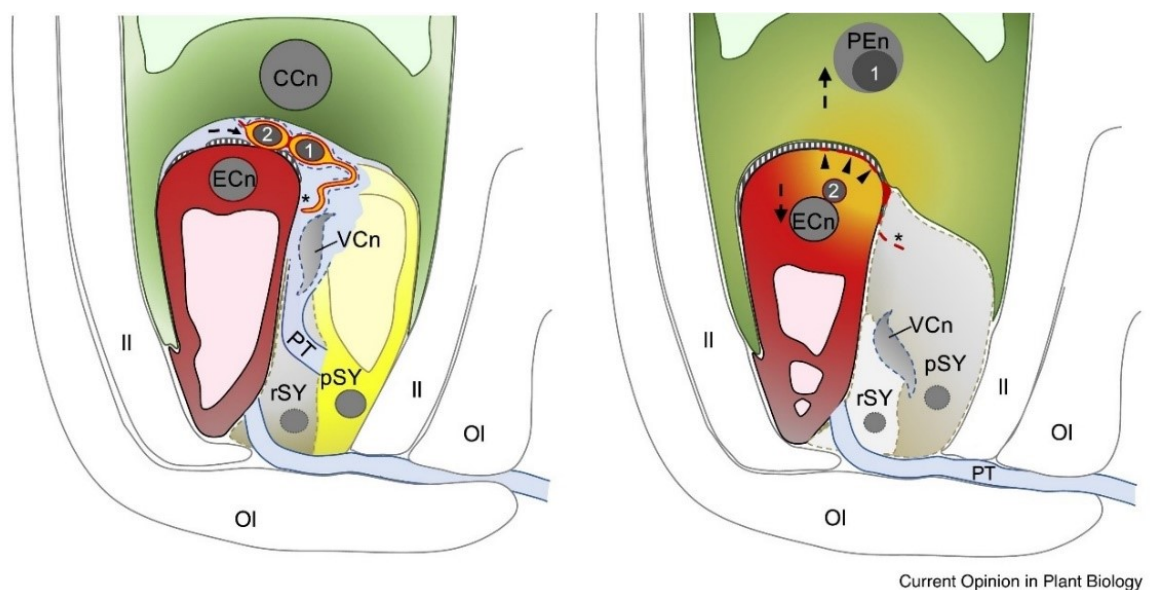
Obr. 4: Souhrnné schéma mechanismu komunikace pylové láčky a synergidy

Pylová láčka k vajíčku a synergidám dorazí za pomoci navigace LURE, TIC a XIUQIU peptidů produkovaných synergidami. LURE jsou vnímány PRK6/MDIS1-MIK/LIP receptory. Během růstu láčka udržuje svoji integritu autokrinní signalizací RALF4 a 19, ty jsou vnímány receptory BUPS/ANX/LLG možná za pomoci LRX v buněčné stěně. Synergida vnímá přítomnost pylové láčky pravděpodobně signalizací peptidy RAL6, 7, 16, 36, 37 (na obrázku mylně vyznačené jako signalizace RALF4, 19), pomocí receptorů FER/ANJ/HERK/LRE. Pylová láčka praskne kvůli narušení autokrinní signalizace RALF4, 19 synergidou produkovaným RALF 34. Synergidy spolu neznámým způsobem komunikují a určí receptivní a perzistentní buňku. Převzato a upraveno z (Hafidh and Honys, 2021)*

8 Dvojité oplození a blokace polyspermie

U krytosemenných rostlin dochází k oplození dvou samičích gamet. Jedna spermatická buňka splývá s vaječnou buňkou za vzniku zygoty, ta se dále dělí a zakládá embryo. Druhá spermatická buňka fúzuje s diploidní centrální buňkou zárodečného vaku. Výsledná triploidní buňka dává základ vyživovacímu pletivu neboli endospermu.

Oplození samičích gamet více spermatickými buňkami se nazývá polyspermie. Spermatické buňky mohou pocházet z jedné nebo v případě tzv. polytubey z více pylových láček. Rostliny mají několik mechanismů, jak polyspermii zabránit. Pokud i tak vaječná buňka splyne s více spermatickými, může z výsledné triploidní zygoty vzniknout funkční embryo (Toda et al., 2016). Nehledě na způsob vzniku je většina triploidních rostlin sterilních, čehož se využívá například při šlechtění bezsemenných plodů.



Obr. 5: Schéma prasknutí pylové láčky a splynutí spermatických buněk se samičími gametami

Vlevo: Spermatická jádra jsou po prasknutí láčky jejím obsahem unesena mezi vaječnou buňku a centrální buňku. Receptivní synergida zaniká. **Vpravo:** Po plazmogamii gamet jádra spermatických buněk putují k samičím (přerušované šipky). Zbývající synergida zaniká destabilizací jádra a fúzí s centrální buňkou. Plné šipky označují pozůstatky plazmatické membrány spermatické buňky. Šrafovaná oblast značí nově deponovanou buněčnou stěnu. **Použité zkratky:** CCn, jádro centrální buňky; ECn, jádro vaječné buňky; II, vnitřní integument; OI, vnější integument; PEn, jádro primárního endospermu; pSY, perzistentní synergida; PT, pylová láčka; rSY, receptivní synergida; VCn, jádro vegetativní buňky; 1,2, jádra spermatických buněk. Převzato z (Sprunck, 2020)*

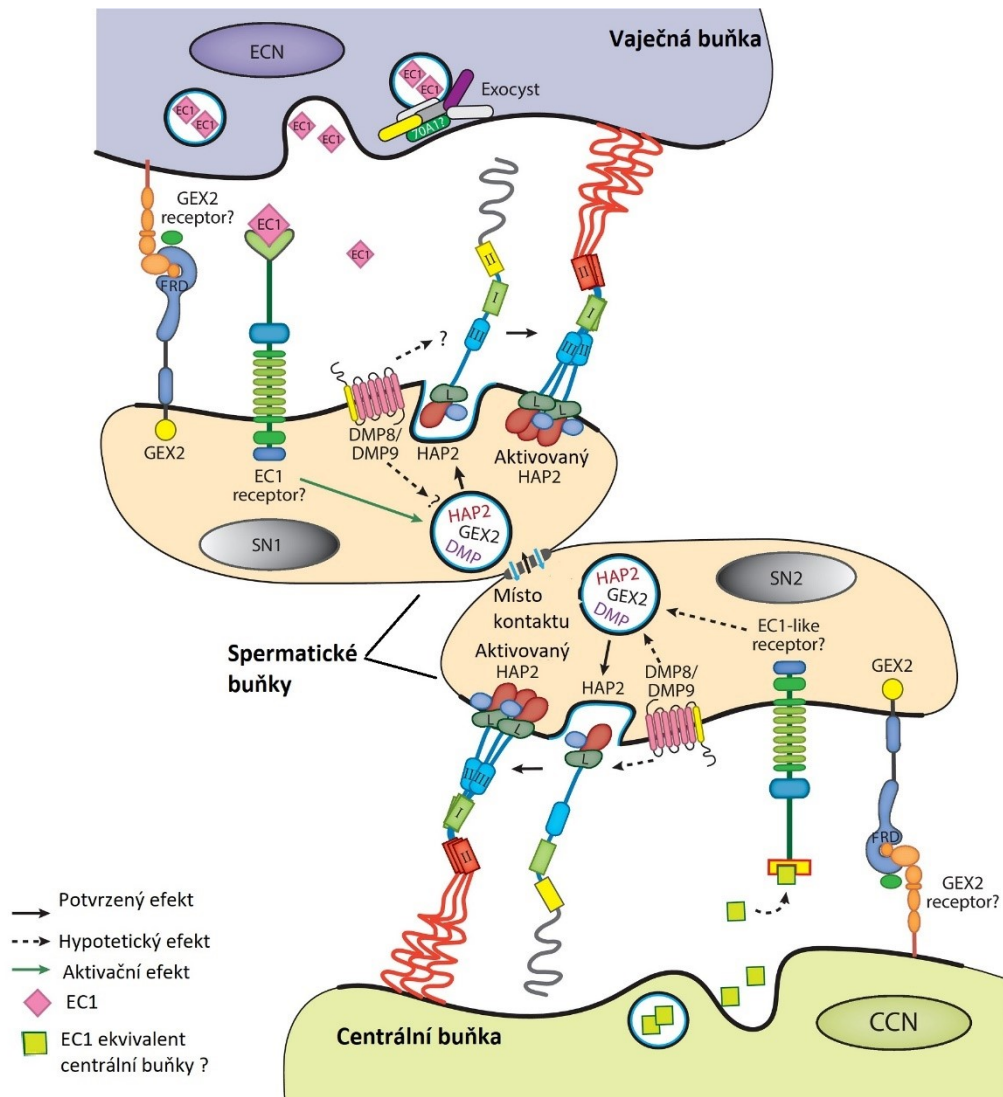
8.1 Navádění spermatických buněk

Spermatické buňky jsou ve schopnosti oplodnit samičí gamety ekvivalentní a obě mohou splynout jak s vaječnou buňkou, tak s centrální buňkou zárodečného vaku. Po prasknutí láčky jsou spermatické buňky během asi 10 s rychle dopraveny k rozhraní oosféry a centrální buňky, kde přečkávají zhruba 7 min. Následuje splnutí membrán s odpovídajícími buňkami, pohyb samčích jader k samičím a jejich splnutí (Hamamura et al., 2011). Spermatické buňky jsou na místo doneseny obsahem pylové láčky, který po jejím prasknutí prudce vytryskne (Hamamura et al., 2011; Higashiyama et al., 2000). Po doručení spermatických buněk k místu kontaktu s oosférou a centrální buňkou následují náhlé pohyby spermatických buněk k oběma samičím buňkám (Denninger et al., 2014). Pokud jsou obě spermatické buňky přichyceny ke stejné buňce, jedna se uvolní a přichytí na buňku druhou. Toto naznačuje přítomnost komunikace a synchronizace mezi spermatickými buňkami (Huang et al., 2015). Mezi splnutím prvního a druhého páru gamet je zhruba 2,5min prodleva (Hamamura et al., 2011).

Prasknutí láčky vyvolá prudký nárůst cytoplazmatického Ca^{2+} v centrální buňce i vaječné buňce. Po upřesnění pozice spermatických buněk následuje druhé zvýšení Ca^{2+} ve vaječné buňce korelované s plazmogamií se spermatickou buňkou, v některých případech bylo pozorováno druhé zvýšení Ca^{2+} i v centrální buňce (Denninger et al., 2014; Hamamura et al., 2014).

Spermatické buňky jsou k samičím gametám přichyceny pomocí GEX2 (GAMETE EXPRESSED 2) transmembránového proteinu. GEX2 má podobnou strukturu jako proteiny podílející se na adhezi gamet řas a metazoi. Jelikož mutace GEX2 nezpůsobí úplnou sterilitu, pravděpodobně může být zastoupen jiným mechanismem (Mori et al., 2014). Na základě podobnosti GEX2 s dalšími proteiny, například savčím IZUMO1 byla navržena přítomnost jeho receptoru na samičích buňkách (Sprunck, 2020)*. Pro po přichycení nastávající fúzi membrán je nezbytný protein HAP2 (HAPLESS 2, známý také jako GENERATIVE CELL-SPECIFIC 1) (von Besser et al., 2006). Jedná se o transmembránový protein konzervovaný napříč eukaryoty, který je homologní k virovým fúzním proteinům II. třídy. Během fúze dochází k jeho trimerizaci (Fédry et al., 2017). Fúzi membrán napomáhají částečně vzájemně zastupitelné proteiny DMP8, 9 (DOMAIN-OF-UNKNOWN-FUNCTION-679 MEMBRANE PROTEIN 8, 9). DMP8, 9 mají významnější roli při fúzi spermatické a vaječné buňky než u druhých dvou gamet (Cyprys et al., 2019).

K aktivaci spermatických buněk slouží malý protein bohatý cysteinem EC1 (EGG CELL 1). Je produkován vaječnou buňkou a je lokalizován v sekrečních váčcích. K sekreci EC1 ale dojde až po stimulaci vaječné buňky samčím gametofytem. Spermatické buňky na EC1 reagují přemístěním HAP2 na svůj povrch (Sprunck et al., 2012). Signalizace EC1 je potřebná pro adhezi spermatických buněk k samičím i pro oddělení spermatických buněk od sebe (Cyprys et al., 2019). Pro správné oplození centrální buňky není zapotřebí přítomnost vaječné buňky. V případě zničení oosféry splyne centrální buňka jen s jednou spermatickou buňkou. I v přítomnosti nadbytku spermatických buněk oosféra fúzuje pouze s jednou spermatickou buňkou, u centrální buňky se může vyskytnout polyspermie. Z těchto výsledků vyplývá, že obě samičí gamety mohou nezávisle fúzovat se spermatickými buňkami. A obě mají mechanismus zábrany polyspermie, ale v centrální buňce je tento mechanismus slabší (Nagahara et al., 2021). V případě neúspěšného oplození začne perzistentní synergida přitahovat další pylovou láčku (Kasahara et al., 2012).



Haĥidh S, Honys D. 2021
Annu. Rev. Plant Biol. 72:581–614

Obr. 6: Schéma mechanismu komunikace spermatických buněk s centrální a vaječnou buňkou

Aktivovaná vaječná buňka produkuje EC1, který naopak připraví spermatickou buňku k fúzi expozic GEX2 a HAP2 na povrchu. Mechanismus signalizace EC1 je neznámý, centrální buňka pravděpodobně produkuje EC1 ekvivalent. Spermatické buňky spolu musí koordinovat správné přichycení k oběma samičím buňkám a případné chyby jsou opraveny. **Použité zkratky:** ECN, jádro vaječné buňky; SN1,2, jádra spermatických buněk; CCN, jádro centrální buňky. Převzato a upraveno z (Hafidh and Honys, 2021)*.

8.2 Zábrana polyspermie

Po úspěšném oplození samičích gamet je perzistentní synergida degradována a tím je zabráněno atrakci dalších pylových láček (Beale et al., 2012; Kasahara et al., 2012). Obě samičí gamety mohou signalizovat úspěšnost oplození nezávisle, při neúspěšném oplození jedné z nich perzistentní synergida láká další láčku. Naopak při úspěšném oplození je atrakce pylových láček zastavena již před degradací zbývající synergidy (Maruyama et al., 2013). Po úspěšné fúzi spermatické buňky s vaječnou, dochází k sekreci endopeptidáz ECS1 a ECS2 (EGG

CELL-SPECIFIC), které specificky štěpí LURE peptidy (Yu et al., 2021). Signalizace ethylenem navozuje degradaci synergidy (Völz et al., 2013). Signalizace ethylenem je započata po oplození vaječné buňky a vyústí v dezorganizaci jádra synergidy, oplození centrální buňky způsobí její fúzi se synergidou. Narušené jádro synergidy je v centrální buňce během mitózy degradováno (Maruyama et al., 2015). K zabránění polytubey dochází již během růstu láčky po povrchu septa, kde pomocí receptorů FER-ANJ-HERK1 epidermální buňky vnímají peptidy RALF 6, 7, 16, 36, 37 produkované láčkou. Tato signalizace je po prasknutí láčky narušena, tím je v případě neúspěšného oplození umožněno další láčce růst do stejného vajíčka (Zhong et al., 2022). Mechanismus této signalizace je neznámý, vzhledem k dalším funkcím FERONIA receptoru by mohla být součástí produkce ROS.

9 Závěr

Problematika progamické fáze a komunikace mezi rostlinnými partnery je stále velmi aktivně zkoumána. Nejnovější práce odkryly dlouho očekávaný mechanismus přijetí pylu na blizně a přijetí pylové láčky synergidami. V obou případech se jedná o signalizaci zahrnující receptorovou kinázu FERONIA a peptidy RALF. Podrobné pochopení mechanismu funkce této signalizace bude klíčové pro pochopení komunikace mezi mateřskou rostlinou a samčím gametofytem. A i přes tyto významné objevy stále zůstává nejasný mechanismus sekundární signalizace ROS, či vápenatými ionty. Dalším nově otevřeným tématem je blok polytubey vnímáním pylové láčky již na septu. Vzhledem k mechanismu, který je pravděpodobně stejný jako při přijetí láčky synergidou, se nabízí možnost produkce ROS na septu. Ta by mohla mít za následek odpuzování dalších pylových láček. Podobně již zavedené koncepty jsou ve světle nejnovějších objevů nabourány. Příkladem je oddělená mikropylární a funikulární atrakce a přítomnost LURE v obou z těchto signalizací. Nebo uváděný krátký dosah LURE a jejich navrhovaná role při zahýbání láčky z vodícího pletiva. Na toto téma bylo vypracováno několik přehledových článků, které se obsahově částečně překrývají s touto rešerší (Adhikari et al., 2020*; Hafidh and Honys, 2021*; Johnson et al., 2019*; Sprunck, 2020*).

10 Literatura

Sekundární citace jsou v textu označeny hvězdičkou.

Adhikari, P.B., Liu, X., Wu, X., Zhu, S., Kasahara, R.D., 2020. Fertilization in flowering plants: an odyssey of sperm cell delivery. *Plant Mol Biol* 103, 9–32. <https://doi.org/10.1007/s11103-020-00987-z>

Amien, S., Kliwer, I., Márton, M.L., Debener, T., Geiger, D., Becker, D., Dresselhaus, T., 2010. Defensin-Like ZmES4 Mediates Pollen Tube Burst in Maize via Opening of the Potassium Channel KZM1. *PLOS Biology* 8, e1000388. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000388>

Bateman, R.M., DiMichele, W.A., 1994. Heterospory: The Most Iterative Key Innovation in the Evolutionary History of the Plant Kingdom. *Biological Reviews* 69, 345–417. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1994.tb01276.x>

Beale, K.M., Leydon, A.R., Johnson, M.A., 2012. Gamete Fusion Is Required to Block Multiple Pollen Tubes from Entering an Arabidopsis Ovule. *Current Biology* 22, 1090–1094. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.04.041>

Boavida, L.C., Borges, F., Becker, J.D., Feijó, J.A., 2011. Whole Genome Analysis of Gene Expression Reveals Coordinated Activation of Signaling and Metabolic Pathways during Pollen-Pistil Interactions in Arabidopsis. *Plant Physiology* 155, 2066–2080. <https://doi.org/10.1104/pp.110.169813>

Boisson-Dernier, A., Lituiev, D.S., Nestorova, A., Franck, C.M., Thirugnanarajah, S., Grossniklaus, U., 2013. ANXUR Receptor-Like Kinases Coordinate Cell Wall Integrity with Growth at the Pollen Tube Tip Via NADPH Oxidases. *PLOS Biology* 11, e1001719. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001719>

Boisson-Dernier, A., Roy, S., Kritsas, K., Grobei, M.A., Jaciubek, M., Schroeder, J.I., Grossniklaus, U., 2009. Disruption of the pollen-expressed FERONIA homologs ANXUR1 and ANXUR2 triggers pollen tube discharge. *Development* 136, 3279–3288. <https://doi.org/10.1242/dev.040071>

Buchanan, B.B., Gruissem, W., Jones, R.L., 2015. *Biochemistry & molecular biology of plants*, Second edition. ed. Wiley-Blackwell, American Society of Plant Biologists, Chichester, West Sussex ;

Burch-Smith, T.M., Dinesh-Kumar, S.P., 2007. The Functions of Plant TIR Domains. *Sci. STKE* 2007, pe46–pe46. <https://doi.org/10.1126/stke.4012007pe46>

Cheung, A.Y., Wang, H., Wu, H., 1995. A floral transmitting tissue-specific glycoprotein attracts pollen tubes and stimulates their growth. *Cell* 82, 383–393. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90427-1](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90427-1)

Crawford, B.C.W., Yanofsky, M.F., 2008. The Formation and Function of the Female Reproductive Tract in Flowering Plants. *Current Biology* 18, R972–R978. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.08.010>

Cyprys, P., Lindemeier, M., Sprunck, S., 2019. Gamete fusion is facilitated by two sperm cell-expressed DUF679 membrane proteins. *Nat. Plants* 5, 253–257. <https://doi.org/10.1038/s41477-019-0382-3>

Denninger, P., Bleckmann, A., Lausser, A., Vogler, F., Ott, T., Ehrhardt, D.W., Frommer, W.B., Sprunck, S., Dresselhaus, T., Grossmann, G., 2014. Male–female communication triggers calcium signatures during fertilization in Arabidopsis. *Nature Communications* 5, 4645. <https://doi.org/10.1038/ncomms5645>

- Dickinson, H.G., Elleman, C.J., Doughty, J., 2000. Pollen coatings – chimaeric genetics and new functions. *Sex Plant Reprod* 12, 302–309. <https://doi.org/10.1007/s004970050199>
- Dong, J., Kim, S.T., Lord, E.M., 2005. Plantacyanin Plays a Role in Reproduction in Arabidopsis. *Plant Physiology* 138, 778–789. <https://doi.org/10.1104/pp.105.063388>
- Doughty, J., Hedderson, F., McCubbin, A., Dickinson, H., 1993. Interaction between a coating-borne peptide of the Brassica pollen grain and stigmatic S (self-incompatibility)-locus-specific glycoproteins. *PNAS* 90, 467–471.
- Dresselhaus, T., Márton, M.L., 2009. Micropylar pollen tube guidance and burst: adapted from defense mechanisms? *Current Opinion in Plant Biology* 12, 773–780. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.09.015>
- Duan, Q., Kita, D., Johnson, E.A., Aggarwal, M., Gates, L., Wu, H.-M., Cheung, A.Y., 2014. Reactive oxygen species mediate pollen tube rupture to release sperm for fertilization in Arabidopsis. *Nature Communications* 5, 3129. <https://doi.org/10.1038/ncomms4129>
- Duan, Q., Kita, D., Li, C., Cheung, A.Y., Wu, H.-M., 2010. FERONIA receptor-like kinase regulates RHO GTPase signaling of root hair development. *PNAS* 107, 17821–17826. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005366107>
- Elleman, C.J., Dickinson, H.G., 1996. Identification of pollen components regulating pollination-specific responses in the stigmatic papillae of Brassica oleracea. *New Phytologist* 133, 197–205. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1996.tb01886.x>
- Elleman, C.J., Dickinson, H.G., 1990. The role of the exine coating in pollen–stigma interactions in Brassica oleracea L. *New Phytologist* 114, 511–518. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00419.x>
- Elleman, C.J., Dickinson, H.G., 1986. Pollen-stigma interactions in Brassica. IV. Structural reorganization in the pollen grains during hydration. *Journal of Cell Science* 80, 141–157. <https://doi.org/10.1242/jcs.80.1.141>
- Elleman, C.J., Franklin-Tong, V., Dickinson, H.G., 1992. Pollination in species with dry stigmas: the nature of the early stigmatic response and the pathway taken by pollen tubes. *New Phytologist* 121, 413–424. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1992.tb02941.x>
- Escobar-Restrepo, J.-M., Huck, N., Kessler, S., Gagliardini, V., Gheyselinck, J., Yang, W.-C., Grossniklaus, U., 2007. The FERONIA Receptor-like Kinase Mediates Male-Female Interactions During Pollen Tube Reception. *Science* 317, 656–660. <https://doi.org/10.1126/science.1143562>
- Fédry, J., Liu, Y., Péhau-Arnaudet, G., Pei, J., Li, W., Tortorici, M.A., Traincard, F., Meola, A., Bricogne, G., Grishin, N.V., Snell, W.J., Rey, F.A., Krey, T., 2017. The Ancient Gamete Fusogen HAP2 Is a Eukaryotic Class II Fusion Protein. *Cell* 168, 904-915.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.01.024>
- Fehér, A., Lajkó, D.B., 2015. Signals fly when kinases meet Rho-of-plants (ROP) small G-proteins. *Plant Science* 237, 93–107. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.05.007>
- Fiebig, A., Mayfield, J.A., Miley, N.L., Chau, S., Fischer, R.L., Preuss, D., 2000. Alterations in CER6, a Gene Identical to CUT1, Differentially Affect Long-Chain Lipid Content on the Surface of Pollen and Stems. *The Plant Cell* 12, 2001–2008. <https://doi.org/10.1105/tpc.12.10.2001>
- Galindo-Trigo, S., Blanco-Touriñán, N., A. DeFalco, T., S. Wells, E., E. Gray, J., Zipfer, C., M. Smith, L., 2020. CrRLK1L receptor-like kinases HERK1 and ANJEA are female determinants of pollen tube reception. *EMBO reports* 21, e48466. <https://doi.org/10.15252/embr.201948466>

- Ge, Z., Bergonci, T., Zhao, Y., Zou, Y., Du, S., Liu, M.-C., Luo, X., Ruan, H., García-Valencia, L.E., Zhong, S., Hou, S., Huang, Q., Lai, L., Moura, D.S., Gu, H., Dong, J., Wu, H.-M., Dresselhaus, T., Xiao, J., Cheung, A.Y., Qu, L.-J., 2017. Arabidopsis pollen tube integrity and sperm release are regulated by RALF-mediated signaling. *Science* 358, 1596–1600. <https://doi.org/10.1126/science.aao3642>
- Ge, Z., Zhao, Y., Liu, M.-C., Zhou, L.-Z., Wang, L., Zhong, S., Hou, S., Jiang, J., Liu, T., Huang, Q., Xiao, J., Gu, H., Wu, H.-M., Dong, J., Dresselhaus, T., Cheung, A.Y., Qu, L.-J., 2019. LLG2/3 Are Co-receptors in BUPS/ANX-RALF Signaling to Regulate Arabidopsis Pollen Tube Integrity. *Current Biology* 29, 3256-3265.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.08.032>
- Goring, D.R., 2018. Exocyst, exosomes, and autophagy in the regulation of Brassicaceae pollen-stigma interactions. *Journal of Experimental Botany* 69, 69–78. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx340>
- Gu, Y., Fu, Y., Dowd, P., Li, S., Vernoud, V., Gilroy, S., Yang, Z., 2005. A Rho family GTPase controls actin dynamics and tip growth via two counteracting downstream pathways in pollen tubes. *Journal of Cell Biology* 169, 127–138. <https://doi.org/10.1083/jcb.200409140>
- Hafidh, S., Honys, D., 2021. Reproduction Multitasking: The Male Gametophyte. *Annual Review of Plant Biology* 72, null. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-080620-021907>
- Hamamura, Y., Nishimaki, M., Takeuchi, H., Geitmann, A., Kurihara, D., Higashiyama, T., 2014. Live imaging of calcium spikes during double fertilization in Arabidopsis. *Nature Communications* 5, 4722. <https://doi.org/10.1038/ncomms5722>
- Hamamura, Y., Saito, C., Awai, C., Kurihara, D., Miyawaki, A., Nakagawa, T., Kanaoka, M.M., Sasaki, N., Nakano, A., Berger, F., Higashiyama, T., 2011. Live-Cell Imaging Reveals the Dynamics of Two Sperm Cells during Double Fertilization in Arabidopsis thaliana. *Current Biology* 21, 497–502. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.02.013>
- Haruta, M., Sabat, G., Stecker, K., Minkoff, B.B., Sussman, M.R., 2014. A Peptide Hormone and Its Receptor Protein Kinase Regulate Plant Cell Expansion. *Science* 343, 408–411. <https://doi.org/10.1126/science.1244454>
- Higashiyama, T., Kuroiwa, H., Kawano, S., Kuroiwa, T., 2000. Explosive Discharge of Pollen Tube Contents in *Torenia fournieri* 1. *Plant Physiology* 122, 11–14. <https://doi.org/10.1104/pp.122.1.11>
- Higashiyama, T., Kuroiwa, H., Kawano, S., Kuroiwa, T., 1998. Guidance in Vitro of the Pollen Tube to the Naked Embryo Sac of *Torenia fournieri*. *The Plant Cell* 10, 2019–2031. <https://doi.org/10.1105/tpc.10.12.2019>
- Hiscock, S.J., Bown, D., Gurr, S.J., Dickinson, H.G., 2002. Serine esterases are required for pollen tube penetration of the stigma in Brassica. *Sex Plant Reprod* 15, 65–74. <https://doi.org/10.1007/s00497-002-0143-7>
- Hiscock, S.J., Doughty, J., Willis, A.C., Dickinson, H.G., 1995. A 7-kDa pollen coating-borne peptide from Brassica napus interacts with S-locus glycoprotein and S-locus-related glycoprotein. *Planta* 196, 367–374. <https://doi.org/10.1007/BF00201397>
- Honys, D., Twell, D., 2004. Transcriptome analysis of haploid male gametophyte development in Arabidopsis. *Genome Biol* 5, R85. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-11-r85>
- Hou, Y., Guo, X., Cyprys, P., Zhang, Y., Bleckmann, A., Cai, L., Huang, Q., Luo, Y., Gu, H., Dresselhaus, T., Dong, J., Qu, L.-J., 2016. Maternal ENODLs Are Required for Pollen Tube Reception in Arabidopsis. *Current Biology* 26, 2343–2350. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.06.053>
- Hua, Z.-H., Fields, A., Kao, T., 2008. Biochemical Models for S-RNase-Based Self-Incompatibility. *Molecular Plant* 1, 575–585. <https://doi.org/10.1093/mp/ssn032>

- Huang, J., Ju, Y., Wang, X., Zhang, Q., Sodmergen, 2015. A one-step rectification of sperm cell targeting ensures the success of double fertilization. *Journal of Integrative Plant Biology* 57, 496–503. <https://doi.org/10.1111/jipb.12322>
- Huck, N., Moore, J.M., Federer, M., Grossniklaus, U., 2003. The Arabidopsis mutant *feronia* disrupts the female gametophytic control of pollen tube reception. *Development* 130, 2149–2159. <https://doi.org/10.1242/dev.00458>
- Iwano, M., Igarashi, M., Tarutani, Y., Kaothien-Nakayama, P., Nakayama, H., Moriyama, H., Yakabe, R., Entani, T., Shimosato-Asano, H., Ueki, M., Tamiya, G., Takayama, S., 2014. A Pollen Coat-Inducible Autoinhibited Ca²⁺-ATPase Expressed in Stigmatic Papilla Cells Is Required for Compatible Pollination in the Brassicaceae. *The Plant Cell* 26, 636–649. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.121350>
- Iwano, M., Ito, K., Fujii, S., Kakita, M., Asano-Shimosato, H., Igarashi, M., Kaothien-Nakayama, P., Entani, T., Kanatani, A., Takehisa, M., Tanaka, M., Komatsu, K., Shiba, H., Nagai, T., Miyawaki, A., Isogai, A., Takayama, S., 2015. Calcium signalling mediates self-incompatibility response in the Brassicaceae. *Nature Plants* 1, 1–9. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.128>
- Iwano, M., Shiba, H., Matoba, K., Miwa, T., Funato, M., Entani, T., Nakayama, P., Shimosato, H., Takaoka, A., Isogai, A., Takayama, S., 2007. Actin Dynamics in Papilla Cells of *Brassica rapa* during Self- and Cross-Pollination. *Plant Physiology* 144, 72–81. <https://doi.org/10.1104/pp.106.095273>
- Iwano, M., Shiba, H., Miwa, T., Che, F.-S., Takayama, S., Nagai, T., Miyawaki, A., Isogai, A., 2004. Ca²⁺ Dynamics in a Pollen Grain and Papilla Cell during Pollination of Arabidopsis. *Plant Physiology* 136, 3562–3571. <https://doi.org/10.1104/pp.104.046961>
- Johnson, M.A., Harper, J.F., Palanivelu, R., 2019. A Fruitful Journey: Pollen Tube Navigation from Germination to Fertilization. *Annual Review of Plant Biology* 70, 809–837. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100133>
- Kakita, M., Shimosato, H., Murase, K., Isogai, A., Takayama, S., 2007. Direct interaction between S-locus receptor kinase and M-locus protein kinase involved in Brassica self-incompatibility signaling. *Plant Biotechnology* 24, 185–190. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.24.185>
- Kandasamy, M.K., Nasrallah, J.B., Nasrallah, M.E., 1994. Pollen-pistil interactions and developmental regulation of pollen tube growth in Arabidopsis. *Development* 120, 3405–3418. <https://doi.org/10.1242/dev.120.12.3405>
- Kasahara, R.D., Maruyama, D., Hamamura, Y., Sakakibara, T., Twell, D., Higashiyama, T., 2012. Fertilization Recovery after Defective Sperm Cell Release in Arabidopsis. *Current Biology* 22, 1084–1089. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.03.069>
- Kasahara, R.D., Portereiko, M.F., Sandaklie-Nikolova, L., Rabiger, D.S., Drews, G.N., 2005. MYB98 Is Required for Pollen Tube Guidance and Synergid Cell Differentiation in Arabidopsis. *The Plant Cell* 17, 2981–2992. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.034603>
- Kessler, S.A., Shimosato-Asano, H., Keinath, N.F., Wuest, S.E., Ingram, G., Panstruga, R., Grossniklaus, U., 2010. Conserved Molecular Components for Pollen Tube Reception and Fungal Invasion. *Science* 330, 968–971. <https://doi.org/10.1126/science.1195211>
- Kim, S., Mollet, J.-C., Dong, J., Zhang, K., Park, S.-Y., Lord, E.M., 2003. Chemocyanin, a small basic protein from the lily stigma, induces pollen tube chemotropism. *PNAS* 100, 16125–16130. <https://doi.org/10.1073/pnas.2533800100>
- Kim, S.S., Grienberger, E., Lallemand, B., Colpitts, C.C., Kim, S.Y., Souza, C. de A., Geoffroy, P., Heintz, D., Krahn, D., Kaiser, M., Kombrink, E., Heitz, T., Suh, D.-Y., Legrand, M., Douglas, C.J., 2010. LAP6/POLYKETIDE SYNTHASE A and LAP5/POLYKETIDE SYNTHASE B Encode Hydroxyalkyl α -Pyrone

- Synthases Required for Pollen Development and Sporopollenin Biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell* 22, 4045–4066. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.080028>
- Kubo, K., Entani, T., Takara, A., Wang, N., Fields, A.M., Hua, Z., Toyoda, M., Kawashima, S., Ando, T., Isogai, A., Kao, T., Takayama, S., 2010. Collaborative Non-Self Recognition System in S-RNase–Based Self-Incompatibility. *Science* 330, 796–799. <https://doi.org/10.1126/science.1195243>
- Kulichová, K., Kumar, V., Steinbachová, L., Klodová, B., Timofejeva, L., Juříček, M., Honys, D., Hafidh, S.S., 2020. PRP8A and PRP8B spliceosome subunits act coordinately to control pollen tube attraction in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 147. <https://doi.org/10.1242/dev.186742>
- Lampert, D.T.A., Várnai, P., 2013. Periplasmic arabinogalactan glycoproteins act as a calcium capacitor that regulates plant growth and development. *New Phytologist* 197, 58–64. <https://doi.org/10.1111/nph.12005>
- Lavithis, M., Bhalla, P.L., 1995. Esterases in pollen and stigma of Brassica. *Sexual Plant Reprod* 8, 289–298. <https://doi.org/10.1007/BF00229386>
- Lavy, M., Bloch, D., Hazak, O., Gutman, I., Poraty, L., Sorek, N., Sternberg, H., Yalovsky, S., 2007. A Novel ROP/RAC Effector Links Cell Polarity, Root-Meristem Maintenance, and Vesicle Trafficking. *Current Biology* 17, 947–952. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.04.038>
- Leydon, A.R., Beale, K.M., Woroniecka, K., Castner, E., Chen, J., Horgan, C., Palanivelu, R., Johnson, M.A., 2013. Three MYB Transcription Factors Control Pollen Tube Differentiation Required for Sperm Release. *Current Biology* 23, 1209–1214. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.05.021>
- Leydon, A.R., Weinreb, C., Venable, E., Reinders, A., Ward, J.M., Johnson, M.A., 2017. The Molecular Dialog between Flowering Plant Reproductive Partners Defined by SNP-Informed RNA-Sequencing. *The Plant Cell* 29, 984–1006. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00816>
- Li, C., Yeh, F.-L., Cheung, A.Y., Duan, Q., Kita, D., Liu, M.-C., Maman, J., Luu, E.J., Wu, B.W., Gates, L., Jalal, M., Kwong, A., Carpenter, H., Wu, H.-M., 2015. Glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins as chaperones and co-receptors for FERONIA receptor kinase signaling in *Arabidopsis*. *eLife* 4, e06587. <https://doi.org/10.7554/eLife.06587>
- Liang, Y., Tan, Z.-M., Zhu, L., Niu, Q.-K., Zhou, J.-J., Li, M., Chen, L.-Q., Zhang, X.-Q., Ye, D., 2013. MYB97, MYB101 and MYB120 Function as Male Factors That Control Pollen Tube-Synergid Interaction in *Arabidopsis thaliana* Fertilization. *PLOS Genetics* 9, e1003933. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003933>
- Lindner, H., Kessler, S.A., Müller, L.M., Shimosato-Asano, H., Boisson-Dernier, A., Grossniklaus, U., 2015. TURAN and EVAN Mediate Pollen Tube Reception in *Arabidopsis* Synergids through Protein Glycosylation. *PLOS Biology* 13, e1002139. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002139>
- Liu, C., Shen, L., Xiao, Y., Vyshedsky, D., Peng, C., Sun, X., Liu, Z., Cheng, L., Zhang, H., Han, Z., Chai, J., Wu, H.-M., Cheung, A.Y., Li, C., 2021. Pollen PCP-B peptides unlock a stigma peptide–receptor kinase gating mechanism for pollination. *Science* 372, 171–175. <https://doi.org/10.1126/science.abc6107>
- Liu, J., Zhong, S., Guo, X., Hao, L., Wei, X., Huang, Q., Hou, Y., Shi, J., Wang, C., Gu, H., Qu, L.-J., 2013. Membrane-Bound RLCKs LIP1 and LIP2 Are Essential Male Factors Controlling Male-Female Attraction in *Arabidopsis*. *Current Biology* 23, 993–998. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.04.043>
- Liu, L., Zheng, C., Kuang, B., Wei, L., Yan, L., Wang, T., 2016. Receptor-Like Kinase RUPO Interacts with Potassium Transporters to Regulate Pollen Tube Growth and Integrity in Rice. *PLOS Genetics* 12, e1006085. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006085>

- Liu, M., Wang, Z., Hou, S., Wang, L., Huang, Q., Gu, H., Dresselhaus, T., Zhong, S., Qu, L.-J., 2021. AtLURE1/PRK6-mediated signaling promotes conspecific micropylar pollen tube guidance. *Plant Physiology* 186, 865–873. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab105>
- Liu, X., Castro, C., Wang, Y., Noble, J., Ponvert, N., Bundy, M., Hoel, C., Shpak, E., Palanivelu, R., 2016. The Role of LORELEI in Pollen Tube Reception at the Interface of the Synergid Cell and Pollen Tube Requires the Modified Eight-Cysteine Motif and the Receptor-Like Kinase FERONIA. *The Plant Cell* 28, 1035–1052. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00703>
- Luu, D.-T., Marty-Mazars, D., Trick, M., Dumas, C., Heizmann, P., 1999. Pollen–Stigma Adhesion in Brassica spp Involves SLG and SLR1 Glycoproteins. *The Plant Cell* 11, 251–262. <https://doi.org/10.1105/tpc.11.2.251>
- Maruyama, D., Hamamura, Y., Takeuchi, H., Susaki, D., Nishimaki, M., Kurihara, D., Kasahara, R.D., Higashiyama, T., 2013. Independent Control by Each Female Gamete Prevents the Attraction of Multiple Pollen Tubes. *Developmental Cell* 25, 317–323. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.03.013>
- Maruyama, D., Völz, R., Takeuchi, H., Mori, T., Igawa, T., Kurihara, D., Kawashima, T., Ueda, M., Ito, M., Umeda, M., Nishikawa, S., Groß-Hardt, R., Higashiyama, T., 2015. Rapid Elimination of the Persistent Synergid through a Cell Fusion Mechanism. *Cell* 161, 907–918. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.03.018>
- Mayfield, J.A., Preuss, D., 2000. Rapid initiation of Arabidopsis pollination requires the oleosin-domain protein GRP17. *Nature Cell Biology* 2, 128–130. <https://doi.org/10.1038/35000084>
- McInnis, S.M., Desikan, R., Hancock, J.T., Hiscock, S.J., 2006. Production of reactive oxygen species and reactive nitrogen species by angiosperm stigmas and pollen: potential signalling crosstalk? *New Phytologist* 172, 221–228. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01875.x>
- Mecchia, M.A., Santos-Fernandez, G., Duss, N.N., Somoza, S.C., Boisson-Dernier, A., Gagliardini, V., Martínez-Bernardini, A., Fabrice, T.N., Ringli, C., Muschiatti, J.P., Grossniklaus, U., 2017. RALF4/19 peptides interact with LRX proteins to control pollen tube growth in Arabidopsis. *Science* 358, 1600–1603. <https://doi.org/10.1126/science.aao5467>
- Meng, J.-G., Zhang, M.-X., Yang, W.-C., Li, H.-J., 2019. TICKET attracts pollen tubes and mediates reproductive isolation between relative species in Brassicaceae. *Sci. China Life Sci.* 62, 1413–1419. <https://doi.org/10.1007/s11427-019-9833-3>
- Michard, E., Lima, P.T., Borges, F., Silva, A.C., Portes, M.T., Carvalho, J.E., Gilliam, M., Liu, L.-H., Obermeyer, G., Feijó, J.A., 2011. Glutamate Receptor–Like Genes Form Ca²⁺ Channels in Pollen Tubes and Are Regulated by Pistil d-Serine. *Science* 332, 434–437. <https://doi.org/10.1126/science.1201101>
- Miyazaki, S., Murata, T., Sakurai-Ozato, N., Kubo, M., Demura, T., Fukuda, H., Hasebe, M., 2009. ANXUR1 and 2, Sister Genes to FERONIA/SIRENE, Are Male Factors for Coordinated Fertilization. *Current Biology* 19, 1327–1331. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.06.064>
- Mizukami, A.G., Inatsugi, R., Jiao, J., Kotake, T., Kuwata, K., Ootani, K., Okuda, S., Sankaranarayanan, S., Sato, Y., Maruyama, D., Iwai, H., Garénaux, E., Sato, C., Kitajima, K., Tsumuraya, Y., Mori, H., Yamaguchi, J., Itami, K., Sasaki, N., Higashiyama, T., 2016. The AMOR Arabinogalactan Sugar Chain Induces Pollen-Tube Competency to Respond to Ovular Guidance. *Current Biology* 26, 1091–1097. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.02.040>
- Mollet, J.-C., Leroux, C., Dardelle, F., Lehner, A., 2013. Cell Wall Composition, Biosynthesis and Remodeling during Pollen Tube Growth. *Plants* 2, 107–147. <https://doi.org/10.3390/plants2010107>

- Mori, T., Igawa, T., Tamiya, G., Miyagishima, S., Berger, F., 2014. Gamete Attachment Requires GEX2 for Successful Fertilization in Arabidopsis. *Current Biology* 24, 170–175. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.11.030>
- Moussu, S., Broyart, C., Santos-Fernandez, G., Augustin, S., Wehrle, S., Grossniklaus, U., Santiago, J., 2020. Structural basis for recognition of RALF peptides by LRX proteins during pollen tube growth. *PNAS* 117, 7494–7503. <https://doi.org/10.1073/pnas.2000100117>
- Nagahara, S., Takeuchi, H., Higashiyama, T., 2021. Polyspermy Block in the Central Cell During Double Fertilization of Arabidopsis thaliana. *Front. Plant Sci.* 0. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.588700>
- Ngo, Q.A., Vogler, H., Lituiev, D.S., Nestorova, A., Grossniklaus, U., 2014. A Calcium Dialog Mediated by the FERONIA Signal Transduction Pathway Controls Plant Sperm Delivery. *Developmental Cell* 29, 491–500. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.04.008>
- Palanivelu, R., Brass, L., Edlund, A.F., Preuss, D., 2003. Pollen Tube Growth and Guidance Is Regulated by POP2, an Arabidopsis Gene that Controls GABA Levels. *Cell* 114, 47–59. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00479-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00479-3)
- Palanivelu, R., Preuss, D., 2006. Distinct short-range ovule signals attract or repel Arabidopsis thaliana pollen tubes in vitro. *BMC Plant Biol* 6, 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-6-7>
- Pereira, A.M., Moreira, D., Coimbra, S., Masiero, S., 2021. Paving the Way for Fertilization: The Role of the Transmitting Tract. *International Journal of Molecular Sciences* 22, 2603. <https://doi.org/10.3390/ijms22052603>
- Pereira, L.G., Coimbra, S., Oliveira, H., Monteiro, L., Sottomayor, M., 2006. Expression of arabinogalactan protein genes in pollen tubes of Arabidopsis thaliana. *Planta* 223, 374–380. <https://doi.org/10.1007/s00425-005-0137-4>
- Petersen, K.B., Burd, M., 2017. Why did heterospory evolve? *Biological Reviews* 92, 1739–1754. <https://doi.org/10.1111/brv.12304>
- Piffanelli, P., Ross, J.H.E., Murphy, D.J., 1998. Biogenesis and function of the lipidic structures of pollen grains. *Sex Plant Reprod* 11, 65–80. <https://doi.org/10.1007/s004970050122>
- Preuss, D., Lemieux, B., Yen, G., Davis, R.W., 1993. A conditional sterile mutation eliminates surface components from Arabidopsis pollen and disrupts cell signaling during fertilization. *Genes Dev.* 7, 974–985. <https://doi.org/10.1101/gad.7.6.974>
- Qin, Y., Leydon, A.R., Manziello, A., Pandey, R., Mount, D., Denic, S., Vasic, B., Johnson, M.A., Palanivelu, R., 2009. Penetration of the Stigma and Style Elicits a Novel Transcriptome in Pollen Tubes, Pointing to Genes Critical for Growth in a Pistil. *PLOS Genetics* 5, e1000621. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000621>
- Qin, Y., Wysocki, R.J., Somogyi, A., Feinstein, Y., Franco, J.Y., Tsukamoto, T., Dunatunga, D., Levy, C., Smith, S., Simpson, R., Gang, D., Johnson, M.A., Palanivelu, R., 2011. Sulfenylated azadecalins act as functional mimics of a pollen germination stimulant in Arabidopsis pistils. *The Plant Journal* 68, 800–815. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04729.x>
- Reimann, R., Kah, D., Mark, C., Dettmer, J., Reimann, T.M., Gerum, R.C., Geitmann, A., Fabry, B., Dietrich, P., Kost, B., 2020. Durotropic Growth of Pollen Tubes1 [OPEN]. *Plant Physiology* 183, 558–569. <https://doi.org/10.1104/pp.19.01505>
- Rotman, N., Rozier, F., Boavida, L., Dumas, C., Berger, F., Faure, J.-E., 2003. Female Control of Male Gamete Delivery during Fertilization in Arabidopsis thaliana. *Current Biology* 13, 432–436. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(03\)00093-9](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(03)00093-9)

- Safavian, D., Goring, D.R., 2013. Secretory Activity Is Rapidly Induced in Stigmatic Papillae by Compatible Pollen, but Inhibited for Self-Incompatible Pollen in the Brassicaceae. *PLOS ONE* 8, e84286. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084286>
- Samuel, M.A., Chong, Y.T., Haasen, K.E., Aldea-Brydges, M.G., Stone, S.L., Goring, D.R., 2009. 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. *The Plant Cell* 21, 2655–2671. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.069740>
- Schopfer, C.R., Nasrallah, M.E., Nasrallah, J.B., 1999. The Male Determinant of Self-Incompatibility in Brassica. *Science* 286, 1697–1700. <https://doi.org/10.1126/science.286.5445.1697>
- Shimizu, K.K., Okada, K., 2000. Attractive and repulsive interactions between female and male gametophytes in Arabidopsis pollen tube guidance. *Development* 127, 4511–4518. <https://doi.org/10.1242/dev.127.20.4511>
- Smith, D.K., Jones, D.M., Lau, J.B.R., Cruz, E.R., Brown, E., Harper, J.F., Wallace, I.S., 2018. A Putative Protein O-Fucosyltransferase Facilitates Pollen Tube Penetration through the Stigma–Style Interface. *Plant Physiol* 176, 2804–2818. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01577>
- Sprunck, S., 2020. Twice the fun, double the trouble: gamete interactions in flowering plants. *Current Opinion in Plant Biology, Growth and development* 53, 106–116. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.11.003>
- Sprunck, S., Rademacher, S., Vogler, F., Gheyselinck, J., Grossniklaus, U., Dresselhaus, T., 2012. Egg Cell–Secreted EC1 Triggers Sperm Cell Activation During Double Fertilization. *Science* 338, 1093–1097. <https://doi.org/10.1126/science.1223944>
- Stegmann, M., Monaghan, J., Smakowska-Luzan, E., Rovenich, H., Lehner, A., Holton, N., Belkhadir, Y., Zipfel, C., 2017. The receptor kinase FER is a RALF-regulated scaffold controlling plant immune signaling. *Science* 355, 287–289. <https://doi.org/10.1126/science.aal2541>
- Stein, J.C., Howlett, B., Boyes, D.C., Nasrallah, M.E., Nasrallah, J.B., 1991. Molecular cloning of a putative receptor protein kinase gene encoded at the self-incompatibility locus of Brassica oleracea. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 88, 8816–8820. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.19.8816>
- Stone, S.L., Anderson, E.M., Mullen, R.T., Goring, D.R., 2003. ARC1 Is an E3 Ubiquitin Ligase and Promotes the Ubiquitination of Proteins during the Rejection of Self-Incompatible Brassica Pollen. *The Plant Cell* 15, 885–898. <https://doi.org/10.1105/tpc.009845>
- Sze, H., Palanivelu, R., Harper, J.F., Johnson, M.A., 2021. Holistic insights from pollen omics: co-opting stress-responsive genes and ER-mediated proteostasis for male fertility. *Plant Physiology* 187, 2361–2380. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab463>
- Takasaki, T., Hatakeyama, K., Suzuki, G., Watanabe, M., Isogai, A., Hinata, K., 2000. The S receptor kinase determines self-incompatibility in Brassica stigma. *Nature* 403, 913–916. <https://doi.org/10.1038/35002628>
- Takeuchi, H., Higashiyama, T., 2016. Tip-localized receptors control pollen tube growth and LURE sensing in Arabidopsis. *Nature* 531, 245–248. <https://doi.org/10.1038/nature17413>
- Takeuchi, H., Higashiyama, T., 2012. A Species-Specific Cluster of Defensin-Like Genes Encodes Diffusible Pollen Tube Attractants in Arabidopsis. *PLOS Biology* 10, e1001449. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001449>

- Toda, E., Ohnishi, Y., Okamoto, T., 2016. Development of Polyspermic Rice Zygotes. *Plant Physiology* 171, 206–214. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01953>
- Vogler, F., Schmalzl, C., Enghart, M., Bircheneder, M., Sprunck, S., 2014. Brassinosteroids promote *Arabidopsis* pollen germination and growth. *Plant Reprod* 27, 153–167. <https://doi.org/10.1007/s00497-014-0247-x>
- Völz, R., Heydlauff, J., Ripper, D., von Lyncker, L., Groß-Hardt, R., 2013. Ethylene Signaling Is Required for Synergid Degeneration and the Establishment of a Pollen Tube Block. *Developmental Cell* 25, 310–316. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.04.001>
- von Besser, K., Frank, A.C., Johnson, M.A., Preuss, D., 2006. *Arabidopsis* HAP2 (GCS1) is a sperm-specific gene required for pollen tube guidance and fertilization. *Development* 133, 4761–4769. <https://doi.org/10.1242/dev.02683>
- Wang, L., Clarke, L.A., Eason, R.J., Parker, C.C., Qi, B., Scott, R.J., Doughty, J., 2017. PCP-B class pollen coat proteins are key regulators of the hydration checkpoint in *Arabidopsis thaliana* pollen–stigma interactions. *New Phytologist* 213, 764–777. <https://doi.org/10.1111/nph.14162>
- Wang, L., Lv, X., Li, H., Zhang, M., Wang, H., Jin, B., Chen, T., 2013. Inhibition of Apoplastic Calmodulin Impairs Calcium Homeostasis and Cell Wall Modeling during *Cedrus deodara* Pollen Tube Growth. *PLOS ONE* 8, e55411. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055411>
- Wang, T., Liang, L., Xue, Y., Jia, P.-F., Chen, W., Zhang, M.-X., Wang, Y.-C., Li, H.-J., Yang, W.-C., 2016. A receptor heteromer mediates the male perception of female attractants in plants. *Nature* 531, 241–244. <https://doi.org/10.1038/nature16975>
- Wang, X., Bai, S.-N., 2019. Key innovations in transition from homospority to heterospority. *Plant Signal Behav* 14, 1596010. <https://doi.org/10.1080/15592324.2019.1596010>
- Wang, Y., Zhang, W.-Z., Song, L.-F., Zou, J.-J., Su, Z., Wu, W.-H., 2008. Transcriptome Analyses Show Changes in Gene Expression to Accompany Pollen Germination and Tube Growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 148, 1201–1211. <https://doi.org/10.1104/pp.108.126375>
- Wolters-Arts, M., Lush, W.M., Mariani, C., 1998. Lipids are required for directional pollen-tube growth. *Nature* 392, 818–821. <https://doi.org/10.1038/33929>
- Wu, H., Wang, H., Cheung, A.Y., 1995. A pollen tube growth stimulatory glycoprotein is deglycosylated by pollen tubes and displays a glycosylation gradient in the flower. *Cell* 82, 395–403. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90428-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90428-X)
- Yu, X., Zhang, X., Zhao, P., Peng, X., Chen, H., Bleckmann, A., Bazhenova, A., Shi, C., Dresselhaus, T., Sun, M., 2021. Fertilized egg cells secrete endopeptidases to avoid polytubey. *Nature* 592, 433–437. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03387-5>
- Žárský, V., Cvrčková, F., Potocký, M., Hála, M., 2009. Exocytosis and cell polarity in plants – exocyst and recycling domains. *New Phytologist* 183, 255–272. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02880.x>
- Zhang, J., Huang, Q., Zhong, S., Bleckmann, A., Huang, J., Guo, X., Lin, Q., Gu, H., Dong, J., Dresselhaus, T., Qu, L.-J., 2017. Sperm cells are passive cargo of the pollen tube in plant fertilization. *Nature Plants* 3, 1–5. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.79>
- Zhang, L., Huang, J., Su, S., Wei, X., Yang, L., Zhao, H., Yu, J., Wang, J., Hui, J., Hao, S., Song, S., Cao, Y., Wang, M., Zhang, Xiaowei, Zhao, Y., Wang, Z., Zeng, W., Wu, H.-M., Yuan, Y., Zhang, Xiansheng, Cheung, A.Y., Duan, Q., 2021. FERONIA receptor kinase-regulated reactive oxygen species mediate

self-incompatibility in *Brassica rapa*. *Current Biology* 31, 3004-3016.e4.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.04.060>

Zhang, X., Yang, Z., Wu, D., Yu, F., 2020. RALF–FERONIA Signaling: Linking Plant Immune Response with Cell Growth. *Plant Communications*, Special Issue on Plant-Pathogen Interactions (Organizing Editors: Paul Birch, Savithramma Dinesh-Kumar, Hui-Shan Guo, Ping He, Xin Li, Frank Takken, Yuanchao Wang) 1, 100084. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100084>

Zhong, S., Li, Ling, Wang, Z., Ge, Z., Li, Q., Bleckmann, A., Wang, J., Song, Z., Shi, Y., Liu, T., Li, Luhan, Zhou, H., Wang, Y., Zhang, L., Wu, H.-M., Lai, L., Gu, H., Dong, J., Cheung, A.Y., Dresselhaus, T., Qu, L.-J., 2022. RALF peptide signaling controls the polytubey block in *Arabidopsis*. *Science*.
<https://doi.org/10.1126/science.abl4683>

Zhong, S., Liu, M., Wang, Z., Huang, Q., Hou, S., Xu, Y.-C., Ge, Z., Song, Z., Huang, J., Qiu, X., Shi, Y., Xiao, J., Liu, P., Guo, Y.-L., Dong, J., Dresselhaus, T., Gu, H., Qu, L.-J., 2019. Cysteine-rich peptides promote interspecific genetic isolation in *Arabidopsis*. *Science* 364.
<https://doi.org/10.1126/science.aau9564>

Zhou, X., Lu, J., Zhang, Y., Guo, J., Lin, W., Van Norman, J.M., Qin, Y., Zhu, X., Yang, Z., 2021. Membrane receptor-mediated mechano-transduction maintains cell integrity during pollen tube growth within the pistil. *Developmental Cell* 56, 1030-1042.e6.
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.02.030>

Zhu, L., Chu, L.-C., Liang, Y., Zhang, X.-Q., Chen, L.-Q., Ye, D., 2018. The *Arabidopsis* CrRLK1L protein kinases BUPS1 and BUPS2 are required for normal growth of pollen tubes in the pistil. *The Plant Journal* 95, 474–486. <https://doi.org/10.1111/tpj.13963>

Zinkl, G.M., Zwiebel, B.I., Grier, D.G., Preuss, D., 1999. Pollen-stigma adhesion in *Arabidopsis*: a species-specific interaction mediated by lipophilic molecules in the pollen exine. *Development* 126, 5431–5440. <https://doi.org/10.1242/dev.126.23.5431>