

# 中国原产果梅自交亲和变异品种花粉决定基因 *SFB* 的插入突变

王培培, 侍 婷, 高志红\*, 章 镇\*, 庄维兵

(南京农业大学园艺学院, 南京 210095)

**摘 要:** 果梅是配子体自交不亲和树种, 但在长期进化过程中也出现了自交亲和品种。以果梅典型的自交不亲和品种‘南高’和自交亲和品种‘甲州小梅’为对照, 采用田间自交授粉试验对原产于中国的‘四川白梅’和‘长农 17’两个果梅品种进行了自交亲和性鉴定, 结果表明: 其自花授粉坐果率分别为 30.73% 和 16.27%, 属于自交亲和品种。进一步通过 AS-PCR 分析发现花粉 *SFB* 基因存在一段插入序列, 造成了分子水平的基因突变。推测该基因的突变使‘四川白梅’和‘长农 17’*SFB* 功能发生改变, 从而自交亲和。

**关键词:** 果梅; 自交亲和性; 鉴定; AS-PCR

**中图分类号:** S 662.4

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2012) 03-0453-08

## Insertion Mutation of Pollen *SFB* Gene in Self-compatibility of Japanese Apricot Cultivars Native to China

WANG Pei-pei, SHI Ting, GAO Zhi-hong\*, ZHANG Zhen\*, and ZHUANG Wei-bing

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) is a fruit crop with gametophytic self-incompatibility. Some self-compatible varieties appeared during long-term evolution. In this study, a typical self-incompatibility cultivar ‘Nanko’ and self-compatible cultivar ‘Koshinoume’ of Japanese apricot were taken as controls. We identified the self-compatibility of two cultivars ‘Sichuan Baimei’ and ‘Changnong 17’ native to China through field self-pollination test, the results demonstrated that the rate of fruiting set were 30.73% and 16.27%, respectively. Further analysis of AS-PCR showed that there were insertion mutation in pollen *SFB* genes of the two cultivars, which possibly resulted in self-compatibility of these two cultivars.

**Key words:** Japanese apricot; self-compatibility; identification; AS-PCR

自交不亲和性 (Self-incompatibility, SI) 是被子植物在长期进化过程中防止近交, 保持遗传变异的重要机制 (孟金陵, 1995; Kao & McCubbin, 1996)。蔷薇科植物的配子体自交不亲和基因 (Gametophytic self-incompatibility, GSI) 包括花柱决定基因 *S-RNase* (Tao et al., 1997, 1999; Ushijima

收稿日期: 2011-12-03; 修回日期: 2012-02-20

**基金项目:** 农业部公益性行业专项 (201003058); 国家自然科学基金项目 (31101526); 江苏省自然科学基金项目 (BK2011642); 江苏省园艺学优势学科建设经费项目

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: gaozhihong@njau.edu.cn, zhangzh@njau.edu.cn; Tel: 025-84395724)

et al., 1998) 和花粉决定基因 *SFB/SLF* (Entani et al., 2003; Ushijima et al., 2003; Yamane et al., 2003; Romero et al., 2004), 二者紧密连锁形成一个整体来控制配子体自交不亲和 (Ikeda et al., 2005)。

果梅 (*Prunus mume* Sieb. et Zucc) 原产于中国, 为蔷薇科配子体自交不亲和树种 (Miyake et al., 1995), 多数品种自交不亲和, 但在长期进化过程中也出现了自交亲和 (Self-incompatibility, SC) 的品种, 如日本的果梅品种 ‘龙峡小梅’ 等 (Tao et al., 2000)。在梨 (吴华清 等, 2007a, 2007b, 2008) 和樱桃 (陈晓流 等, 2004) 中也发现了自交亲和品种。据报道, 中国仅大邑白梅 31 号 (褚孟嫒, 1996) 为自交亲和品种, 因此, 对中国果梅主栽品种进行自交亲和性的鉴定显得尤为重要。

对于自交亲和性的机制目前有多种解释。

其一: 可能是花柱 *S* 基因突变, 如日本梨自交亲和品种 ‘奥噶 20 世纪’ 基因型为  $S_2S_4^{SM}$  (Stylar-part mutant, SM), 是 ‘二十世纪’  $S_2S_4$  的突变体, 其中的一个花柱基因  $S_4$  发生变异, 导致了自交亲和 (吴华清 等, 2007)。*‘凯特’* 杏的自交亲和变异也是 *S* 基因在花柱中表达的活性降低或不表达引起的 (张绍铃 等, 2001)。

其二: 花粉 *S* 基因的突变, 在桃的 3 个自交亲和品种中, 有 1 个是由于花柱 *S* 基因的突变, 另 2 个是花粉 *S* 基因的突变 (Tao et al., 2007)。现在已经证明果梅自交亲和品种有 1 个共同 *SFB<sub>f</sub>* 基因, 这个基因含有一个长 6.8 kb 的插入序列, 导致了自交亲和变异 (Tao et al., 2000)。在研究果梅 *SFB<sub>f</sub>* 型的自交亲和性的同时, Tao 等 (2002) 发现了 1 个选育株 1K0-26 自交亲和, 但是不含有 *SFB<sub>f</sub>* 基因, Yamane 等 (2009) 通过控制授粉调查 1K0-26 株系中自交不亲和反应中雌雄蕊的功能, 发现 1K0-26 株系中有一个自交亲和型的花粉突变体 *SFB<sub>3</sub>*, *SFB<sub>3</sub>* 同 *SFB<sub>f</sub>* 类似, 含有一段长 7.1 kb 的插入序列, 导致了自交亲和变异。另外染色体倍性的改变, 即正常二倍体自交不亲和植物染色体加倍后变成同源四倍体, 而导致花粉自交不亲和性功能丧失, 但不影响花柱自交不亲和功能 (de Nettancourt, 2001)。

其三: *S-RNase* 含量的多少也影响自交亲和性, 在茄子中发现 *S-RNase* 在表达上有一个阈值, *S-RNase* 在茄子不同的花柱中积累的水平不同, 且低于 68 ng 时自交亲和, 高于 160 ng 是自交不亲和 (Qin et al., 2006)。

其四, 与 *S*-locus 不连锁的其它修饰因子也与自交亲和性有关, Tsukamoto 等 (2003) 在研究矮牵牛自交亲和性时发现与 *S*-locus 不连锁的修饰因子抑制了 *S-RNase* 基因的表达, 从而发生了自交亲和突变。Wünsch 和 Hormaza (2004) 发现甜樱桃 ‘Cristobalina’ 的自交亲和性也受与 *S*-locus 不连锁的修饰因子的影响。Vilanova 等 (2006) 和 Martí 等 (2009) 报道了这种修饰因子在杏自交亲和品种中的作用。但这种修饰因子导致自交亲和的机制还不明确。

在生产过程中观察到果梅 ‘四川白梅’ 和 ‘长农 17’ 具有坐果率高的特点, 即使没有授粉树, 其坐果率也很高。

为了更好地利用这两个种质资源, 对其自交亲和特性和机制进行了系统的研究。本试验中首先通过田间授粉试验, 初步确定了两个果梅品种自交亲和, 然后用引物 S3' insR1 和 Pm-SFB-C2F 进行 AS-PCR 分析, 从分子水平上探讨其自交亲和机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

果梅试材取自南京农业大学国家果梅种质资源圃。供试果梅品种为‘四川白梅’和‘长农 17’，以典型的自交不亲和品种‘南高’( $S_7S_7$ )和自交亲和‘甲州小梅’( $S_3S_f$ ) (Tao et al., 2000; Yamane et al., 2009) 分别为阴性对照和阳性对照。

### 1.2 田间授粉试验

在果梅盛花初期进行授粉试验。采集‘四川白梅’和‘长农 17’大蕾期花蕾，剥下花药，于 25 °C 组培室内自然散粉后，采用培养基培养的方法测定花粉的活力 (Xu et al., 2010)。将散出的花粉装入花粉瓶中，置于 4 °C 冰箱内备用。

选择相同品种生长健壮短枝的大花蕾，进行自交授粉，授粉后套袋。每个品种大约授粉 200 朵花。授粉 4 周后统计自花授粉坐果率。试验重复 3 年，取平均值。

### 1.3 AS-PCR 分析

2011 年春季采集健康植株上的幼叶，洗净，称取 2 g 左右置于冻存管中，于 -70 °C 冰箱保存备用。采用改良的 CTAB 法 (王富荣 等, 2006) 提取‘四川白梅’、‘长农 17’、‘南高’和‘甲州小梅’4 个品种叶片基因组 DNA。其纯度用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测，浓度采用核酸蛋白分析仪 (微量) 测定。最后样品稀释到 60 ng ·  $\mu\text{L}^{-1}$  保存备用，短期保存置于 4 °C，长期保存置于 -70 °C 冰箱。

采用徐军霞等 (2008) 优化的 25  $\mu\text{L}$  的 AS-PCR 反应体系进行 DNA 扩增。引物序列用 Yamane 等 (2009) 设计的 PM-SFB-C2F (5'-CCTATACACATATGGAACCCA-3') 和 S3' insR1 (5'-GTTCCCAACCCAGAAGTTAC-3')，由上海捷瑞生物工程有限公司合成。PCR 扩增反应采用美国 MJ 公司生产的 PTC-100 基因扩增仪。PCR 反应程序：94 °C 预变性 3 min；然后 94 °C 30 s，56 °C 40 s，72 °C 90 s，35 个循环；最后 72 °C 延伸 10 min。

反应产物采用 1.5% 琼脂糖凝胶 EB 染色进行电泳检测，150 V 电泳 20 min。电泳结束后在上海复日科技公司生产的 FR-200 紫外透射仪上观察、拍照。

回收 PCR 产物连接到 PMD19-T (Takara) 载体 (16 °C，15 h)，然后转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态细胞，蓝白斑筛选，挑单一菌落白斑于 LB 液体培养基中摇菌，PCR 检测，测序。所有的样品测序均在上海英骏公司测序，重复测定 3 个克隆。

测序结果先在 NCBI 数据库中利用 BLAST (Altschul et al., 1997) 与已知序列进行比较，接着用 DNAMAN (Version 5.2; Lynnon Biosoft) 软件分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 自花授粉结果

两个果梅品种‘四川白梅’和‘长农 17’的花粉萌发率分别为 31.04% 和 35.40%，可以满足自花授粉试验要求 (表 1)，因此排除了由于花粉败育而自花不结实的可能性。

根据 Yaegaki 等 (2001) 和 Xu 等 (2010) 的报道, 对于果梅品种, 自交坐果率 $\geq 5\%$ 为自交亲和 (SC), 否则为自交不亲和 (SI)。

由表 1 可知, ‘四川白梅’、‘长农 17’ 自花授粉坐果率分别为 30.73%和 16.27%, 属于自交亲和品种。

表 1 果梅品种花粉萌发率和自花授粉坐果率  
Table 1 Pollen germination rate and fruit set of self-pollination of two Japanese apricot cultivars

品种 Cultivar	萌发率/% Germination rate	授粉花朵数 Pollinated flowers	坐果数 Fruited flowers	坐果率/% Fruit-set percentage
四川白梅 Sichuan Baimei	31.04	205	63	30.73
长农 17 Changnong 17	35.40	209	34	16.27

注: 自交坐果率 $\geq 5\%$ 为自交亲和, 否则为自交不亲和。  
Note: Self fruit set $\geq 5\%$  is compatible species, self fruit set  $< 5\%$  is self-incompatibility.

2.2 AS-PCR 扩增结果

利用引物 S3' insR1 和 Pm-SFB-C2F 对 ‘四川白梅’、‘长农 17’、‘南高’ 和 ‘甲州小梅’ 进行自交亲和基因的特异性 AS-PCR 扩增, 结果显示 ‘四川白梅’ 和 ‘长农 17’ 都能扩增出一个 1 000 bp 左右的 DNA 片段 (图 1), 自交亲和品种 (阳性对照) ‘甲州小梅’ 能够扩增出一个 1 000 bp 左右 DNA 片段和一条 580 bp 左右的片段, 自交不亲和品种 (阴性对照) ‘南高’ 没有扩增条带。

对扩增产物进行测序, 发现阳性对照 ‘甲州小梅’ 的 1 000 bp 左右和 580 bp 左右的 DNA 扩增片段序列分别与 *SFB<sub>3'</sub>* 和 *SFB<sub>f</sub>* 基因部分序列一致, 说明扩增条件和引物序列可以用于待测样品的分析。

将 ‘四川白梅’ 和 ‘长农 17’ 两个品种的扩增片段序列和 *SFB<sub>3'</sub>* 插入序列进行比对, 结果表明: 序列的前一部分和 *SFB<sub>3'</sub>* 的保守序列一致, 从+553 位点开始有插入序列 (图 2), 插入序列和 Yamane 等 (2009) 报道的 *SFB<sub>3'</sub>* 的部分插入序列一致, Ushijima 等 (2004) 也报道了这部分插入序列。可知 ‘四川白梅’ 和 ‘长农 17’ 都含有 *SFB<sub>3'</sub>* 基因。

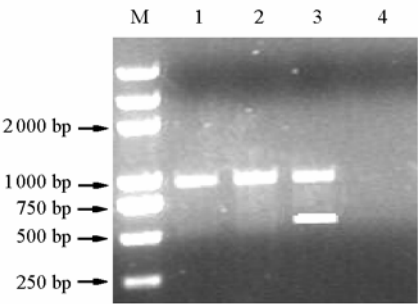


图 1 果梅品种 AS-PCR 分析

M: 2000 bp DNA ladder; 1: 四川白梅; 2: 长农 17; 3: 阳性对照; 4: 阴性对照。

Fig. 1 AS-PCR analysis of four Japanese apricot cultivars

M: 2000 bp DNA ladder; 1: Sichuan Baimei; 2: Changnong 17; 3: Positive control; 4: Negative control.

扩增序列	Amplified sequence	1	CTATACACATATGGAACCCATGACATTGACACGAGGGAAGAAAGAAATCTTAATCGAC ATGACATTGACACGAGGGAAGAAAGAAATCTTAATCGAC *****
扩增序列	Amplified sequence	61	ATCCTAGTAAGACTACCTGCAAAATCCATCGTTCGGTTTACTTGTACATGCAAGTCATGG ATCCTAGTAAGACTACCTGCAAAATCCATCGTTCGGTTTACTTGTACATGCAAGTCATGG *****
扩增序列	Amplified sequence	121	AGCGATTGATTGGCAGCTCGAGTTTGTGTCAGCACACATCTTCGTAGGAATGTCACAAAA AGCGATTGATTGGCAGCTCGAGTTTGTGTCAGCACACATCTTCGTAGGAATGTCACAAAA *****
扩增序列	Amplified sequence	181	CATGCCCATGTCTATCTACTCTGCCTCCACCACCAAGTTTGAATGTCAGGTCGACCTT CATGCCCATGTCTATCTACTCTGCCTCCACCACCAAGTTTGAATGTCAGGTCGACCTT *****
扩增序列	Amplified sequence	241	GATGACCCATATGTTGGACAAGAACTTCAATGGTCTCTTTTTCGAATGAAACATTTGAG GATGACCCATATGTTGGACAAGAACTTCAATGGTCTCTTTTTCGAATGAAACATTTGAG *****
扩增序列	Amplified sequence	301	CTGTGCTCCAAGTTAAGCCATCCCTTAGGGAGCACAGAACATTATATGATATATGGTTCA CTGTGCTCCAAGTTAAGCCATCCCTTAGGGAGCACAGAACATTATATGATATATGGTTCA *****
扩增序列	Amplified sequence	361	AGCAATGGTTTAGTTTGCATTTTCGGATGAGATACTGAATTTTGATAGTCCTATACACATA AGCAATGGTTTAGTTTGCATTTTCGGATGAGATACTGAATTTTGATAGTCCTATACACATA *****
扩增序列	Amplified sequence	421	TGGAACCCATCAATCAGGAAACTTAGGACCCCTCCACTGAGCGCAACATTAAACATTAAA TGGAACCCATCAATCAGGAAACTTAGGACCCCTCCACTGAGCGCAACATTAAACATTAAA *****
扩增序列	Amplified sequence	481	TTTAGCCATGTTGCTCTCCAGTTCGGGTTCCATCCCGGGGTTAATGACTATAAGGCAGTA TTTAGCCATGTTGCTCTCCAGTTCGGGTTCCATCCCGGGGTTAATGACTATAAGGCAGTA *****
扩增序列	Amplified sequence	541	AGGATGATGCGT AGGATGATGCGT *****
扩增序列	Amplified sequence	553	GAAGACAAGATACGTGGTTTCACCCCTTAATGAATGGGCTACGTCCACGGAGAAGTATGTT GAAGACAAGATACGTGGTTTCACCCCTTAATGAATGGGCTACGTCCACGGAGAAGTATGTT *****
扩增序列	Amplified sequence	613	CTCATTATAAATAGTGTATGATTACATTGTACATGGGGTTGGACCCGAATATAAAGATAA CTCATTATAAATAGTGTATGATTACATTGTACATGGGGTTGGACCCGAATATAAAGATAA *****
扩增序列	Amplified sequence	673	CAAGTGAGATGCCAGGTCAGGGATCTAGAAGAGAGTCCCCGGCCCTAGGGCCGGAGCTG CAAGTGAGATGCCAGGTCAGGGATCTAGAAGAGAGTCCCCGGCCCTAGGG----- *****
扩增序列	Amplified sequence	733	TAGCGAAAGCGAGTCTTCATAGGGCAATTGTCACCTGCTTATGGACCCGAACCTGGGTGAT -----
扩增序列	Amplified sequence	793	CTATCCATGACCAGGATGAAGCTTGGGTGAACTAAGTGGAGGTCCGAACCGACTGATGT -----
扩增序列	Amplified sequence	853	TGAAGAATCAGCGGATGAGTTGTGTTAGGGGTGAAATGCCACTCGAACCCAGAGCTAGC -----
扩增序列	Amplified sequence	913	TGGTTCTCCCCGAAATGCGTTGAGGCGTCCAAGGCCGAAAGGCGTAGTATTCCTGTACTA -----
扩增序列	Amplified sequence	973	CCCTTGTGTTGCCGAGGGACGGAGGAGCGCTAACTTCTGGCTAACTTCTGGGTTGGGA -----
扩增序列	Amplified sequence	1 033	AC -----

图 2 扩增序列和 *SFB*<sub>3</sub> 序列的比对以及扩增序列 (+ 553 bp 开始) 和 *SFB*<sub>3</sub> 插入序列的比对

上面和下面的黑色底纹分别是上游和下游引物; ‘\*’ 表示保守的核苷酸序列; ‘-’ 表示空缺。

Fig. 2 Comparison of the DNA sequences between the amplification sequence (a start with + 553 bp) and the inserted sequence of *SFB*<sub>3</sub>.

The above and below regions are upstream and downstream primers in black boxes.

‘\*’ and ‘-’ indicate conserved nucleotide sequence and gaps, respectively.

### 3 讨论

果梅在中国的栽培和利用已有 7 000 多年的历史,《中国果树志·梅卷》中记载有果梅品种 197 个(不包括优株和引进品种)。但由于果梅是配子体自交不亲和树种,不仅存在自花授粉不结实,还存在品种间异花授粉也不亲和的现象,导致产量不稳、品质不高等问题。并且果梅一般在早春开花,授粉会受到很多条件的限制,如人工授粉不及时、低温或昆虫传粉等,这些都会造成减产。而随着物种的进化,果梅可能出现自交亲和品种。本研究结果表明果梅在长期的进化中确实产生了自交亲和性变异,‘四川白梅’和‘长农 17’两个品种的自交亲和性的发现为果梅栽培和育种提供了理论依据。

果梅自交亲和性机理的研究近几年取得了一定的进展,随着 *SFB<sub>3'</sub>* 和 *SFB<sub>f</sub>* 两个自交亲和基因的相继发现, Yamane 等(2009)根据 *SFB<sub>3'</sub>* 和 *SFB<sub>f</sub>* 序列的保守性,以及相应插入序列的同源性设计了引物 Pm-SFB-C2F 和 S3' insR1,用于扩增两个自交亲和基因 *SFB<sub>3'</sub>* 和 *SFB<sub>f</sub>*,并通过试验验证了引物设计的正确性。本试验中正是利用这对引物初步鉴定了‘四川白梅’和‘长农 17’两个品种的自交亲和性变异的机理。

关于花粉 *SFB* 基因突变导致自交亲和性的机理,首先果梅花粉 *SFB<sub>3'</sub>* 和 *SFB<sub>f</sub>* 基因导致自交亲和的机制相同,即在 *SFB* 编码区中间都存在一段插入序列。基因 *SFB<sub>3'</sub>* 存在一段长 7.1 kb 的插入序列,使 *SFB<sub>3'</sub>* 基因编码中断,从而使 *SFB<sub>3'</sub>* 编码的假定 *SFB<sub>3'</sub>* 蛋白在 C 端缺少 105 个氨基酸残基,并含有额外的由插入序列编码的半胱氨酸残基,产生了自交亲和变异(Yamane et al., 2009)。Ushijima 等(2004)在研究甜樱桃自交亲和性时,发现与基因 *SFB<sub>4'</sub>* 比较,突变基因 *SFB<sub>4'</sub>* 高变区 HVa 的上游有一个 4 bp 的突变,导致移码,同样使转录的 *SFB<sub>4'</sub>* 缺少高变区。杏的自交亲和基因 *SFB<sub>c</sub>*,是由于 *SFB<sub>c</sub>* 基因高变区 HVa 上游有插入序列,引起转录蛋白缺少 HVa 和 HVb,导致自交亲和和突变(Vilanova et al., 2006)。

甜樱桃花粉基因 *S<sub>5'</sub>* 是 *S<sub>5</sub>* 的突变体,在 *S<sub>5'</sub>* 高变区 HVa 的上游发生碱基突变,导致编码停止,使编码的 *S<sub>5'</sub>* 缺失了两个高变区,引起自交亲和(Marchese et al., 2007)。可以看出花粉基因 *SFB<sub>3'</sub>*、*SFB<sub>f</sub>*、*SFB<sub>c</sub>*、*SFB<sub>4'</sub>* 和 *S<sub>5'</sub>* 都是因为碱基序列的插入或突变造成编码停止,导致高变区 HVa 和 HVb 的缺失,引起自交亲和性。

研究表明高变区 HVa 和 HVb 多数为 *S* 蛋白的亲水区域,蔷薇科的两个高变区均暴露在蛋白质表面(Ida et al., 2001; Matsuura et al., 2001),可能与 *S* 核酸酶的识别有关。所以花粉基因高变区 HVa 和 HVb 的缺失,可能阻碍了花粉与 *S* 核酸酶的识别,致使自交不亲和功能障碍,导致了自交亲和突变。

本试验的研究结果表明,‘四川白梅’和‘长农 17’都含有基因 *SFB<sub>3'</sub>* 的部分插入序列,推测为花粉 *SFB* 基因的插入突变造成基因失活而由自交不亲和的野生型产生了自交亲和变异。*SFB* 基因的插入突变在果梅自交不亲和突变中是一种重要的机制,是否为逆转座子插入突变,还需进一步分析。

本试验中的供试材料‘四川白梅’保存在南京农业大学国家果梅种质资源圃,最初引自四川大邑县,可能就是《中国果树志·梅卷》中记载的大邑白梅 31 号,在四川自花授粉坐果率高达 69.4%,是目前少有的自交亲和的果梅品种(褚孟娜, 1996),本研究充分证实了这一点。在下一步的中国果梅自交亲和品种的鉴定工作中,应该集中于自交亲和品种的发掘及其作用机制的研究。目前,除了

花粉突变、花柱 *S* 基因突变、修饰基因的作用等, 可能还存在其它的控制自交亲和性的基因和作用机制, 这些机制是独立作用还是共同作用导致自交亲和性还需深入研究。

## References

- Altschul S F, Madden T L, Schaffer A A, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman D L. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25: 3389 – 3402.
- Chen Xiao-liu, Shu Huai-rui, Chen Xue-sen. 2004. Studies on self-incompatibility in stone fruit trees. *Chinese Bulletin of Botany*, 21 (6): 755 – 764. (in Chinese)
- 陈晓流, 束怀瑞, 陈学森. 2004. 核果类果树自交不亲和性研究进展. *植物学通报*, 21 (6): 755 – 764.
- Chu Meng-yuan. 1996. *Chinese fruit records-Mei*. Beijing: China Forestry Publishing House. (in Chinese)
- 褚孟媛. 1996. 中国果树志. 果梅卷. 北京: 中国林业出版社.
- de Nettancourt D. 2001. Incompatibility and incongruity in wild and cultivated plants. *Burlin: Springer-Verlag*: 1 – 25.
- Entani T, Zwano M, Shiba H, Che F S, Isogai A, Takayama S. 2003. Comparative analysis of the self-in compatibility (*S*-) locus region of *Prunus mume*: Identification of a pollen-expressed F-box gene with allelic diversity. *Genes Cells*, 8: 203 – 213.
- Ida K, Norioka S, Yamamoto M, Kumasaka T, Yamashita E, Newbigin E, Clarke A E, Sakiyama F, Sato M. 2001. The 1.55 Å resolution structure of *Nicotiana glauca* SF11-RNase associated with gametophytic self-incompatibility. *J Mol Biol*, 314: 103 – 112.
- Ikeda K, Ushijima K, Yamane H, Tao R, Hauck N R, Sebolt A M, Iezzoni A F. 2005. Linkage and physical distances between the *S*-haplotype *S-RNase* and *SFB* genes in sweet cherry. *Sex Plant Reprod*, 17: 289 – 296.
- Kao T H, McCubbin A G. 1996. How flowering plants discriminate between self and non-self pollen to prevent inbreeding. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93: 12059 – 12065.
- Marchese A, Bošković R I, Caruso T, Raimondo A, Cutuli M, Tobutt K. 2007. A new self-compatibility haplotype in the sweet cherry ‘Kronio’, *S*<sub>5</sub>, attributable to a pollen-part mutation in the *SFB* gene. *J Exp Bot*, 58: 4347 – 4356.
- Marti A F, Hanada T, Alonso J M, Yamane H, Tao R, Company R S. 2009. A modifier locus affecting the expression of the *S-RNase* gene could be the cause of breakdown of self-incompatibility in almond. *Sex Plant Reprod*, 22: 179 – 186.
- Matsuura T, Sakai H, Unno M, Ida K, Sato M, Sakiyama F, Norioka S. 2001. Crystal structure at 1.5-Å resolution of *Pyrus pyrifolia* pistil ribonuclease responsible for gametophytic selfincompatibility. *J Biol Chem*, 276: 45261 – 45269.
- Meng Jin-ling. 1995. *Plant reproductive genetics*. Beijing: Science Publishing House: 214 – 296. (in Chinese)
- 孟金陵. 1995. 植物生殖遗传学. 北京: 科学出版社: 214 – 296.
- Miyake M, Yamaguchi M, Haji T. 1995. The self-compatibility in mume cultivars (in Japanese). *Japan Soc Hort Sci*, 64: 116 – 117.
- Qin X, Liu B, Soular J, Morse D, Cappadocia M. 2006. Style-by-style analysis of two sporadic self-compatible *Solanum chacoense* lines supports a principle for *S-RNase* in determining pollen refection thresholds. *Journal of Experimental Botany*, 57 (9): 2001 – 2013.
- Romero C, Vilanova S, Burgos L, Martínez-Calvo J, Vicente M, Llacer G, Badenes M L. 2004. Analysis of the *S*-locus structure in *Prunus armeniaca* L. identification of *S*-haplotype specific *S-RNase* and F-box genes. *Plant Mol Biol*, 56: 145 – 157.
- Tao R, Habu T, Namba A, Yamane H, Fuyuhiko F, Iwamoto K, Sugiura A. 2002. Inheritance of *S*<sub>F</sub>-RNase in Japanese apricot (*Prunus mume*) and its relation to self-compatibility. *Theor Appl Genet*, 105: 222 – 228.
- Tao R, Habu T, Yamane H, Sugiura A, Iwamoto K. 2000. Molecular markers for self-compatibility in Japanese apricot (*Prunus mume*). *Hort Science*, 35: 1121 – 1123.
- Tao R, Watari A, Hanada T. 2007. Self-compatible peach (*Prunus persica*) has mutant versions of the *S* haplotypes found in self-incompatible *Prunus* species. *Plant Mol Biol*, 63: 109 – 123.
- Tao R, Yamane H, Sassa H, Mori H, Gradziel T M, Dandekar A M, Sugiura A. 1997. Identification of stylar RNase associated with gametophytic self-incompatibility in almond (*Prunus dulcis*). *Plant Cell Physiol*, 38: 304 – 311.
- Tao R, Yamane H, Sugiura A, Murayama H, Sassa H, Mori H. 1999. Molecular typing of *S*-alleles through identification, characterization and cDNA cloning for *S-RNase* in sweet cherry. *Amer Soc Hort Sci*, 24: 224 – 233.

- Tsukamoto T, Ando T, Kokubun H, Watanabe H, Sato T, Masada M, Marchesi E, Kao T H. 2003. Breakdown of self-incompatibility in a natural population of *Petunia axillaris* caused by a modifier locus that suppresses the expression of an *S-RNase* gene. *Sex Plant Reprod*, 15: 255 – 263.
- Ushijima K, Sassa H, Dandekar A M, Gradziel T M, Tao R, Hirano H. 2003. Structural and transcriptional analysis of the self-incompatibility locus of almond: Identification of a pollen-expressed F-box gene with haplotype-specific polymorphism. *Plant Cell*, 15: 771 – 781.
- Ushijima K, Sassa H, Tao R, Yamane H, Dandekar A M, Gradziel T M, Hirano H. 1998. Cloning and characterization of cDNAs encoding *S-RNases* from almond (*Prunus dulcis*): Primary structural features and sequence diversity of the *S-RNase* in Rosaceae. *Mol Gen Genet*, 260: 261 – 268.
- Ushijima K, Yamane H, Watari A, Kakehi E, Ikeda K, Hauck N R, Iezzoni A F, Tao R. 2004. The *S* haplotype-specific F-box protein gene, *SFB*, is defective in self-compatible haplotypes of *Prunus avium* and *P. mume*. *Plant J*, 39: 573 – 586.
- Vilanova S, Badenes M L, Burgos L, Martínez-Calvo J, Llácer G, Romero C. 2006. Self-compatibility of two apricot selections is associated with two pollen part mutations of different nature. *Plant Physiol*, 142: 629 – 641.
- Wang Fu-rong, Tong Zhao-guo, Zhang Zhen, Chen Qing-hua, Jiang Li-jie, Zhao Jian-bo. 2006. Study on improvement of DNA extraction method using tender leaves of wild peach. *Jiangsu Agricultural Science*, 5: 66 – 69. (in Chinese)
- 王富荣, 佟兆国, 章 镇, 陈清华, 姜立杰, 赵剑波. 2006. 野生桃幼叶DNA提取方法的改良研究. *江苏农业科学*, 5: 66 – 69.
- Wu Hua-qing, Qi Yong-jie, Zhang Shao-ling. 2008. Molecular mechanism and genetic characterization of Self-compatibility in pear ‘Osa-Nijisseiki’. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (8): 1109 – 1116. (in Chinese)
- 吴华清, 齐永杰, 张绍铃. 2008. ‘奥嘎二十世纪’梨自交亲和性分子机制及遗传特性研究. *园艺学报*, 35 (8): 1109 – 1116.
- Wu Hua-qing, Heng Wei, Li Xiao, Zhang Shao-ling. 2007a. Mutational analysis of self-compatible mutant of Daguohuanghua (*Pyrus pyrifolia*). *Journal of Nanjing Agricultural University*, 30 (2): 29 – 33. (in Chinese)
- 吴华清, 衡 伟, 李 晓, 张绍铃. 2007a. 大果黄花梨自交亲和性变异机制研究. *南京农业大学学报*, 30 (2): 29 – 33.
- Wu Hua-qing, Zhang Shao-ling, Wu Ju-you, Wang Ying-tao, Wu Jun. 2007b. Mutational mechanism of self-compatible pear cultivar ‘Jinzhuli’ (*Pyrus bretschneideri*). *Acta Horticulturae Sinica*, 34 (2): 295 – 300. (in Chinese)
- 吴华清, 张绍铃, 吴巨友, 王迎涛, 吴 俊. 2007b. ‘金坠梨’自交亲和性突变机制的初步研究. *园艺学报*, 34 (2): 295 – 300.
- Wünsch A, Hormaza J I. 2004. Genetic and molecular analysis in Cristobalina sweet cherry, a spontaneous self-compatible mutant. *Sex Plant Reprod*, 17: 203 – 210.
- Xu Jun-xia, Gao Zhi-hong, Hou Ji-hua, Wang Shan, Zhang Zhen. 2008. Optimization of AS-PCR analysis system of Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc). *Jiangsu Agric.Sci*, 2: 69 – 71. (in Chinese)
- 徐军霞, 高志红, 侯计华, 王 珊, 章 镇. 2008. 果梅AS-PCR反应体系的优化. *江苏林业科技*, 2: 69 – 71.
- Xu Jun-xia, Gao Zhi-hong, Zhang Zhen. 2010. Identification of *S*-genotypes and novel *S-RNase* alleles in Japanese apricot cultivars native to China. *Scientia Horticulturae*, 123: 459 – 463.
- Yaegaki H, Shimada T, Moriguchi T, Hayama H, Ha j, Yamaguchi M. 2001. Molecular characterization of *S-RNase* genes and *S*-genotypes in the Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc). *Sex Plant Reprod*, 13: 251 – 257.
- Yamane H, Fukuta K, Matsumoto D, Hanada T, Mei G. 2009. Characterization of a novel self-compatible *S*<sup>3</sup> haplotype leads to the development of a universal PCR marker for two distinctly originated self-compatible *S* haplotypes in Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.). *J Japan Soc Hort Sci*, 78 (1): 40 – 48.
- Yamane H, Ushijima K, Sassa H, Tao R. 2003. The use of the *S* haplotype-specific F-box protein gene, *SFB* as a molecular marker for *S*-haplotypes and self-compatibility in Japanese apricot (*Prunus mume*). *Theor Appl Genet*, 107: 1357 – 1361.
- Zhang Shao-ling, Fang Jing-gui, Yang Ji-gun. 2001. Study on the genetics of fruit self-incompatibility and its physiological mechanism. *Journal of Fruit Science*, 18 (1): 49 – 52. (in Chinese)
- 张绍铃, 房经贵, 杨记碣. 2001. 果树自交不亲和性的遗传与生理机制及其研究. *果树学报*, 18 (1): 49 – 52.