

BADANIA NAD GENAMI WARUNKUJĄCYMI JĘDRNOŚĆ OWOCÓW TRUSKAWKI (*Fragaria x ananassa*)

Małgorzata Korbin, Jolanta Majka, Edward Żurawicz

Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach

Wstęp

Jędrność owoców jest istotnym problemem zarówno dla rynku owoców świeżych, jak i produkowanych dla potrzeb przetwórstwa. Określony stopień jędrności stanowi ważną cechę jakościową, charakteryzującą odmianę i zależną od stadium rozwoju fizjologicznego rośliny [BRADY 1987]. W przypadku owoców miękkich, takich jak truskawka, naturalne mięknięcie owocu podczas dojrzewania oraz dalszy spadek jędrności w fazie pozbiorczej powoduje, że w produkcji preferowane są odmiany, które nie tylko odpowiadają wymogom konsumenta, ale i charakteryzują się wysokim stopniem jędrności. Stawia to przed hodowlą zadanie szybkiego selekcjonowania genotypów, stanowiących najbardziej pożądany materiał wyjściowy w programach hodowlanych.

Naturalna zmiana jędrności w trakcie dojrzewania owoców jest związana z metabolizmem polisacharydów ściany komórkowej [KNEE i in. 1977]. Wzmoczoną aktywność genów kodujących enzymy regulujące gospodarkę celulozowo-pektynową (celulaza, ekspanzyna, metylesteraza, liaza pektynowa, poligalakturonaza) obserwowano w dojrzewających owocach roślin różnych gatunków [ABELES, TAKEDA 1990; MEDINA-ESCOBAR i in. 1997; HADFIELD i in. 1998; HARPSTER i in. 1998; BRUMMEL i in. 1999; CIVELLO i in. 1999]. W 2001 roku w Zakładzie Hodowli Roślin Sadowniczych Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa (ISK) podjęto kompleksowe badania mające na celu ustalenie, który z genów aktywnych podczas dojrzewania wpływa równocześnie na jędrność owoców truskawki jako cechę odmianową. Analiza sekwencji i ekspresji genów wyizolowanych z genotypów różniących się tą cechą powinna pozwolić na określenie potencjalnej roli analizowanych fragmentów genomu w uzyskaniu przez odmianę określonego stopnia jędrności, a w praktyce hodowlanej umożliwić skonstruowanie markerów selekcyjnych, opartych na polimorfizmie sekwencji DNA.

W niniejszej pracy przedstawione są wyniki badań nad izolacją i identyfikacją genów dwóch enzymów sterujących przemianami celulozy – celulazy i ekspanzyny.

Materiał i metody

Rośliny i izolacja materiału genetycznego. Rośliny odmian 'Dukat', 'Vikat', 'Kama', 'Kent' i 'Salut' pochodziły z kolekcji Zakładu Hodowli Roślin Sadowniczych. Do izolacji materiału genetycznego używano 2–4 g świeżej tkanki pochodzącej z młodych liści i ich zawiązków (izolacja DNA) lub dojrzałych owoców (izolacja RNA). Genomowe DNA izolowano metodą opartą na wiązaniu kwasów nukleinowych w obecności CTAB i merkaptoetanolu [DOYLE, DOYLE 1990], a RNA zgodnie z metodyką opisaną przez SCIULTZA i in. [1994]. Koncentrację kwasów nukleinowych oraz czystość uzyskanych preparatów oceniano spektrofotometrycznie, a w przypadku DNA również na podstawie porównania w żelu agarozowym z DNA faga λ o znanej koncentracji (Gibco).

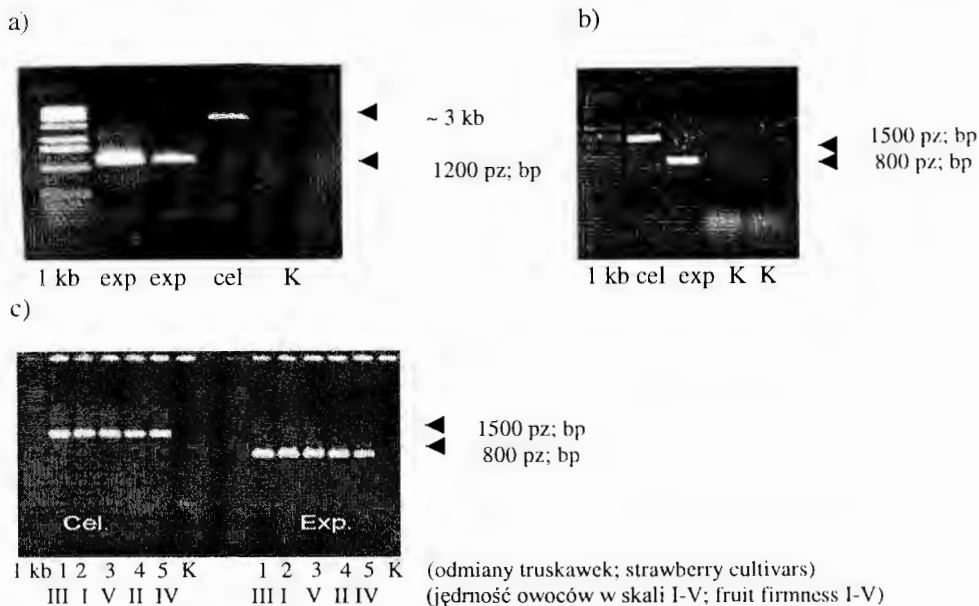
PCR i RT-PCR. Łańcuchowa reakcja polimerazy była prowadzona w 25 μ l mieszaniny reakcyjnej, zawierającej około 100–200 ng matrycy genomowego DNA lub 1 μ l cDNA, które uzyskiwano w reakcji odwrotnej transkrypcji (RT) z 1–5 μ g RNA przy zastosowaniu zestawu Superscript II (Gibco). Mieszanina reakcyjna PCR zawierała dodatkowo 0,25U Platinum Hf Taq polimerazy i 2,5 μ l 10 x PCR buforu (Gibco), 0,5 μ l 10 mmol dNTP·dm⁻³, 0,75 μ l 50 mmol MgCl₂·dm⁻³ oraz po 0,3 μ l każdego ze starterów (5 μ M). Startery do PCR skonstruowano na podstawie sekwencji cDNA truskawki i oznaczono jako celU1.2 i celL1.2 oraz expU1, expL1, expL2 i expL3. Amplifikację przeprowadzano w termocyklerze PTC 200 podczas 30 cykli przy następujących parametrach reakcji: denaturacja w 94°C przez 30 s, przyłączanie starterów w 50–55°C przez 30 s oraz wydłużanie nici w 72°C przez 90 s. Produkty reakcji rozdzielano w 0,8% żelu agarozowym i analizowano w świetle UV po wybarwieniu bromkiem etydydy.

Klonowanie i sekwencjonowanie. Oczyszczone produkty PCR (kolumny Qiagen Quick) pochodzące z reakcji z materiałem genetycznym truskawki 'Dukat' klonowano w ultrakompetentnych komórkach bakterii *Escherichia coli* (Gibco). Do klonowania używano wektora TOPO TA (Invitrogen). Bakterie hodowano na pożywce selekcyjnej z ampicyliną oraz Xgal-IPTG. Z losowo wybranych komórek o białym zabarwieniu (minimum dwóch dla każdego z produktów PCR), które namnożono w buforze LB, wydzielono plazmidy do sekwencjonowania. Sekwencjonowanie prowadzono w zestawie Alf-express w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN (Warszawa). Uzyskane sekwencje analizowano przy pomocy programu komputerowego Dnastar.

Wyniki i dyskusja

W wyniku reakcji amplifikacji genomowego DNA, wyizolowanego z roślin truskawki 'Dukat' ze starterami skonstruowanymi w oparciu o fragmenty cDNA truskawki, uzyskano produkty o długości około 3 kb oraz 1,2 kb. Analogiczna reakcja przeprowadzona na matrycy cDNA, uzyskanego po odwrotnej transkrypcji mRNA tych samych roślin, pozwoliła na uzyskanie fragmentów DNA o długości odpowiednio około 1500 i 800 pz (rys. 1a, 1b). Nie obserwowano różnicy w długości produktów obserwowanych w reakcjach z parami starterów expU1/L1, expU1/L2 i expU1/L3 (rys. 1a). Zważywszy, że startery celU1.2 i celL1.2 zostały zaprogramowane tak, aby powielić fragment DNA zawierający prawdopodobny gen celulazy o długości około 1500 pz, a startery expU1 i L1 oraz L2 i L3 tak,

aby namnożyć fragment DNA zawierający gen ekspansyny (~ 800 pz), należy przypuszczać, że uzyskane produkty PCR były specyficzne. Różnica w długości produktów uzyskiwanych w reakcjach z genomowym DNA i cDNA wynikała z obecności w tym pierwszym typowych dla genomu organizmów wyższych regionów niekodujących [BROWN 2001].



Rys. 1. Produkty PCR na matrycy genomowego DNA (a) i cDNA (b) pochodzącego z truskawki 'Dukat' oraz z cDNA (c) odmian 'Dukat' (1), 'Kama' (2), 'Kent' (3), 'Vikat' (4) i 'Salut' (5), różniących się jędrnością owoców (I-V), uzyskane w reakcjach ze starterami celU1.2/L1.2 oraz expU1/L1.2-3. K – kontrola negatywna na PCR, 1 kb – markery długości DNA (Gibco)

Fig. 1. PCR products on template of genomic DNA (a) and cDNA (b) originated from 'Dukat' strawberry and cDNA cvs Dukat' (1), 'Kama' (2), 'Kent' (3), 'Vikat' (4) and 'Salut' (5) of different fruit firmness (I-V), obtained in reactions with primers celU1.2/L1.2 and expU1/L1.2-3. K – negative PCR control, 1 kb – DNA markers (Gibco)

Ostatecznej identyfikacji namnożonych fragmentów DNA dokonano po ich zsekwencjonowaniu (rys. 2, 3). Analizowane sekwencje wykazywały znaczny stopień homologii do publikowanych w Banku Genów sekwencji genu celulazy z truskawki odmiany 'Chandler' (99%) oraz sekwencji genu ekspansyny, izolowanego z truskawki 'Chandler' (97%) i brzoskwini (86%), (Bank Genów, nr AF 051346, AF 159563, AB 029083). Uzyskane wyniki potwierdziły, iż stosując zoptymalizowane warunki reakcji PCR wyizolowano fragmenty genomu truskawki 'Dukat' zawierające geny ekspansyny i celulazy. Obecność produktów o tej samej długości wyizolowanych na matrycy cDNA odmian 'Dukat', 'Kama', 'Kent', 'Vikat' i 'Salut' (rys. 1c) wykazała przydatność metody izolacji dla szerszego spektrum odmian.

```

atggcgcgaaatggcctttgcttaccgggaaatgctcccgcatttccgcgcaaacactcgtcctctcgtcgtcctcgtctct 80
atggcgcgaaatggcctttgcttaccgggaaatgctcccgcatttccgcgcaaacactcgtcctctcgtcgtcctcgtctct 80

ccagccaatccgcgcggccacgactaccacgacgcctccgcaagagcatcctcttcttcgaaggcca-cgctccggca 160
ccagccaatccgcgcggccacgactaccacgacgcctccgcaagagcatcctcttcttcgaaggccagcgctccggca 160

agctcccgcggatcaacgctcaaatggcgccgactccgcatcgcacgacggctccaccgcccggtagacttaacc 240
agctcccgcggatcaacgctcaaatggcgccgactccgcatcgcacgacggctccaccgcccggtagacttaacc 240

ggcggctactacgacgcccgcgacaactgtaagtccgggttccgatggcgttcacgaccactctgctggcgtggagcat 320
ggcggctactacgacgcccgcgacaactgtaagtccgggttccgatggcgttcacgaccactctgctggcgtggagcat 320

tatagacttcgggagggtcatggggacggagcagaggaacgcgggtcaaggcgttacggtgggggacagactacctctga 400
tatagacttcgggagggtcatggggacggagcagaggaacgcgggtcaaggcgttacggtgggggacagactacctctga 400

aggccacggcgggttctcggcgtcgtcttcgtccaagtccggcaccatactccgatcacaactgctgggagaggccggaa 480
aggccacggcgggttctcggcgtcgtcttcgtccaagtccggcaccatactccgatcacaactgctgggagaggccggaa 480

gacatggacacacgcccacggtgtacaaaaatcgaccacaacaaccgggatccgacgtggcagggcaaacgcgacggc 560
gacatggacacacgcccacggtgtacaaaaatcgaccacaacaaccgggatccgacgtggcagggcaaacgcgacggc 560

gctcgcgcgcgttc-atcgttttcagggtcacgtgaccccgttactcgagactgcttctcaatcgagccggttaaggttt 640
gctcgcgcgcgttcacatcgttttcagggtcacgtgaccccgttactcgagactgcttctcaatcgagccggttaaggttt 640

tcgagttcgtgataccaccgcggcgcgtacagctccagcctcaaaaacgcggtggtcccttttactgcgacgtcaac 720
tcgagttcgtgataccaccgcggcgcgtacagctccagcctcaaaaacgcggtggtcccttttactgcgacgtcaac 720

ggcttc-aggatgagttactgtggggagcagcgtggtgacacaaggcgtcgagaaggcggcagtagacagagaatacatagt 800
ggcttcaggatgagttactgtggggagcagcgtggtgacacaaggcgtcgagaaggcggcagtagacagagaatacatagt 800

gagaaacgaggtcattttgagagctggagataccattaacgagtttgggtgggataacaagcatgctgggattaatatc 880
gagaaacgaggtcattttgagagctggagataccattaacgagtttgggtgggataacaagcatgctgggattaatatc 880

tcatttctaaggaagtgcattatgggaaaatcagattatctcgaatcttcaagcaaatgcagatggatttatatgctct 960
tcatttctaaggaagtgcattatgggaaaatcagattatctcgaatcttcaagcaaatgcagatggatttatatgctct 960

gttttgctggacttgcacatacccaagtccaatattctccaggtggtttgatcttcaagcctggaggaggataacatgca1040
gttttgctggacttgcacatacccaagtccaatattctccaggtggtttgatcttcaagcctggaggaggataacatgca1040

gcatgtaacttcgctatcgttctcgtctttgacttatccaactatcctaagccacgccaataagaacgtgccgtgtggca1120
gcatgtaacttcgctatcgttctcgtctttgacttatccaactatcctaagccacgccaataagaacgtgccgtgtggca1120

tgacctcgcctccccggccttctcaacaaa-tggctaaacgcaggtggattacattttgggtgacaatccattaag1200
tgacctcgcctccc-ggccttctcaacaaaatggctaaacgcaggtggattacattttgggtgacaatccattaag1200

aatgtcttacatggttggatatgggcccgcgttaccgcagaggattcaccaccggggcagctcacttccatcgggtgcagg1280
aatgtcttacatggttggatatgggcccgcgttaccgcagaggattcaccaccggggcagctcacttccatcgggtgcagg1280

cccatecggcccgatcggatgcaaaagccgggttctcgttattttctgagtcgaatccaaaccgcaataaatagttggg1360
cccatecggcccgatcggatgcaaaagccgggttctcgttattttctgagtcgaatccaaaccgcaataaatagttggg1360

gctgtgtggggcgacccaatagctcggatgcatttccgactcagggccttacttcaagagctgagcccacgacgta1440
gctgtgtggggcgacccaatagctcggatgcatttccgactcagggccttacttcaagagctgagcccacgacgta1440

cataaatgcccgcctgtgggctacttctgattttgcagcccattactgattctcgaagtgtaaacag.....1510
cataaatgcccgcctgtgggctacttctgattttgcagcccattactgattctcgaagtgtaaacag.....1510

```

Rys. 2. Porównanie sekwencji produktów PCR uzyskanych na matrycy cDNA truskawki 'Dukat' w reakcji ze starterami celU1.2/L1.2 (pierwsza linijka w tekście) z publikowanymi w Banku Genów sekwencjami genu celulazy truskawki 'Chandler' (nr AF 051346)

Fig. 2. Comparison of PCR product sequence obtained on template of 'Dukat' strawberry cDNA in reaction with primers celU1.2/L1.2 (the first line) with published in Genbank sequences of cellulase gene of 'Chandler' strawberry (nr AF 051346)

atggcttttacttcatgcttggctattactcttctggtatctgtcctcaacctctgcatcagaggcactatgccgacta 80
atggcttttacttcatgcttggctattactcttctggtatctgtcctcaacctctgcatcagaggcactatgccgacta 80
atggcttttacetcaacttagccattgctcttctgttctctgttctcaatctatgcttccaaggcactatggtgacta 80

cgggcggcttgggttgggtgggcatgccactttctatggagggtggatgcttctggcacaatgggagggtgctgtggat 160
cgggcggcttgggttgggtgggcatgccactttctatggagggtggatgcttctggcacaatgggagggtgcatgtggat 160
tgaggaggatgggaaagggtgcatgccacatttatgggtgggggtgatgcttctggcacaatgggagggtgctgtggat 160

atggaacttgtacagccaagggtatggaaccaactgcagcactaagcacagctctgttcaacgatggcttgagctgc 240
atggaacttgtacagccaagggtatggaaccaactgcagcactaagcacagctctgttcaacgatggcttgagctgc 240
atggaatttgtatagccaagggtatggaaccaactgcagcactcagcacagctctgttcaacgatggcttgagctgt 240

gggtcttctacgaaatgcgatgtgacaatgacctagatgggtgcttcccgggaagcatcatcgtcaccgccaccaact 320
gggtcttctacgaaatgcgatgtgacaatgacctagatgggtgcttcccgggaagcatcatcgtcaccgccaccaact 320
gggtctt**gttatgagatgagat**gtgacagtgaccccaaatgggtgcttcccgggaagcatcatcgtcactgccaccaact 320

ctgccctcccaacttctgctcaggccaatgacaacgggtggctgggtgcaacctctccctccagcacttcgatttggccgagc 400
ctgccctcccaacttctgctcaggccaatgacaacgggtggctgggtgcaacctctccctccagcacttcgatttggccgagc 400
ctgccctcctaact**tagctcagtc**taatgacaatgggtggctgggtgcaacctctctccagcacttcgatttggctgagc 400

ctgccttctgcaaatctgctcagtagccgctggaatcgctcccgtctcattcagaagagtgtctgtgtgaaaaagggga 480
ctgc**gttctt**gcaaatctgctcagtagccgctggtatcgctcccgtctcattcagaagagtgtctgtgtgaaaaagggga 480
ctgccttct**ca**aaatctgctcaataccgagccggaatgtcccgtctcattcagaaggggttctgtgtgaaaaagggga 480

gggatcagattcaaatcaacggcactcctacttcaacttgggtttgatcacaaactgttcaggagcaggagatgtgca 560
gggatcagattcaaatcaacgggactcctacttcaacttgggtttgatcacaaactgttcaggagcaggagatgtgca 560
gggat**ca**gattcaccatcaacggctcactcttacttcaacttgggtttgatcacaaactgttcaggagcaggagatgtgca 560

ctcggtgctgatcaaaaggtccaaagggtgggtggcaatccatgtcaaggaactggggacagaactggcagagcaacaact 640
ctcggt**tt**cgatcaaaaggtccaaagggtgggtggcaatccatgtcaaggaactggggacagaactggcagagcaacaact 640
ctctgtt**ctca**atcaaggggtccaa**aac**agggtggcaagccatgtcaaggaactggggccagaactggcagagcaact**ctt** 640

acctcaacggacaagccctgtctttcaggtcacaaccagtgacggtaggactgtgaccagcaacaactgtgccctgggt 720
acctcaacggacaagccctgtctttcaggtcacaaccagtgacggcaggactgtgaccagcaacaactgtgccctgggt 720
acctcaatggcag**gctt**gtcttccaa**ag**tcaccaccagtgacggtaga**act**gtgaccagca...atgctgtg**ccagct** 720

aactggcagtttgggtcaaacgttttcaggcgggtgaattctag..... 762
aactggcagtttgggtcaaacgttttcaggcgggtgaattctag..... 763
aactggcagtttgggtcaaac**at**tttcaggcgggtgaattctag..... 762

Rys. 3. Porównanie sekwencji produktów PCR uzyskanych na matrycy cDNA truskawki 'Dukat' w reakcji ze starterami expU1/L3 (pierwsza linijka w tekście) z publikowanymi w Banku Genów sekwencjami genu ekspansyny truskawki 'Chandler' (nr AF 159563 – 2 linijka) i brzoskwini (nr AB 029083 – 3 linijka)

Fig. 3. Comparison of PCR product sequence obtained on template of 'Dukat' strawberry cDNA in reaction with the primers expU1/L3 (the first line of tekst) with published in Genebank sequences of expansin gene of 'Chandler' strawberry (nr AF 159563 – 2 line) and peach (nr AB 029083 – 3 line)

Ekspansyna i celulaza należą obok metylesterazy, liazy pektynowej i poligalakturonazy do grupy enzymów regulujących metabolizm polisacharydów ściany komórkowej [KEMMERE, TUCKER 1994; COSGROVE 1998; HARPSTER i in. 1998]. Silna ekspresja kodujących je genów była odnotowana podczas dojrzewania zarówno owoców klimakterycznych [HUBER 1983; BRUMMEL i in. 1999], jak i nieklimakterycznych [ABELES, TAKEDA 1990; CIVELLO i in. 1999]. Zważywszy, iż podczas dojrzewania owoców następuje spadek ich jędrności, można przypuszczać, że geny aktywne w tym procesie mogą również uczestniczyć w kształtowaniu różniącej odmiany cechy jędrności owoców. Produkty PCR uzyskane z odmian różniących się jędrnością owoców (w skali I–V: 'Dukat' – III, 'Kama' – I, 'Kent' – V, 'Vikat' – II i 'Salut' –

IV) charakteryzowały się tą samą długością (rys. 1c), jednak prowadzona aktualnie analiza sekwencji wydzielonych z nich genów powinna ujawnić różnice, na podstawie których można skonstruować markery cechy jędrności. Badania nad zróżnicowaniem sekwencji pozostałych genów związanych z metabolizmem polisacharydów ściany komórkowej są kontynuowane.

Literatura

- ABELES F.B., TAKEDA F. 1990. *Cellulase activity and ethylene in ripening strawberry and apple fruits*. Sci. Hort. 42: 269–275.
- BRADY C.J. 1987. *Fruit ripening*. Ann. Rev Plant Physiol. 38: 155–179.
- BROWN T.A. 2001. *Genomy*. Wydawnictwo Naukowe PWN: 472 ss.
- BRUMMEL D.A., HARPSTER M.H., DUNSMUIR P. 1999. *Differential expression of expansin gene family members during growth and ripening of tomato fruit*. Plant Mol. Biol. 39: 161–169.
- CIVELLO P.M., POWELL A.L.T., SABEHAT A., BENETT A.B. 1999. *An expansin gene expressed in ripening strawberry fruit*. Plant Physiol. 121: 1273–1279.
- COSGROVE D.J. 1998. *Cell wall loosening by expansins*. Plant Physiol. 118: 333–339.
- DOYLE J.J., DOYLE J.L. 1990. *Isolation of plant DNA from fresh tissue*. Focus 12: 13–15.
- HADFIELD K.A., ROSE J.K.C., YAVER D.S., BERKA R.M., BENNET A.B. 1998. *Polygalacturonase gene expression in ripe melon fruit supports a role for polygalacturonase in ripening-associated pectin disassembly*. Plant Physiol. 117: 363–373.
- HARPSTER M.H., BRUMMEL D.A., DUNSMUIR P. 1998. *Expression analysis of ripening-specific, auxin-repressed endo-1,4- β -glucanase gene in strawberry*. Plant Physiol. 118: 1307–1316.
- HUBER D.J. 1983. *Polyuronide degradation and hemicellulose modification in ripening tomato fruit*. J. Food Sci. 49: 1310–1315.
- KEMMERER E.C., TUCKER M.L. 1994. *Comparative study of cellulases associated with adventitious root initiation, apical buds and leaf, flower and pod abscission zones in soybean*. Plant Physiol. 104: 557–562.
- KNEE M., SARGENT J.A., OSBORNE D.J. 1977. *Cell wall metabolism in developing strawberry fruits*. J. Exp. Bot. 28: 377–396.
- MEDINA-ESCOBAR N., CARDENAS J., MOYANO E., CABALLERO J.L., MUNOZ-BLANCO J. 1997. *Cloning, molecular characterisation and expression pattern of a strawberry ripening-specific cDNA with sequence homology to pectate lyase from higher plants*. Plant Mol. Biol. 34: 867–877.
- SCHULTZ D.J., CRAIG R., COST-FOSTER D.I., MUMMA R.O., MEDFORD J.I. 1994. *RNA isolation from recalcitrant plant tissue*. Plant Mol. Biol. Rep. 12: 310–316.

Słowa kluczowe: truskawka, jędrność, ekspansyna i celulaza, sekwencja genów

Streszczenie

Metabolizm komponentów polisacharydowych ściany komórkowej wpływa na wiele cech fenotypowych i fizjologicznych roślin, m.in. na zmiany jędrności

owoców podczas ich dojrzewania. Celem badań podjętych w 2001 roku w Zakładzie Hodowli Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa było określenie, który z genów regulujących gospodarkę celulozowo-pektynową warunkuje równocześnie jędrność owoców jako cechę typową dla każdej z odmian truskawki. Badania prowadzono na genomowym DNA i cDNA truskawki 'Dukat' oraz czterech innych odmian różniących się jędrnością owoców ('Kama', 'Kent', 'Vikat', 'Salut'). W zoptymalizowanych warunkach PCR w reakcji ze starterami celU1.2/L1.2 i expU1/L1-3 (konstrukcja na podstawie biblioteki cDNA truskawki) uzyskano produkty o długości około 3 kb i 1,2 kb (matryca: genomowe DNA) oraz 1,5 kb i 800 bp (matryca: cDNA). Wyniki sekwencjonowania produktów PCR potwierdziły, iż wyizolowane fragmenty zawierały geny celulazy i ekspansyny (86–99% homologii z sekwencjami genów podanych w Banku Genów dla roślin innych gatunków/odmian). Prace nad porównaniem sekwencji produktów PCR uzyskanych dla pozostałych analizowanych odmian są kontynuowane.

STUDIES ON GENES CODING THE FIRMNESS OF STRAWBERRY (*Fragaria x ananassa*) FRUITS

Małgorzata Korbin, Jolanta Majka, Edward Żurawicz
Research Institute of Pomology and Floriculture, Skierniewice

Key words: strawberry, firmness, expansin and cellulase, gene sequences

Summary

Metabolism of polysaccharides in cell wall influences many phenotypic and physiological plant traits, e.g. the changes in fruit firmness during ripening. The aim of studies carried out in the Fruit Breeding Department was searching for genes responsible for cellulose - pectin transformations simultaneously regulating strawberry fruit firmness typical for each cultivar. Genomic DNA and cDNA of 'Dukat' strawberry and four other cultivars of different firmness level ('Kama', 'Kent', 'Vikat', 'Salut') were used as a template for PCR with primers constructed on the basis of strawberry cDNA library. Under optimised PCR conditions the products of length about of 3 kb and 1.2 kb (genomic DNA) and 1.5 kb and 800 bp (cDNA) were obtained respectively in reactions with primers celU1.2/L1.2 and expU1/L1-3. Results of PCR product sequencing confirmed that isolated DNA fragments contained cellulase and expansin genes (86–99% homology with published in Genebank sequences of other species/cultivars). Comparable studies on PCR product sequences obtained for the other genotypes are continued.

Dr Małgorzata Korbin
Zakład Hodowli Roślin Sadowniczych
Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa
ul. Pomologiczna 18
96–100 SKIERNIEWICE
e-mail: mkorbin@insad.pl