

白菜 S 位点糖蛋白基因的克隆与表达分析

张爱芬^{1,2}, 李 英^{1,2*}, 刘同坤^{1,2}, 史公军^{1,2}, 侯喜林^{1,2}

(¹南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京 210095; ²南京农业大学园艺学院, 南京 210095)

摘 要: 以白菜 [*B. rassaica campestris* L. ssp. *chinensis* (L.) Makino] 自交不亲和系为材料, 采用 RT-PCR 技术, 用特异引物对 *SLG* 基因进行克隆, 获得 *SLG* 基因 cDNA 序列长度为 1 324 bp, 命名为 *BcSLG*。序列分析表明: 所获得的白菜 *BcSLG* 基因 cDNA 序列包含一完整的编码框, 编码 432 个氨基酸, 含有 12 个保守的半胱氨酸残基和 7 个 N-糖基化位点。序列比对和系统进化分析表明: *BcSLG* 与其它植物的 *SLG* 基因氨基酸序列具有较高的同源性, 与大白菜和甘蓝亲缘关系最近。荧光定量 PCR 分析表明: *BcSLG* 基因在自交不亲和系的柱头中表达量最高, 其次是花蕾, 叶片中表达最低, 在自交亲和系的柱头、花蕾和叶片中相对表达较低。

关键词: 白菜; S 位点糖蛋白基因; 荧光定量 PCR; 基因表达分析

中图分类号: S 634.3 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2009) 02-0273-06

Cloning and Expression Analysis of SLG Gene in *B. rassaica campestris* L. ssp. *chinensis* (L.) Makino

ZHANG Ai-fen^{1,2}, LI Ying^{1,2*}, LU Tong-kun^{1,2}, SHI Gong-jun^{1,2}, and HOU Xi-lin^{1,2}

(¹State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

²College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Through RT-PCR technique 1 324 bp cDNA sequence of *S* locus glycoprotein gene (*BcSLG*) was obtained from self-incompatible line with specific primers in *B. rassaica campestris* L. ssp. *chinensis* (L.) Makino. Sequence analysis indicated *BcSLG* contained one open reading frame, which encoded 432 amino acids with 12 conserved cysteine residues and 7 potential N-linked glycosylation sites. Sequence alignment and phylogenetic analysis revealed *BcSLG* had high similarity to *SLG* from other plants and had closest phylogenetic relationship to that in *B. rassaica campestris* L. and *B. rassaica oleracea* L. Real-time PCR analysis showed *BcSLG* was highly expressed in stigmas, much lower in buds and lowest in leaves of self-incompatible line. However, in self-compatible line *BcSLG* was expressed in an even lower level whether in stigmas, buds or leaves.

Key words: *B. rassaica campestris* L. ssp. *chinensis* (L.) Makino; *S* locus glycoprotein gene; real-time PCR; quantitative analysis of gene expression

植物的自交不亲和性 (self-incompatibility, SI) 是大多数高等植物防止近亲繁殖的一种遗传屏障, 对于白菜等十字花科芸薹属蔬菜杂种优势利用具有重要的作用, 因此有关自交不亲和性的研究得到了国内外学者的广泛关注。

根据 SI 表型的遗传控制方式可将 SI 分为孢子体型 (sporophytic) 和配子体型 (gametophytic) 自交不亲和 (Wheeler et al, 2001)。在单一 *S* 基因位点控制的配子体型自交不亲和反应中, 目前在分

收稿日期: 2008 - 10 - 08; 修回日期: 2008 - 12 - 18

基金项目: 教育部新世纪优秀人才支持计划项目 (NCET-07-0439); 农业部公益性行业科研专项 (nyhyzx07-007)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: yingli@njau.edu.cn)

子水平上 *S* 位点已鉴定了至少 2 个相连的基因, 即雌蕊表达的 *S-RNase* 基因 (Tao et al, 1997) 和花粉表达的 *SFB/SLF* (S-haplotype-specific F-box/S-locus F-box) 基因 (Zhang et al, 2007)。*S-RNase* 的本质是核酸酶, 能降解来自花粉的 RNA (rRNA 和 mRNA 等), 导致自交不亲和反应的发生。孢子体型自交不亲和由一个复等位基因的多态性 *S* 位点基因控制。已在 *S* 基因座上鉴定出有 3 个紧密连锁的基因参与了花粉和柱头间的相互识别, 它们是 *S* 基因座受体激酶基因 *SRK* (S locus receptor kinase)、*S* 基因座糖蛋白基因 *SLG* (S glycoprotein gene) 和花粉蛋白外壳基因 *SCR* (S locus cysteine-rich protein gene), 其中 *SLG* 和 *SRK* 为柱头表达蛋白, *SCR* 为花粉壁中存在的特异因子。当雌蕊和花粉的 *S* 基因型相同时, 花粉外壁的 *SCR* 和柱头乳突细胞表面的 *SRK* 的胞外区域发生相互作用, 结果激活了 *SRK* 的胞内丝-苏氨酸蛋白激酶区域, 导致磷酸化反应的产生, 随后的信息传递过程中也有柱头水孔蛋白、THL1 蛋白、水离子通道蛋白等的参与。这些蛋白虽然不是由 *S* 位点基因控制, 但对自交不亲和反应都具有重要作用 (Seiji & Akira, 2003; 卢军 等, 2007)。

芸薹属白菜属于孢子体型自交不亲和。*SRK* 基因是自交不亲和性的雌性专一性决定因子, 该基因 *S* 域与 *SLG* 具有较高的同源性, 虽然 *SLG* 基因在花粉拒绝反应中并非是必要的, 大白菜中甚至没有 *SLG* 基因也同样发生自交不亲和反应 (Suzuki et al, 2003), 但 *SLG* 基因的表达能增强 *SRK* 的活性, 是自交不亲和反应的辅助因子, 能增强自交不亲和反应的能力 (Takasaki et al, 2000; Silva et al, 2001), 因而对 *SLG* 基因的研究也具有重要作用。为了进一步分析 *SLG* 在 *S* 反应中的作用, 作者以白菜为材料采用 RT-PCR 技术对 *SLG* 基因进行克隆分析, 并利用荧光定量 PCR 技术从量化的角度分析 *SLG* 基因的表达。为深入研究影响自交不亲和反应的功能因子, 探讨孢子体自交不亲和途径中功能因子的相互作用机理提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为白菜 [*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* (L.) Makino] 自交不亲和系 ‘03号’ 和自交亲和系 ‘105号’, 由南京农业大学白菜课题组提供。大肠杆菌菌株 JM109, 由本实验室保存; 质粒载体 pMD18-T vector, Taq DNA 聚合酶、TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver 2.1、荧光定量试剂 SYBR *Prmix Ex Taq*TM、Agarose Gel DNA Purification kit Ver. 2.0 试剂盒等均购自 TaKaRa 公司。RNA 提取试剂盒 Simply P Total RNA Extraction kit 购自 Bioflux 公司。

1.2 亲和指数的测定

于 2008 年 3 月 10 起, 在南京农业大学江浦实验基地进行试验。从田间生长的 ‘03号’ 和 ‘105号’ 材料中各选 3 株发育健壮的植株进行单株套袋自交。开花初期每株上选 3~4 个花序, 摘除已经开放的花朵和角果, 套上硫酸纸袋, 待花期选定 3 个花序, 每个花序上 10 朵花进行自花授粉并套袋, 挂牌标记。授粉 3~4 d 后及时提袋, 等角果变黄后, 把角果连同花枝一起剪下装入纸袋内, 带回室内经风干后脱粒, 调查种子结实情况 (刘晓东 等, 2004)。亲和指数用结籽数占总授粉花数的比率表示。将花期自交亲和指数小于 0.5 的品系认定为自交不亲和品系, 大于 0.5 的为自交亲和品系。

1.3 引物设计和 RT-PCR 扩增

依据甘蓝 *SLG* 基因 cDNA 序列编码区设计特异引物, *SLGF*: 5'-ATGAAAGGCGTAAGAAAAACCTA-3'; *SLGR*: 5'-CCGTGTTTTATTTTAAAGAGAAAGAGCT-3'; 以 ‘03号’ 开花当天的柱头为材料, 用 RNA 提取试剂盒提取柱头总 RNA。以总 RNA 为模板, Oligo (dT) 18 为引物, 用反转录试剂盒合成 cDNA 的第一条链, 以 cDNA 的第一条链为模板, 利用上述引物进行扩增, PCR 反应体积为 20 μ L, 其中含有 30~50 ng 模板 cDNA, 1 μ mol \cdot L⁻¹ 引物, 200 μ mol \cdot L⁻¹ dNTPs, 10 \times PCR 缓冲液, 2.0 mmol \cdot L⁻¹ MgCl₂, 1 U Taq 酶。扩增程序为: 94 预变性 3 min; 94 变性 1 min, 55 退火 1 min;

72 延伸 1 min 30 s, 30个循环, 72 延伸 10 min。4 保存。扩增产物在 1.0%琼脂糖凝胶中进行电泳, 在 UV 凝胶成像分析系统进行拍照及分析。

1.4 目的片段的回收、克隆测序及分析

目的片段的回收按照 TaKaRa 生物公司的琼脂糖凝胶回收试剂盒的使用说明进行。回收的 DNA 片段连接到 pMD18-T载体上。连接产物转化感受态大肠杆菌 JM109, 蓝白斑筛选后, 挑取阳性克隆经菌液 PCR 鉴定正确后送上海博亚生物科技有限公司进行序列测定。相似性比较在 NCB I 站点上用 BLAST完成, 开放阅读框分析在 NCB I 站点上用 ORF finder进行, 功能位点用 InterProScan、SMART 等软件进行分析预测。

多序列比较和系统进化分析利用 DNAMAN软件完成。

1.5 荧光定量 PCR反应

以白菜 '03号' 和 '105号' 材料开花当天的柱头、花蕾、叶片为材料, 用 RNA 提取试剂盒分别提取总 RNA。

以总 RNA 为模板, Oligo (dT) 18为引物, 用反转录试剂盒合成 cDNA 的第一条链。依据已知 *BcSLG* 基因序列, 按照荧光定量 PCR 引物设计原则设计引物。正向引物为 5'-TCGGAATGACCAACAA-CA-3', 反向引物为 5'-TACACCCATTGCCCCA GA-3'。

以白菜 3-磷酸甘油醛脱氢酶基因作为内标基因, 内标基因引物为 GAPDHF/GAPDHR。GAPDHF: 5'-ACTGTCCTCGCTCCATTCG-3'。GAPDHR: 5'-AGTTTCCTTTGGGTAG-3'。反应在 Rotor-Gene 3000 荧光实时定量 PCR 仪上进行, 反应体系为 25 μ L, 方法参照 TaKaRa 公司荧光定量试剂 SYBR *Prmix Ex Taq*TM 说明书。PCR 反应热启动程序为 95 变性 2 min; 95 20 s, 52 20 s, 72 20 s, 共 40个循环; 融解曲线测定为从 65 到 95 。

每个试验设 3次重复, 数据由 Rotor-Gene 6软件分析。

2 结果与分析

2.1 亲和指数分析

通过田间观察计算开花数、花期授粉数和结籽数来分析验证单株的自交不亲和性。结果表明, 3株自交不亲和系的亲和指数分别为 0.50、0.47、0.07, 平均为 0.35, 表现为自交不亲和; 3株自交亲和系的亲和指数分别为 5.83、4.20和 3.20, 平均为 4.41, 表现为自交亲和。

2.2 *SLG* 基因 cDNA 序列的扩增和序列分析

以自交不亲和系 '03号' 材料的柱头 cDNA 为模板, 用引物 *SLGF*/*SLGR* 进行扩增, 扩增出一条约 1 400 bp 的目的条带 (图 1), 经克隆测序后所得序列长度为 1 324 bp (命名为 *BcSLG*)。

将该序列提交 GenBank 数据库, 用 NCB I 的 BLAST 软件进行核苷酸序列同源性比对, 发现与甘蓝 *SLG* 基因 (Y00268) 的相似性为 91%, 与甘蓝型油菜 *SLG* 基因 (Z11725) 的相似性达 89%, 与萝卜 *SLG* 基因 (AY527401) 的相似性为 89%。

利用 NCB I 站点的 ORF finder 进行分析发现, *BcSLG* 基因 cDNA 序列包含一个完整开放阅读框

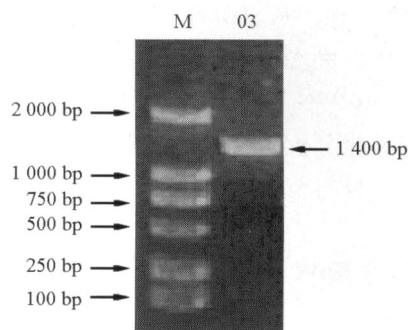


图 1 *BcSLG* 基因 PCR 扩增的电泳图

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis pattern of the gene *BcSLG* by PCR

(1~1 299 bp), 编码 432个氨基酸 (图 2)。

```

1  ATGAAAGGOGTAAGAAAAACCTACACAATCTTGACCTTGTCTTTTGTCTTGTCTTTTCGTCTTGACTCTATTTGGGCTTGCCTTT 90
   M K G V R K T Y D N S C T L S F L L V F F V L T L F R P A F
91  TCGATCAACACTTGTGTCTACAGAATCTCTTACAATCTCAAGCAACAGAACACTTGTATCTCTGGTGATGTCTTCGAGCTGGGCTTC 180
   S I N T L S S T E S L T I S S N R T L V S P G D V F E L G F
181  TTCAGAACCACTCAAGTCTCTGTGGTATCTCGGATGTGGTACAAGAAGTGTCGTCAGAACCTATGTATGGTGGCCAAACAGAGAT 270
   F R T T S S S R W Y L G M W Y K K V S V R T Y V W V A N R D
271  AACCCTCTCTCAACTCTATTGGAACCTTAAAACTCAGGCAATAATCTTGTCTCTCTGGTGACTCCAATAATCGGTTTGTGTCAGCG 360
   N P L S N S I G T L K I S G N N L V L L G D S N K S V W S T
361  AATCTTACAAGAGGAATGAGAAATCTCTCGTGGTGGCAGAGCTTCTCTAAGCAAACTTGTGATCGGAGACTCACGTGGATTCCTTG 450
   N L T R G N E K S P V V A E L L A N G N F V M R D S R G F L
451  TGGCAAAATTTGATTTCTCTACGGATCTTGTCTCCAGATATGAAATGGGTTACGACCTCAAAACAGGCTGAAACAGGTTCTTATA 540
   W Q S F D F P T D T L L P D M K L G Y D L K T G L N R F L I
541  TCATGGAGAAATTCAGATGATCCGTCAAGCGGAATTTCTGTACAAGCTTGAACCCGAAGGCTTCTTGAGTTTATCTATCAGTGGGA 630
   S W R S S D D P S S G N F S Y K L E T R R L P E F Y L S S G
631  GTTTTTCGATTCATCGAGTGGTCCATGGAATGGAATCGATTAGTGGCATACCAGAGGAACAGAGTTGAGTTACATGGTGTACAAT 720
   V F R L H R S G P W N G I R F S G I P E D Q K L S Y M V Y N
721  TTCACAGAGAATAGTGAAGAGGTCGCTTATACATTCGGAATGACCAACAACAGCATCTACTCGAGACTGACACTAGGTTTCTCAGGGGAC 810
   F T E N S E E V A Y T F G M T N N S I Y S R L T L G F S G D
811  TTTACGCGACTGACGTGGAAATCGTCAATAGGATATGATCATCTTCTGGTCTTCTCCAGTGGACTCCAGTGGCAATTCATACATGATG 900
   F Q R L T W N P S I G I W I I F W S S P V D S Q C D S Y M M
901  TGTGGGCTTACGGTTACTGTGACGTGAACACATCACGATTTGTAACTGTATCCAAGGGTTGAGACCAAGAACATGCAGCAGTGGGAT 990
   C G P Y G Y C D V N T S P I C N C I Q G F R P K N M Q Q W D
991  CAGACAGTCTGGGCAATGGGTGTATAAGGAGGACGCGCTTACGTGCAGTGAGATGGTGTACAGGATGAAGAATATGAAGTTGCCA 1 080
   Q R V W A N G C I R R T R L S C S G D G F T R M K N M K L P
1 081  GAAACTACGATGGCTATTGTTGACCCAGAAATGGTGTGAAAGAAATGTGAGAGAGGTGCTTGTGACTGTAATTGTACCGCAATTGCA 1 170
   E T T M A I V D R R I G V K E C E K R C L S D C N C T A F A
1 171  AATGCGGATATCGGAATGGTGGGACAGGTTGTGTGATTGGACAGGAGAGCTTACGATATGCGGAATTAAGTTGCTGATCAAGGTCAA 1 260
   N A D I R N G G T G C V I W T G E L D D M R N Y V A D Q G Q
1 261  GATCTTTATGTCAGATTGGCTGTGTGACCTTGTATTAGTCTCTTCTTAAATAAAACACGG
   D L Y V R L A A A D L V *

```

图 2 BcSLG 的 dNA 序列及推导的氨基酸序列

下划线区域分别为起始密码子和终止密码子。

Fig. 2 The nucleotide acid sequence and deduced amino acid sequence for BcSLG

Initial and terminal codons were underlined respectively.

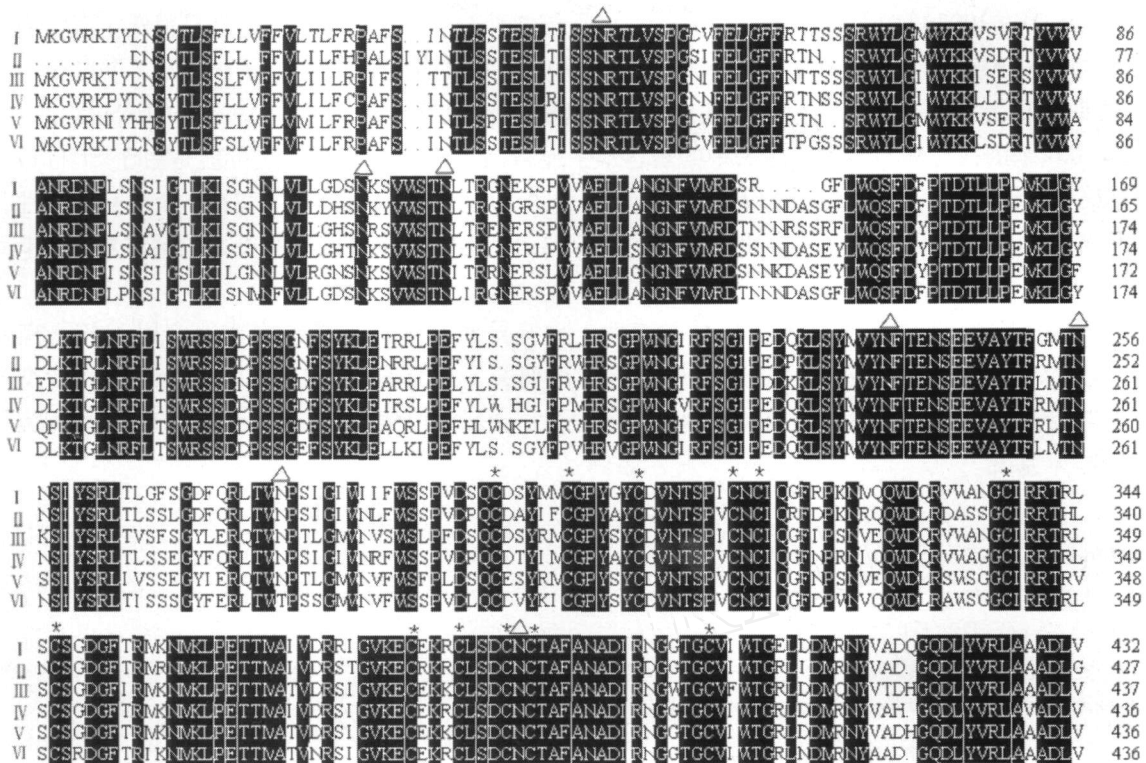
将 BcSLG 基因所编码的氨基酸序列进一步进行功能位点分析发现 C 端含有 12 个保守的半胱氨酸残基和 7 个 N-糖基化位点, N 端为疏水区, 1~31 个氨基酸为信号肽。与其他植物 SLG 氨基酸序列进行比对发现, BcSLG 基因与甘蓝 (Y00268)、萝卜 (AY527401)、大白菜 (D85221)、芜菁 (AB012105) 和甘蓝型油菜 (Z11725) 的 SLG 基因同源性较高, 分别具有 86.5%、84.67%、84.28%、80.37% 和 82.61% 的序列相似性 (图 3)。

系统进化分析结果 (图 4) 表明, 白菜与大白菜亲缘关系最近, 最先聚类合并在一起, 接着又与甘蓝聚类, 再与萝卜聚类, 甘蓝型油菜和芜菁聚为一类, 与甘蓝型油菜和芜菁亲缘关系相对较远, 最后聚类。

2.3 荧光定量 PCR 分析

如图 5 所示, BcSLG 基因的表达在不同材料的不同组织中存在显著的差异, 在自交不亲和系的柱头中表达量最高, 达到了自交亲和系柱头的 23 倍, 花蕾中 BcSLG 基因的表达量仅次于柱头, 叶片中最低。

在自交亲和系的柱头、花蕾和叶片中 BcSLG 基因的表达量都相对较低, 其中柱头和花蕾的表达量基本相同, 叶片中最低。从而也说明 BcSLG 基因主要在自交不亲和系的生殖器官, 尤其是在雌蕊柱头中高度表达, 且在营养器官叶片中也有微量表达。

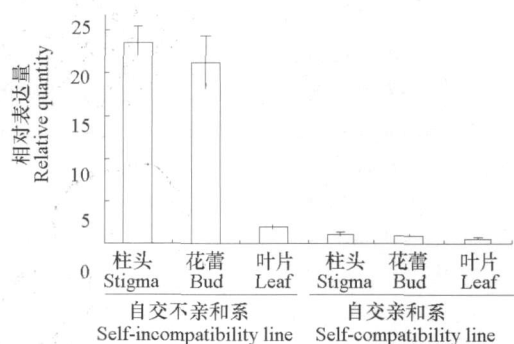
图3 不同植物 *SLG* 氨基酸序列比较

带星号的氨基酸为半胱氨酸残基, 带三角形的氨基酸为 N-糖基化位点。

Fig. 3 Alignment of amino acid sequences of *SLG* gene from different plants

Asterisks indicate conserved cysteine residues, triangles indicate N-linked glycosylation sites.

- I: 白菜 *Brassica campestris* L. ssp. *chinensis*; II: 大白菜 *Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis* (D85221);
 III: 甘蓝型油菜 *Brassica napus* L. (Z11725); IV: 甘蓝 *Brassica oleracea* L. (Y00268);
 V: 芜菁 *Brassica campestris* L. ssp. *rapifera* (AB012105); VI: 萝卜 *Raphanus sativus* L. (AY527401).

图4 不同物种 *SLG* 氨基酸序列的系统树分析Fig. 4 Phylogenetic tree of the deduced amino acid sequence of *SLG* in different species图5 不同组织中 *BcSLG* 基因的相对表达量Fig. 5 Relative expression of the gene *SLG* in different tissues

3 讨论

本研究从白菜中克隆的 *BcSLG* 基因序列编码 432 个氨基酸。该基因编码一个分泌型的糖蛋白, 该蛋白具有 12 个保守的半胱氨酸残基 (Takayama et al, 1987)。不同物种中 *SLG* 基因核苷酸序列有所差异, 在氨基酸序列上体现 2% ~ 40% 的差异 (Nishio & Kusaba, 2000)。

Gaude等 (1993) 曾在甘蓝突变体试验中发现自交不亲和植株的 *SLG* 表达水平很低, 而自交亲和突变体的 *SLG* 表达水平则很高。Watanabe等 (1997) 在大白菜免疫印迹试验中发现 3 个自交亲和植株中柱头 *SLG* 蛋白的含量低于不亲和植株。本研究的结论与 Watanabe等 (1997) 的试验结果相符, 白菜 *BcSLG* 基因在自交不亲和系柱头中的表达水平显著高于自交亲和系, 这可能是由于 SI 材料柱头中 *BcSLG* 基因的高度表达增强了 *SRK* 基因的生理活性, 从而间接地增加了植株的自交不亲和性, 但这种增强作用的机理仍需进一步的研究。而且 *SLG* 的表达可能与多种因素有关, 包括材料、S 单元型的不同以及 S 单元型的类型等。

实时荧光定量 PCR 技术由于具有高准确性、高特异性等优点越来越广泛地应用于各研究领域 (彭书明等, 2006)。本研究利用荧光定量 PCR 方法研究了自交不亲和相关 *SLG* 基因在白菜自交不亲和系和自交亲和系不同组织中的相对表达差异, 为下一步研究白菜中其它自交不亲和功能基因提供了经验和基础。

References

- Gaude T, Friry A, Heizmann P, Nariac C, Rougier N, Dumas C. 1993. Expression of a self-incompatibility gene in a self-compatibility line of *B. nassica oleracea*. *Plant Cell*, 5: 57 - 86.
- Liu Xiao-dong, Mu Jin-gui, Liu Xue-min, Wang Ming-qiu, Wang Yu-hai. 2004. Studies on autogamy anability index and it's change on different parts of Chinese cabbage at flowering period. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 8 (4): 34 - 36. (in Chinese)
- 刘晓东, 牟金贵, 刘学岷, 王明秋, 王玉海. 2004. 大白菜花期自交亲和指数测定及不同部位亲和性的变化. *河北农业科学*, 8 (4): 34 - 36.
- Lu Jun, Li Le-yu, Chen Xiao-dan, Zhu Li-quan, Wang Xiao-jia. 2007. Progress on functional factors of self-incompatibility and molecular mechanism in *B. nassica*. *Guangxi Agriculture Sciences*, 38 (6): 601 - 605. (in Chinese)
- 卢 军, 李乐玉, 陈晓丹, 朱利泉, 王小佳. 2007. 芸薹属自交不亲和功能因子及分子机制研究进展. *广西农业科学*, 38 (6): 601 - 605.
- Nishio T, Kusaba M. 2000. Sequence diversity of *SLG* and *SRK* in *B. nassica oleracea*. *Annals of Botany*, 85: 141 - 146.
- Peng Shu-ming, Tang Lin, Ye Yang, Fan Zhe-ren, Liu Yan-jun, Chen Fang. 2006. Studies on tissue-specific expression of bitter melon *BAG* gene. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (5): 1007 - 1010. (in Chinese)
- 彭书明, 唐 琳, 叶 杨, 樊哲仁, 刘彦君, 陈 放. 2006. 苦瓜 *BAG* 基因组织特异性表达研究. *园艺学报*, 33 (5): 1007 - 1010.
- Seiji T, Akira I. 2003. Molecular mechanism of self-recognition in *B. nassica* self-incompatibility. *Journal of Experimental Botany*, 54 (380): 149 - 156.
- Silva N F, Stone S L, Christie L N, Sulaman W, Nazarian K A P, Bumett L A, Arnoldo M A, Rothstein S J, Goring D R. 2001. Expression of the S receptor kinase in self-compatible *B. nassica napus* cv. Westar leads to the allele-specific rejection of self-incompatible *B. nassica napus* pollen. *Molecular Genetics and Genomics*, 265: 552 - 559.
- Suzuki G, Kakizaki T, Takada Y, Shiba H, Takayama S, Isogai A, Watanabe M. 2003. The S haplotypes lacking *SLG* in the genome of *B. nassica rapa*. *Plant Cell Rep*, 21: 911 - 915.
- Takasaki T, Hatakeyama K, Suzuki G, Watanabe M, Akira I, Kokichi H. 2000. The S receptor kinase determines self-incompatibility in *B. nassica stigma*. *Nature*, 403: 913 - 916.
- Takayama S, Isogai A, Tsukamoto C, Ueda Y, Hinata K, Okazaki K, Suzuki A. 1987. Sequences of S-glycoproteins, products of the *B. nassica campestris* self-incompatibility locus. *Nature*, 326: 102 - 105.
- Tao R, Yamane H, Sassa H, Mori H, Gradziel T M, Dandekar A M, Sugiura A. 1997. Identification of stylar RNases associated with gametophytic self-incompatibility in almond (*P. nuss dulcis*). *Plant Cell Physio*, 38 (3): 304 - 311.
- Watanabe M, Ono T, Hatakeyama K, Takayama S, Isogai A, Hinata K. 1997. Molecular characterization of *SLG* and S-related genes in a self-compatible *B. nassica campestris* L. var. yellow sarson. *Sex Plant Reprod*, 10: 332 - 340.
- Wheeler M J, Franklin-Tong V E, Franklin F C H. 2001. The molecular and genetic basis of pollen-pistil interaction. *New Phytol*, 151 (3): 565 - 584.
- Zhang S L, Huang S X, Kitashiba H, Nishio T. 2007. Identification of S-haplotype-specific *F-box* gene in Japanese plum (*P. nuss salicina* Lindl.). *Sex Plant Reprod*, 20: 1 - 8.