

文章编号:1001-1498(2014)06-0860-06

蔷薇科 S-RNase 基因型鉴定引物在 仁用杏基因组中的通用性分析

刘梦培, 乌云塔娜, 朱高浦, 赵 罕, 杜红岩*

(中国林业科学研究院经济林研究开发中心; 国家林业局泡桐研究开发中心, 河南 郑州 450003)

关键词: 蔷薇科; S-RNase 基因; 仁用杏

中图分类号: S722.3

文献标识码: A

Transferability of S-RNase Genotype Identification Primers from Rosaceae to Kernel-apricot

LIU Meng-pei, WUYUN Tana, ZHU Gao-pu, ZHAO Han, DU Hong-yan

(Non-timber Forestry Research and Development Center, Chinese Academy of Forestry,
China Paulownia Research and Development Center, Zhengzhou 450003, He'nan, China)

Abstract: The transferability of 53 pairs of self-incompatible S-RNase genotype identification primers from Rosaceae to kernel-apricot was analyzed in order to provide theoretical reference for S-RNase genotype identification and cross breeding work of kernel-apricot. The results showed that only 12 out of 53 primers had good transferability in kernel-apricot which could be used in S-RNase genotype identification. There was a higher transferability in kernel-apricot of Prunoideae than Maloideae, but the highest was in *Armeniaca*.

Key words: Rosaceae; S-RNase genes; kernel-apricot

仁用杏为我国六大木本粮油战略性树种之一,是“三北”地区适应性最强、发展潜力最大的重要生态经济树种之一,被誉为“铁杆庄稼”,其抗逆性强,也是集抗旱、抗寒(可低至 -35°C)、抗风沙为一体的“先锋”树种。杏仁油中不饱和脂肪酸含量95%左右,其中单不饱和脂肪酸——油酸含量在70%以上,与橄榄油相近,富含丰富的蛋白质、不饱和脂肪酸、维生素、无机盐、膳食纤维及人体所需的微量元素,而且杏仁油还含有一定的异油酸,具有降血脂、调节血压、辅助治疗心脑血管疾病功效^[1-2],苦杏仁甙更是公认的天然抗癌活性物质^[3-4]。可见,仁用杏蕴藏着巨大的产品开发潜力,应用前景十分广阔^[5-7]。

自交不亲和是植物防止自交衰退的一种有效途径,这种生存方式给果树育种和生产带来了极大不便。果园生产中必须为主栽品种配置授粉树才能获得高产和稳产。因此,果树自交不亲和现象的研究对于果树育种和生产具有重要的意义。目前利用分子生物学技术来研究果树自交不亲和已成为当前国际上植物分子生物学研究的热点之一。仁用杏自交不亲和机制与蔷薇科植物中其它果树一样,属于配子体自交不亲和系统,受一个具有复等位基因的S-基因位点控制。S-基因位点至少包括两个基因:一个是雌蕊S-基因,它在花柱中特异表达,决定着雌蕊自交不亲和反应,其编码产物为S糖蛋白,具有RNase活性,因而称为S-RNase^[8-9];另一个是花粉

收稿日期: 2014-02-08

基金项目: 国家科技支撑计划“经济林高效生产关键技术研究示范(2013BAD14B00)”项目“仁用杏和巴旦杏高效生产关键技术研究示范(2013BAD14B02)”

作者简介: 刘梦培(1984—),女,汉族,河北邢台人,在读博士,从事经济林育种与栽培研究。E-mail: mengpei0402@163.com

* 通讯作者: 研究员,博士生导师。从事经济林栽培与综合利用。E-mail: dhy515@126.com

S-基因,其蛋白产物是一种 F-box 蛋白,称为 SFB 或 SLF^[10-14]。目前杏雌蕊自交不亲和 S-RNase 基因型鉴定已开展了一系列研究^[15-21],但可利用的引物较少,从而鉴定的品种少,且主要局限在鲜食杏,仁用杏相关研究少。因此,本研究拟通过 53 对蔷薇科自交不亲和 S-RNase 基因型鉴定引物在 96 份仁用杏优良品种或单株上的扩增,检测蔷薇科 S-RNase 基因型鉴定引物在仁用杏基因组中的通用性,并筛选出适合仁用杏 S-RNase 基因型鉴定的最佳引物,为其杂交育种工作和新品种选育提供技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料

96 份仁用杏实验材料,其中甜仁 28 份,包括龙

王帽、优一、白玉扁、超仁、油仁、丰仁等,主要来源于河北省张家口涿鹿县;苦仁 68 份,主要是从内蒙古自治区 12 个种源筛选出的优质高产西伯利亚杏优株。

1.2 DNA 提取和 S-RNase 基因型鉴定引物的筛选

DNA 提取采用 TIANGEN 新型植物基因组 DNA 提取试剂盒,操作步骤见试剂盒说明。

53 对 S-RNase 基因型鉴定的引物来源于蔷薇科苹果、李、梨、杏等成功应用的引物(见表 1)。首先将 53 对引物在 12 个仁用杏样品(4 个甜仁和 8 个苦仁)上进行扩增筛选,将扩增成功的引物再次在 96 份仁用杏样品进行扩增筛选。

表 1 53 对 S-RNase 基因型鉴定引物的名称及来源

引物名称	来源	参考文献	引物名称	来源	参考文献	引物名称	来源	参考文献
P28			IDfw			Mds9F		
P29			IDbk			Mds9R		
P28			IZ2			Mds19F		
P30			IZ5			Mds19R		
PC2FD			PRU-C2			Mds1spF		
PC3RD			IFbk			Mds1spR		
P37			IGfw			Mds2spF		
P36	李亚科李属	李洪果, 2010 ^[22]	IGbk			Mds2spR		
PF-h			IHfw			Mds3spF		
PR-h			Ihbk			Mds3spR		
PF-e			Iifw	李亚科李属	Sapir <i>et al</i> , 2008	Mds5spF		
PR-e			EM-PC5consRD			Mds5spR		
PF-b			IJfw			Mds7spF		
PR-b			IJbk			Mds7spR	苹果亚科 苹果属	Broothaerts <i>et al</i> , 2003
PF-2			IW5			Mds9spF		
PR-2			EM-PC5consRD			Mds9spR		
AS1 II	李亚科杏属	Feng <i>et al</i> , 2006 ^[17]	ILfw			FTC12		
AmyC5R			ILbk			Mds10spR		
PaCons II -F	李亚科杏属	Halász <i>et al</i> , 2005 ^[23]	IMfw			Mds19spF		
PaCons II -R			IMbk			Mds19spR		
Pru-C2	李亚科杏属	Xu <i>et al</i> , 2010 ^[24]	INfw			Mds20spF		
PCE-R			INbk			Mds20spR		
PaConsI-F	李亚科杏属	Banović <i>et al</i> , 2009 ^[25]	Pru-C2			Mds23spF		
EM-PC5consRD			Pa-C5R	李亚科 樱桃属	Gu <i>et al</i> , 2012 ^[29]	Mds23spR		
Pruc2			PMT2			Mds24spF		
Pruc4R	李亚科杏属	齐洁等, 2003 ^[26]	Pa-C3R			Mds24spR		
Pruc2			SL-T2	李亚科 樱桃属	Yamane <i>et al</i> , 2003 ^[30]	Mds26spF		
Pruc5			SL-C5R			Mds26spR		
EM-PC2consFD	李亚科李属	Sutherland <i>et al</i> , 2004 ^[27]	FTQQYQ	苹果亚科	Matsumoto <i>et al</i> , 2000 ^[31]	FTQQYQ	苹果 亚科梨属	ishimizu <i>et al</i> , 1999 ^[34]
EM-PC3consRD			anti-(1/M)IWPNV	苹果属		anti- II wpnv		
IB2			Mds2F			PF2	苹果亚 科梨属	梁文杰, 2008 ^[35]
EM-PC5consRD			Mds2R	苹果亚科	Cheng <i>et al</i> , 2006 ^[32]	anti- II wpnv		
IBfw	李亚科李属	Sapir <i>et al</i> , 2008 ^[28]	MdactF1	苹果属		FTQQYQ	苹果亚 科梨属	Gu <i>et al</i> , 2009 ^[36]
IBbk			MdactR1			anti-TIWPNV		
IZ4			Mds7F	苹果亚科	Broothaerts <i>et al</i> , 2003 ^[33]			
IZ1			Mds7R	苹果属				

PCR 反应体系总体积 20 μL , 其中 mix(购于百泰克公司) 10 μL , 上游引物 0.5 μL (浓度 10 ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)), 下游引物 0.5 μL (浓度 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), DNA 模板 1 μL (浓度 50 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) 和 ddH_2O 8 μL 。扩增程序为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 最适退火温度退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 90 s, 40 个循环, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 全自动紫外与可见分析装置拍照和分析。

1.3 数据处理

对 53 对蔷薇科 S-RNase 基因型鉴定引物在 96 份仁用杏样品上的扩增条带数, 进行统计。

2 结果与分析

2.1 S-RNase 基因型鉴定引物的初步筛选

53 对蔷薇科 S-RNase 基因型鉴定引物在 12 份

仁用杏样品(4 个甜仁和 8 个苦仁)上扩增显示(表 2), 仅有 22 对引物在 12 份仁用杏样品中扩增出条带, 其中 4 对引物仅在 1 份样品中有条带, 剩余 18 对引物扩增出样品个数在 5~11 之间, 扩增样品个数最高的引物为 Pruc2 + Pruc4R、Mds5spF + Mds5spR 和 EM-PC2consFD + EM-PC3consRD; 扩增样品个数最少的引物为 PaConsI-F + EM-PC5consRD、PMT2 + Pa-C3R、Mds20spF + Mds20spR 和 FTQQYQ + anti-II wpnv。6 对引物在 9 份样品中扩增出条带, 3 对引物在 8 份样品中扩增出条带, 2 对引物在 6 份样品中扩增出条带。另外, 我们从扩增图谱中看到, 仅有引物 EM-PC2consFD + EM-PC3consRD 有扩增出双条带的情况, 其余引物扩增出的条带均为单条带。

表 2 初步筛选的 18 对引物

引物名称	扩增出样品的个数	扩增条带	引物名称	扩增出样品的个数	扩增条带
P28	9	1	Pruc2	9	1
P29			Pruc5		
P28	9	1	EM-PC2consFD	11	其中有一个为 2 剩余为 1
P30			EM-PC3consRD		
P37	6	1	Pru-C2	8	1
P36			Pa-C5R		
PF-h	8	1	PMT2	5	1
PR-h			Pa-C3R		
AS1 II	8	1	SL-T2	9	1
AmyC5R			SL-C5R		
PaCons II -F	9	1	Mds2spF	6	1
PaCons II -R			Mds2spR		
Pru-C2	9	1	Mds5spF	11	1
PCE-R			Mds5spR		
PaConsI-F	5	1	Mds20spF	5	1
EM-PC5consRD			Mds20spR		
Pruc2	11	1	FTQQYQ	5	1
Pruc4R			anti-II wpnv		

2.2 18 对引物在 96 份仁用杏样品上的扩增

18 对引物在 96 份仁用杏样品上的扩增情况见图 1 和表 3。引物扩增出样品的总数在 7~43 份之间, 其中扩增样品总数超过 30 份的有 9 对引物, 依次是 P28 + P29、P28 + P30、PF-h + PR-h、AS1 II + AmyC5R、PaCons II -F + PaCons II -R、Pruc2 + Pruc4R、EM-PC2consFD + EM-PC3consRD、Pru-C2 + Pa-C5R 和 SL-T2 + SL-C5R; 扩增样品总数在 20~30 份之间的引物有 5 对; 扩增样品总数低于 20 份的引物有 4 对, 依次是 Pru-C2 + PCE-R、PaConsI-F + EM-PC5consRD、Mds2spF + Mds2spR 和 FTQQYQ + anti-

II wpnv。18 对引物扩增出双条带的样品个数在 0~15 份之间, 其中引物 AS1 II + AmyC5R 扩增双条带的样品数最高; 引物 Pru-C2 + PCE-R、Pru-C2 + Pa-C5R、SL-T2 + SL-C5R、Mds2spF + Mds2spR 和 Mds5spF + Mds5spR 扩增双条带的样品为 0; 扩增出双条带样品个数为 9 份、8 份、7 份、6 份、3 份和 2 份的引物个数依次为 3、3、2、1、2 和 1。引物扩增出的样品总数越高, 且扩增出的双条带品种数越多, 引物在仁用杏上的可使用性就越强。依此为依据, 最终共从蔷薇科中筛选出 12 对用于仁用杏 S-RNase 基因型鉴定的引物(表 4)。

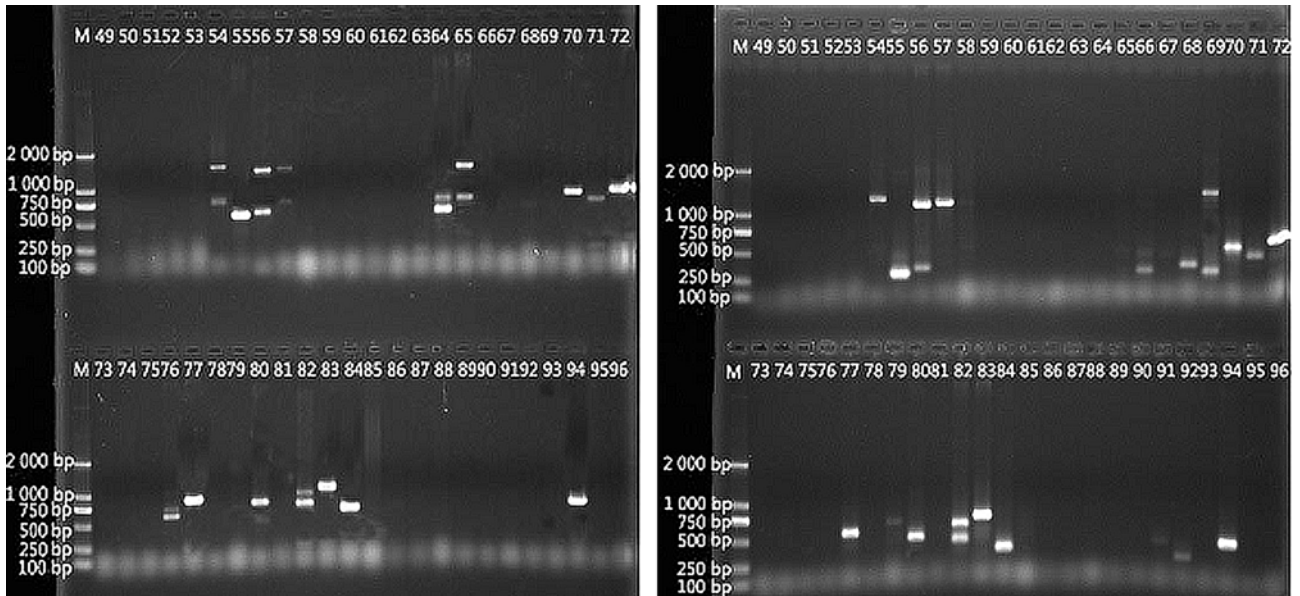


图 1 引物 PF-h + PR-h 和 EM-PC2consFD + EM-PC3consRD 在部分样品上的扩增图谱
(上图为引物 PF-h + PR-h, 下图为 EM-PC2consFD + EM-PC3consRD)

表 3 18 对引物在 96 个样品上的扩增情况

引物名称	扩增出样品的总数	双条带样品个数	引物名称	扩增出样品的总数	双条带样品个数
P28			Pruc2	28	3
P29	40	9	Pruc5		
P28			EM-PC2consFD	34	7
P30	35	8	EM-PC3consRD		
P37			Pru-C2	30	0
P36	22	3	Pa-C5R		
PF-h			PMT2	29	8
PR-h	39	9	Pa-C3R		
AS1 II			SL-T2	43	0
AmyC5R	38	10	SL-C5R		
PaCons II -F			Mds2spF	12	0
PaCons II -R	38	7	Mds2spR		
Pru-C2	7	0	Mds5spF	22	0
PCE-R			Mds5spR		
PaConsI-F			Mds20spF	25	9
EM-PC5consRD	13	2	Mds20spR		
Pruc2	35	8	FTQQYQ	17	6
Pruc4R			anti-II wpnv		

2.3 S-RNase 基因型鉴定引物的通用性分析

研究发现,53 对蔷薇科自交不亲和 S-RNase 基因型鉴定引物中,最终共筛选出 12 对引物在仁用杏扩增效果最佳。筛选出的 12 对 S-RNase 基因型鉴定引物,其中从李亚科 32 对引物中筛选出 10 对,从苹果亚科 21 对引物中筛选出 2 对。李亚科杏属 6 对引物中,筛选出 4 对;李属 23 对引物中,筛选出 5 对;樱桃属 3 对引物中,筛选出 1 对。苹果亚科苹果属 18 对引物中,筛选出 1 对;梨属 3 对引物中,筛选出 1 对(表 5)。

3 讨论

目前,杏属上自交不亲和 S-RNase 基因型鉴定多见于鲜食杏,且用于鉴定的引物较少,如乌云塔娜等^[37]利用 2 对引物(P28 + P29 和 P28 + P30)鉴定了 9 个鲜食杏 S 基因型;冯建荣等^[17]利用引物 AS1 II + AmyC5R 对 2 个高产品种‘凯特’和‘新世纪’S-RNase 进行了研究;张立杰等^[20]利用 5 对引物(EM-PC2consFD + EM-PC3consRD、Pruc2 + Pruc4R 和 PruC2 + PruC5、AS1 II + AmyC5 和 PaCons II-F + Pa-

表4 最终筛选的用于仁用杏 S-RNase 基因型鉴定的引物

引物名称	引物序列	最适退火温度/℃
P28	CTATGGCCAAGTAATTATTCAAACC	53
P29	TGTTTTGTTCCATTCCGCTTCCC	
P28	CTATGGCCAAGTAATTATTCAAACC	52
P30	TACCACTTCATGTAACAACCTGAG	
P37	CAAAATACCACCTTCATGTAACAAC	49
P36	TATTTTCAATTTGTGCAACAATGG	
PF-h	TATTTTCAATTTGTGCAACAATGG	52
PR-h	CAAAATACCACCTTCATGTAACAAC	
AS1 II	TATTTTCAATTTGTGCAACAATGG	52
AmyC5R	CAAAATACCACCTTCATGTAACAAC	
PaCons II -F	GGCCAAGTAATTATTCAAACC	52
PaCons II -R	GAWAACAAARTACCACCTTCATGTAAC	
Pruc2	CTATGGCCAAGTAATTATTCAAACC	56
Pruc4R	GGATGTGGTACGATTGAAGCG	
Pruc2	CTATGGCCAAGTAATTATTCAAACC	55
Pruc5	TACCACTTCATGTAACAACCTGAG	
EM-PC2consFD	TCACMATYCATGGCCTATGG	55
EM-PC3consRD	AWSTRCCRTGYTTGTTCCATTC	
PMT2	GCCTCTCYCATTCTGTGTATTTC	57
Pa-C3R	TTGTATCATTGCCA CTTTCCACG	
Mds20spF	GTTGTGGCCTTCAGACTCG	54
Mds20spR	GGCCAACACTTTTATTTTTCATC	
FTQQYQ	TTTACGCAGCAATATCAG	49
anti-II wpmv	AC(A/G)TTCGGCCAAATAATT	

表5 引物通用性分析

类别	引物总数	筛选引物数
李亚科—杏属	6	4
李亚科—李属	23	5
李亚科—樱桃属	3	1
苹果亚科—苹果属	18	1
苹果亚科—梨属	3	1

Cons II-R) 确定了 16 个鲜食杏品种 S-RNase 基因型;姜新等^[21]利用 3 对引物(EM-PC2consFD + EM-PC3consRD、PaCons II -F + PaCons II -R 和 PruC2 + PruC5)对 27 个南疆杏品种进行了自交不亲和 S-RNase 基因型鉴定。本研究发现,上述用于鲜食杏鉴定的 7 对引物在仁用杏鉴定中也有较好效果,另外又筛选了 5 对新的 S-RNase 用于仁用杏自交不亲和鉴定,依次是 P37 + P36、PF-h + PR-h、PMT2 + Pa-C3R、Mds20spF + Mds20spR 和 FTQQYQ + anti-II wpmv。

张绍铃等^[38]在对种内 S-RNase 氨基酸序列进行同源性的同时,对种间 S-RNase 基因序列也进行了相似性分析,发现蔷薇科果树 S-RNase 基因种间氨基酸序列同源性往往都会大于同一物种内 S-RNase 基因序列的同源性,而且还有一些种间 S-

RNase 基因对的同源性极高。另外,对李属或苹果属 S-RNase 基因进行系统树分析时,发现同一物种的 S-RNase 基因并不是聚集成同一亚科,而是随机分布于李属或苹果属 S-RNase 基因类群中^[39,40]。因此认为蔷薇科 S-RNase 基因分化在物种分化之前完成^[41]。由此可见,蔷薇科果树 S-RNase 基因鉴定引物在蔷薇科之间应该具有可转移性。本研究也证实了这一点,本研究最终筛选的 12 对最佳引物中,其中李亚科引物 10 对,苹果亚科 2 对。李亚科杏属 6 对引物中,筛选出 4 对;李属 23 对引物中,筛选出 5 对;樱桃属 3 对引物中,筛选出 1 对;苹果亚科苹果属 18 对引物中,筛选出 1 对,梨树 3 对引物中,筛选出 1 对。由此可见,蔷薇科 S-RNase 基因型鉴定引物在仁用杏上具有通用性,李亚科 S-RNase 基因型鉴定引物比苹果亚科 S-RNase 基因型鉴定引物在仁用杏上的通用性高,且杏属间的通用性更高。

目前国内的仁用杏品种 S-RNase 基因型的鉴定仍存在滞后,尤其国内自己培育的品种,尚缺乏深入的研究。该研究有助于我们对国内仁用杏品种的自交不亲和 S-RNase 基因型进行有效鉴定,合理配置果园授粉品种,获得仁用杏产量的丰产稳产。另一方面,也有助于我们对仁用杏进行遗传改良,从而培育出自交亲和的新品种。

参考文献:

- [1] 李淑芳,陈晓明,郭意如. 杏仁的营养成分与功能因子[J]. 农产品加工,2001,11(4):23-24.
- [2] 王淑英,温哲屹,李慧颖. 我国甜杏仁营养成分含量分析[J]. 北京农业,2008,9:13-16.
- [3] 李科友,史清华,朱海兰. 苦杏仁主要营养成分的研究[J]. 西北农业学报,2003,12(2):119-121.
- [4] 朱文娟. 防癌治癌佳品杏仁[J]. 烹调知识,2004,12(4):10-12.
- [5] 张加延. 试论仁用杏产业化发展的几个问题[J]. 中国果树,2001,3:46-48.
- [6] 白岗栓,杜社妮,侯喜录. 白于山区仁用杏生长状况与评价[J]. 林业科学,2004,40(6):185-189.
- [7] 侯智霞,翟明普,蔡秀芝,等. 我国仁用杏生产现状分析[J]. 北方园艺,2008,2:39-41.
- [8] Mccluer B A, Haring V, Ebert P R. Style self-incompatibility gene products of *Nicotiana glauca* are ribonucleases [J]. Nature, 1989, 342: 955-957.
- [9] Sassa H, Hirano H, Ikehashi H. Self-incompatibility-related RNase in styles of Japanese pear (*Pyrus serotina* Rehd) [J]. Plant Cell Physiol, 1992, 33: 811-814.
- [10] Ushijima K, Sassa H, Dandekar A M, et al. Structural and transcriptional analysis of the self-incompatibility locus of almond: identification of a pollen-expression F-box gene with haplotype-spe-

- cific polymorphism [J]. *Plant Cell*, 2003, 15: 771 – 781.
- [11] Yamane H, Ikeda K, Ushijima K, *et al.* A pollen-expressed gene for a novel protein with an F-box motif that is very tightly linked to a gene for S-RNase in two species of cherry, *Prunus cerasus* and *P. avium* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2003, 44: 764 – 769.
- [12] Cheng J H, Bai S L, Han Z H, *et al.* Cloning and expression analysis of the self-incompatibility 9-Haplotype specific F-box genes in cherry (*Prunus Avium*) [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39 (5): 976 – 983.
- [13] Entani T, Iwano M, Shuba H, *et al.* Comparative analysis of the self-incompatibility (S-) locus region of *Prunus mume*: Identification of a pollen-expressed F-box gene with allelic diversity [J]. *Genes Cells*, 2003, 8: 203 – 213.
- [14] 刘月霞,冯建荣,王大江,等. 2个中亚杏品种自交不亲和和SFB基因的克隆及序列分析[J]. *果树学报*, 2013, 30(4): 551 – 557.
- [15] Xu J X, Gao Z H, Zhang Z. Identification of S-genotypes and novel S-RNase alleles in Japanese apricot cultivars native to China [J]. *Scientia Horticulturae*, 2010, 123: 459 – 463.
- [16] 吴俊,谷超,张绍铃,等. 11个中国杏品种S-RNase基因的检测与序列分析[J]. *南京农业大学学报*, 2008, 1(4): 37 – 42.
- [17] 冯建荣,陈学森,吴燕. 凯特与新世纪杏自交不亲和和S-RNase基因的检测及克隆[J]. *林业科学*, 2006, 42(10): 129 – 132.
- [18] Zhang L, Chen X, Chen X, *et al.* Identification of self-incompatibility (S-) genotypes of Chinese apricot cultivars [J]. *Euphytica*, 2008, 160: 241 – 248.
- [19] Yamane H, Ushijima K, Sassa H, *et al.* 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*) [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 1357 – 1361.
- [20] 张立杰. 中国杏品种S基因型的鉴定[D]. 泰安: 山东农业大学, 2007.
- [21] 姜新,曹晓艳,王大江,等. 新疆杏品种自交不亲和和S-RNase基因型的鉴定[J]. *果树学报*, 2012, 29(4): 569 – 576.
- [22] 李洪果. 李、杏、杏李S基因型确定及其在种间杂交亲本选择中的应用[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2010.
- [23] Halász J, Hegedűs A, Hermán R', *et al.* New self-incompatibility alleles in apricot (*Prunus armeniaca* L.) revealed by stylar ribonuclease assay and PCR analysis [J]. *Euphytica*, 2005, 145: 57 – 66.
- [24] Xu J X, Gao Z H, Zhang Z. Identification of S-genotypes and novel S-RNase alleles in Japanese apricot cultivars native to China [J]. *Scientia Horticulturae*, 2010, 123: 459 – 463.
- [25] Banovic B, Šurbanovski N, Konstantinovic M, *et al.* Basic RNases of wild almond (*Prunus webbii*): Cloning and characterization of six new S-RNase and one 'non-S RNase' genes [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2009, 166: 395 – 402.
- [26] 齐洁,顾曼如,束怀瑞. 杏自交不亲和和相关S-RNase基因的克隆及表达[J]. *农业生物技术学报*, 2003, 11(1): 148 – 153.
- [27] Sutherland BG, Robbins T P, Tobutt K R. Primer simplifying a range of *Prunus* S-alleles [J]. *Plant Breed*, 2004, 123: 582 – 584.
- [28] Sapir G, Stern R A, Shafir S, *et al.* S-RNase based S-genotyping of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) and its implication on the assortment of cultivar-couples in the orchard [J]. *Scientia Horticulturae*, 2008, 118: 8 – 13.
- [29] Gu C, Wu J, Zhang S J, *et al.* Characterization of the S-RNase genomic DNA allele sequence in *Prunus speciosa* and *P. pseudocerasus* [J]. *Scientia Horticulturae*, 2012, 144: 93 – 101.
- [30] Yamane H, Tao R, Mori H, *et al.* Identification of a non-S RNase, a possible ancestral form of S-RNases, in *Prunus* [J]. *Mol Genet Genomics*, 2003, 269: 90 – 100.
- [31] Matsumoto S, Kitahara K. Discovery of a new self-incompatibility allele in apple [J]. *HortScience*, 2000, 35 (7): 1329 – 1332.
- [32] Cheng J, Hall Z, Xu X, *et al.* Isolation and identification of the pollen expressed polymorphic F-box genes linked to the S-locus in apple (*Malus × domestica*) [J]. *Sexual Plant Reproduction*, 2006, 19: 175 – 183.
- [33] Broothaerts W. New findings in apple S-genotype analysis resolve previous confusion and request the re-numbering of some S-alleles [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2003, 106 (4): 703 – 714.
- [34] Ishimizu T, Inoue K, Shimonaka M, *et al.* PCR-based method for identifying the S-genotypes of Japanese pear cultivars [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98: 961 – 967.
- [35] 梁文杰,谭晓风,张琳,等. 8个中国梨品种基因型的分子鉴定[J]. *果树学报*, 2007, 24(6): 757 – 760.
- [36] Gu Q Q, Zhang Q L, Hu H J, *et al.* Identification of Self-Incompatibility Genotypes in Some Sand Pears (*Pyrus pyrifolia* Nakai) by PCR-RFLP Analysis [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2009, 8 (2): 154 – 160.
- [37] 乌云塔娜,李洪果,杜红岩,等. 中国李、杏S基因鉴定及其在远缘杂交中的应用(1)—中国杏地方品种9个新S基因的鉴定[J]. *中南林业科技大学学报*, 2011, 31(4): 90 – 96.
- [38] 张绍铃,吴巨友,吴俊,等. 蔷薇科果树自交不亲和和性分子机制研究进展[J]. *南京农业大学学报*, 2012, 35(5): 53 – 63.
- [39] Yaegaki H, Shimada T, Moriguchi T, *et al.* Molecular characterization of S-RNase genes and S-genotypes in the Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) [J]. *Sex Plant Reprod*, 2001, 13 (5): 251 – 257.
- [40] Wünsch A, Hormaza J. Genetic and molecular analysis in Cristobalina sweet cherry, a spontaneous self-compatible mutant [J]. *Sex Plant Reprod*, 2004, 17(4): 203 – 210.
- [41] Ushijima K, Sassa H, Dandekar A M, *et al.* Structural and transcriptional analysis of the self-incompatibility locus of almond: identification of a pollen-expressed F-box gene with haplotype-specific polymorphism [J]. *Plant Cell*, 2003, 15(3): 771 – 781.