

Assessment of *lc* and *fas* genes on flower organs in cherry tomato genetic background via introgression

Fatemeh Kakoei Nejad 

MSc Student, Department of Genetics and Plant Production, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: fatemehkakoei@gmail.com

Mehdi Mohayjeji* 

*Corresponding author. Assistant Professor, Department of Genetics and Plant Production, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: mohayjeji@uk.ac.ir

Ali Akbar Maghsoudi Moud 

Associate Professor, Department of Genetics and Plant Production, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: maghsoudi.aa@uk.ac.ir

Abstract

Objective

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is divided into two botanical varieties *cerasiforme* and *lycopersicum*. Many researchers believe that during domestication process, some changes in key genes governing flower properties in cherry tomato (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) led to the development of the variety *lycopersicum*. The aim of this research was transferring *lc* and *fas* genes to the cherry tomato genetic background and assessment the effects of these two loci on flower characteristics in cherry tomato background.

Materials and methods

In this survey the genes *lc* and *fas* were transferred to a cherry tomato line p-33 via marker-assisted backcrossing. In each back cross generation, mutated alleles were chosen using specific molecular markers. Backcrossing was continued up to BC₃F₁. Afterward, the generation BC₃F₂ was produced and homozygote near-isogenic lines (NILs) were generated for assessment of genes *lc* and *fas* in p-33 genetic background. The flower traits including the number of petals, number of sepals, number of stamens, primary fruit weight and locule number were measured.

Results

The results showed that the effects of genes *lc* and *fas* on the trait's number of petals, sepals, and stamens were statistically significant at 5% level. While the effects of the mentioned genes on the rest of traits was significant at 1% level. The number of sepals, petals, and stamens in NILs-*fas* increased 31.28%, 36.79%, and 40.48% with respect to line p-33, respectively. Also, the number of locules increased in NILs-*lc* and NILs-*fas* with respect to line p-33 (37.88% and 47.63% respectively). Moreover, the primary fruit diameter showed increment in NILs-*lc* and NILs-*fas* respect to line p-33 (14.91% and 11.81% respectively). *lc* and *fas* loci had also a magnificent effect on flower size and showed incredible increase in NILs-*lc* and NILs-*fas* respect to line p-33.

Conclusions

The result of this study displayed that *lc* and *fas* genes have dramatic effect of in flower characteristics of tomato var. *cerasiforme*. The results also showed that the studied genes had key role in giving rise to *S. lycopersicum* var. *lycopersicum* form *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* during tomato domestication.

Keywords: Near Isogenic lines, Back crossing, Major genes, Marker assisted selection

Paper Type: Research Paper.

Citation: Kakoei Nejad F, Mohayjeji M, Maghsoudi Moud A A (2024) Assessment of *lc* and *fas* genes on flower organs in cherry tomato genetic background via introgression. *Agricultural Biotechnology Journal* 16 (3), 23-42.

Agricultural Biotechnology Journal 16 (3), 23-42.

DOI: 10.22103/jab.2024.22914.1550

Received: June 22, 2024.

Received in revised form: July 30, 2024.

Accepted: July 31, 2024.


Published online: September 30, 2024

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.




© the authors

بررسی اثر معرفی ژن های *lc* و *fas* بر اندام های گل در پس زمینه ژنتیکی گوجه فرنگی گیلاسی از طریق اینترگرسیون

فاطمه کاکوئی نژاد 

دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه:
fatemehkakoei@gmail.com

مهدی مهبجی 

*نویسنده مسئول: استادیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه:
mohayeji@uk.ac.ir

علی اکبر مقصودی 

دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه:
maghsoudi.aa@uk.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۲ تاریخ دریافت فابل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳/۰۵/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۱۰

چکیده

هدف: گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) دارای دو واریته گیاهشناسی *cerasiforme* و *lycopersicum* است. طی فرآیند اهلی سازی تغییر در برخی ژن های کلیدی ویژگی های اندام گل را در این گیاه تغییر داده و به اعتقاد بسیاری از محققان موجب ایجاد واریته *lycopersicum* از واریته گیلاسی (*S. lycopersicum* var *cerasiforme*) شده است. هدف این مطالعه انتقال ژن های *lc* و *fas* به پس زمینه ژنتیکی گوجه فرنگی گیلاسی و بررسی تأثیر این دو مکان ژنی بر ویژگی های اندام های گل است.

مواد و روش ها: در این بررسی ژن های *lc* و *fas* از لاین p-22 از طریق تلاقی برگشتی به کمک نشانگر به لاین گوجه فرنگی گیلاسی با نام لاین p-33 انتقال داده شد. گزینش در هر نسل تلاقی برگشتی با استفاده از نشانگرهای مولکولی اختصاصی برای آل های اهلی جهش یافته انجام شد. تلاقی برگشتی تا نسل BC₃F₁ ادامه یافت. از خودگشنی این نسل BC₃F₂ تولید و لاین های ایزوژن نزدیک (NILs) هموزیگوت برای بررسی اثرات ژن های *lc* و *fas* در زمینه ژنتیکی لاین p-33، ایجاد گردید. سپس بررسی صفات گل شامل تعداد گلبرگ، کاسبرگ، پرچم، قطر میوه اولیه و تعداد حجره انجام شد.

نتایج: نتایج نشان داد که ژن *fas* بر صفات تعداد کاسبرگ، گلبرگ و پرچم در سطح ۵ درصد و صفات تعداد حجره و قطر میوه اولیه در سطح یک درصد تأثیر معنی داری داشتند. به طوری که تعداد کاسبرگ‌ها، گلبرگ‌ها و پرچم‌ها در ایزوژن‌های حاوی *fas* نسبت به لاین p-33 به ترتیب ۳۱/۲۸، ۳۶/۷۹ و ۴۰/۴۸ درصد افزایش نشان دادند. تعداد حجره‌ها در ایزوژن‌های حاوی *lc* و *fas* نسبت به لاین p-33 به ترتیب افزایش ۳۷/۸۸ و ۴۷/۶۴ درصدی داشتند. علاوه بر این قطر میوه اولیه نیز در ایزوژن‌های حاوی *lc* و *fas* نسبت به لاین p-33 به ترتیب با ۱۴/۹۱ و ۱۱/۸۱ درصد افزایش همراه بود. همچنین اثر مکان‌های ژنی *lc* و *fas* بر ابعاد گل معنی دار بود و افزایش قابل توجهی در NIL‌های حامل ژن *lc* و *fas* نسبت به لاین p-33 مشاهده شد.

نتیجه گیری: نتایج این پژوهش مؤید نقش چشمگیر دو مکان ژنی *lc* و *fas* بر ویژگی‌های اندام زایشی گوجه فرنگی گیلاسی بود. همچنین نشان داد که این دو ژن نقش کلیدی در پدید آمدن واریته *S. lycopersicum* var. *lycopersicum* از *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* داشتند.

کلیدواژه‌ها: لاین‌های ایزوژن نزدیک، تلاقی برگشتی، ژن‌های بزرگ‌اثر، گزینش به کمک نشانگر

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: کاکویی‌نژاد فاطمه، مهیجی مهدی، مقصودی مود علی اکبر (۱۴۰۳) بررسی اثر معرفی ژن‌های *lc* و *fas* بر اندام‌های گل در پس‌زمینه ژنتیکی گوجه فرنگی گیلاسی از طریق اینترگرسیون. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۶(۳)، ۲۳-۴۲.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.



© the authors

مقدمه

گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) به دلیل سیستم ژنتیکی ساده دیپلوئیدی، زمان کوتاه تولید نسل و تراریختگی آسان یک گیاه ایده‌آل برای تحقیق روی نمو گل و میوه محسوب می‌شود (Klee and Giovannoni 2011; Tomato; Genome Consortium 2012; Ranjan et al. 2012). پس از کشف گوجه‌فرنگی توسط اروپایی‌ها در اوایل قرن شانزدهم، این گیاه برای اولین بار به عنوان گیاه زینتی عرضه شد (Vergani 2002; Colvine and Branthôme 2016)، اما طی ۲۰۰ سال بعد به یک محصول جهانی با ارزش تبدیل شد. در قرن بیستم، بازار گوجه‌فرنگی با کمک برنامه‌های به‌نژادی گسترش یافت (Bai and Lindhout 2007; Panthee and Gardner 2011; Bauchet et al. 2017). ویژگی‌های گل و اندازه میوه یک شاخص اصلی در ارقام گوجه فرنگی تجاری است. میوه گوجه فرنگی اهلی می‌تواند تا حدود ۱۰۰۰ برابر از نمونه‌های وحشی بزرگ‌تر باشد. همچنین ابعاد و تعداد اندام‌های گل تحت تأثیر اهلی‌سازی دچار افزایش شده است. خاستگاه ارقام گوجه‌فرنگی (*S.*

lycopersicum L. به کوه‌های آند در آمریکای جنوبی باز می‌گردد (Bai and Lindhout 2007) در این منطقه اجداد وحشی گوجه فرنگی (*S. cheesmaniae*, *S. chilense*, *S. pimpinellifolium*, *S. peruvianum*) در زیستگاه طبیعی خود رشد می‌کنند (Peralta and Spooner 2000; Rezk et al. 2021). در قرن شانزدهم، اولین گوجه‌فرنگی اهلی شده راه خود را به اروپا پیدا کرد و تحت فرآیندهای اهلی‌سازی بیشتری قرار گرفت (Bai et al. 2004; Rezk et al. 2021). گوجه‌فرنگی اولیه واریته *cerasiforme* نام داشت. این واریته میوه‌های کوچکی دارد و به گوجه گیلاسی^۱ مشهور است. میوه گوجه فرنگی گیلاسی معمولاً بزرگ‌تر از میوه گونه وحشی و کوچک‌تر از بقیه ارقام گوجه است (Rodríguez et al. 2011). با این حال، تحقیقات ژنتیکی اخیر نشان داده است که واریته *cerasiforme* ترکیبی از گوجه‌فرنگی وحشی و اهلی است (Nesbitt and Tanksley, 2002). در بررسی Munos و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از نشانگرهای ردیف‌های تکراری ساده^۲ (SSRs) نشان داده شد که توده‌های گوجه فرنگی گیلاسی (*S. lycopersicum var cerasiforme*) حاوی قطعاتی از ژنوم‌های هر دو گونه *S. lycopersicum* و *pimpinellifolium* هستند. به نظر می‌رسد گوجه‌فرنگی *S. lycopersicum var cerasiforme* بر اساس طول دوره گلدهی کوتاه و حضور گسترده آن در آمریکای مرکزی، جد گوجه‌فرنگی زراعی باشد (Ranc et al. 2008). از این رو می‌توان از این واریته برای مطالعه تأثیرات فرآیند اهلی‌سازی بر گوجه فرنگی استفاده کرد. طی فرآیند اهلی‌سازی دو عامل شدت تقسیم سلولی مریستم گل و تعداد حجره‌ها، ویژگی‌های گل و اندازه نهایی میوه گوجه فرنگی را تعیین کرده است (Tanksley 2004). افزایش تعداد حجره بیش‌ترین تأثیر را بر اندازه میوه گوجه فرنگی دارد که از برچه تخمدان اولیه منشأ می‌گیرد. تقریباً تمام گوجه فرنگی‌های وحشی و چندین رقم گوجه فرنگی اهلی گیلاسی، میوه‌های دو حجره‌ای دارند. با این حال، بیشتر ارقامی که امروزه مصرف می‌شوند، میوه‌های چهار تا شش حجره‌ای یا بیشتر تولید می‌کنند (Tanksley 2004). افزایش تعداد حجره تا ۵۰ درصد از واریانس افزایش اندازه میوه را به خود اختصاص می‌دهد. اعتقاد بر این است که افزایش تعداد حجره‌ها نماینده آخرین مرحله افزایش قابل توجه در اندازه میوه طی فرآیند اهلی‌سازی است (Li et al. 2017). افزایش تعداد حجره‌ها به شدت با افزایش تعداد اندام‌های گل به ویژه برچه‌ها مرتبط است و توسط چندین QTL کنترل می‌شود (Barrero and Tanksley 2004). نشان داده شده است دو مکان ژنی بزرگ اثر *fas* (*fascinated*) و *lc* (*locule number*) در کنترل صفت تعداد حجره توسط نقش کلیدی ایفا می‌کنند (Lippman & Tanksley 2001; Knaap and Tanksley 2003; Barrero et al 2006; van der Knaap & Østergaard 2018; Chu et al. 2019). ژن‌های *lc* و *fas* در برخی فرآیندهای زیستی مانند تکوین مریستم گل، فعالیت‌های میکروتوبول‌ها و بیوسنتز استرول‌ها اثرگذار هستند (Chu Y H et al. 2019). این دو مکان ژنی بخشی از یک شبکه تنظیمی واحد هستند که اندازه مریستم‌های گل را کنترل می‌کند (van der Knaap et al. 2014; Swinnen et al. 2016). جهش در مکان ژنی *fas* و *lc* منجر به افزایش تعداد برچه‌ها می‌شود. شواهد نشان داده است که اثر مکان ژنی *fas* نسبت به مکان ژنی *lc* در

¹ Cherry

² Simple sequence repeats

افزایش تعداد برچه‌ها بیشتر است (Lippman & Tanksley 2001; Barrero & Tanksley 2004; Cong et al. 2008; Rodríguez et al. 2011; Munos et al. 2011; Slugina et al. 2020). جهش‌های طبیعی در مکان‌های *lc* و *fas* همانند ارتولوگ ژن‌های *WUSCHEL* (*WUS*) و *CLV3* مرتبط با سازماندهی مریستم در آراییدوپسیس هستند. این جهش‌ها در اصل به دلیل تأثیرات قوی آن‌ها بر تعداد حجره شناسایی شدند (Barrero et al. 2006; Lippman & Tanksley 2001; Muñoz et al. 2011; Rodríguez et al. 2011; Xu et al. 2015). اکثر ارقام گوجه‌فرنگی اهلی که میوه بزرگ دارند جهش‌های *lc* و *fas* را حمل می‌کنند. این امر نشان می‌دهد تنوع ژنتیکی تعداد حجره در گوجه‌فرنگی‌های اهلی محدود است (Munos et al. 2011). در بررسی Li و همکاران (۲۰۱۷) خاموش کردن مکان ژنی *SIWUS*¹ روی یک پس‌زمینه ژنتیکی دارای ژن جهش یافته *lc* با استفاده از RNAi منجر به کاهش ابعاد گل (شامل کاسبرگ و گلبرگ) تعداد حجره و اندازه میوه نسبت به گیاهان نوع وحشی شد. این مطالعه نشان داد که سطوح بیانی ژن‌های *TAG1* و *SICLV3* در لاین‌های *SIWUS* RNAi تغییر محسوس داشت و این تغییر در تنظیم رشد گل و میوه گوجه‌فرنگی نقش ایفا کرد. فنوتیپ جهش یافته *fas* به دلیل از دست دادن بیان یک فاکتور رونویسی شبه *YABBY*² ایجاد می‌شود (Cong et al. 2008). مطالعات اخیر یک وارونگی ۲۹۴ کیلوبازی را روی کروموزوم ۱۱ شناسایی کرده‌اند که نقطه شکست آن در اینترون شماره یک ژن شبه *YABBY* و یک کیلوباز بالادست ژن *CLAVATA3* گوجه‌فرنگی (*SICLV3*) است. این امر نشان می‌دهد یک تغییر تنظیمی در ژن *SICLV3*، زمینه ساز فنوتیپ جهش یافته *fas* است که منجر به افزایش تعداد حجره‌ها می‌شود (Huang and van der Knaap 2011; Xu et al. 2015). هیچ تفاوت توالی در منطقه کد کننده *fas* بین آلل‌های رمزگردان تعداد حجره بالا و حجره کم وجود ندارد و آلل با حجره بالا تنها با کاهش بیان mRNA ژن مذکور همراه است. خاموش شدن ژن *SIFAS* می‌تواند علاوه بر ژن *lc*، بیان ژن *SIWUS* را افزایش دهد. در نتیجه، منجر به رشد بیشتر مریستم گل و افزایش تعداد اندام‌های گل، از جمله برچه‌ها (حجره‌های میوه) می‌شود که برای ژنوتیپ گوجه‌فرنگی جهش یافته *fas* نشان داده شد (Slugina et al. 2020). مکان ژنی *lc* نیز تعداد حجره‌ها را کنترل می‌کند و جهش در این مکان ژنی منجر به افزایش حجره در میوه گوجه‌فرنگی می‌شود (Barrero et al. 2006; Muñoz et al. 2011). مکان ژنی *lc* در یک منطقه غیررمز کننده و غیررونویسی شونده قرار دارد. این مکان ژنی ممکن است با دو چند شکلی تک نوکلئوتیدی (SNPs) مطابقت داشته باشد که در ۱۰۸۰ جفت باز پایین دست ارتولوگ ژن *WUS* گوجه‌فرنگی قرار دارند (Muñoz et al. 2011). این دو SNP (A692G و T686C) مرتبط با تعداد برچه هستند که منجر به افزایش تعداد حجره میوه شده‌اند (Slugina et al. 2020). ژن *WUS* یک فاکتور رونویسی را رمزگذاری می‌کند که برای پایداری هویت سلول‌های بنیادی در مریستم‌های انتهایی شاخساره³ ضروری است (Clark, 2001; Li et al. 2017). در آراییدوپسیس، افزایش بیان ژن *WUS* منجر

¹ *Solanum lycopersicum WUSCHEL*

² *YABBY* like

³Shoot apical meristems -SAM

به افزایش تعداد اندام گل می‌شود که این فنوتیپ شبیه به فنوتیپ جهش یافته *lc* است (Clark, 2001; Li et al. 2017). ژن هومئوباکس^۱ *WUS* تنظیم‌کننده اصلی رشد مریستم انتهایی و مورد نیاز برای نگهداری سلول بنیادی است. ژن *WUS* به طور مثبت بیان ژن *AGAMOUS* (*AG*) را تنظیم می‌کند. ژن *AG* جزو فاکتورهای رونویسی *MADS box* است (Lenhard et al. 2011; Lohmann et al. 2001; Liu et al. 2001)، که نقش کلیدی در تنظیم تعیین تعداد پرچم و مادگی و تخصصی شدن مریستم گل ایفا می‌کند (Li et al. 2017; van der Knaap & Østergaard 2018). نحوه عمل دو SNP یاد شده در گوجه فرنگی هنوز شناسایی نشده است. اما ممکن است در تنظیم بیان *SIWUS* یا سایر ژن‌هایی که نقش مؤثری در رشد گل دارند، دخیل باشند (Muños et al. 2011). گزارش شده است که مکان ژنی *lc* عامل کلیدی تعیین کننده برای تعداد نهایی برچه در میوه گوجه فرنگی است. پیشنهاد شده است مکان ژنی *SIWUS* به عنوان یک ژن کاندیدا برای ژن *lc* محسوب شود (Li et al. 2017). منابع متعدد به چگونگی عملکرد ژن‌های *lc* و *fas* پرداخته‌اند و با روش‌هایی مانند خاموشی ژن اثرات آن‌ها را بررسی کرده‌اند. از سوی دیگر همان‌طور که ذکر شد، این دو ژن در فرآیند ایجاد گوجه فرنگی‌های درشت از گوجه‌های گیلاسی نقش کلیدی داشته‌اند. تاکنون گزارشی از بررسی اثر این ژن‌ها در زمینه ژنتیکی گوجه گیلاسی منتشر نشده است. این مطالعه بر آن است تا با انتقال این ژن‌ها به زمینه ژنتیکی گوجه فرنگی گیلاسی و بررسی تأثیر این دو ژن بر ویژگی‌های گل، نقش این ژن‌ها را در تحول گل از واریته *cerasiforme* به واریته *lycopersicum* مشخص سازد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال ۱۴۰۰ تا ۱۴۰۲ طی دو فصل کشت در هر سال در گلخانه دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد. در این مطالعه ژن‌های *lc* و *fas* (در لاین p-22) از طریق تلاقی برگشتی به لاین گوجه فرنگی گیلاسی (لاین p-33) انتقال داده شد. ابتدا لاین p-33 با لاین p-22 تلاقی داده شد و نسل F₁ ایجاد شد. سپس در نسل بعدی نتاج حاصل از تلاقی دوباره با لاین p-33 به عنوان والد تکراری تلاقی داده شد (نسل BC₁F₁). این رویه تا سه نسل (نسل BC₃F₁) ادامه یافت. با توجه به قرار گرفتن ژن‌های هدف روی دو کروموزوم متفاوت گزینش با کمک نشانگر اختصاصی برای هر ژن به صورت جداگانه طی نسل‌های تلاقی برگشتی انجام گرفت. جهت ارزیابی نهایی، در نسل BC₃F₁ بوته‌ها خودگشن شدند و در نسل بعد (BC₃F₂) ارزیابی لاین‌های ایزوژن نزدیک^۲ (NILs) انجام شد. در این نسل چهار نوع لاین ایزوژن به دست آمد که مشخصات آن‌ها در جدول ۱ آورده شده است. لاین‌های ایزوژن نزدیک همراه با لاین‌های والدی دهنده و گیرنده در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و پنج بوته در هر تکرار در گلخانه دانشگاه شهید باهنر کرمان کاشته شد. در هر نسل تلاقی برگشتی جهت گزینش بوته دارای ژن مورد نظر، گزینش به کمک نشانگر انجام شد.

¹ Homeobox

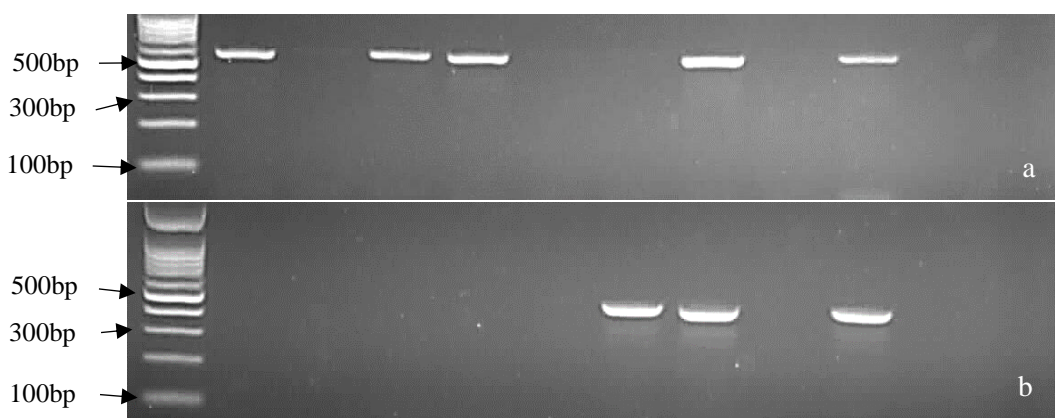
² Near isogenic lines

جدول ۱. نام و ویژگی‌های لاین‌های مورد مطالعه

Table 1. Studied lines name and their characteristics

ویژگی‌ها Characteristics	نام Name	ویژگی‌ها Characteristics	نام Name
لاین تکراری - فاقد ژن‌های <i>lc</i> و <i>fas</i> Recurrent parent without <i>lc</i> and <i>fas</i> genes	p-33	حامل ژن <i>lc</i> With <i>lc</i> gene	NILs- <i>lc</i>
لاین دهنده - دارای ژن‌های <i>lc</i> و <i>fas</i> Donor parent with <i>lc</i> and <i>fas</i> genes	p-22	فاقد ژن <i>lc</i> Without <i>lc</i> gene	NILs-LC
فاقد ژن <i>fas</i> Without <i>fas</i> gene	NILs-FAS	حامل ژن <i>fas</i> With <i>fas</i> gene	NILs- <i>fas</i>

جهت گزینش ژنوتیپ‌های حامل آلل‌های والد دهنده در هر نسل تلاقی برگشتی نمونه برگی از ژنوتیپ‌های آن نسل تهیه و استخراج DNA با استفاده از روش سقایی معروف و همکاران (Saghai-Marouf et al. 1984) با کمی تغییرات انجام شد. کیفیت و کمیت DNA با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز و دستگاه نانودرآپ مدل Thermo Scientific™ Nano Drop™ OneC سنجیده شد. توالی آغازگرهای اختصاصی برای ژن‌های *lc* و *fas* در جدول ۲ آورده شده است. گزینش هتروزیگوت‌های حامل در هر نسل تلاقی برگشتی با استفاده از آغازگرهای آلل اهلی (*lc*-F1R2، *fas*-FR1) (شکل ۱) انجام شد. برای گزینش لاین‌های هموزیگوت در نسل خودگشنی BC₃F₂ از آغازگرهای آلل‌های اهلی فوق و آغازگرهای آلل وحشی (*fas*-FR2، *lc*-F2R1) (شکل ۲) استفاده گردید و لاین‌های هموزیگوت حامل آلل اهلی و وحشی انتخاب شدند.



شکل ۱. گزینش نتاج هتروزیگوت طی یکی از نسل‌های تلاقی برگشتی توسط آغازگرهای اختصاصی برای آلل اهلی (ستون‌های دارای نوار، هتروزیگوت بودند) a. ژن *lc* طول باند 533 bp، b. ژن *fas* طول باند 466 bp

Figure 1. Selection of heterozygote offspring with specific primers (the columns with band). A. *lc* gene band length 533bp. B. *fas* gene band length 466bp

جدول ۲. توالی و مشخصات آغازگرهای اختصاصی مورد مطالعه

Table 2. the studied primers sequence and their characteristics

نشانگر Maker	نام نشانگر Name	توالی آغازگر Primer sequence	نوع نشانگر Marker type	اندازه باند Size bonds(bp)	منبع Reference
	FAS- Forward آغازگر رفت	CAGAAATCAGAGTCCAATTCCA			
FAS نشانگر	FAS- Reverse1 آغازگر برگشت ۱	CCAATGATAATTAAGATATTGTG ACG	Indel	335, 466	
	FAS- Reverse2 آغازگر برگشت ۲	ATGGTGGGGTTTTCTGTTC			
	LC- Forward1 آغازگر رفت ۱	TCTCTTGGATGATGACTATTGCA CTTT			Rodríguez et al. 2011
LC نشانگر	LC- Forward2 آغازگر رفت ۲	CTTTTCCTAAAAGATTTGGCATG AGGT			
	LC- Reverse1 آغازگر برگشت ۱	TCAGCGCTCATTTCCTATAGTAT TTGT	SNP	395, 533	
	LC- Reverse2 آغازگر برگشت ۲	AAAGTAGTACGAATTGTCCAATC AGTCAG			

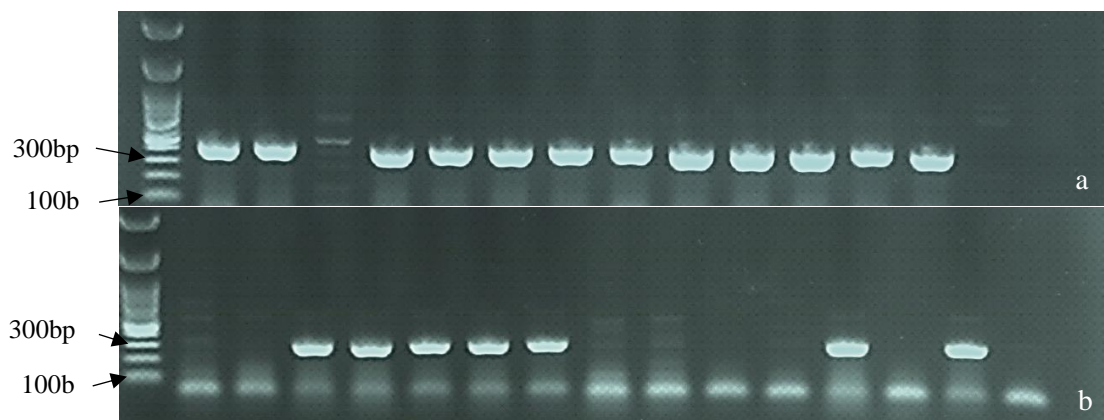
واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای نمونه‌های DNA بر حسب اطلاعات جدول ۳ انجام شد. برای به دست آوردن دمای بهینه مرحله اتصال^۱ گرادبان دما و زمان برای هر جفت آغازگر با دستگاه PCR مدل Biometra Tone بررسی شد. جهت بررسی اثر مکان‌های ژنی *fas* و *lc* در لاین‌های ایزوژن نزدیک اندازه‌گیری صفات شامل تعداد گلبرگ، کاسبرگ، پرچم برای ده گل در هر بوته برای تمام بوته‌های مورد آزمایش انجام شد. برای شمارش تعداد حجره‌ها پس از رسیدن میوه‌ها، تعداد چهار میوه از هر بوته برداشت و برش عرضی داده شد تا تعداد حجره‌ها شمارش گردد. قطر میوه اولیه بلافاصله پس از لقاح با کولیس اندازه‌گیری شد.

جدول ۳. برنامه PCR برای آغازگرهای اختصاصی ژن‌های *FAS* و *LC*

Table 3. PCR program for *LC* and *FAS* primers

نشانگر Maker	واسرشت سازی اولیه		واسرشت سازی		اتصال/بسط			بسط نهایی		نام آغازگرها Primer name	
	Initial Denaturation		Denaturation		Annealing/Extension			Final Extension			
	دما (°C)	زمان (دقیقه)	دما (°C)	زمان (ثانیه)	دما (°C)	زمان (ثانیه)	دما (°C)	زمان (دقیقه)			
FAS	94	3	94	30	54.6	45	72	45	72	5	FAS- FR1
LC	94	3	94	30	60	30	72	30	72	5	LC-F1R2
FAS	94	3	94	30	56.2	30	72	30	72	5	FAS- FR2
LC	94	3	94	30	58	60	72	30	72	5	LC-F2R1

¹ Annealing



شکل ۲. گزینش نتاج هموزیگوت در نسل BC_3F_2 توسط آغازگرهای اختصاصی برای الل وحشی ژن های LC (a. طول باند ۳۹۵ bp) و FAS (b. طول باند ۳۳۵ bp)

Figure 2. Selection of homozygote offspring in BC_3F_2 using specific primers for wild alleles LC (a. band length 395 bp) and FAS (b. band length 335bp)

تجزیه داده‌ها با نرم‌افزار SPSS و مقایسه‌های میانگین بر پایه آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. در ادامه لاین‌های ایزوژن نزدیک به سه گروه لاین‌های ایزوژن حاوی ژن lc ، لاین‌های ایزوژن حاوی ژن fas و لاین‌های ایزوژن فاقد ژن‌های lc و fas تقسیم بندی شدند و تجزیه تابع تشخیص با نرم‌افزار SPSS انجام شد تا گروه‌بندی یاد شده تایید گردد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات مورد بررسی نشان داد که ژنوتیپ‌ها از لحاظ صفات قطر میوه اولیه و تعداد حجره در سطح احتمال یک درصد ($p < 0.01$) و دیگر اجزای گل شامل تعداد پرچم، کاسبرگ و گلبرگ در سطح احتمال پنج درصد ($p < 0.05$) اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۳). نتایج تأیید کرد که وجود ژن‌های lc و fas بر ویژگی‌های تمامی اجزای گل در گوجه فرنگی مؤثر است. شکل a3 نشان دهنده افزایش ابعاد اندام‌های گل در لاین‌های ایزوژن نزدیک حاوی دو مکان ژنی lc و fas نسبت به لاین p-33 است. این افزایش ابعاد اندام گل به حدی است که می‌توان از آن برای تشخیص لاین‌های ایزوژن نزدیک از یک‌دیگر استفاده کرد. افزون بر این تفاوت بارز و شفاف بین اجزای گل در NILs- lc و NILs- fas مشاهده شد. این تفاوت شامل افزایش قابل توجه تعداد کاسبرگ، گلبرگ و پرچم بود. طی بررسی اثرات خاموشی ژن lc در گوجه فرنگی معمولی Li et al. (2017) نشان دادند که اندازه اندام گل با خاموش شدن ژن lc کاهش معنی‌داری پیدا کرد. این نتایج با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. همچنین در بررسی Rodríguez et al. (2011) مشخص شد که واریته‌های گوجه فرنگی دارای ژن fas گل‌های بزرگتر و تعداد کاسبرگ، گلبرگ و پرچم بیشتری نسبت به سایر واریته‌های گوجه فرنگی دارند.

جدول ۴. جدول تجزیه واریانس برای صفات کاسبرگ، گلبرگ، پرچم، تعداد حجره و قطر میوه اولیه

Table 4. ANOVA table for number of sepals, petals, stamens, locules and primary fruit diameter

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	مجموع مربعات Mean Square				
		تعداد کاسبرگ Sepal Number	تعداد گلبرگ Petal Number	تعداد پرچم Stamen Number	تعداد حجره Locule Number	قطر میوه اولیه Primary Fruit Diameter
ژنوتیپ‌ها Genotypes	5	7.31*	9.57*	12.58*	4.17**	0.912**
خطا Error	16	1.66	3.01	3.66	0.20	0.10
ضریب تغییرات CV%	20.23	26.61	28.25	15.01	15.06	20.23

* و ** به ترتیب معنی داری در سطح پنج درصد و یک درصد را نشان می دهند

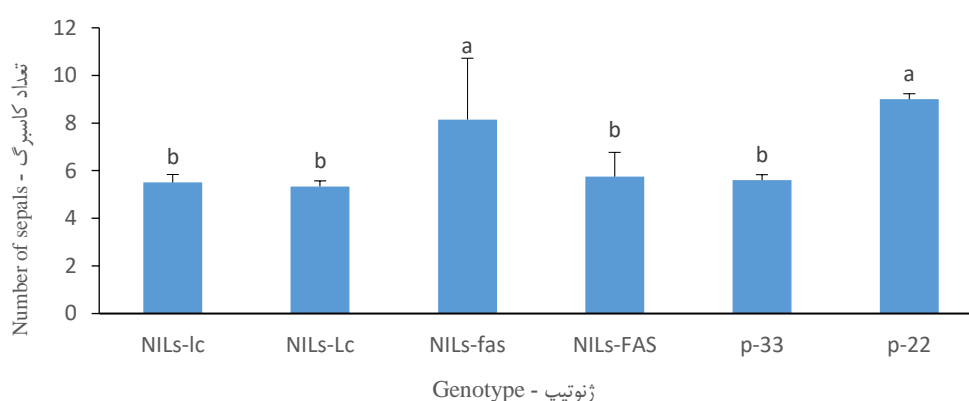
* and ** represent Significant levels in 5% and 1% respectively



شکل ۳. تأثیر آلل‌های دو ژن *fas* و *lc* بر اندام‌های گل گوجه فرنگی گیلاسی (a). از چپ به راست تفاوت‌های ریختی ویژگی‌های گل در لاین‌های NILs-*lc*، NILs-*fas* و لاین p-33. (b-e) از چپ به راست ویژگی‌های پرچم، گلبرگ، کاسبرگ و مادگی در لاین‌های NILs-*lc*، NILs-*fas* و لاین p-33. (f) از چپ به راست برش عرضی میوه در لاین‌های NILs-*lc*، NILs-*fas* و لاین p-33

Figure 3. The effect of *fas* and *lc* genes on the flower organs of cherry tomato. a) From left to right the morphometric differences between NILs-*lc*, NILs-*fas* and line p-33. b-e) From left to right the characteristics of stamens, petals, sepals and pistils in NILs-*lc*, NILs-*fas* and line p-33. f) From left to right transect of fruits of NILs-*lc*, NILs-*fas* and line p-33

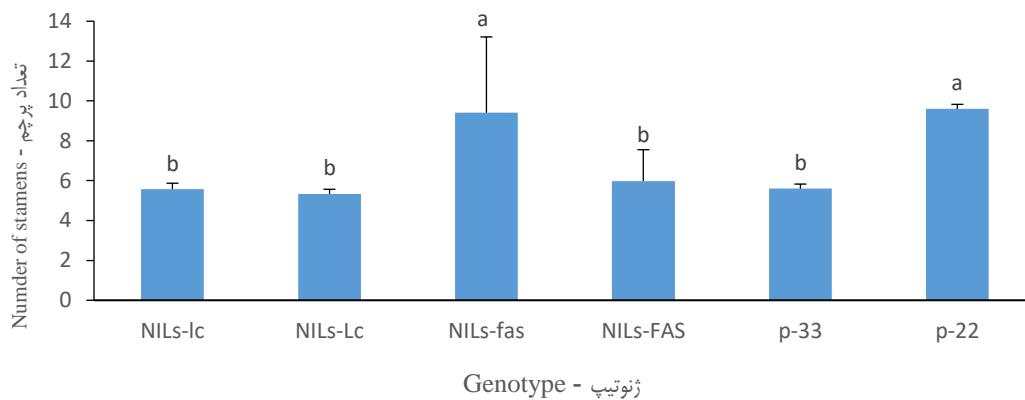
مقایسه میانگین‌های صفت تعداد کاسبرگ نشان داد که لاین‌های p-22 و NILs-fas تعداد کاسبرگ بیشتری نسبت به سایر لاین‌ها دارند (شکل ۴). نتایج نشان داد که آل مغلوب *fas* باعث افزایش معنی‌دار تعداد کاسبرگ‌ها می‌شود. همچنین ژن *fas* موجب عدم تقارن کاسبرگ‌ها حول محور گل و عدم توزان در طول کاسبرگ‌ها گردید (شکل ۳d). لاین ایزوژن NILs-fas نسبت به p-33 به میزان ۳۱/۲۸ درصد در صفت مورد نظر افزایش میانگین پیدا کرد. علاوه بر آن لاین‌های ایزوژن NILs-fas نسبت به NILs-lc تا ۳۲/۳۹ درصد افزایش در تعداد کاسبرگ نشان داد. بررسی درصد تغییرات لاین‌ها نسبت به یک‌دیگر نشان داد که تأثیر مکان ژنی *fas* بیش از مکان ژنی *lc* بود. Chu و همکاران (۲۰۱۹) در بررسی تأثیر مکان‌های ژنی *lc* و *fas* در گوجه فرنگی با انتقال این ژن‌ها به گونه اجدادی *S. pimpinellifolium* نشان دادند که تعداد کاسبرگ تحت تأثیر ژن *fas* افزایش می‌یابد.



شکل ۴. مقایسه میانگین صفت تعداد کاسبرگ در ژنوتیپ‌های مورد بررسی

Figure 4. Mean comparisons of number of sepals for studied genotypes

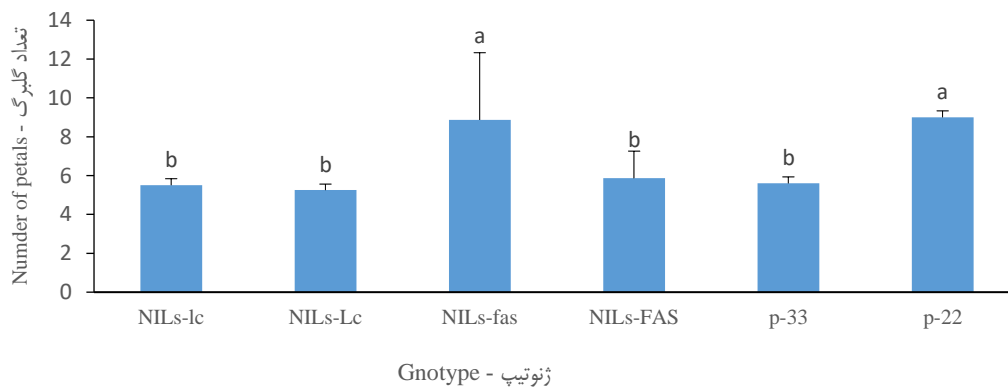
تعداد پرچم‌ها نیز مانند تعداد کاسبرگ‌ها در لاین p-22 و NILs-fas افزایش معنی‌داری نسبت به سایر لاین‌ها داشت (شکل ۵). این نتیجه نشان داد که برای صفت تعداد پرچم وجود مکان ژنی *fas* در گیاه باعث افزایش در اجزای گل می‌شود. لاین NILs-fas نسبت به p-33 و NILs-lc به ترتیب به میزان ۴۰/۴۸ و ۴۰/۴۱ درصد افزایش نشان داد. در این صفت نیز ژن *fas* نسبت به ژن *lc* تغییر بیشتری در زمینه ژنتیکی والد تکراری ایجاد نمود. این نتیجه با نتایج سایر تحقیقات در این زمینه مطابقت داشت (Chu et al. 2019; Li et al. 2017). در شکل b3 به وضوح تأثیر دو مکان ژنی مذکور روی پرچم مشاهده می‌شود. علت این رویداد را می‌توان در شکل‌گیری مریستم اولیه گل جستجو کرد. به گزارش Li و همکاران (۲۰۱۷) فعالیت آل مغلوب *fas* باعث افزایش ملموس اندازه مریستم اولیه گل و به تبع آن افزایش اندازه و تعداد اجزای گل می‌گردد.



شکل ۵. مقایسه میانگین صفت تعداد پرچم در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

Figure 5. Mean comparisons of number of stamens for studied genotypes

تعداد گلبرگ‌ها همانند صفات کاسبرگ و پرچم در لاین p-22 و NILs-fas افزایش معنی‌داری نسبت به سایر لاین‌ها داشت (شکل ۶). این نتایج نشان داد که مکان ژنی *fas* همانند صفات پیشین تعداد گلبرگ را نیز می‌افزاید. لاین NILs-fas نسبت به p-33 و NILs-lc به میزان ۳۶/۷۹ درصد افزایش نشان داد. در شکل ۳ به وضوح تأثیر مکان‌های ژنی *lc* و *fas* روی گلبرگ مشاهده شد. این نتایج با نتایج سایر تحقیقات در این زمینه مطابقت داشت (Chu et al. 2019; Li et al. 2017).

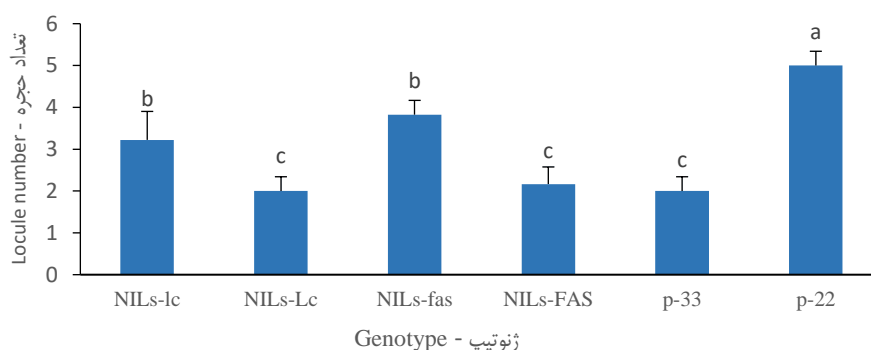


شکل ۶. مقایسه میانگین صفت تعداد گلبرگ در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

Figure 6. Mean comparisons of number of petals for studied genotypes

در مقایسه میانگین برای صفت تعداد حجره، لاین p-22 بالاترین میانگین (۵/۰۰) را به خود اختصاص داد و پس از آن NILs-fas و NILs-lc با مقادیر ۳/۸ و ۳/۲ بیشترین میانگین تعداد حجره را داشتند (شکل ۷). این نتیجه نشان داد که دو مکان ژنی *lc* و *fas* با صفت تعداد حجره ارتباط مستقیم دارند و با اضافه شدن به پس‌زمینه ژنتیکی لاین p-33 باعث افزایش در تعداد برچه‌ها شده‌اند. لاین‌های ایزوژن NILs-lc و لاین‌های ایزوژن NILs-fas نسبت به لاین p-33 به ترتیب حدود ۳۷/۸۸ و ۴۷/۶۴ درصد

افزایش داشتند. همچنین لاین‌های ایزوژن NILs-fas نسبت به NILs-lc ۱۵/۷۰ درصد افزایش تعداد حجره نشان دادند. در پژوهش‌های Slugina و همکاران (۲۰۲۰) و Munos و همکاران (۲۰۱۱) همبستگی SNPs آلل *lc* و افزایش تعداد برچه‌ها و حجره‌ها تأیید شد. در شکل f3 به صورت واضح تفاوت تعداد حجره بین لاین p-33، NILs-lc و NILs-fas دیده می‌شود. Munos و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که تأثیر مکان ژنی *lc* بر تعداد حجره‌های میوه در مقایسه با *fas* کمتر بود. طبق پژوهش Rodríguez و همکاران (۲۰۱۱) تأخیر در کاهش بیان ژن *SIWUS* همراه با کاهش بیان ژن *SICLV3* به کنترل ضعیف‌تر بیان ژن *WUS* منجر می‌شود. این جهش یافته‌ها با هم‌افزایی با یکدیگر منجر به افزایش بیشتر تعداد حجره‌ها می‌شود.

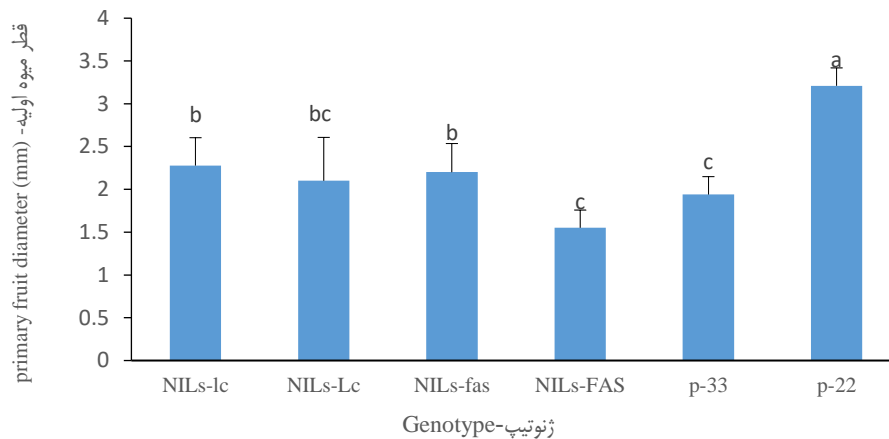


شکل ۷. مقایسه میانگین صفت تعداد حجره در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

Figure 7. Mean comparisons of number of locules for studied genotypes

در بررسی میانگین صفت قطر میوه اولیه لاین p-22 با قطر ۳/۲۱ میلی‌متر بالاترین میانگین را به خود اختصاص داد و پس از آن NILs-fas و NILs-lc با مقادیر ۲/۲ و ۲/۲۷ میلی‌متر بیشترین میانگین قطر میوه اولیه را داشتند (شکل ۸). لاین‌های ایزوژن NILs-lc و NILs-fas نسبت به لاین p-33 به ترتیب حدود ۱۴/۹۱ و ۱۱/۸۱ درصد افزایش قطر نشان دادند. نکته جالب توجه افزایش قطر در لاین‌های ایزوژن NILs-lc نسبت به NILs-fas بود (۳/۵۱ درصد). این نتایج با نتایج پژوهش Cong و همکاران (۲۰۰۲) در بررسی مراحل رشد میوه گوجه فرنگی همخوانی دارد. مطالعات تکوینی با استفاده از لاین‌های ایزوژن نزدیک نشان داده‌اند که تفاوت‌های فنوتیپی بین گونه وحشی و گونه دارای ژن *fas* در اوایل رشد گل ظاهر می‌شوند (Tanksley 2004). Chu و همکاران (۲۰۱۹) در بررسی مریستم اولیه گل نشان دادند که ارتباط مثبتی بین اندازه مریستم گل و تعداد حجره‌های میوه وجود داشت. این پژوهش نشان داد که فعالیت دو مکان ژنی *lc* و *fas* از زمان تشکیل مریستم گل آغاز شده و روی افزایش اندازه مریستم گل تأثیر می‌گذارد. بیان ژن‌های *lc* و *fas* پیش از تشکیل تخمدان باعث افزایش تعداد سلول‌های مریستم گل شده و از این طریق بر تعداد نهایی برچه‌ها در تخمدان تأثیر می‌گذارد. ذکر این نکته ضروری است که مکان ژنی *fas* در مقایسه با مکان ژنی *lc* و نوع

وحشی دوره نمو مریستم را طولانی تر می کند. در پژوهش دیگری در این زمینه مشخص شد که ژن *SIWUS* در طول رشد گل بیان می شود، که نشان دهنده عملکرد مهم مکان ژنی *SIWUS* در توسعه گل های گوجه فرنگی است (Li et al. 2017).



شکل ۸. مقایسه میانگین صفت قطر میوه اولیه در ژنوتیپ های موزد مطالعه

Figure 8. Mean comparisons of primary fruits diameter for studied genotypes

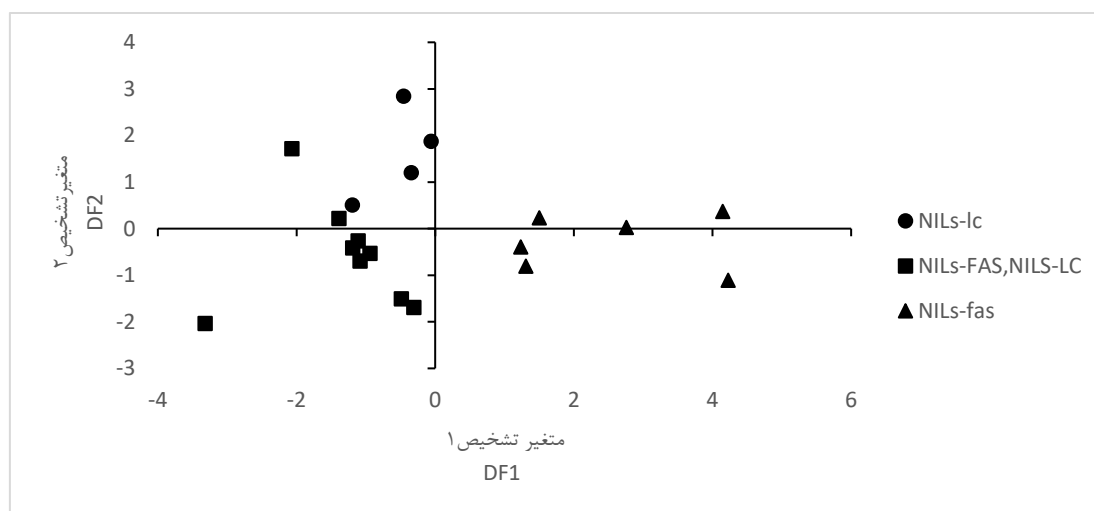
در ادامه نتایج تابع تشخیص صفات گل برای سه دسته ژنوتیپ های دارای آلل *lc*، دارای آلل *fas* و دارای آلل های وحشی نشان داد که گروه بندی ژنوتیپ ها بر اساس حضور یا عدم حضور آلل های اهلی به طور معنی داری ژنوتیپ ها را از هم جدا کرد (جدول ۵). همان طور که از جدول ۶ برمی آید تنها متغیر قطر میوه اولیه در تشکیل فاکتور تشخیص دوم دخیل است. در حالی که متغیر تشخیص اول شامل بقیه صفات مورد بررسی است. شکل ۹ پراکنش ژنوتیپ های مورد بررسی را از نظر دو متغیر تشخیص نشان می دهد. *NILs-fas* از نظر متغیر اول تشخیص از سایر گروه ها به خوبی جدا شدند. با توجه به ویژگی های ایجاد شده توسط این ژن نظیر افزایش تعداد گلبرگ ها، پرچم ها و کاسبرگ ها این رویداد به خوبی قابل توجه است. از سوی دیگر *NILs-fas* از نظر قطر میوه اولیه در جایگاه حد واسط قرار گرفته است. در حالی که *NILs-lc* از نظر این صفت برتر از دو گروه دیگر به نظر می رسد. طبق بررسی Rodríguez و همکاران (۲۰۱۱) این دو جهش بر اندازه مریستم، تعداد حجره ها و اجزای دانه در میوه گوجه فرنگی اثرگذار هستند. در پژوهش Chu و همکاران (۲۰۱۹) ارتباط بسیار قوی میان تعداد اندام های گل و آلل های *lc* و *fas* منتقل شده به گونه وحشی *S. pimpinellifolium* دیده شد. در این پژوهش صفتی که بیشترین تغییر را پس از انتقال ژن نشان داد تعداد برچه ها بود. همان طور که پیش تر ذکر شد تأثیر آلل های *lc* و *fas* بر مریستم گل مشهود است. مطالعات بیان ژن در این زمینه تأکید می کنند که بیان ژن *SIWUS* در مریستم ژنوتیپ های حامل آلل *fas* به شدت کاهش نشان داده است (Chu et al. 2019; Slugina et al. 2020). در واقع عدم بیان ژن *fas* باعث افزایش اندازه مریستم گل و در نتیجه آن افزایش در اندازه و تعداد اندام های گل می شود. این مطالعات همچنین نشان داده است که ژن *SIWUS* که متناظر با مکان ژنی *lc* است، دارای دو SNP است که منجر

به افزایش بیان این ژن می‌شود. این SNPs در منطقه CarG-box یافت شده‌اند که تنظیم‌گر سیس ژن *SIWUS* است. این SNPها به طور منفی بر اتصال فاکتور رونویسی AG به CarG-box تأثیر می‌گذارند و توانایی آن را در کاهش بیان ژن *SIWUS* می‌کاهند (Van der Knaap et al. 2014; Li et al. 2017). افزایش بیان *SIWUS* منجر به افزایش تعداد حجره‌ها می‌شود و در نهایت تعیین کننده شکل مادگی است (Clark 2001; Lenhard et al. 2001; Slugina et al. 2020). تأثیر آلل *lc* و *fas* بر اندازه اندام‌های گل در این پژوهش نیز کاملاً محسوس بود (شکل ۳). افزون بر این ژن *fas* تعداد اندام‌ها را نیز به طور معنی‌داری افزایش داد (شکل ۱۴). این مورد نشان دهنده تأثیر عمیق‌تر ژن *fas* در قیاس با *lc* است. گرچه مطالعات پیشین تأثیر این ژن را در اندازه تخمدان نیز بزرگ‌تر از ژن *lc* دانسته‌اند، این پژوهش از تأثیر بیشتر ژن *lc* را در اندازه تخمدان نسبت به ژن *fas* حکایت دارد.

جدول ۵. مقادیر لامبدا ویلکس برای تجزیه تابع تشخیص

Table 5. Willk's lambda value for discriminant function analysis

تابع Test of Function(s)	درجه آزادی df	لامبدا ویلکس Wilks' Lambda	کای اسکور Chi-square
تابع 1 Function 1	10	0.111	28.552**
تابع 2 Function 2	4	0.524	8.407*



شکل ۹. بای پلات تابع تشخیص برای ژنوتیپ‌های مورد بررسی

Figure 9. Discriminant function analysis biplot for studied genotypes

جدول ۶. ماتریس ساختاری برای تشخیص تابع‌های تشخیص ۱ و ۲ برای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

Table 6. Structure matrix for discriminant functions 1 and 2 for studied genotypes

traits صفات	Discriminant function تابع تشخیص	
	1	2
Locule number تعداد حجره	0.777*	0.552
Sepal number تعداد کاسبرگ	0.619*	-0.172
Stamen number تعداد پرچم	0.591*	-0.166
Petal number تعداد گلبرگ	0.568*	-0.153
Primary fruit diameter قطر میوه اولیه	0.354	0.659*

نتیجه‌گیری: در این پژوهش با بررسی سهم مکان‌های ژنی *lc* و *fas* روی صفات گل در لاین‌های ایزوژن نزدیک گوجه فرنگی گیلاسی نشان داده شد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در تمامی صفات مورد بررسی شامل تعداد کاسبرگ، گلبرگ، پرچم، تعداد حجره و قطر میوه اولیه اختلاف معنی‌دار داشتند. در بررسی اجزای گل لاین‌های ایزوژن دارای آلل‌های *fas* نسبت به لاین‌های دارای آلل وحشی و ایزوژن‌های *lc* تعداد کاسبرگ، گلبرگ و پرچم بیشتری داشتند. نتایج همچنین نشان داد که مکان‌های ژنی *lc* و *fas* هر دو بر ابعاد گل مؤثر بودند و باعث افزایش در ابعاد اندام گل شدند. این بدان معناست که مکان ژنی *fas* اثر فتوتیپی قوی‌تری نسبت به مکان ژنی *lc* در مجموعه صفات گل اعمال می‌کند. در مورد صفت تعداد حجره نیز تأثیر این دو ژن به خوبی مشهود بود و باعث افزایش تعداد حجره‌های میوه گوجه فرنگی گیلاسی شد. تأثیر دو ژن *lc* و *fas* بر افزایش معنی‌دار قطر میوه اولیه حاکی از اثر این دو ژن در مراحل ابتدایی رشد مریستم گل بود. نتایج تابع تشخیص نیز به خوبی از تأثیر مشهود دو ژن *lc* و *fas* بر ویژگی‌های لندام گل حکایت دارد و تأیید کرد که این دو ژن تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های گل در گوجه فرنگی گیلاسی دارند و از مهم‌ترین ژن‌های گزینش شده توسط انسان در فرآیند اهلی‌سازی به شمار می‌آیند. همچنین با توجه به تأثیر این دو ژن بر صفات کلیدی عملکرد مانند وزن میوه و تعداد حجره‌ها، می‌توان به افزایش عملکرد لاین‌های گوجه فرنگی حامل این ژن‌ها امیدوار بود.

سپاسگزاری: نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از خانم دکتر ثریا پورتبریزی به خاطر ارائه نظرهای ارزشمند و راهنمایی‌های کلیدی ایشان سپاسگزاری نمایند.

References

- Bai Y, Feng X, Van der Hulst R, Lindhout P (2004) A set of simple PCR markers converted from sequence specific RFLP markers on tomato chromosomes 9 to 12. Mol Breed 13, 281- 287.
- Bai Y, Lindhout P (2007) Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future? Ann Bot 100, 1085-1094.

- Barrero LS, Cong B, Wu F, Tanksley, SD (2006) Developmental characterization of the fasciated locus and mapping of Arabidopsis candidate genes involved in the control of floral meristem size and carpel number in tomato. *Genome* 49(8), 991-1006.
- Barrero LS, Tanksley SD (2004) Evaluating the genetic basis of multiple-locule fruit in a broad cross section of tomato cultivars. *Theor Appl Genet* 109, 669-679.
- Bauchet G, Grenier S, Samson N et al (2017) Use of modern tomato breeding germplasm for deciphering the genetic control of agronomical traits by genome wide association study. *Theor Appl Genet* 130, 875-889.
- Chu, YH, Jang, JC., Huang, Z, van der Knaap E (2019) Tomato locule number and fruit size controlled by natural alleles of *lc* and *fas*. *Plant Direct* 3(7), e00142.
- Clark SE (2001) Cell signalling at the shoot meristem. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2(4), 276-284.
- Colvine S, Branthôme FX (2016) The tomato: a seasoned traveler. In: Causse M, Giovannoni J, Bouzayen M, Zouine M (eds) *The tomato genome. Compendium of plant genomes.* Springer, Berlin, pp 1–5.
- Cong B, Barrero LS, Tanksley SD (2008) Regulatory change in YABBY-like transcription factor led to evolution of extreme fruit size during tomato domestication. *Nat Genet* 40(6), 800-804.
- Cong B, Liu J, Tanksley SD (2002) Natural alleles at a tomato fruit size quantitative trait locus differ by heterochronic regulatory mutations. *Proc Natl Acad Sci* 99(21), 13606-13611.
- Fernández-Lozano A, Yuste-Lisbona FJ, Pérez-Martín F et al (2015) Mutation at the tomato excessive number of floral organs (*ENO*) locus impairs floral meristem development, thus promoting an increased number of floral organs and fruit size. *Plant Sci* 232, 41-48.
- Huang Z, van der Knaap E (2011) Tomato fruit weight 11.3 maps close to fasciated on the bottom of chromosome 11. *Theor Appl Genet* 123, 465-474.
- Illa-Berenguer E, Van Houten J, Huang Z, van der Knaap E (2015) Rapid and reliable identification of tomato fruit weight and locule number loci by QTL-seq. *Theor Appl Genet* 128, 1329-1342.
- Klee HJ, Giovannoni JJ (2011) Genetics and control of tomato fruit ripening and quality attributes. *Annu Rev Genet* 45, 41-59.
- Knaap EVD, Tanksley SD (2003) The making of a bell pepper-shaped tomato fruit: identification of loci controlling fruit morphology in Yellow Stuffer tomato. *Theor Appl Genet* 107, 139–147.

- Lenhard M, Bohnert A, Jürgens G, Laux T (2001) Termination of stem cell maintenance in Arabidopsis floral meristems by interactions between WUSCHEL and AGAMOUS. *Cell* 105(6), 805-814.
- Li H, Qi M, Sun M et al (2017) Tomato transcription factor *SIWUS* plays an important role in tomato flower and locule development. *Front Plant Sci* 8, 457.
- Lippman Z, Tanksley SD (2001) Dissecting the genetic pathway to extreme fruit size in tomato using a cross between the small-fruited wild species *Lycopersicon pimpinellifolium* and *L. esculentum* var. Giant Heirloom. *Genetics* 158(1), 413-422.
- Liu X, Kim YJ, Müller R et al (2011) AGAMOUS terminates floral stem cell maintenance in Arabidopsis by directly repressing WUSCHEL through recruitment of Polycomb Group proteins. *Plant Cell* 23(10), 3654-3670.
- Lohmann JU, Hong RL, Hobe M et al (2001) A molecular link between stem cell regulation and floral patterning in Arabidopsis. *Cell* 105(6), 793-803.
- Munos S, Ranc N, Botton E et al (2011) Increase in tomato locule number is controlled by two single-nucleotide polymorphisms located near WUSCHEL. *Plant Physiol* 156(4), 2244-2254.
- Nesbitt TC, Tanksley SD (2002) Comparative sequencing in the genus *Lycopersicon*: implications for the evolution of fruit size in the domestication of cultivated tomatoes. *Genetics* 162(1), 365-379.
- Panthee DR, Gardner RG (2011) Genetic improvement of fresh market tomatoes for yield and fruit quality over 35 years in North Carolina: a review. *Int J Veget Sci* 17(3):259–273
- Peralta IE, Spooner DM (2000) Classification of wild tomatoes: a review. *Kurtziana* 28(1):45–54
- Peralta IE, Spooner, DM, Knapp S (2008) Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (Solanum sect. Lycopersicoides, sect. Juglandifolia, sect. Lycopersicon; Solanaceae). *Syst Bot* 31, 84-98.
- Quinet M, Angosto T, Yuste-Lisbona FJ et al (2019) Tomato fruit development and metabolism. *Front Plant Sci* 10, 1554.
- Ranc N, Muñoz S, Santoni S, Causse M (2008) A clarified position for solanum *lycopersicum* var. *cerasiforme* in the evolutionary history of tomatoes (solanaceae). *BMC Plant Biol* 8(1), 1-16.
- Ranjan A, Ichihashi Y, Sinha NR (2012) The tomato genome: implications for plant breeding, genomics and evolution. *Genome Biol* 13(8), e167.
- Rezk A, Abhary M, Akhkha A (2021) *Advances in Plant Breeding Strategies, Vegetable Crops: Bulbs, Roots and Tubers* (1st edn), Al-Khayri JM, Jain SM, Johnson DV (eds). Cham, Switzerland, pp. 363-407.

- Rodríguez GR, Muñoz S, Anderson C et al (2011) Distribution of *SUN*, *OVATE*, *LC*, and *FAS* in the tomato germplasm and the relationship to fruit shape diversity. *Plant Physiol* 156(1), 275-285.
- Saghai-Marouf MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard R (1984) Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci* 81(24), 8014-8018.
- Slugina MA, Filyushin MA, Shchennikova AV et al (2020) *FAS*, *YABBY2*, and *YABBY5* gene expression profile correlates with different fruit locule number in tomato. *Russ J Genet* 56, 410-416.
- Swinnen G, Goossens A, Pauwels L (2016) Lessons from domestication: targeting cis-regulatory elements for crop improvement. *Trends Plant Sci* 21(6), 506-515.
- Tanksley SD (2004) The genetic, developmental, and molecular bases of fruit size and shape variation in tomato. *Plant Cell* 16(suppl_1), S181-S189.
- Tomato Genome Consortium (2012) The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature* 485(7400), 635–641.
- van der Knaap, Østergaard (2018) Shaping a fruit: developmental pathways that impact growth patterns. *Cell Dev Biol* 79, 27-36.
- van der Knaap E, Chakrabarti M, Chu YH et al (2014) What lies beyond the eye: the molecular mechanisms regulating tomato fruit weight and shape. *Front Plant Sci* 5, 1-13.
- Vergani GR (2002) *Lycopersicon esculentum*: una breve historia del tomate. *Rev Hort* 158(9), 105-111.
- Xu C, Liberatore KL, MacAlister CA et al (2015) A cascade of arabinosyltransferases controls shoot meristem size in tomato. *Nat Genet* 47, 784–792.