



ד"ר ורד יריחמוביץ

בעיית גודל הפרי באבוקדו 'האס': מהו הגורם המגביל?

ורד יריחמוביץ, ירדנה דהן, רויטל רוזנפלד, משה גורן / המחלקה למטעים, מכון וולקני, בית דגן
ליאו וינר / האגף למטעים, שה"מ, משרד החקלאות
גד איש-עם, אדולפו לוין / מו"פ צפון



תמונת ארכיון

היא חלוקת גרעין התא ויצירת שתי מערכות של כרומוזומים (זהים). עם זאת, ברקמות של פירות 'האס' קטנים ביטויים של גנים אלה נמוך מלכתחילה, ובהתאם נצפתה גם עצירה מוקדמת בחלוקת התאים בפרי. גן נוסף מאבוקדו, החולק דמיון לכן שהתגלה בעגבניה ומשמש בקר שלילי של חלוקת תאים בפרי, נמצא מתבטא ביתר ברקמות של פירות 'האס' קטנים. ממצא זה מרמז, כי גם באבוקדו עלול גן זה לשמש בקר על חלוקת תאים ולהשפיע באופן שלילי על גודלו הסופי של הפרי.

רקע

הזן 'האס' (*Persea americana* cv. Hass) תופס מקום מרכזי בין זני האבוקדו בארץ והוא העיקרי בייצוא לשוק העולמי. הבעיה העיקרית בזן זה היא גודל הפרי: 40-60% מכלל הפירות על העץ הם בעלי משקל סופי נמוך. פירות 'האס' קטנים מתפתחים באופן אקראי בחלקי העץ השונים, והבדלי הגודל בין פירות גדולים וקטנים ניתנים לזיהוי כבר בשלבים מוקדמים של התפתחותם. פירות הניתנים לזיהוי כקטנים לא יתפתחו כראוי וגודלם הסופי יהיה נמוך.

מרות הידע הקיים בנוגע לשינויים במאזן ההורמונלי החלים במהלך התפתחות הפרי באבוקדו 'האס', אנו יודעים אך מעט בכל הקשור למנגנונים הפועלים ומבקרים את מהלך מחזור חלוקת התאים בפרי. בעבודה זו התרכזנו בזיהוי גנים מאבוקדו המעורבים בבקרת מחזור חלוקת התא, ובאיפיון דגם ביטויים במהלך התפתחות פירות 'האס' גדולים וקטנים

תקציר

אחת הבעיות העיקריות באבוקדו מזן 'האס' היא גודל הפרי. לשעור גבוה מכלל פירות האבוקדו משקל סופי נמוך, כאשר בקטנים שבהם הגורם המגביל את התפתחותם הוא עיכוב בתהליך חלוקת התאים, ולא התרחבותם. בזן 'האס', במהלך התפתחות תקינה של הפרי מתרחשת ירידה הדרגתית בביטוי גנים הקשורים למערך חלוקת התאים, ובמקביל חלה ירידה בפעילות המיטוטית (מיטוזה

התרכזנו בזיהוי גנים מאבוקדו המעורבים בבקרת מחזור חלוקת התא, ובאפיין דגם ביטויים במהלך התפתחות פירות 'האס' גדולים וקטנים.

חומרים ושיטות

■ **חומר צמחי:** במהלך עונת 2007/08 התבצע איסוף פירות 'האס' במטע אבוקדו של קבוצת שילר. במהלך העבודה נדגמו ממטע זה פירות גדולים וקטנים במועדים שונים במהלך תקופת התפתחותם. הפירות נאספו מ-12 עצי 'האס' שנבחרו בתחילת עונת הפריחה, לאחר ביצוע סקירת פריחה כללית במטע. הפירות הובאו למעבדה לצורך מדידות אורך, קוטר ומשקל רטוב. לאחר מדידות הפרי פורקו הפירות למרכיביהם. רקמות הפרי המופרדות (ציפה וזרע) הוקפאו בחנקן נוזלי ונשמרו בהמשך במינוס 80 מ"צ, כדי לשמש מאוחר יותר להפקת RNA.

■ **הערכת מספר תאים וגודלם:** פירות שנדגמו בנקודות זמן שונות במהלך תקופת התפתחותם שימשו לצורך הכנת חתכים היסטולוגיים (Histology - תחום במדעי הרפואה העוסק בחקר הרקמות) של רקמת הציפה והזרע. הכנת החתכים בוצעה באמצעות חיתוך הדוגמאות במכשיר מיקרוטום (Microtome - משמש לחיתוך רקמות בקרן לייזר במקום בסכין). החתכים שהוכנו צולמו במיקרוסקופ אור (DMLB 100S) ובמצלמה DC 200 תוצרת Leica. כדי לחשב את שטח התא הממוצע ואת מספר התאים ברוחבה של רקמת הציפה והזרע, נבחרו באקראי בכל חתך שלושה אזורים בשטח של $90,000 \mu\text{m}^2$, ונספרו בהם התאים. ממוצע השטח של תא חושב באמצעות חלוקה של השטח הנדגם במספר התאים שהתקבל בכל ספירה. הממוצע של מספר התאים ברוחב רקמת הציפה והזרע חושב באמצעות הנוסחה הבאה: $n = d \cdot X \cdot 3.33$, כאשר n הוא מספר התאים, d הוא רוחב הציפה או זרע הפרי במילימטרים ו-X הוא מספר התאים שנספר באזור הנדגם (Cowan et al., 1997).

■ **רמת הביטוי של גנים שונים:** הפקת RNA מרקמות שהוקפאו נעשתה כפי שתואר (Or et al., 2000). בעבודה זו בחנו את דגם הביטוי של גנים הקשורים לתהליך חלוקת התאים במהלך התפתחות פירות גדולים וקטנים. נבחנו גנים ממשפחת הציקלינים: ציקלין A1 (GU272024:PaCYCA1) וציקלין B1 (PaCYCB1:GU272023), גן המקודד לחלבון PCNA, הפועל בשכפול הדנ"א בעת חלוקת התאים (PaPCNA:GU272022) וכמו כן גן מאבוקדו המקודד לחלבון דמוי fw2.2 (Pafw2.2:GU272026). רמת הביטוי נבדקה בשיטת Northern ובשיטת Semi-quantitative-RT-PCR בעזרת תחלים ספציפיים.

תוצאות ודין

■ **מעקב אחר התפתחות פירות גדולים וקטנים:** כאמור, פירות גדולים וקטנים נדגמו במועדים שונים במהלך תקופת הגידול מעצי 'האס' הנטועים במטע מסחרי. אמנם דגימות ראשונות נלקחו 47 ימים לאחר פריחה מלאה, אולם החלוקה לקבוצות דיגום של פירות

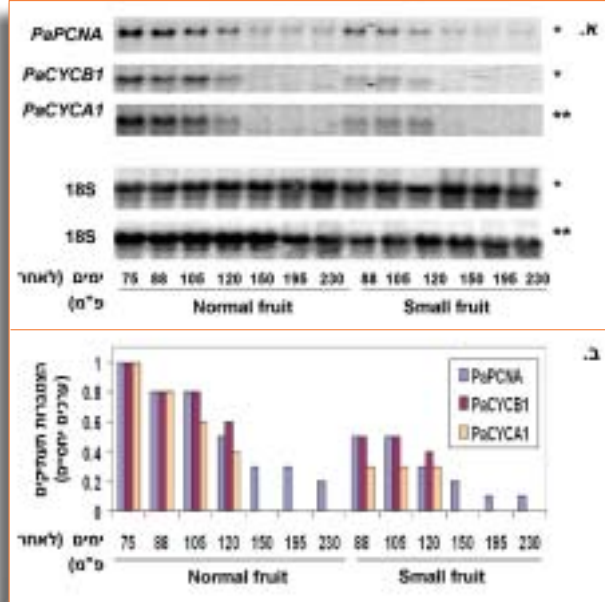
ככלל, גידולו של פרי תלוי בקצב חלוקת התאים בו ובגידולם. ברוב מיני הפירות חלוקת התאים מתרחשת במשך תקופה קצרה לאחר החנטה, בעוד שבאבוקדו היא נמשכת כל שלבי ההתפתחות של הפרי, אם כי קצבה מואט בשלבים המאוחרים (Schroeder et al., 1953; Gillaspie et al., 1993). מחקר אנטומי השוואתי שנערך בציפת הפרי בזן 'האס' הוביל להשערה, כי הגורם המגביל את התפתחות הפירות הקטנים אינו גידול התאים, אלא עיכוב בתהליך חלוקתם (Cowan et al., 1997). ממצא זה הוביל לסדרת עבודות שמטרתן הייתה לנסות ולאפיין שינויים מטבוליים החלים בפירות קטנים ועשויים להשפיע על מהלך חלוקת התאים בפרי. ממצאי עבודות אלו הראו, כי בשלבים מוקדמים של התפתחות הפרי מתאפיינים פירות קטנים ברמות גבוהות של חומצה אבציסית (ABA) וברמות נמוכות של סוכרוז ואוקסין (IAA), זאת בהשוואה לפירות גדולים. כיוון שאוקסין ידוע כהורמון צמחי המעודד התרחבות וחלוקת תאים, וחומצה אבציסית ידועה כהורמון צמחי המעכב חלוקת תאים, נטען כי העלייה ברמת חומצה אבציסית, במקביל לחוסר היכולת ליצור או לצבור אוקסין, הם גורמים שעשויים לשחק תפקיד מרכזי בבקרת גודלו הסופי של הפרי (Cowan et al., 1997; Moore-Gordon et al., 1998; Richings et al., 2000; Cowan et al., 2005).

ידוע כי גודלו הסופי של פרי תלוי באופן ישיר בבקרת מחזור חלוקת התאים ברקמות השונות שבו. המנגנון הבסיסי המבקר את תהליך חלוקת התאים הוא מנגנון שמור אבולוציונית. כמו בבעלי חיים, גם בצמחים הפעילות הבסיסית של מחזור חלוקת התאים תלויה ביצירת תצמידים בין חלבונים ממשפחת הציקלינים (Cyclins) וחלבונים נוספים הנקראים CDKs (Cyclin-dependent protein kinases), המאפשרים את התקדמות מחזור חלוקת התאים (Dewitte 2003; Inze and Veylder, 2006). בקרת מחזור חלוקת התא משתנה בהתאם לשלבי התפתחות הפרי וקשורה לשינויים במאזן חומרי הצימיחה ובמאזן הסוכרים. לדוגמה, ידוע כי מתן חימוץ של ציטוקינים וסוכרוז גורם לעלייה ברמת הביטוי של גנים שונים ממשפחת הציקלינים ולעלייה בפעילות חלוקת התאים. מאידך, הורמון צמחי כגון חומצה אבציסית עלול לבקר באופן שלילי את תהליך חלוקת התאים. במחקרים שנערכו בצמחי מודל הודגם מתאם חיובי בין עלייה ברמה של חומצה אבציסית ובין פעילותם של חלבונים המעכבים פעילות ציקלינים הנקראים ICKs (Inhibitors of CDKs) (wang et al., 1998; wang et al., 2008).

באופן מעניין נמצא, כי מערך חלוקת התאים בפרי מבוקר באמצעות מספר מצומצם של גנים. בעגבניה, המהווה מערכת מודל ללימוד גורמים המבקרים את גודל הפרי, אופיין גן יחיד שאחראי לשונות של כ-30% בין גודל העגבניה המתורבתת הגדולה לבין עגבניית הבר הקטנה. גן זה נקרא fw2.2 (fruit weight 2.2) והוא מקודד לחלבון הפועל כבקר שלילי של חלוקת תאים בפרי. אופן פעילותו המדויק של fw2.2 עדיין אינו ידוע, אולם נמצא כי רמת ביטוי גבוהה במיוחד בקווי עגבניה בעלי פירות קטנים, וכי קיים מתאם הפוך בין רמת ביטוי הגן ופעילות חלוקת התאים בפרי (Frery et al., 2000; Cong et al., 2002; Cong and Tanksley 2006).

למרות הידע הקיים לגבי השינויים במאזן ההורמונלי החלים במהלך התפתחות הפרי באבוקדו 'האס', המידע אודות הגנים המבקרים ופועלים במהלך מחזור חלוקת התא בפרי הינו מצומצם ביותר. בעבודה הנוכחית

איור 2א, ב: רמות הביטוי של הגנים PaPCNA, PaCYCA1 ו-PaCYCB1 ברקמת הזרע של פירות 'האס' גדולים וקטנים במהלך התפתחות הפרי



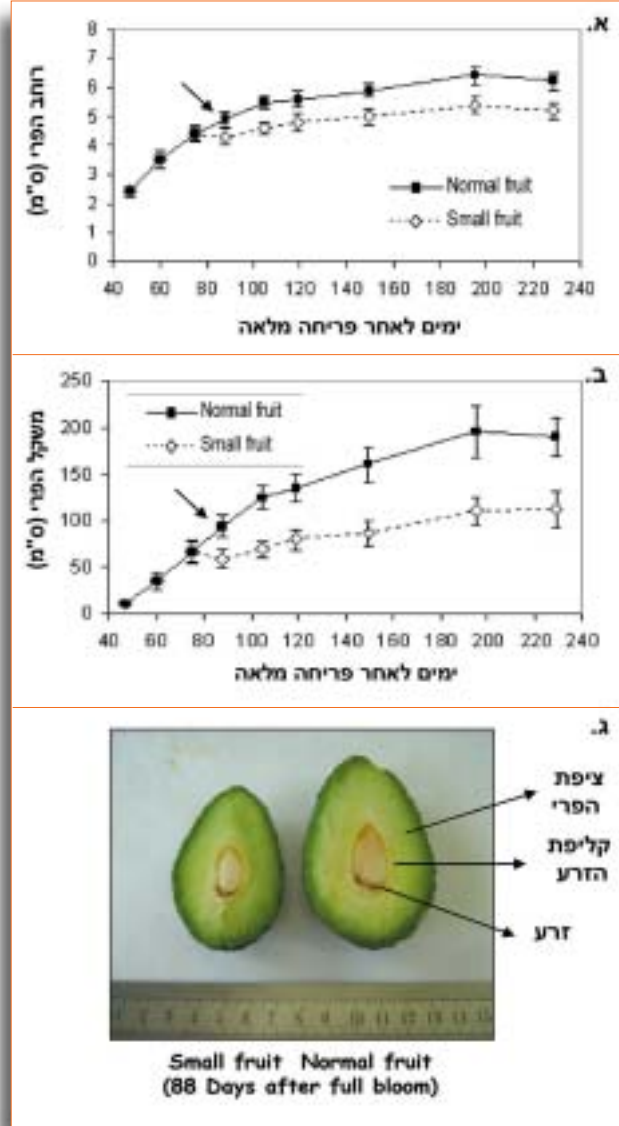
הערות לאיור 2:

- כל ממברנה הוגבה פעם (*) או פעמים (***) עם פרוב ספציפי מסומן ב- α - 32 P]dCTP ולאחר מכן עם פרוב כנגד 18S rRNA.
- רמות ביטוי הגנים המוצגות בגרף חושבו לאחר נירמול עם 18S rRNA.
- נקודת הזמן 75 ימים לאחר פריחה מלאה נקבעה כ-1

בעבודה שערנו שיבטנו מאבוקדו שני גנים, PaCYCA1 ו-PaCYCB1, המקודדים לחלבוני ציקלין A1 ו-B1 הדרושים לצורך תהליך חלוקת התאים, וכן שלישי, PaPCNA Proliferation cell nuclear antigen, המקודד לחלבון המשתתף בשכפול ה-DNA בעת חלוקת התא ומשמש סמן לחלוקת תאים. בבדיקות שערנו מצאנו, כי במהלך תקופת ההתפתחות של הפרי חלה ירידה הדרגתית בביטוי של גנים אלה בזרעים של פירות גדולים, ממצא המעיד כי פעילות חלוקת התאים בזרעי פירות אלה יורדת בהדרגה במהלך תקופה זו. לעומת זאת, ברקמות הזרע של פירות קטנים היה ביטוי של גנים אלה נמוך מלכתחילה. תוצאות דומות הושגו כאשר נערכה אנליזה בציפת הפרי (איורים 2 ו-3), מה שמעיד כי כבר בשלבים מוקדמים של התפתחות הפרי חלוקת התאים בפירות הקטנים מואטת או נחסמת כמעט לגמרי, הן ברקמת הזרע והן ברקמת הציפה, זאת בהשוואה לפירות גדולים.

■ **בדיקות גודל התאים ומספרם במהלך התפתחות הפרי:** כדי למצוא מתאם בין פרופיל הביטוי של הגנים הקשורים לתהליך חלוקת התאים לבין הפעילות המיטוטית, ערכנו בדיקות לחישוב גודל התאים ומספרם במהלך התפתחות הפרי. תוצאות חישוב השטח, כמו גם מספר התאים הממוצע ברקמות הזרע והציפה של פירות גדולים וקטנים, מוצגים באיור 4. כפי שניתן לראות, חל גידול במימדי התאים של רקמות הפרי במהלך תקופת התפתחותו

איור 1א-ג: שינויים במדדי הרוחב והמשקל הטרי של פירות 'האס' גדולים וקטנים במהלך עונת הגידול



הערות לאיור 1:

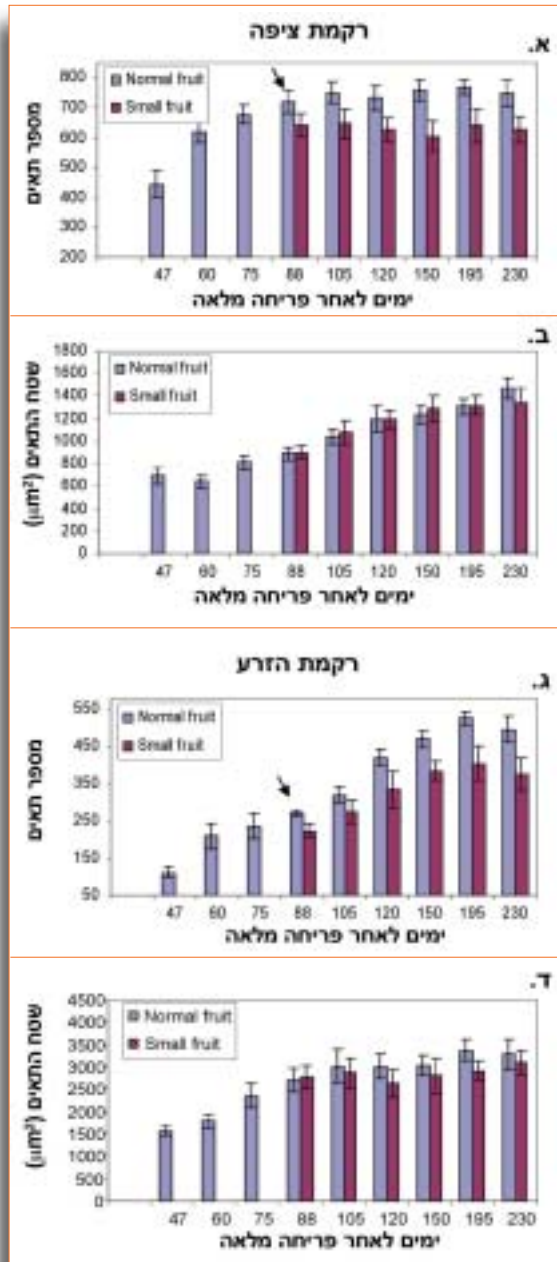
- התוצאות הן ממוצע של 12 פירות \pm סטיית תקן. החץ מתאר את נקודת הזמן בה בוצעה חלוקה לקבוצת דיגום של פירות גדולים וקטנים.
- ג' - חתכי אורך מייצגים של פירות גדולים וקטנים 88 יום לאחר פריחה מלאה (פ"מ).

גדולים וקטנים בוצעה רק כ-90 יום לאחריה, בשלב שבו ניתן היה לזהות בברור הבדלים בין פירות גדולים וקטנים. מעקב אחר קינטיקת התפתחות הפרי הראה הבדלים מובהקים ועקביים במדדי הרוחב, האורך (לא מוצג) והמשקל של הפירות הגדולים הקטנים (איור 1).

■ **איפיון שינויים ברמת הביטוי של גנים הקשורים לתהליך חלוקת התא במהלך התפתחות הפרי:** איפיון זה משמש כלי יעיל לצורך מעקב אחר התקדמות תהליך חלוקת תאים, שכן ביטויים מהווה סמן לפעילות מיטוטית.

ענף החודש

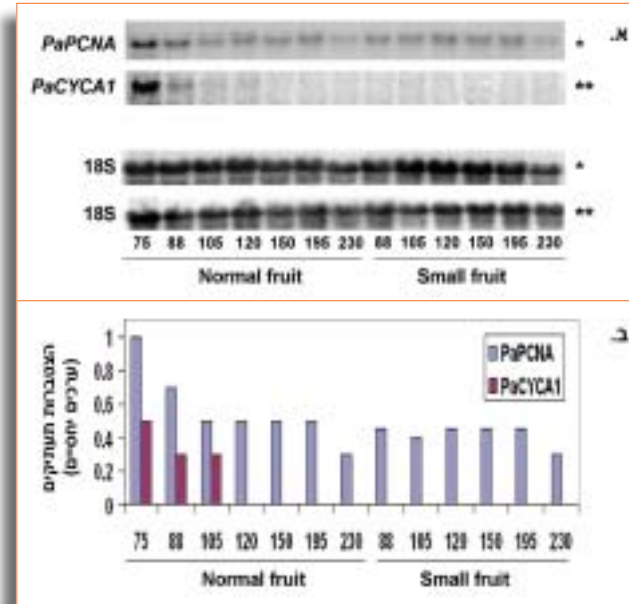
איור 4א-ד: שינוי ממוצע במספר ובשטח התאים המחושב של פירות גדולים וקטנים ברקמת הציפה וברקמת הזרע במהלך התפתחות הפרי



הערה לאיור 4: כל התוצאות מייצגות ממוצע של 54 ספירות ± סטיית תקן

בפירות גדולים וקטנים הראתה, כי במהלך התפתחות הפרי מתבטא הגן *Pafw2.2-like* ביתר ברקמות פרי קטן, הן בזרע והן בציפה, זאת בהשוואה לאותן רקמות בפרי גדול (איור 5 בעמוד הבא). כפי שציינו במבוא, בעגבניה חל תהליך חלוקת תאים בפרי ב"חלון פיסיולוגי" קצר, לפני ואחרי החנטה. בהתאמה, דווח על עלייה

איור 3א, ב: רמת הביטוי של הגנים *PaPCNA* ו-*PaCYCA1* ברקמת הציפה של פירות 'האס' גדולים וקטנים במהלך התפתחות הפרי



הערות לאיור 3:

- רמות ביטוי הגנים המוצגות בגרף חושבו לאחר נירמול עם 18S rRNA.
- נקודת הזמן 75 ימים לאחר פריחה מלאה נקבעה כ-1

בפירות גדולים וקטנים, אך לא נצפו ביניהם הבדלים מובהקים בגודל התאים (איור 4ב' וד'). מאידך, מספר התאים הממוצע לרוחב ציפת הפרי והזרע היה נמוך באופן מובהק בפירות הקטנים לעומת הפירות הגדולים (איור 4א' וג'). תוצאות אלו עומדות בקנה אחד עם השינויים שנצפו בדגם הביטוי של הגנים הקשורים לתהליך חלוקת התאים במהלך התפתחות הפרי (איורים 2, 3). כפי שציינו, ידוע כי שינויים במאזן ההורמונלי, כמו גם במאזן הסוכרים, עשויים להשפיע על ביטוי של גנים הקשורים לתהליך חלוקת התא. לפיכך ניתן לשער, כי שינויים כלשהם במאזן הסוכרים ובמאזן ההורמונלי, החלים בפירות 'האס' קטנים, מבקרים את ביטוי של תעתיקי *PaPCNA* ו-*PaCYCA1*, גורמים לדיכוי מוקדם של ביטוי ומשפיעים על גודלו הסופי של הפרי. לחילופין, או בנוסף, ניתן להעלות את ההשערה לפיה ביטוי של גנים אלה מבוקר, בצורה ישירה או עקיפה, על ידי בקר חלבוני כדוגמת *fw2.2*, הפועל בעגבניה ומבקר באופן שלילי את חלוקת התאים בפרי.

■ **בידוד גן דמוי *fw2.2* מאבוקדו 'האס', ואיפיון דגם ביטוי במהלך התפתחות פירות גדולים וקטנים:** כאמור, *fw2.2* הינו גן המקודד לחלבון הפועל כבקר שלילי של חלוקת תאים בעגבניה (Frery et al., 2002). בהתחשב בידע הקיים לגבי היווצרות פרי קטן באבוקדו 'האס' ובתוצאות שהתקבלו על ידינו, סביר להניח כי באבוקדו קיים גן הדומה ל-*fw2.2*, שעלול להתבטא ביתר בפרי קטן ולעכב בו את תהליך חלוקת התאים. בעבודה הנוכחית הצלחנו לשבט גן כזה מאבוקדו, שכונה על ידינו *Pafw2.2-like* ונרשם תחת מספר גישה GU272026 במאגר הגנים של NCBI (National Center for Biotechnology Information) (Dahan et al., 2010). בדיקת דפוס ביטוי הגן

בכוונתנו להתמקד בלימוד המנגנון המבקר את העלייה בביטוי *Pafw2.2-like* בפירות 'האס' קטנים.

סיכום

העבודה שבוצעה על ידינו שופכת לראשונה אור על מנגנונים מולקולריים הפועלים באבוקדו ומבקרים את תהליך חלוקת התאים. ממצאי עבודה זו מדגימים באופן ברור, כי הגורם המגביל את התפתחות הפרי ברקמות של פירות קטנים הינו עיכוב בתהליך חלוקת התאים, ולא בגדילתם. כמו כן מרמזים ממצאי העבודה כי באבוקדו, כמו בעגבניה, הגן *Pafw2.2-like* עלול לתפקד כבקר שלילי של חלוקת התאים בפרי (Dahan et al., 2010).

האם ניתן להשתמש במידע זה כדי לפתור את בעיית גודל הפרי באבוקדו מזן 'האס'? לכאורה, לו הייתה בידונו אפשרות לביצוע התמרה גנטית באבוקדו ניתן היה לבדוק האם השתקת הגן *Pafw2.2-like* עשויה להשפיע באופן חיובי על גודל הפרי. כך לדוגמה, בעבודה שפורסמה רק לאחרונה דווח כי השתקת גן דמוי *fw2.2* בתירס גרמה להגדלת איברי הצמח, ובכלל זה להגדלת קלחי התירס (Gue et al., 2010). לצערנו, ביצוע של התמרה גנטית באבוקדו עדיין אינו ישים, ולכן אפשרות זו עדיין אינה בררת ביצוע. מצד שני, ניתן להשתמש בידע הנצבר בעבודה זו ובגנים שבודדו מאבוקדו, המקודדים לחלבונים המשתתפים בתהליך חלוקת התאים בפרי, כ"סמנים" לבדיקת יעילותם של טיפולים הורמונליים שונים שמטרתם הגדלת הפרי. בניסיונות שדה, שנערכים בשנים האחרונות על ידי צוות המחקר שלנו, נבדק יישום של הציטוקינין הסינטיטי בנזיל אדנין (בפורמולציות של בונגרו ושל גולית) או יישום טריפטופאן (חומצה אמינית טבעית המהווה פרקוסור של אוקסין) באבוקדו 'האס'. בחלק מהניסיונות נמצאה השפעה חיובית שהובילה לעלייה ביבול הכללי לעומת הביקורת. אנו מלווים ניסיונות אלה, המרוכזים ומבוצעים השנה במטעי 'האס' על ידי ד"ר ליאו וינר באזור גרנות, ועל ידי ד"ר גד איש-עם וד"ר אדולפו לוי באזור הגליל המערבי, במדידות ודיגום פירות גדולים וקטנים. שילוב של מחקר בסיסי המתמקד בהבנת הבסיס המולקולרי של בעיית גודל הפרי, עם מחקר יישומי המתמקד בבדיקה של השפעת טיפולים הורמונליים על גודל הפרי, עשוי להגדיל את הסיכויים למציאת פרוטוקולים שיאפשרו התמודדות יעילה עם בעיה חקלאית חשובה זו.

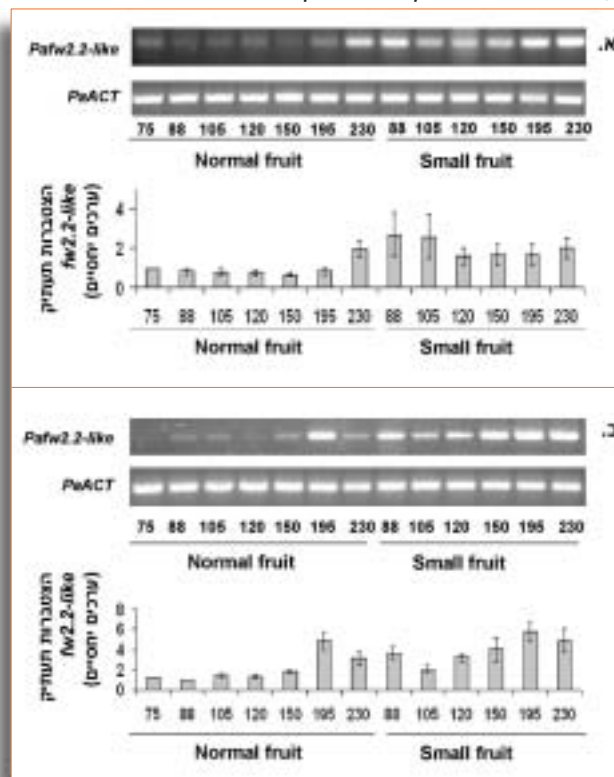
תודות

תודה למשה וילנר, מרכז המטע בקבוצת שילר, שאיפשר לנו לדגום פירות ממטע עצי 'האס', ולמרכזי המטעים באזורים גרנות וגליל מערבי, שבהם מיושמים ניסיונות השדה.

ספרות

- Baldet P., Hernould M., Laporte F., Mounet F., Just D., Mouras A., Chevalier C., Rothan C. (2006): The expression of cell proliferation-related genes in early developing flowers is affected by a fruit load reduction in tomato plants. J Exp Bot 57: 961-970.

איור 5א, ב': רמת הביטוי של הגן *Pafw2.2-like* ברקמת הזרע (א) והציפה (ב) של פירות גדולים וקטנים במהלך התפתחות הפרי



הערות:

- הגברת מקטע הגן *Pafw2.2* בוצעה באמצעות 42 מחזורי PCR. הגברת מקטע הגן *PaActin*, המשמש כביקורת, בוצעה באמצעות 27 מחזורי PCR.
- רמות ביטוי הגן *Pafw2.2-like* המוצגות בגרף הן תוצאות של שלוש חזרות בלתי תלויות שהתקבלו לאחר נירמול עם אקטין.
- נקודת הזמן 75 ימים לאחר פריחה מלאה נקבעה כ-1.

ברמת הביטוי של *fw2.2* בפרק זמן זה בקווי עגבניה בעלי פרי קטן, וירידה מתונה בביטוי הגן בהמשך תקופת התפתחות הפרי (Cong et al., 2002). בפרי האבוקדו, בו חלוקת התאים נמשכת 120-150 יום לאחר פריחה מלאה, ביטוי גבוה של *Pafw2.2* בפירות קטנים בפרק זמן זה עשוי להעיד כי הגן מאבוקדו פועל בדומה לגן מעגבניה, קרי, כבקר שלילי של חלוקת התאים בפרי. יש לציין כי באבוקדו נצפה ביטוי גבוה של *Pafw2.2-like* גם בשלבים מאוחרים של התפתחות הפרי, בהם חלוקת התאים פחותה או כמעט נפסקת לחלוטין. לפיכך, בשלב זה יש לנקוט משנה זהירות בהסקת מסקנות נחרצות לגבי אופי פעילותו של הגן *Pafw2.2-like*. בהמשך המחקר ניתן יהיה לבדוק מהם הגורמים המבקרים את העלייה בביטוי בפרי הקטן. אחת ההשערות בנוגע לאופן פעילותו של גן זה טוענת, כי תפקידו של *fw2.2* הינו להתאים את פעילות מחזור התא בפרי לתנאים הקיימים, למשל לשינויים באספקת סוכרים או הורמונים (Baldet et al., 2006). כפי שציינו, פירות 'האס' קטנים מתאפיינים בירידה ברמת הסוכרוז והאוקסין, ומאידך בעלייה ביצירת חומצה אבציסית. השאלה שנותרה פתוחה היא האם ביטוי *Pafw2.2-like* מושפע גם הוא משינויים במאזן הסוכרים או ההורמונים. בעתיד

11. Guo M., Rupe MA., Dieter J., Zou J., Spielbauer D., Duncan KE., Howard RJ., Hou Z., Simmons CR. (2010): Cell Number Regulator1 affects plant and organ size in maize: Implication for crop yield enhancement and heterosis. *The Plant Cell* 232: 663-676
12. Inze D., Veylder L. (2006): Cell cycle regulation in plant development. *Annu rev Genet* 40: 77-105.
13. Or E., Viložny I., Eyal Y., Ogradovitch A. (2000): The transduction of the signal for grape bud dormancy breaking induced by hydrogen cyanamide may involve the SNF-like protein kinase GDBRPK. *Plant Mol Biol* 43: 483-489.
14. Richings EW., Cripps RF., Cowan AK. (2000): Factors affecting 'Hass' avocado fruit size: Carbohydrate, abscisic acid and isoprenoid metabolism in normal and phenotypically small fruit. *Physiologia Plantarum* 109: 81-89.
15. Schroeder CA. (1953): Growth and development of the "Fuerte" avocado fruit. *Proc Am Soc Hort Sci* 68: 253-258.
16. Wang H., Qi Q Schorr P., Cutler AJ., Crosby WL., Fowke LC. (1998): ICK1, a cyclin-dependent protein kinase inhibitor from *Arabidopsis thaliana* interacts with both Cdc2a and CycD3, and its expression is induced by abscisic acid. *Plant J* 15: 501-510.
17. Wang H., Zhou Y., Bird DA., Fowke LC. (2008): Functions, regulation and cellular localization of plant cyclin-dependent kinase inhibitors. *J Microsc* 231: 234-246. ☒
2. 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 USA* 99: 13606-13711.
3. Cong B., Tanksley SD. (2006): FW2.2 and cell cycle control in developing tomato fruit: a possible example of gene co-option in the evolution of a novel organ. *Plant Mol Biol* 62: 867-880.
4. Cowan AK., Cripps RF., Richings EW., Taylor NJ. (2001): Fruit size: Toward an understanding of metabolic control of fruit growth using avocado as a model system. *Physiologia Plantarum* 111: 127-136.
5. Cowan AK., Moore-Gordon CS., Bertling I., Wolstenholme BN. (1997): Metabolic control of avocado fruit growth. *Plant Physiol* 114: 511-518.
6. Cowan AK., Taylor NJ., van Staden J. (2005): Hormone homeostasis and induction of the small-fruit phenotype in 'Hass' avocado. *Plant Growth Regul* 45: 11-19.
7. Dahan Y., Rosenfeld R., Zadiranov, V., Irihimovitch V. (2010): A proposed conserved role for an avocado *fw2.2-like* gene as a negative regulator of fruit cell division. *Planta* 232: 663-676.
8. Dewitte W., Murray JAH. (2003): The plant cell cycle. *Annu Rev Plant Biol* 54: 235-264.
9. Frary A., Nesbitt TC., Grandillo S., Knaap E., Cong B., Liu J., Meller J., Elber R., Alpert KB., Tanksley SD. (2000): *fw2.2*: a quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. *Science* 289: 85-88.
10. Gillaspay G., Ben-David H., Gruissem W. (1993): Fruits: A Developmental Perspective. *Plant Cell* 5: 1439-1451.