

评述与展望

Review and Progress

植物孢子体型自交不亲和的分子研究进展

陈莫^{1,2} 张薇³ 胡彦如⁴ 谢世清^{1,2} 杨生超^{1,2*}

1 云南农业大学农学与生物技术学院, 昆明, 650201; 2 西南中药材种质创新与利用国家地方联合工程研究中心, 昆明, 650201; 3 红河学院, 蒙自, 661100; 4 中国科学院西双版纳热带植物园, 昆明, 650223

* 通讯作者, shengchaoyang@163.com

摘要 为避免自生花粉的受精导致物种退化, 开花植物进化出了许多的机制, 自交不亲和系统是其中的一种, 可增强植物的多样性以及对自然环境的适应能力, 有效促进杂交。根据不同的遗传方式可分为不同类型。本综述以近年来孢子体自交不亲和的研究结果为基础, 综述了孢子体型自交不亲和的分子机制, 芸薹属及芸薹属以外的植物中 S 位点与 S 位点相关基因的功能。除了芸薹属植物以外的其他植物中对孢子体型自交不亲和的研究甚是少见, 缺少全面的认识和研究, 且信号传递路径还不是完全清楚, 还需要进一步的研究。

关键词 开花植物, 孢子自交不亲和, 分子机制, S- 位点基因, S- 位点相关基因

Research Progress in Molecule of Sporophytic Self-Incompatibility in Plants

Chen Mo^{1,2} Zhang Wei³ Hu Yanru⁴ Xie Shiqing^{1,2} Yang Shengchao^{1,2*}

1 College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agriculture University, Kunming, 650201; 2 National & Local Joint Engineering Research Center on Germplasm Utilization & Innovation of Chinese Medicinal Materials in Southwest, Kunming, 650201; 3 Honghe University, Mengzi, 661100; 4 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming, 650223

* Corresponding author, shengchaoyang@163.com

DOI: 10.13271/j.mpb.015.004120

Abstract In order to avoid species degradation caused by spontaneous pollen fertilization, flowering plants evolved out of many mechanisms, self-incompatibility was one of them. It could enhance the diversity of plants and the ability to adapt to the natural environment to effectively promote hybridization. It could be divided into different types according to different genetic methods. In this review, we based on the results of study of sporophytic self-incompatibility in recent years, reviewed the molecular mechanism of sporophytic self-incompatibility, and the function of S-locus and S-locus related gene in *Brassica* and other plants. There is less studies of sporophytic self-incompatibility in plants besides *Brassica*, these studies lacked of comprehensive understanding and research, and the signal transmission path was not entirely clear, therefore it needed further study.

Keywords Flowering plant, Sporophytic Self-incompatibility, Molecular mechanism, S-locus gene, S-locus related gene

自交不亲和(self-incompatibility, SI)是指在同一时期能够正常产生花粉和雌蕊的开花植物, 当自花的花粉成熟后落到同一朵花的柱头上时, 柱头乳突细胞有效地识别自身和非自身的花粉, 最终导致自花花粉不能在柱头上萌发, 不能完成受精形成种子的现象(Iwano and Takayama, 2012)。自交不亲和可以有

效地防止自交、促进杂交, 是植物维持遗传变异和生物多样性的一个重要保证, 是植物进化适应环境的一种保护机制。由于遗传控制方式的不同分为孢子体型自交不亲和(sporophytic self-incompatibility, SSI)和配子体型自交不亲和(gametophytic Self-incompatibility, GSI)。SSI 研究主要是集中在十字花科、旋花

基金项目 本研究由国家自然科学基金项目(81160499)和 2016 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目(81503184)共同资助

引用格式 Chen M., Zhang W., Hu Y.R., Xie S.Q., and Yang S.C., 2017, Research progress in molecule of sporophytic self-Incompatibility in plants, Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding), 15(10): 4120-4126 (陈莫, 张薇, 胡彦如, 谢世清, 杨生超, 2017, 植物孢子体型自交不亲和的分子研究进展, 分子植物育种, 15(10): 4120-4126)

科、菊科等植物上,其表现型是由植株 S- 基因座上的一系列复等位基因决定。GSI 研究主要集中在茄科、蔷薇科、罂粟科等植物上。其表现型受花粉本身的单一 S- 基因控制或双基因座控制。已经阐明在分子水平 GSI 存在两种不同机制,一是主要存在于烟草中的 S-RNase 系统;二是主要存在于虞美人中的细胞程序性死亡系统。在有些植物中存在更复杂的 SI 遗传机制,烟草属,三叶草属自交不亲和受一系列复等位基因共同控制。禾本科的 SI 受 S- 和 Z-2 个位点控制的。在麝香百合中发现自交不亲和受乙酰胆碱和环化腺苷一磷酸的调控(Tezuka et al., 2007)。

1 孢子体型自交不亲和的生理、分子机理

成熟花粉散落到柱头上以后,通常都需要经历附着、吸水、萌发,花粉管伸长等一系列过程,最后才能使花粉管中的精子与卵细胞相融合。该过程中任何一个环节发生障碍,都不能完成受精,表现出自交不亲和。其中柱头上蜡质层薄膜是不亲和花粉的吸水萌发的第一层阻碍。在孢子体型自交不亲和现象中,主要由于大量的胼胝质在花粉管顶端积累,抑制了花粉管的伸长,柱头乳突细胞的壁细胞壁和质膜之间存在的胼胝质,可以有效地阻碍花粉管穿过柱头,最终授粉失败(孟金陵等, 1997, 科学出版社, pp.147)。

在芸苔属植物中,自交不亲和反应发生在柱头乳突细胞中,当不亲和的花粉粒成熟后散落到柱头乳突细胞表面上,携带有 S 配基 SCR/SP11 和外壳蛋白的花粉和柱头之间形成一层花粉外被。其上存在的 SCR 配体和柱头上的 SRK 受体存在同一 S- 基因型,两蛋白相互作用后,导致 SRK 胞内的丝氨酸-苏氨酸激酶域被激活(Naithani et al., 2007; Ivanov and Gaude, 2009),并导致下游的 ARC1 元件磷酸化。通过一系列信号级联反应,信号以磷酸化的形式传递到下游的 EXO70A1、MOD 信号元件上,成功实现对信号的调控,阻碍花粉的吸水萌发,最后导致授粉失败。

2 芸苔属的孢子体自交不亲和

2.1 S 位点基因的研究

芸苔属植物的孢子体型自交不亲和受 S 单元型控制。包括 *SRK* (S-locus receptor kinase, S- 位点受体激酶)基因、*SLG* (S-locus glycoprotein, S- 位点糖蛋白)基因, *SP11* (S-locus protein 11, S 位点蛋白 11)/*SCR*

(S-locus cysteine-rich, S 位点富半胱氨酸蛋白)其中, *SRK*、*SLG* 存在雌蕊中, *SP11*/*SCR* 存在雄蕊中。

2.1.1 S 位点雌蕊决定基因

SRK 是雌蕊的决定基因,编码一个跨越乳突细胞质膜的丝氨酸/苏氨酸受体激酶(Cabrillac et al., 2001),是柱头自交不亲和表现的唯一决定因子(Takasaki et al., 2000)。*SRK* 和柱头上的花粉决定基因 *SCR* 存在着密切的关系,编码蛋白的胞外域能够和 SCR 配体相互作用,激活自交不亲和信号的传递。研究表明 *SRKE1A* 和 *SRKE1B* 都可以和 *THL1* 结合,说明 *THL1* 与 *SRK* 相互作用与 *SRK* 激酶活性是没有关系的。两类 *SRK* 中 Cys 的保守性存在明显差异,推测 Cys 保守性可能和两种 *SRK* 亲和性的差异存在关系。

2.1.2 S 位点花粉决定基因

SP11/*SCR* 编码一个小的富半胱氨酸蛋白。*SP11* 和 *SCR* 是等位基因,和花粉外壳蛋白的相似性很高,通过转基因试验证实油菜 S9 基因型的花粉自交不亲和是由 *SP11* 基因决定的,存在于花粉外被上,编码的蛋白是唯一一个控制花粉自交不亲和表现型的决定因子(Takayama et al., 2000)。在转入了甘蓝 S6 *SCR* 的甘蓝纯合体中,发现阳性转基因植株的花粉表现出 S6 单元型的专一性。cDNA 克隆发现 *SCR* 序列具有很高多态性,在保守的 11 个氨基酸中有 8 个是半胱氨酸残基,等位基因间的相似性序列仅有 30%~42%,这与 *SCR* 在自交不亲和中等位基因专一性配体作用是相同的。此外,有研究者在一个雄性因子突变的甘蓝自交亲和和突变体中,检测到 *SCR* 没有表达,证明 *SCR* 是雄性自交不亲和的专一性决定因子。在自交不亲和反应中,*SCR* 基因编码的蛋白为花粉携带的配体,经过减数分裂,编码的亲水性多肽结合到花粉的外壳蛋白中,由花粉粒携带抵达柱头的乳突细胞壁并与 *SRK* 的胞外域特性结合,成功的激活 *SRK* 的激酶区域。从野生型芸苔属植物的 I 类 S- 单元型中克隆了 14 对等位基因并对其进行序列分析,成熟的 *SP11* 蛋白的序列是高度分散的,除了保守的半胱氨酸的存在,进化树分析表明编码雌、雄决定因子的基因可能是共同进化的(Watanabe et al., 2000)。有研究者推测在花粉细胞质膜内可能存在与柱头细胞壁上 *SRK* 相互作用的其他花粉分子,能够激活 *SRK* 的激酶结构域,再磷酸化别的蛋白。信号通过磷酸化的形式参与到植物的自交不亲和信号转导中,在柱头细胞中可能发生一种类似的机制,并产生一

种反应来抑制花粉粒的发育。

2.1.3 SLG 基因的研究

SLG 和 SRK 基因序列存在很高的同源性(Takayama et al., 2001),前期都认为 SLG 是自交不亲和的决定基因,后面证实 SLG 并不是,但是它可以促进自交不亲和反应(Takasaka et al., 2000),在自交授粉时,SLG C 端的信号肽可以引导 SCR-SLG 复合物穿过细胞间隙抵达柱头表皮细胞的细胞壁上,信号解离后复合物构象发生改变,SCR 配体特异地和柱头中同源的 SRK 的胞外域结合,激活胞内激酶活性。另外,SRK 构象受到 SLG 的影响,稳定的 SRK 构象可以使其形成二聚体处于非活性状态(Tsuchimatsu et al., 2010; B cherl et al., 2013)。

2.2 SI 相关基因的研究

和孢子体型自交不亲和相关基因包括臂重复蛋白(ARC1)、M 位点的蛋白激酶(MLPK)、exocyst 复合物(EXO70A1)、类硫氧还蛋白 h (THL1)、通道蛋白和(MOD)、钙调蛋白以及与蛋白磷酸化相关的激酶,这些因子的编码基因都和 S 位点不连锁(Gu et al., 1998; Vanoosthuysen et al., 2003; Murase et al., 2004; Kakita et al., 2007)。但在孢子体自交不亲和信号传导途径中也发挥了重要的作用。其中很多蛋白已经被证明和 SRK 激酶域可以发生互作。

2.2.1 SSI 正调控因子编码基因

ARC1 和 MLPK 在 SI 信号通路中作为 SRK 的正向调控因子,油菜的 MLPK 是一个类受体胞质激酶,和 SRK 一样存在于质膜上,MLPK 是 SI 反应必需的(Murase et al., 2004; Kakita et al., 2007)。MLPK 也可以在体外有效的使 ARC1 磷酸化(Samuel et al., 2008)。ARC1 拥有一个 U-box 结构,具有 E3 泛素化连接酶的活性,在柱头上增加泛素化蛋白会产生 SI 反应(Stone et al., 2003)。ARC1 和 SRK 激酶域相互作用需要 ARC1 C- 端的 ARM 重复区和具有激酶活性的 SRK,导致 ARC1 的磷酸化(Gu et al., 1998)。甘蓝型油菜中 ARC1 和 SRK 激酶域相互作用,通过酵母双杂交筛选试验被证实。ARC1 和 SRK 的相互作用,为进一步分析 ARC1 和 SRK 蛋白的作用机制以及挖掘 ARC1 互作的下游蛋白研究提供了模式和技术支撑(牛义等, 2009)。羽衣甘蓝 ARC1 与结球甘蓝的 SRK 激酶结构域能够发生相互作用,互作的区域也是 ARM 重复区,说明 ARC1 存在保守性,羽衣甘蓝和结球甘蓝 ARC1 的氨基酸差异不足以引起互作

区构象的改变。研究结果为芸薹属植物 SI 反应的分子机理提供新内容(张贺翠等, 2011)。ARC1 的磷酸化既可能是 SRK 和 MLPK 分开作用的结果,也可能是两者共同作用产生的,都认为 ARC1 磷酸化是自交不亲和信号在乳突细胞的胞内传递的第一步,自交不亲和信号传导过程的结果可能是调节柱头乳突细胞上水孔蛋白关闭,抑制花粉的吸水萌发。通过反义 cDNA 抑制 ARC1 基因的表达致使 SI 反应部分被破坏(Stone et al., 1999)。为验证 ARC1 基因的在自交不亲和的植物 *Arabidopsis lyrata* 中的必需性,通过 RNA 干扰技术产生转 ARC1 基因的植株,转基因的植株减弱了自交不亲和的作用并成功受精,研究表明在十字花科的自交不亲和反应中 ARC1 基因存在保守性,是自交不亲和所必须的(Indriolo et al., 2012)。在自交亲和的植物中也常发现 ARC1 基因的存在,为了验证 ARC1 基因在自交不亲和的转基因 *Arabidopsis thaliana* 中的必要性,*Arabidopsis lyrata* 或甘蓝型油菜的 ARC1 基因和 *Arabidopsis lyrata* 的 *SCRb-SRKb* 基因对一起插入到生态型的拟南芥中,当 ARC1 基因和 *SCRb-SRKb* 基因对共同表达时,产生强烈的自交不亲和反应。ARC1 基因的表达导致两种不同的 *A. lyrata* 性状,对自身花粉的拒绝,进一步表明 ARC1 基因在进化过程中的重要作用(Indriolo et al., 2014)。除了 ARC1 以外,还发现 THL1 蛋白可以调节 SRK 自动磷酸化。

通过酵母双杂交试验试验表明 CaM12 能够与 SRK7 中 iSRK7 片段进行相互作用,进一步实验表明 CaM12 EF-hands 突变体 CaM12-2-、CaM12-23- 和 CaM12-234- 均不能与 iSRK7 片段发生相互作用,说明突变后失去结合 Ca^{2+} 能力才不能与 iSRK7 相互作用(许俊强等, 2013)。花粉管从柱头向胚囊的生长方向受到雌雄蕊相互作用的调控,只知道花粉管的生长受到 Ca^{2+} 浓度的调节,为探究其方向和感受性是否也受钙离子的调控。研究表明花粉管信号诱导钙离子在助细胞中的波动,它的波动受花粉管和助细胞之间的相互作用(Iwano and Takayama, 2012)。最近在拟南芥中发现其花粉管细胞表面的 MDIS1-MIK 杂聚体能够使花粉管感受雌配子体 LURE1 的吸引,LURE1 可以诱发受体的杂聚化和激活 MIK1 的激酶活性。MDIS1、MIK1 和 MIK2 蛋白都是质膜上的受体类激酶,细胞外富含亮氨酸重复结构,细胞内是激酶结构域,胞外结构域能够与 LURE1 相结合,而诱导花粉管向胚囊生长(Wang et al., 2016)。推测这可能是控制自交不亲和过程中某一阶段的一种

分子机制。因为在自交不亲和中存在花粉穿过柱头但不能到达胚囊的,导致花粉管不能到达胚囊、导致自交花粉受精失败的原因还不得而知。

Ikedo 等(1997)通过 MOD 隐性突变试验,结果自交不亲和的植株变成亲和植株。通过观察芸薹属自交亲和授粉,发现在授粉初期水孔蛋白作为通道负责将柱头上的水或其他物质运到花粉,说明 MOD 可能是自交不亲和反应必需的,MOD 有 4 个可能的磷酸化位点,MOD 可能受磷酸化作用来调控水分的运输,最终实现对芸薹属孢子体自交不亲和的分子调控(吴志刚, 2011)。

2.2.2 SSI 负调控因子编码基因

甘蓝花药中 ROH1 和花柱中的 EXO70A1 之间存在较强的相互作用并呈现出负相关性,ROH1 可能通过调节 EXO70A1 在柱头的分泌影响生殖发育(张贺翠等, 2016)。在的自交不亲和反应中,Exo70A1 可能是 ARC1 的下游信号受体,当甘蓝型油菜的转基因柱头中 *Exo70A1* 过表达,油菜植株由自交不亲和变为亲和,相反,抑制 *Exo70A1* 基因表达时花粉萌发和花粉管的伸长都受到抑制(Samuel et al., 2009)。当 Exo70A1 泛素化水平很高时,泛素结合酶 E2 从 (E2/ARC1/Exo70A1)蛋白复合体中脱落,ARC1 引导 Exo70A1 转移至蛋白酶体,并诱导自交亲和蛋白质 Exo70A1 在蛋白酶体上降解,最后抑制“自花”花粉的萌发与花粉管的生长(Drdová et al., 2013)。SRK 可以与 THL1 或 THL2 相互结合,并抑制 *THL1/THL2* 基因的表达,导致自交不亲和(Cabrillac et al., 2001; Haffani et al., 2004)。缺少配体 SCR 时,用 Ser 保守序列中原有的两个 Cys 被 Ser 替代或者是其中第一个 Cys 缺失这两种情况下 SRK 与 THL1/THL2 都不能相互作用(Bréhelin et al., 2000),表明在 SRK 与 THL1/THL2 相互作用中保守序列中第一个 Cys 是必需的。利用 PCR 技术扩增出甘蓝 SCR2 (Class- II)、eSRK2 (class- II)、THL1、SRKJ (Class- I, SRK6 激酶域)和 eSRK28 (Class- I)的编码序列并构建载体,酵母中报告基因表达的数目和类型表明,SRK 与 SCR 之间的相互作用只能发生在相同单倍型之间;Class- I 的 SCR-SRK 互作强度要强于 Class II;THL 与 SRK 之间存在较高的相互作用较强。能为 3 个起始信号传导元件的不同自交不亲和性表型的识别程度差异提供了直接证据和新内容(杨永军等, 2012)。THL 不是唯一的负调节因子,可能只是 SRK 负调节因子之一,在十字花科植物中,调控自交不亲和转化成自交亲和过程中,可能还存在其他的调节因子,其调控的具

体内容还需进一步研究。

3 非芸薹属植物孢子体自交不亲和研究

3.1 番薯属的孢子体自交不亲和

旋花科植物的孢子体自交不亲和的分子机理研究主要以野薯为研究材料,与十字花科植物的自交不亲和系统的遗传控制机制是相同的。但是番薯属植物和与芸薹属植物的自交不亲和具有不同的基因和不同的反应机制。Kowyama 等(1996)从野薯的柱头 cDNA 文库中分离出一个编码受体激酶的 *IRK1* 基因,IRK1 与 SRK 属于同源物。IRK1 存在一个胞外类受体区域并存在丝/苏氨酸激酶的共有序列,与 S- 位点不存在连锁关系。认为这两个科是通过不同的进化途径形成的,两者之间可能存在不同的自交不亲和机制。

3.2 菊科植物孢子体自交不亲和

菊花一般被认为属自交不亲和植物,有学者认为在不同倍性的菊花中存在自交不亲和现象。Drewlow 等(1975)通过传粉生物学研究发现菊花花粉不能萌发或花粉管在伸入柱头的过程中被抑制,这表明菊花属孢子体自交不亲和。但是不同品种之间表现存在不同,但有研究者发现菊花自交不亲和繁殖障碍并不完全,自交结实率为 0%~8%。在部分小菊品种中具有自交结实现象(李辛雷和陈发棣, 2007)。花粉与柱头的亲和性是通过荧光观察得到确定的(vervaecke et al., 2004)。在三个表现为孢子体型 SI 的千里光植物中,不亲和的花粉受到二倍体亲本基因型控制,并且杂种后代遗传了孢子体自交不亲和的功能(Brennan et al., 2012)。相比千里光中孢子体型自交不亲和相关的 S 等位基因的多样性比其他物种少,从起源角度来看会干扰种群数量。原位杂交表明千里光的 SSP (柱头特异性过氧化物酶)基因被定位到特定的柱头表皮分泌细胞上,组织特异性和细胞特异性过氧化物酶基因被证明在植物中存在(McInnis et al., 2005)。对千里光的研究表明,十字花科与菊科的柱头结构和分子机制是不同的,菊科属于半干湿性柱头,十字花科是属于湿性柱头。千里光大量的雌蕊特异性基因能很好地阐述雌雄蕊相互作用的分子机制(Allen et al., 2011)。运用 RT-PCR 方法,通过兼并引物对 *SRK* 基因的保守区进行扩增,在菊科千里光中柱头上有三个 *SRK-like* 基因片段。*SSRLK* 基因的氨基酸序列和十字花科的 *SRK3* 约 43%一致,约 50%和两个茄科栗色球酢的未知功能的 *SRK*

基因一致。三个 *SSRLKs* 基因在花器官和营养器官表达水平不同。在两个 S 纯合系或三个其他系携带不同 S 等位基因的千里光中没有检测到三个 *SSRLKs* 等位基因的多态性(Tabah et al., 2004)。在千里光中分离到 *ORSF21A* 和 *ORSF21B* 与开花有关的基因, *ORSF21A* 在柱头中表达, *ORSF21B* 专一地在成熟的花粉中表达, 调控它们的生长发育。推测 *ORSF21A* 和 *ORSF21B* 蛋白可能存在互作与 SI 相关(Allen et al., 2010)。徐雁飞(2008)对菊花自交亲和特性与自交衰退现象初探研究表明: 菊花属于不完全自交不亲和, 且自交后代出现早衰的现象。张薇等(2013)在灯盏花遗传改良及其策略中提及灯盏花自交不亲和和受 S 位点上的复等位基因所调控, 属于孢子体型自交不亲和。通过对自交和杂交处理后的花序进行比较转录组分析, *MLPK*、*ARC1*、*CaM*、*EXO70A1* 等自交不亲和和相关的差异表达基因被筛选出, 这些基因可能参与灯盏花的自交不亲和反应(Zhang et al., 2015)。

4 总结与展望

孢子体型自交不亲和对维持植物的多样性, 植物对环境的适应性具有重要的意义, 这种保护机制主要存在与十字花科芸薹属、旋花科、菊科等几个科的植物中, 研究人员从生理、分子等方向都进行了研究, 在分子水平 S- 位点基因 *SCR/SP11*、*SLG*、*SRK* 及与 SI 相关基因 *MLPK*、*ARC1*、*THL1/2*、*EXO70A1/2*、*MOD*、钙调蛋白、磷酸化激酶相关蛋白等为主要的研究热点对芸薹属植物进行研究。在菊科植物中存在很多具有药用价值、经济价值的物种, 若能清楚了解其自交不亲和的分子机制, 利用自交不亲和的特性能为物种的繁殖、育种、进化等提供比较重要的线索。由于菊科、旋花科孢子体型自交不亲和的分子机制与十字花科不同, 自交不亲和信号传递网络不清楚, 研究进展较为缓慢, 存在很多待挖掘的基因, 目前研究出来的可能与 SI 相关的基因也需要进一步验证基因功能, 以及自交不亲和信号传递网络的不清楚, 很多方面都值得深入的探究。蛋白互作网络也需要进一步的研究和证实。经典技术酵母双杂交、免疫共沉淀、BiFC 等技术以及 *Crispr/cas9* 基因编辑技术都将为自交不亲和信号传导途径的研究提供强大的技术保障。

作者贡献

陈莫负责论文初稿的写作 张薇和胡彦如负责资

料的收集整理 谢世清和杨生超负责论文的修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家自然科学基金项目(81160499)和 2016 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目(81503184)共同资助。

参考文献

- Allen A.M., Lexer C., and Hiscock S.J., 2010, Characterisation of sunflower-21 (*SF21*) genes expressed in pollen and pistil of *Senecio squalidus* (Asteraceae) and their relationship with other members of the *SF21* gene family, *Sex. Plant. Reprod.*, 23(3): 173-186
- Allen A.M., Thorogood C.J., Hegarty M.J., Lexer C., and Hiscock S.J., 2011, Pollen-pistil interactions and self-incompatibility in the Asteraceae: new insights from studies of *Senecio squalidus* (Oxford ragwort), *Ann. Bot.*, 108(4): 687-698
- Bréhelin C., Mouaheb N., Verdoucq L., Lancelin J.M., and Meyer Y., 2000, Characterization of determinants for the specificity of *Arabidopsis* thioredoxins h in yeast complementation, *J. Biol. Chem.*, 275(41): 31641-31647
- Brennan A.C., Harris S.A., and Hiscock S.J., 2012, The population genetics of sporophytic self-incompatibility in three hybridizing *Senecio* (Asteraceae) species with contrasting population histories, *Evolution*, 67(5): 1347-1367
- Bücherl C.A., van Esse G.W., Kruis A., Luchtenberg J., Westphal A.H., Aker J., van Hoek A., Albrecht C., Borst J.W., and de Vries S.C., 2013, Visualization of BRI1 and BAK1 (SERK3) membrane receptor heterooligomers during brassinosteroid signaling, *Plant Physiol.*, 162(4): 1911-1925
- Cabrillac D., Cock J.M., Dumas C., and Gaude T., 2001, The S-locus receptor kinase is inhibited by thioredoxins and activated by pollen coat proteins, *Nature*, 410(6825): 220-223
- Drdová E.J., Synek L., Pečenková T., Hála M., Kulich I., Fowler J.E., Murphy A.S., and Zárský V., 2013, The exocyst complex contributes to PIN auxin efflux carrier recycling and polar auxin transport in *Arabidopsis*, *Plant J.*, 73(5): 709-719
- Drewlow L.W., Ascher P.D., and Widmer R.E., 1975, Rapid method of determining pollen incompatibility in *Chrysanthemum morifolium* R_{AMAT}, *Euphytica*, 24(1): 29-32
- Gu T., Mazzurco M., Sulaman W., Matias D.D., and Goring D.R., 1998, Binding of an arm repeat protein to the kinase domain of the S-locus receptor kinase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(1): 382-387
- Haffani Y.Z., Gaude T., Cock J.M., and Goring D.R., 2004, Antisense suppression of thioredoxin h mRNA in *Brassica napus*

- cv. Westar pistils causes a low level constitutive pollen rejection response, *Plant Molbiol.*, 55(5): 619-630
- Ikeda S., Nasrallah J.B., Dixit R., Preiss S., and Nasrallah M.E., 1997, An aquaporin-like gene required for the *Brassica* self-incompatibility response, *Science*, 276(5318): 1564-1566
- Indriolo E., Safavian D., and Goring D.R., 2014, The ARC1 E3 ligase promotes two different self-pollen avoidance traits in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, 26(4): 1525-1543
- Indriolo E., Tharmapalan P., Wright S.I., and Goring D.R., 2012, The ARC1 E3 ligase gene is frequently deleted in self-compatible Brassicaceae species and has a conserved role in *Arabidopsis* lyrata self-pollen rejection, *Plant Cell*, 24(11): 4607-4620
- Ivanov R., and Gaude T., 2009, Endocytosis and endosomal regulation of the S-receptor kinase during the self-incompatibility response in *Brassica oleracea*, *Plant Cell*, 21(7): 2107-2117
- Iwano M., and Takayama S., 2012, Self/non-self discrimination in angiosperm self-incompatibility, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 15(1): 78-83
- Kakita M., Murase K., Iwano M., Matsumoto T., Watanabe M., Shiba H., Isogai A., and Takayama S., 2007, Two distinct forms of M-locus protein kinase localize to the plasma membrane and interact directly with S-locus receptor kinase to transduce self-incompatibility signaling in *Brassica rapa*, *Plant Cell*, 19(12): 3961-3973
- Kowyama Y., Kakada K., Kondo K., Imada T., and Hattori T., 1996, A putative receptor protein kinase gene in *Ipomoea trifida*, *Plant Cell Physiol.*, 37(5): 681-685
- Li X.L., and Chen F.D., 2007, Self-incompatibility in *Dendranthemamorifolium*, Wuhan Zhiwuxue Yanjiu (Journal of Wuhan Botanical Research), 25(6): 591-595 (李辛雷, 陈发棣, 2007, 菊花自交不亲和性初步研究, 武汉植物学研究, 25(6): 591-595)
- McInnis S.M., Costa L.M., Gutiérrez-Marcos J.F., Henderson C. A., and Hiscock S.J., 2005, Isolation and characterization of a polymorphic stigma-specific class III peroxidase gene from *Senecios qualidus* L. (Asteraceae), *Plant Mol. Biol.*, 57(5): 659-677
- Murase K., Shiba H., Iwano M., Che F.S., Watanabe M., Isogai A., and Takayama S., 2004, A membrane-anchored protein kinase involved in *Brassica* self-incompatibility signaling, *Science*, 303(5663): 1516-1519
- Naithani S., Chookajorn T., Ripoll D.R., and Nasrallah J.B., 2007, Structural modules for receptor dimerization in the S-locus receptor kinase extracellular domain, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104(29): 12211-12216
- Niu Y., Wang Z.M., Gao Q.G., Song M., Wang X.J., and Zhu L. Q., 2009, Expression of ARC1 in vitro and test of interaction between ARC1 and SRK from *Brassica oleracea* L. in signal transduction pathway of self-incompatibility, *Zuowu Xuebao* (Acta Agronomica Sinica), 35(7): 1202-1208 (牛义, 王志敏, 高启国, 宋明, 王小佳, 朱利泉, 2009, 甘蓝自交不亲和信号传导元件 ARC1 的体外表达及其与 SRK 相互作用验证, 作物学报, 35(7): 1202-1208)
- Samuel M.A., Chong Y.T., Haasen K.E., Aldea-Brydges M.G., Stone S.L., and 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, *Plant Cell*, 21(9): 2655-2671
- Samuel M.A., Mudgil Y., Salt J.N., Delmas F., Ramachandran S., Chillelli A., and Goring D.R., 2008, Interactions between the S-domain receptor kinases and AtPUB-ARM E3 ubiquitin ligases suggest a conserved signaling pathway in *Arabidopsis*, *Plant Physiol.*, 147(4): 2084-2095
- Stone S.L., Anderson E.M., Mullen R.T., and Goring D.R., 2003, ARC1 is an E3 ubiquitin ligase and promotes the ubiquitination of proteins during the rejection of self-incompatible *Brassica* pollen, *Plant Cell*, 15(4): 885-898
- Stone S.L., Arnoldo M., and Goring D.R., 1999, A breakdown of *Brassica* self-incompatibility in ARC1 antisense transgenic plants, *Science*, 286: 1729-1731
- Tabah D.A., McInnis S.M., and Hiscock S.J., 2004, Members of the S-receptor kinase multigene family in *Senecios qualidus* L. (Asteraceae), a species with sporophytic self-incompatibility, *Sex Plant Reprod.*, 17(3): 131-140
- Takasaki T., Hatakeyama K., Suzuki G., Watanabe M., Isogai A., and Hinata K., 2000, The S receptor kinase determines self-incompatibility in *Brassica stigma*, *Nature*, 403(6772): 913-916
- Takayama S., Shiba H., Iwano M., Shimosato H., Che F.S., Kai N., Watanabe M., Suzuki G., Hinata K., and Isogai A., 2000, The pollen determinant of self-incompatibility in *Brassica campestris*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97(4): 1920-1925
- Takayama S., Shimosato H., Shiba H., Funato M., Che F.S., Watanabe M., Iwano M., and Isogai A., 2001, Direct ligand-receptor complex interaction controls *Brassica* self-incompatibility, *Nature*, 413(6855): 534-538
- Tezuka T., Akita I., Yoshino N., and Suzuki Y., 2007, Regulation of self-incompatibility by acetylcholine and cAMP in *Lilium longiflorum*, *J. Plant Physiol.*, 164(7): 878-885
- Tsuchimatsu T., Suwabe K., Shimizu-Inatsugi R., Isokawa S., Pavlidis P., Städler T., Suzuki G., Takayama S., Watanabe M., and Shimizu K.K., 2010, Evolution of self-compatibility in *Arabidopsis* by a mutation in the male specificity gene, *Nature*, 464(7293): 1342-1346
- Vanoosthuyse V., Tichtinsky G., Dumas C., Gaude T., and Cock J.M., 2003, Interaction of calmodulin, a sorting nexin and

- kinase-associated protein phosphatase with the *Brassica oleracea* S locus receptor kinase, *Plant Physiol.*, 133(2): 919-929
- Vervaeke I., Delen R., Wouters J., Deroose R., and De Proft M.P., 2004, Semi in vivo pollen tube growth of *Aechmea fasciata*, *Plant Cell*, 76(1): 67-73
- Wang T., Liang L., Xue Y., Jia P.F., Chen W., Zhang M.X., Wang Y.C., Li H.J., and Yang W.C., 2016, A receptor heteromer mediates the male perception of female attractants in plants, *Nature*, 531(7593): 241-244
- Watanabe M., Ito A., Takada Y., Ninomiya C., Kakizaki T., Takahata Y., Hatakeyama K., Hinata K., Suzuki G., Takasaki T., Satta Y., Shiba H., Takayama S., and Isogai A., 2000, Highly divergent sequences of the pollen self-incompatibility (S) gene in class-I S haplotypes of *Brassica campestris* (syn. *rapa*) L., *FEBS Lett.*, 473(2): 139-144
- Wu Z.G., 2011, Cloning of MOD gene in *Brassica oleracea* associated with self-incompatibility and localization of MOD and ARC1 in *Brassica oleracea* by FISH, Thesis for M.S., Southwest University Supervisor: Zhu L.Q., and Yang K., pp.1-47 (吴志刚, 2011, 甘蓝自交不亲和相关基因 MOD 的克隆及其与 ARC1 的 FISH 定位研究, 硕士学位论文, 西南大学, 导师: 朱利泉, 杨昆, pp.1-47)
- Xu J.Q., Sun Z.J., Song M., Tang Q.L., Wang Z.M., and Wang X.J., 2013, Studies on the interactions between the pollen tube calmodulin (CAM) and SRK from *Brassica oleracea* var. *capitata*, *Yuanyi Xuebao* (Acta Horticulturae Sinica), 40(12): 2429-2440 (许俊强, 孙梓健, 宋明, 汤青林, 王志敏, 王小佳, 2013, 甘蓝花粉管钙感应蛋白 CaM 与 SRK 相互作用研究, 园艺学报, 40(12): 2429-2440)
- Xu Y.F., 2008, The preliminary study of self-compatibility and inbreeding depression in *Dendranthema×Grandiflora*, Thesis for M.S., Nanjing Agricultural University, Supervisor: Chen F.D., pp.1-32 (徐雁飞, 2008, 菊花自交亲和特性与自交衰退现象初探, 硕士学位论文, 南京农业大学, 导师: 陈发棣, pp.1-32)
- Yang Y.J., Zhang H.C., Yang K., Xue L.Y., Chang D.L., and Zhu L.Q., 2012, Dublecrossing test of a yeast alternatively interacted on SCR, THL and SRK from *Brassica oleracea* L., *Zhongguo Shucai* (China Vegetables), (24): 14-26 (杨永军, 张贺翠, 杨昆, 薛丽琰, 常登龙, 朱利泉, 2012, 甘蓝 SCR、THL 与 SRK 交替相互作用的酵母双杂交检测, 中国蔬菜, (24): 14-26)
- Zhang H.C., Liu J., Lian X.P., Zeng J., Yang K., Zhang X.J., Yang D., Shi S.M., Gao Q.G., and Zhu L.Q., 2016, Expression and interaction between ROH1 and EXO70A1 in reproductive development, *Zhongguo Nongye Kexue* (Scientia Agricultura Sinica), 49(4): 775-783 (张贺翠, 柳菁, 廉小平, 曾静, 杨昆, 张学杰, 杨丹, 施松梅, 高启国, 朱利泉, 2016, 甘蓝 ROH1 与 EXO70A1 的表达与相互作用, 中国农业科学, 49(4): 775-783)
- Zhang H.C., Yang K., Zhu L.Q., Yang Y.J., Xue L.Y., Yang H., Chang D.L., Gao Q.G., Ren X.S., Li C.Q., and Wang X.J., 2011, The interactions between the truncated fragments of ARM repeat containing (ARC1) from *Brassica oleracea* var. *acephala* L and kinase domain of S-receptor kinase (SRK) from *B. oleracea* var. *capitata* L tested by a yeast two-hybrid system, *Nongye Shengwu Jishu Xuebao* (Journal of Agricultural Biotechnology), 19(6): 988-995 (张贺翠, 杨昆, 朱利泉, 杨永军, 薛丽琰, 杨红, 常登龙, 高启国, 任雪松, 李成琼, 王小佳, 2011, 利用酵母双杂交系统鉴定羽衣甘蓝臂重复蛋白(ARC1)与结球甘蓝 S 位点受体激酶(SRK)激酶结构域的相互作用, 农业生物技术学报, 19(6): 988-995)
- Zhang W., Wei X., Meng H.L., Ma C.H., Jiang N.H., Zhang G.H., and Yang S.C., 2015, Transcriptomic comparison of the self-pollinated and cross-pollinated flowers of *Erigeron breviscapus* to analyze candidate self-incompatibility-associated genes, *BMC Plant Biol.*, 15: 248
- Zhang W., Yang S.C., Zhang G.H., and Su B., 2013, Research progress and strategy on genetic improvement of *Erigeron breviscapus*, *Zhongguo Zhongyao Zazhi* (China Journal of Chinese Materia Medica), 38(14): 2250-2253 (张薇, 杨生超, 张广辉, 苏豹, 2013, 灯盏花遗传改良研究及其策略, 中国中药杂志, 38(14): 2250-2253)