

自家不和合性 *Brassica campestris*에 있어서 單一遺傳子座假說에 의해 分離되지 않는 S-遺傳子 系統의 分析

盧 一 燮·李 孝 淵*·金 晋 鎬*

(日本 東北大學 農學部, *順天大學校 資源植物學科)

Analysis of Non-segregated S-allele Strain by Single-Locus Hypothesis in Self-incompatible *Brassica campestris*

Nou, Ill-Sup, Hyo Yeon Lee* and Jin Ho Kim*

(Faculty of Agriculture, Tohoku National University, Sendai, Japan, and

*Department of Resource Plant, Suncheon National University, Suncheon, Korea)

ABSTRACT

Self-incompatibility in *Brassica campestris* is controlled by multi-allele system in a single genetic locus, the S locus, and it is elucidated that S-glycoproteins are S gene products. In this experiments, we examined the genetic mode(pollen tube behavior and segregation of S-glycoprotein), characteristic of S-glycoproteins and DNA constitution within nuclear genome on S gene family that unexplained by single locus model, and investigated the segregation pattern of S-glycoproteins in bred F₁ generation. By diallel cross among the 15 plants within one family the existence of three types of homozygotes and three types of heterozygotes were observed, and segregation of S-allele could not explained by single locus model. From the results of IEF-immunoblot analysis for non-segregated individual plant, the segregation pattern of S specific bands was corresponded with results of diallel cross except with one case(S^aS^a genotype). The molecular weight of 6 different S-genotype varied in near by 50 kD, and each genotype expressed with 2 or 3 bands. Specific bands in S^aS^a, S^bS^b, S^cS^c has almost similar molecular weight between them. Southern analysis of genomic DNA probed with S-glycoprotein cDNA for 6 different genotypes revealed that there are clear difference in polymorphism, multiple bands of hybridization, when restriction enzymes of EcoRI were used. It could be assumed that there are several sequences related to the S-glycoprotein structural genes within their nuclear genome. Therefore, we suggested the possibilities that S-allele system could be controlled by multi-locus, that dominance-recessive interactions could be explained by modifier gene or supressor gene based on the results of abnormal segregation of S-glycoprotein in bred F₁. The F₂ analyses are progressing in now.

緒 論

十字花科의 自家不和合性 유전양식은 孢子體의으로 지배되는 1座位의 S-複對立遺傳子(S¹, S², ...Sⁿ)로 설명되는 것이 일반적이다. 그리하여 자예의 Sⁱ 표현형과 花粉의 S^j 표현형이 일치하였을 때 不和合이 되고 불일치하였을 때 和合이 되어 重複受精이 이루어진다. 孢子體型 自家不和合성에 있어서는 親植物에 있는 한 쌍의 對立遺傳子が 관

여하기 때문에 그 遺傳子間에 優性, 劣性의 관계가 생긴다. 또한 양자의 遺傳子が 公히 표현되는 共優性의 경우도 있다. 그러나 자연계에는 單一遺傳子座假說에 의해 설명할 수 없는 S-遺傳子 系統이 존재하기도 하고(de Nettancourt, 1977), 柱頭側에서는 孢子體의으로, 花粉側에서는 配偶體의으로 행동하는 S-遺傳子 系統이 존재하는 것이 보고되었다(Putrament, 1960; Lewis *et al.*, 1988; Zuberi *et al.*, 1988).

*Brassica oleracea*는 대체로 강도의 自家不和合성을 나타내고 있기 때문에 옛부터 연구가 계속되어 지금까지 약 50개 이상의 S-遺傳子가 동정되고 있으며(Thompson and Taylor, 1966; Ockendon, 1974, 1980), 재배종은 대체로 몇 개의 劣性 遺傳子(S^2 , S^5 , S^{15})로 구성되어 있다는 것이 보고되었다(Ockendon, 1974, 1977, 1980). *B. campestris*의 S-複對立遺傳子は 최근 筆者 등에 의해 자연집단으로부터 29개가 동정되어 DNA와 蛋白質 水準에서의 연구가 부분적으로 수행되었다(Nou *et al.*, 1992).

이와같은 일련의 연구로부터 柱頭에 S-遺傳子の 산물인 S-糖蛋白質이 존재하는 것이 분명히 되었으며(Nasrallah *et al.*, 1972), 현재까지 이 S-糖蛋白質에 대해서 다음과 같은 성질이 분명히 되었다. 1) S-糖蛋白質은 S-遺傳子の 유전 행동과 같이 행동한다(Nishio and Hinata, 1977, 1978; Hinata and Nishio, 1978). 2) S-糖蛋白質은 柱頭에서만 검출된다. 3) 自家不和合성은 柱頭가 成熟함에 따라 기능을 발휘한다. 이 成熟도와 柱頭에서의 S-糖蛋白質의 출현시기가 일치한다(Nou *et al.*, 1993). 4) S-糖蛋白質의 抗體는 다른 S-糖蛋白質에 대하여 交叉活性이 있다(Nou *et al.*, 1991).

이러한 많은 상황증거는 S-糖蛋白質이 S-遺傳子の 산물이고 自家不和合성의 발현에 있어서 認識反應의 기구에 깊이 관여하고 있는 것을 강하게 시사하고 있다. 本稿에서는 *B. campestris*의 발상지로 알려진 Turkey의 한 야생 집단중에서 비정상적으로 분리하는 S-遺傳子 系統이 발견되어 正常系統의 S-遺傳子와의 유전양식, S-糖蛋白質의 특성, 계놈내의 DNA 구성 등을 비교 검토하였으며, 既知의 S-遺傳子와의 F_1 을 육성하여 花粉管 行動과 糖蛋白質과의 관련성에 대하여 조사하였다. 또한 S-糖蛋白質의 분리와 優·劣性 關係에 대하여도 지적하였다.

材料 및 方法

實驗材料. *Brassica campestris*의 종자는 Turkey의 Balcesme 지방에서 수집하여(Ozturk *et al.*, 1983), 日本의 東北大學에서 소장 중인 C-701系統을 이용하였다. 식물체의 육성은 無加溫 온실에서 일년에 두 번(봄, 가을) 실시하였으며, 가을 육성시에는 유묘상태에서 9°C, 30일간 春花處理를 실시하였다. 각 식물체에 대한 自殖種子는 녀수 분에 의해 인었다.

花粉管 行動 觀察 및 S-遺傳子型의 評價. 和合性 및 不和合성은 수분 24시간 후, Aniline blue(0.01%) 염색법(Kroh, 1964)에 의해 판단하였으며, 系統內의 각 식물체에 대한 S-遺傳子型은 二面交配에 의한 결과와 免疫學的 血清法에 의한 S-糖蛋白質의 분석과의 비교로 결정하였다.

柱頭蛋白質의 電氣泳動. 새로 채취한 柱頭 혹은 -20°C에 저장중인 柱頭는 50 mM Tris buffer(pH 7.5)로 추출한

후, 4°C에서 10,000 g, 20분간 원심분리하였다. 等電點(IEF, isoelectric focusing) 電氣泳動은 LKB의 instruction에 준해 행하였으며, 일반적으로 한 lane에 1.9 µg/µL의 총 蛋白質을 주입하였다. IEF를 위한 0.5 mm 두께의 박층 gel은 6%의 polyacrylamide와 pH 3.0~10.0의 pharmalyte로 조성하였으며, 7.2 W에서 30분간 前泳動 後, 시료를 주입하였고 다 시금 14.4 W로 2시간 本泳動을 행하였다.

SDS-PAGE 및 2次元 電氣泳動(IEF/SDS-PAGE)을 위한 1 mm 두께의 gel은 4.5%의 polyacrylamide의 농축 gel과 10%의 polyacrylamide 분리 gel로 조성하였다. 泳動은 25 mA constant로 실시하였다.

S^8 -polyclonal antibody의 作製. S^8 -糖蛋白質은 Isogai 등(1987)의 방법에 의해 정제되었다. 免疫을 위해 340 µg의 S^8 -糖蛋白質을 6 mL의 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.0)에 용해한 후, 8주령의 female mouse(Balb/c) 한 마리당 75 µg씩 3회에 걸쳐 복강 주사하였다. 1, 2次 주사시에는 Freund's complete adjuvant를 사용하였으며, 3次 주사시에는 PBS만 사용하였다. 혈청은 3次 주사로부터 3일 후 채취하였다. 채취한 血清은 25°C에서 한 시간 incubation한 후, 4°C에서 12시간 저온 처리하여 원심(3,000 rpm, 20 min)하였다. 상정액의 白血層을 1次 抗體로 사용하였다.

Immunoblotting. 영동 후 단백질은 nylon membrane(GVHP; Millipore, Japan)에 轉寫시켰다. 轉寫된 membrane은 TBS(50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.9% NaCl, 0.02% NaN_3)와 0.5%(w/v) skim milk로 조성된 blocking 용액으로 실온에서 6시간 반응시켰으며, 6,000배 희석의 1次 抗體로 6시간 이상 결합시켰다. 결합된 1次 抗體는 mouse IgG에 대하여 goat에서 만든(Promega, USA) 2次 抗體(conjugated alkaline phosphatase)와 결합시켰다. 그리고 nitro-blue tetrazolium(NBT)과 5-bromo-4-chloro-3-indonyl-phosphate-p-toluidine salt(BCIP)로 發色시켰다.

Genomic DNA 單離와 DNA gel blot 分析. Genomic DNA는 CTAB(cetyltrimethyl ammonium bromide)법(Rogers and Bendich, 1985)에 의해 추출하였으며, Gene-Screen Plus membrane(Du Pont, USA)에 轉寫시켰다. Membrane은 $5\times$ SSC, 0.1% sodium *N*-lauroyl sarcosinate, 0.02% SDS와 0.5% blocking reagent를 포함한 용액에서 prehybridization(65°C, 4시간) 시켰으며, S^8 -cDNA probe를 포함한 상기의 용액에서 hybridization(65°C, 12시간) 시켰다. Membrane의 洗淨은 $0.5\times$ SSC와 0.1% SDS를 포함한 세척액으로 65°C, 5분씩 2회 실시하였다.

Hybridization에 사용한 probe(S^8 -cDNA)는 dioxygenin (conjugated alkaline phosphatase)에 대한 抗體와 결합시켰으며, 결합된 抗體는 기질로써 Lumigen PPD(Tropix, USA)를 이용하여 X-ray film(Kodak, USA) 상에 螢光發色 시켰다.

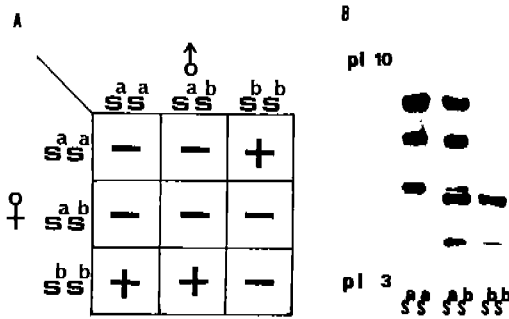


Fig. 1. An example of segregation of S-genotypes (A) and IEF-immunoblot profile of stigma proteins of each S-genotypes (B). The stigma protein was reacted with anti-S^a-glycoprotein-antiserum. Symbols in A indicated as follows; +, compatibility; -, incompatibility. S^a dominant to S^b at pollen side in this family.

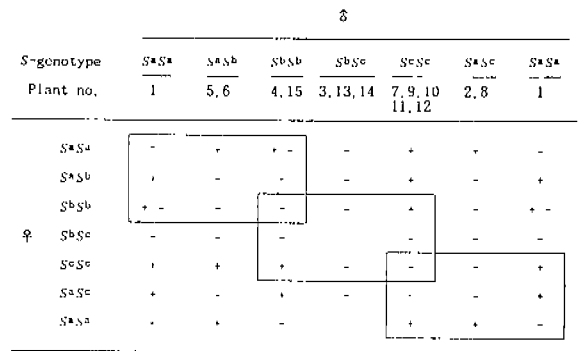


Fig. 2. Anomalous segregation of S-allele for single-locus hypothesis within an intra-family. Symbols indicated as follows; +, more than 20 pollen tubes penetrating; +-, 5-20 pollen tubes penetrating; -, less than 5 or no pollen tubes penetrating.

結果 및 考察

S-遺傳子の分離와 S-糖蛋白質과의 關聯性. 정상적으로 單一 S-遺傳子座에 의해 지배되는 孢子體型 自家不和合性 S-遺傳子の 유전양식은 다음과 같이 설명할 수가 있다. 즉, 자연계에 존재하는 S-遺傳子 헤테로 個體(S^aS^b)를 채집하여 뇌수분에 의해 自家受粉 種子를 얻는다. 이 종자에는 S^aS^a 호모, S^aS^b 호모 및 S^bS^b의 헤테로 個體가 포함되어 있다. 이 종자를 전개하여 個體間的 總當 二面交配를 행하여 花粉管 侵入의 유무를 조사하면, Fig. 1A와 같은 결과를 얻을 수 있다. S^aS^a 호모와 S^bS^b 호모 個體間的 교배에서 花粉管이 侵入하고(+), 각각 같은 호모 個體끼리의 교배에서 花粉管이 侵入하지 않음(-) 不和合이 된다.

또한, 헤테로 個體와 호모 個體間, 혹은 헤테로 個體끼리에서는 S-遺傳子の 優性, 劣性, 共優性의 관계로 花粉管이 侵入하기도 하고, 侵入하지 않기도 한다. Fig. 1A에서는 花粉側에서 S^a가 S^b에 대하여 優性인 경우이다. 이러한 방법으로 S-遺傳子 호모 혹은 헤테로 個體를 동정하나, 교배실험에는 시간과 노동력이 많이 들고, 환경조건에 따라 花粉管 行動이 애매모호한 결과를 나타내는 등의 문제점이 대두되어, S-遺傳子型 決定의 보조수단으로서 S-遺傳子 特異的 糖蛋白質에 대한 抗體를 이용하여 S-遺傳子 산물의 특이성을 분석할 수 있다. 그 예를 Fig. 1B에 나타냈다. S^aS^a 호모 個體는 염기성의 3개의 특이적 band를 갖고 있고, S^bS^b 호모 個體는 산성에 가까운 2개의 특이적 band를 가지고 있다. 또한 S^aS^b 헤테로 個體는 양 S 호모 個體의 band를 모두 포함하고 있다. 각 호모 個體에 대한 band數가 複數로 출현하긴 했지만, S-遺傳子の 특이성은 간단히 S-糖蛋白質로 설명할 수가 있었다. 그리고, 왜 등전점이

상이한 複數의 band로 나타나는지의 이유는 확실히 알 수 없으나, 성숙한 糖鎖와 미성숙한 糖鎖에 의한 糖鎖數의 차, 혹은 翻譯後 修飾에 의한 蛋白質의 변형에 기인된다고 추측된다.

이상 上記한 예가 일반적인 경우이나 자연집단 중에서 비정상적으로 분리하는 헤테로 個體(이하 系統이라 칭함)가 존재하는 것이 발견되어 분석을 행하였다.

우선, 系統內 二面交配를 행하였던 바(Fig. 2), 3형의 S 호모 個體(S^aS^a, S^bS^b, S^cS^c)와 3형의 S 헤테로 個體(S^aS^b, S^aS^c, S^bS^c)의 존재로 가정할 수 있었으며, 花粉과 柱頭에서 S^a는 S^a에 대하여, S^b는 S^a에 대하여 優性이고, S^a와 S^b는 共優性을 나타냈다. 또한 S^a가 S^c에 대하여 優性관계를 나타냈지만 호모 個體間的 花粉管 行動은 불확실한 결과(±)를 나타냈다. 이러한 결과를 종합하면, S^a > S^b > S^c의 관계로 설명할 수 있다. 통상 單一-遺傳子座의 지배하에서는 S-遺傳子の 분리비가 1:2:1(S^aS^a:S^aS^b:S^bS^b) 假說에서 벗어나지 않지만(Nou et al., 1991), 이 系統의 경우에는 완전히 벗어나 있었다. 이것은 花粉管의 신장이 어느 특성의 遺傳子에 의해 억제된다는 離反遺傳子說 혹은 花粉管의 생장에 필요한 양분 등을 얻을 수 없어 不和合이 되어 결국 분리에 이상이 생겼다는 補足遺傳子說로도 설명 가능하나 직접적인 증거는 없다.

이 系統內의 각 個體에 대한 S-糖蛋白質을 IEF-immunoblot 분석한 것을 Fig. 3에 나타냈다. S^aS^a(a) 특이적 band는 산성 쪽에 나타났고, S^bS^b(b), S^cS^c(c)特異的 band는 알칼리 쪽에 나타났다. 이들 S 특이적 band들의 분리 양상은 S^aS^a 個體가 S^bS^b, S^cS^c 特異的 band를 포함하고 있는 것을 제외하면, 二面交配의 결과와 일치하였다. 그러나, 優性 遺傳子 産物의 band sensitivity가 강하다는 일반적인 견해

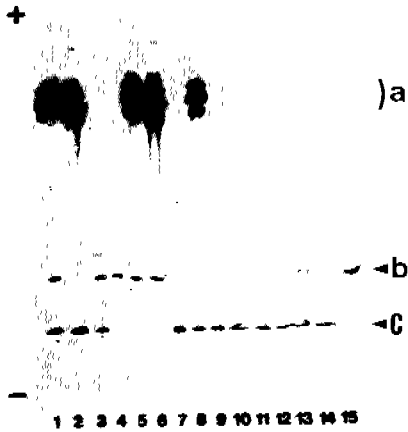


Fig. 3. IEF-immunoblot profiles of S-glycoprotein for 15 S-allele individual plants within an intra-family. The stigma protein was reacted with anti-S^g-glycoprotein-antiserum. a, S^aS^a; b, S^bS^b; c, S^cS^c specific bands, respectively.

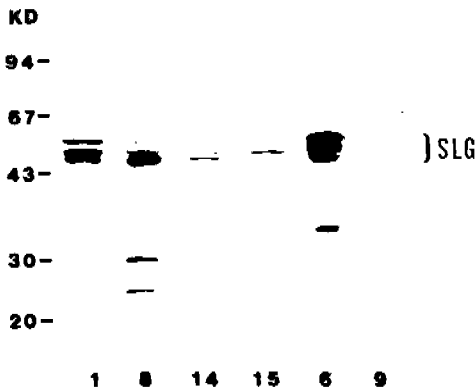


Fig. 4. SDS-PAGE immunoblot analysis of stigma proteins for 6 different S-genotypes within an intra-family, comparing their molecular weight. The stigma protein was reacted with anti-S^g-glycoprotein-antiserum. The molecular bands in No. 6 and 8 were not elucidated. SLG, S-locus-glycoprotein.

와는 상반되는 결과를 초래하였다(sensitivity : S^aS^a > S^bS^b = S^cS^c). 그리고, 6개의 S-遺傳子型의 일률적인 等電點의 분리로 미루어 보아, 花粉의 contamination은 아닌 것이 확실하다. 또한 花粉과 柱頭에서 공히 優·劣性 關係가 나타난 결과로부터 판단하면 변하기 쉬운 花粉側의 S-遺傳子가 配偶體의 으로 행동하는 양상도 아닌 것 같다. 결국 2개 이상의 遺傳子座에 의하여 지배되지 않으면, 變更遺傳子에 의해 S-對立遺傳子가 변이를 일으켰을 가능성이 있는 것으로 추측된다.

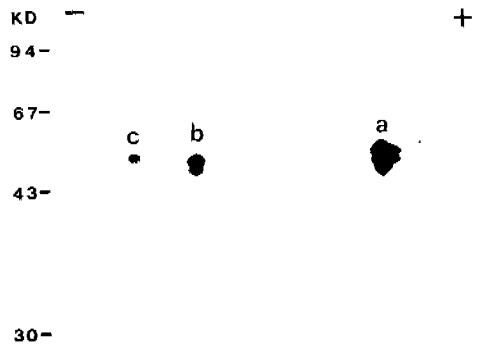


Fig. 5. Estimation of molecular weight among a, b and c bands in plant no. 1. after two-dimensional electrophoresis (IEF/SDS-PAGE). + and - indicate the pI values in the first dimension. The stigma protein was reacted with anti-S^g-glycoprotein-antiserum.

S-糖蛋白質(SLG)의 특징과 S-遺傳子의 Genomic DNA의 구조. S-糖蛋白質은 약 45 kD의 peptide와 6~7本(1本 : 1 kD)의 糖鎖로 구성되어 있어, 전체적으로 52~53 kD의 분자량을 갖고 있다(Takayama *et al.*, 1987). 이러한 자료를 기초로 하여 6개의 S-遺傳子型에 대하여 SDS-PAGE-immunoblot 분석을 행하였다(Fig. 4). 2~3本の band가 43~67 kD 사이에 위치한 결과와, 1, 6, 8번 個體의 band의 경우 Fig. 3에서의 S^aS^a 특이적 band sensitivity가 강했던 것과 일치하여 검출되는 것으로 미루어 보아 이 범위의 산물이 S-糖蛋白質로 판단되었다. 또한 이들 band들은 conA-peroxidase 염색에도 반응하여 糖鎖를 포함하고 있는 것이 확실시 되었다(미제시 자료). 1, 6번 個體의 저 분자량의 band는 현재 해석되고 있지 않다.

S^aS^a, S^bS^b 및 S^cS^c 특異的 band의 분자량을 추정하기 위해, 모든 band를 공히 갖고 있는 1번 個體를 이용하여 2次元 電氣泳動(IEF/SDS-PAGE) 후 immunoblot 분석을 행하였던 바, 모든 band의 분자량은 유사하였다(Fig. 5). 이러한 결과는 이들 band가 S-遺傳子의 산물인 것이 다시금 입증된 셈이다.

6개의 S-遺傳子型의 相異함을 규명하기 위하여 S-糖蛋白質 cDNA probe를 이용하여 genomic DNA의 RFLP를 조사하였다(Fig. 6). 3~5개의 다형의 *EcoRI* 단편들이 각기 다른 크기로 검출되었으며, 6개의 S-遺傳子型이 서로 동일한 genome 구성을 하고 있지 않은 것으로 판단하면, 이들 간에는 동일한 S-遺傳子型이 없는 것으로 결론지을 수 있다. Isogai 등(1987)에 의하면 S²⁸, S⁴³-遺傳子는 그들의 coding region에 *EcoRI* 제한효소 절단부위가 없다고 보고하였다. 그럼에도 불구하고 복수의 단편들이 검출된 것은 핵 genome내에 S-糖蛋白質 構造遺傳子와 관련된 몇 개의 se-



Fig. 6. Genomic DNA-gel blot analysis for 6 different S-genotypes with an intra-family, indicating polymorphism of each S-genotype. DNA was isolated from leaves and digested with *EcoRI* and hybridized with S^8 cDNA probe.

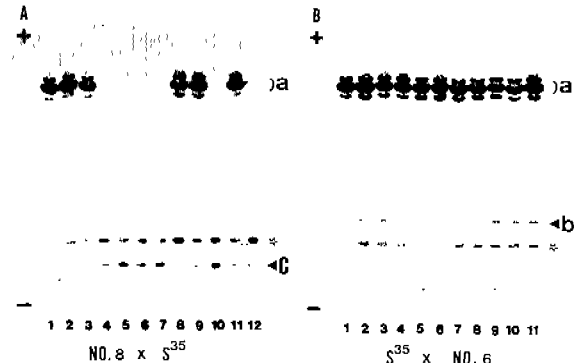


Fig. 7. IEF-immunoblot analysis of S-glycoprotein for F_1 progenies from plant no. 8 (S^8S^8) $S^{35}S^{35}$ (A) and $S^{35}S^{35}$ plant no. 6 (S^8S^8) (B), respectively, indicating that the segregator of S-glycoprotein was not corresponded with normality. The stigma protein was reacted with anti- S^8 -glycoprotein-antiserum. a, S^8S^8 ; b, S^8S^6 ; c, S^8S^7 ; ☆, $S^{35}S^{35}$ specific bands.

quence가 존재한다는 의미일 것이다. 이러한 예는 Dywer 등(1989) 및 Nasrallah 등(1987)의 보고에 의해서도 입증되어 S-遺傳子는 multigene family로 생각된다.

F_1 個體의 유전양상과 S-糖蛋白質의 분리. 헤테로 個體의 분리양상을 조사하기 위해 No. 8(S^8S^8)을 母本으로 하여 既知의 $S^{35}S^{35}$ 個體와 교배시켜 F_1 을 육성하였다. 각 個體에 대한 IEF-immunoblot 분석 결과, S^{35} 및 S^8 遺傳子의 산물은 모든 個體에서 검출되었고, S^8 -遺傳子 산물은 1:1로 분리하였다(Fig. 7A). 정상적인 유전형상으로는 S^8S^{35} 와 S^8S^{35} 의 비율이 1:1로 분리되어야 하나 비정상적인 분리를 나타냈다. 이것을 優·劣性 關係의 현상으로 무리하게 해석하면 S^{35} 가 S^8 에 대하여 優性, S^8 와 S^{35} 는 共優性 關係에 있는 것 같다. 그러나 현재까지 S-糖蛋白質과 優·劣性 關係를 관련지어 보고한 정보가 없어 좀 더 근거 있는 연구가 필요하다. 또한 系統內 個體間 교배실험 결과, 상이한 band pattern을 가진 個體끼리는 和合性을 나타냈다. Fig. 7B에서는 既知의 $S^{35}S^{35}$ 를 母本으로 하여 No. 6(S^8S^8) 個體를 교배시켜 F_1 을 육성하여 系統內 각 個體의 S-糖蛋白質의 분리를 조사하였다. 이 조합에서도 분리가 전혀 인정되지 않았으나, 個體間 相反交配 結果 胞子體型 自家不和合性의 유전형상으로는 설명 가능하였다.

이러한 비정상적인 유전형상은 復數遺傳子座에 의해 조절되는 수 개의 復對立遺傳子間의 상호작용 결과 劣性 遺傳子의 발현이 억제되어 산물형성에 관여된다고 생각된다.

摘 要

*Brassica campestris*에 있어서 自家不和合성은 일반적으로

로 單一 S-遺傳子座에 의해 지배되는 復對立遺傳子系로 설명되어진다. 그리고 S-遺傳子의 산물로서 S-糖蛋白質의 존재가 밝혀졌다. 본 실험에서는 單一 遺傳子座 假說에 의해 설명할 수 없는 S-遺傳子系統의 유전양상(花粉管 行動, S-糖蛋白質 分離), S-糖蛋白質의 특성, 핵 게놈내 DNA의 구성을 조사하였고, F_1 을 육성하여 S-糖蛋白質의 분리양상을 검토하였다. 系統內 二面交配에 의해, 같은 系統內의 15個體 中에 3종류의 호모 個體와 3종류의 헤테로 個體가 존재하는 것이 확인되었으며, S-遺傳子의 分離는 單一 遺傳子座의 假說에 의해 설명할 수 없었다. IEF-immunoblot 분석으로부터 S-復對立遺傳子의 산물인 S-糖蛋白質의 S 특이적 band들의 분리양상은 한 경우(S^8S^8)를 제외하고 二面交配의 결과와 일치하였다. 6종의 상이한 S-遺傳子型의 분자량은 약 53 kD 부근에서 변이하였고, 2, 3本の band로 발현하였다. 각 호모 個體에 대한 3종의 S-遺傳子型의 게놈 구성은 서로 상이하였으며 핵 게놈내에 S-糖蛋白質 構造 遺傳子와 관련된 sequence가 다수 존재하는 것을 확인하였다. 그리하여 이러한 비정상적인 系統內의 S-復對立遺傳子는 復數遺傳子座에 의해 조절될 수 있다는 가능성과, F_1 의 비정상적인 S-糖蛋白質의 분리로 판단하면 變異遺傳子 혹은 抑制遺傳子에 의해 優劣關係가 성립할 수 있다는 가능성을 지적하였다.

參 考 文 獻

Dywer, K.G., A. Chao, B. Cheng and J.B. Nasrallah. 1989. The Brassica self-incompatibility multigene family. *Ge-*

- nome 31: 969-972.
- Hinata, K. and T. Nishio. 1978. S-allele specificity of stigma proteins in *Brassica oleracea* and *Brassica campestris*. *Heredity* 41: 93-100.
- Isogai, A., S. Takayama, C. Tsukamoto, Y. Ueda, H. Shiozawa, K. Hinata, K. Okazaki and A. Suzuki. 1987. S-locus-specific glycoproteins associated with self-incompatibility in *Brassica campestris*. *Plant Cell Physiol.* 28: 1279-1291.
- Kroh, M. 1964. An electron microscopic study of the behavior of *Cruciferae* pollen after pollination. In, pollen physiology and fertilization (ed. H.F. Linskins), Amsterdam: N. Holland Publ. Co. pp. 221-224.
- Lewis D., S.C. Verma and M.I. Zuberi. 1988. Gametophytic-sporophytic incompatibility in the *Cruciferae*--*Raphanus sativus*. *Heredity* 61: 355-366.
- Nasrallah, M.E., D.H. Wallace and R.M. Savo. 1972. Genotypes, protein phenotype relationships in self-incompatibility of *Brassica*. *Genet. Res.* 20: 151-160.
- Nasrallah, M.E., T.H. Kao, C.H. Chen, M.L. Goldberg and M.E. Nasrallah. 1987. Amino-acid sequence of glycoproteins encoded by three alleles of the S-locus of *Brassica oleracea*. *Nature* 326: 617-619.
- de Nettancourt, D. 1977. Incompatibility in Angiosperms. Springer-Verlag, Berlin. 230 p.
- Nishio, T. and K. Hinata. 1977. Analysis of S-specific proteins in stigma of *Brassica oleracea* L. by isoelectric focusing. *Heredity* 38: 391-396.
- Nishio, T. and K. Hinata. 1978. Stigma proteins in self-incompatible *Brassica campestris* L. and self-incompatible relatives with special reference to S-allele specificity. *Jpn. J. Genet.* 53: 27-33.
- Nou, I.S., M. Watanabe, A. Isogai, H. Shiozawa, A. Suzuki and K. Hinata. 1991. Variation of S-alleles and S-glycoproteins in a naturalized population of self-incompatible *Brassica campestris* L. *Jpn. J. Genet.* 66: 227-239.
- Nou, I.S., M. Watanabe, A. Isogai and K. Hinata. 1993. Comparison of S-alleles and S-glycoproteins between two wild populations of *Brassica campestris* L. in Turkey and Japan. *Sex. Plant Reprod.* 7: (in press).
- Nou, I.S., Y.H. Lee and J.H. Kim. 1993. Research trend on Homomorphic self-incompatibility: I. Genetic analysis and Molecular research on sporophytic self-incompatibility. *Kor. J. Breed.* 25: 65-80.
- Ockendon, D.J. 1974. Distribution of self-incompatibility alleles and breeding structure of open-pollinated cultivars of Brussel sprouts. *Heredity* 33: 159-171.
- Ockendon, D.J. 1977. Rare self-incompatibility alleles in a purple cultivar of Brussel sprouts. *Heredity* 39: 149-152.
- Ockendon, D.J. 1980. Distribution of S-alleles and breeding structure of cape broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Ther. Appl. Genet.* 58: 11-15.
- Ozturk, M., K. Hinata, S. Tsunoda and C. Gomez-campo. 1983. A general account of the distribution of the cruciferous plants in Turkey. *E. U. Fac. Sci. J. Series B. Vol. VI*: 87-97.
- Putrament, A. 1960. Studies in self-sterility in *Raphanus sativus* (L) var. *radicular* (DC) *Act. Soc. Bot.* 26: 289-313.
- Roger, S.O. and A.J. Bendich. 1985. Extraction of DNA from milligram amount of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Mol. Biol.* 5: 69-76.
- Takayama, S., A. Isogai, C. Tsukamoto, Y. Ueda, K. Hinata, K. Okazaki and A. Suzuki. 1987. Sequence of S-glycoproteins, products of the *Brassica campestris* self-incompatibility locus. *Nature* 326: 102-105.
- Thompson, K. F. and J. P. Taylor. 1966. Non-linear dominance relationships between S-alleles. *Heredity* 21: 345-362.
- Zuberi, M. I. and D. Lewis. 1988. Gametophytic-Sporophytic incompatibility in the *cruciferae*--*Brassica campestris*--. *Heredity* 61: 367-377.

(1992. 12. 30 接受)