

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 624 280**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/415** (2006.01)

**C12N 15/82** (2006.01)

**C12N 5/10** (2006.01)

**A01H 5/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.05.2011** **E 11166057 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.11.2016** **EP 2522675**

54 Título: **SpBRANCHED1a de Solanum pennellii y plantas de tomate con ramificación reducida que comprende este gen SpBRANCHED1a heterólogo**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**13.07.2017**

73 Titular/es:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS (CSIC) (100.0%)  
Serrano 117  
28006 Madrid , ES**

72 Inventor/es:

**GONZALEZ-GRANDIO, EDUARDO y  
CUBAS DOMINGUEZ, PILAR**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 624 280 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

SpBRANCHED1a de *Solanum pennellii* y plantas de tomate con ramificación reducida que comprende este gen SpBRANCHED1a heterólogo

5 La presente invención está clasificada dentro de la sección de las necesidades humanas, en el campo de la agricultura; nuevas plantas o procesos para obtenerlas mediante biotecnología; plantas angiospermas con flores y, específicamente, plantas de tomate. En particular, la presente invención se refiere al gen *SpBRANCHED1a* de *Solanum pennellii* y plantas de tomate que lo comprenden de forma heteróloga, donde estas plantas de tomate  
10 tienen menos brotes axilares y/o más cortos que una planta control.

## Antecedentes técnicos

15 Una cuestión central en la biología es el modo en que la evolución molecular de los genomas ha conducido a la gran diversidad de morfologías encontradas en los organismos vivos. La duplicación y la divergencia de los genes del desarrollo se cree que han desempeñado una función clave en la aparición de nuevos rasgos. Los estudios filogenéticos de genoma están ayudándonos a dilucidar la historia evolutiva de las duplicaciones en algunas de estas familias génicas. Sin embargo, los mecanismos moleculares subyacentes a la divergencia funcional después de la duplicación, y la relación entre la evolución génica y la aparición de novedades morfológicas aún no están bien  
20 comprendidos.

En angiospermas, los patrones de ramificación determinan en gran medida la arquitectura global de la planta y afecta a aspectos clave de la vida de la planta tales como distribución nutricional, altura, alta eficacia de recolección y visibilidad para polinizadores. Las ramas se generan a partir de meristemos formados en las axilas de las hojas (meristemos axilares, AM) después de la germinación. Los AM se desarrollan en *yemas axilares*, estructuras que comprenden internudos cortos y nudos que albergan primordios foliares y AM adicionales. Las yemas pueden permanecer latentes durante largos periodos de tiempo o experimentar elongación de internudos para generar brotes laterales. Los estudios recientes sugieren que el desarrollo de yemas axilares está controlado por una red genética conservada desarrollada antes de la radiación de las plantas de floración. El inicio de AM está controlado por genes supresores laterales/*MONOCULM1*, genes *Blind/RAX1* y genes *LAX PANICLE*. La auxina y la estrigolactona, hormonas sintetizadas en el ápice del brote y en la raíz respectivamente actúan como señales de larga distancia para suprimir la ramificación. La síntesis y la respuesta a estrigolactona está controlada por la ruta de ramas más axilares/Ramosus (*MAX/RMS*). Los genes que responden a estas señales y actúan dentro de la yema para prevenir el crecimiento también están conservados: *teosinte branched1 (tb1)* de maíz y sus ortólogos promueven la detención de las yemas en monocotiledóneas (Doebley et al. 1997. *Nature*, 386: 485-488; Hubbard et al. 2002. *Genetics*, 162: 1927-1935; Hu et al. 2003. *J. Plant Physiol. Mol. Biol.*, 29: 507-514; Kebrom et al. 2006. *Plant Physiol*, 140: 1109-1117; Takeda et al. 2003. *Plant J.*, 33: 513-520). En dicotiledóneas, las duplicaciones de un gen de tipo *tb1* ancestral generaron el clado *CYC/TB1* que comprende tres tipos de genes (Howarth y Donoghue 2006. *J. Plant Physiol. Mol. Biol.*, 29: 507-514). Uno de ellos incluye *BRANCHED1 (BRC1)* que ha retenido la mayor parte de la actividad supresora de ramas en *Arabidopsis* (Aguilar-Martinez et al. 2007. *Plant Cell*, 19: 458-472). Los genes *tb1/BRC1* codifican factores de transcripción de la familia TCP (Cubas et al. 1999. *Plant J.*, 18: 215-222). Los factores de transcripción TCP están implicados en el control del crecimiento celular y en la proliferación en meristemos y en órganos laterales, y han desempeñado una función clave en la evolución de innovaciones tales como flores zigomorfas.  
45

A pesar de la conservación general de los genes y de las rutas, se encuentra una gran diversidad de patrones de ramificación en angiospermas. Además, la cronología del inicio de AM, y el crecimiento de ramas en respuesta a señales ambientales y endógenas son muy divergentes entre los clados. La evolución molecular de los genes que controlan el crecimiento de las ramas debe haber desempeñado una función importante en la generación de esta diversidad. Los genes candidatos putativos para ser dianas para la selección durante la evolución de nuevos patrones de ramificación son genes de tipo-*tb1/BRC1*. De hecho, en el maíz, la selección artificial de alelos que sobreexpresan *tb1* era responsable de una fuerte dominancia apical de las plantas de maíz domesticadas (Doebley, Stec y Hubbard 1997, Wang et al. 1999. *Nature*, 386: 485-488).  
50

55 Los genes de tipo-*BRC1* de *Solanum lycopersicum* (*Solanaceae*, *Asteridae*), una especie dicotiledónea están relacionados de forma distante con *Arabidopsis* (*Brassicaceae*, *Rosidae*) y con patrones de ramificación divergentes. En contraste con *Arabidopsis*, que tiene un hábito de crecimiento indeterminado (monopodial), el tomate tiene un hábito de crecimiento determinado (simpodial): mientras que en *Arabidopsis* el meristemo apical del brote (SAM) crece indefinidamente, en el tomate, después de la producción de 8-12 hojas, el SAM se termina en una inflorescencia cimosa. Tras la floración, el meristemo lateral en la axila foliar superior (yema simpodial) se libera inmediatamente para dar un brote. Este brote lateral genera varias hojas antes de terminar con otra inflorescencia, y así sucesivamente. Pueden crecer brotes laterales adicionales de las yemas del brote primario.  
60

65 En la solicitud de patente internacional WO 2010/081917 A1 se describió la secuencia de *SIBRC1* de *Solanum lycopersicum* y los inventores dilucidaron, mediante experimentos de iARN, que el gen *SIBRC1b* desempeña una función más importante en el control del desarrollo de yemas axilares y en el crecimiento de ramas que *SIBRC1a*.

Además, esta solicitud de patente se refería al promotor de dicho gen. A pesar de los resultados mostrados en ese documento, sigue existiendo en el estado de la técnica el problema de producir plantas que tengan de forma eficaz una reducción sustancial en la cantidad de ramas para obtener plantas con mejores frutos y también para mejorar la recolección mecánica de estos frutos.

5

### Sumario de la invención

La invención se refiere a una nueva secuencia del gen *BRANCHED1a*, del gen *SpBRANCHED1a* de *Solanum pennellii*, y un producto de expresión de dicho gen, a un vector, célula hospedadora, cultivo celular, sistema de expresión recombinante, o plantas de tomate que comprenden dicho vector. La presente invención también se refiere al uso heterólogo del gen en plantas de tomate, para producir una planta que tenga menos brotes axilares y/o más cortos que una planta control, y a un método para producir plantas de tomate que tengan menos brotes axilares y/o más cortos que una planta control.

10

En la presente descripción, puede usarse el término *SpBRANCHED1a* como sinónimo de *SpBRC1a*. A lo largo de la presente descripción, para hacer referencia a este gen puede usarse la expresión "polinucleótido aislado" o "polinucleótido" que codifica un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la proteína *SpBRANCHED1a* (*SpBRC1a*) de *Solanum pennellii*, teniendo en cuenta que, por corte y empalme alternativo, se traducen dos proteínas a partir de una única secuencia genómica, una proteína corta y una larga, que difieren en su dominio C-terminal.

15

20

Como se sabe en el estado de la técnica, en el caso de genes de tipo-*BRC1* de tomate, *SIBRC1b* parece haber retenido la función ancestral del gen de tipo-*BRC1* en la supresión de la ramificación de los brotes, aunque los inventores no han sido capaces de establecer ninguna función relevante en este proceso para *SIBRC1a*. Por consiguiente, se ha detectado una distribución asimétrica de restricciones selectivas en la evolución de los linajes *Solanum BRC1a* y *BRC1b*. La secuencia codificante de los genes *BRC1b* han evolucionado bajo una fuerte selección de purificación mientras que el linaje *BRC1a* había experimentado una disminución de las restricciones evolutivas. Por lo tanto, a pesar de estas evidencias, la presente invención muestra que *SpBRC1a* desempeña una función inesperada en la supresión de la ramificación de los brotes cuando se expresa de forma heteróloga en tomate, en oposición con la función no contributiva a este fenotipo sin ramas del gen nativo *SIBRC1a*.

25

30

Las características distintivas de la presente invención respecto al fondo a los antecedentes técnicos relevantes es la nueva secuencia *SpBRC1a* de *Solanum pennellii* y su uso para producir plantas que expresan *SpBRC1a* de forma heteróloga en plantas de tomate, como por ejemplo, en plantas de *Solanum lycopersicum*. El efecto técnico resultante de las características distintivas es una dominancia apical más fuerte, una arquitectura mejorada y cantidad más reducida de ramas laterales (fenotipo sin ramas) que las plantas de control, plantas de tomate M82. Este efecto técnico implica una mejora del fenotipo descrito con respecto a las plantas de control, descrito en los ejemplos de la presente invención (por ejemplo, plantas IL3-5). Esta mejora se debe a la sustitución funcional del gen nativo *SIBRC1a* de *Solanum lycopersicum*. Por lo tanto, la expresión de *SpBRC1a* en *Solanum lycopersicum* implica una mejora del fenotipo sin ramas en plantas de tomate.

35

40

Entonces, el problema técnico objeto resuelto por la presente invención es la producción de plantas de tomate con la reducción máxima en la cantidad y en la longitud de brotes axilares lo más posible porque la ramificación de brotes laterales es un rasgo indeseado en el tomate domesticado ya que desvía lo asimilado de los frutos en desarrollo.

45

En conclusión, la presente invención proporciona nuevas plantas con fenotipos sin ramas modificando o adaptando la técnica anterior más cercana para proporcionar el efecto técnico descrito. Por lo tanto, la presente invención proporciona herramientas al estado de la técnica para mejorar el fenotipo sin ramas en plantas de tomate.

50

55

Hay que hacer hincapié que la presente invención enfatiza un efecto inesperado o sorprendente: como no es *SIBRC1a*, sino *SIBRC1b* el único responsable en el control de la ramificación de los brotes en plantas de *Solanum lycopersicum*, el gen nativo *SIBRC1a* no desempeña una tarea principal en la supresión del crecimiento de yemas axilares en estas plantas de tomate. En el estado de la técnica, no se sugiere que ningún gen homólogo de *SIBRC1a* en ninguna planta de tomate tuviera una actividad/función diferente que la que se demuestra con *SIBRC1a*, a pesar de la alta identidad entre las proteínas *SpBRC1a* y *SIBRC1a*, que son un 92-93 % idénticas (Tabla 1), el papel de *SpBRC1* es muy diferente cuando se expresa en *Solanum Lycopersicum* que la función de la proteína nativa *SIBRC1a*.

60

Las plantas de la presente invención también tienen la ventaja de facilitar la poda y más importante que esto, como las plantas de la invención no necesitan la poda de los brotes laterales, pueden practicarse menos heridas y entonces, potencialmente, una menor cantidad de patógenos infectaran la planta.

65

La presente invención es susceptible de aplicación industrial, es decir, para evitar la desviación de lo asimilado de frutos en desarrollo y también para mejorar la recolección mecánica de los tomates.

Por tanto, un primer aspecto de la presente invención se refiere a un polinucleótido aislado, que codifica un

polipéptido que comprende:

- 5 a. una secuencia de aminoácidos de *Solanum pennellii* que es al menos un 95 % idéntica sobre la longitud completa de la SEQ ID NO: 1 o de la SEQ ID NO: 2, o  
 b. la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 o de la SEQ ID NO: 2 de *Solanum pennellii*.

En la presente invención, las expresiones "polipéptido" y "secuencia de aminoácidos" son sinónimas.

10 La secuencia de aminoácidos de *Solanum pennellii* que es al menos un 90 % idéntica a la SEQ ID NO: 1 o que al menos un 90 % idéntica a la SEQ ID NO: 2 son isoformas de estas secuencias o secuencias con un máximo del 10 % de cambios en los aminoácidos entre estas secuencias que tienen sustancialmente la misma actividad/función en el fenotipo sin ramas que la SEQ ID NO: 1 o que la SEQ ID NO: 2. Por lo tanto, la presente descripción también se refiere a un polinucleótido aislado, que codifica un polipéptido que comprende:

- 15 a. la secuencia de aminoácidos de cualquier proteína SpBRC1a de *Solanum pennellii*, donde la proteína SpBRC1a tiene sustancialmente la misma función en el fenotipo sin ramas que la SEQ ID NO: 1 y/o que la SEQ ID NO: 2 en plantas de tomate, o  
 b. la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 o de la SEQ ID NO: 2 de *Solanum pennellii*.

20 La SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2 son dos secuencias resultantes de corte y empalme alternativo del gen *SpBRC1a*, codificado en la secuencia genómica (Ejemplo 1). Como los sitios putativos de corte y empalme (gt/ag) del intrón 1 se encontraron en todos los genes *BRC1a* de *Solanum* estudiados, pero no en los genes *BRC1b*, los inventores demuestran que este patrón en el corte y empalme alternativo del gen *BRC1a* se mantenía respecto al gen *SpBRC1a* que identifica dicho intrón 1 en la secuencia genómica del gen *SpBRC1a*. Entonces, estas dos  
 25 secuencias SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2 están implicadas en el fenotipo sin ramas. Las dos secuencias tienen diferentes dominios C-terminales (C-t) debido a un desplazamiento de fase causado por el corte y empalme alternativo del intrón 1, como en el gen *SIBRC1a*.

30 Una realización preferida se refiere al polinucleótido aislado, donde dicho polinucleótido es la SEQ ID NO: 3 que codifica la SEQ ID NO: 1, o la SEQ ID NO: 4 que codifica la SEQ ID NO: 2. La secuencia SEQ ID NO: 3 es la secuencia codificante (CDS) de la variante corta de la proteína SpBRC1a; la SEQ ID NO: 1. La secuencia de la SEQ ID NO: 4 es la CDS de la variante larga de la proteína SpBRC1a; la SEQ ID NO: 2.

35 En otra realización preferida de la presente invención, el polinucleótido aislado es la secuencia genómica SEQ ID NO: 5. Esta secuencia tiene los intrones descritos para *SIBRC1a*.

40 La expresión "% de identidad" como se entiende en esta descripción se refiere al % de identidad entre dos secuencias de aminoácidos. El % de identidad es un recuento de la cantidad de posiciones sobre la longitud de la alineación de dos secuencias donde todos los aminoácidos en esa posición son idénticos.

45 Preferiblemente, la secuencia de aminoácidos de *Solanum pennellii* que es al menos un 90 % idéntica a la SEQ ID NO: 1 o a la SEQ ID NO: 2 puede ser al menos un 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 1 o a la SEQ ID NO: 2. Además, la secuencia de aminoácidos de *Solanum pennellii* que es al menos un 90 % idéntica a la SEQ ID NO: 1 o que es al menos un 90 % idéntica a la SEQ ID NO: 2 puede ser una  
 50 secuencia de aminoácidos con al menos menos del 90 % idéntica a la SEQ ID NO: 1 o a la SEQ ID NO: 2 si dicha secuencia de aminoácidos tiene sustancialmente la misma función en el fenotipo sin ramas de la SEQ ID NO: 1 y/o la SEQ ID NO: 2 en plantas de tomate, y también es una secuencia de *Solanum pennellii*.

Para producir información acerca de la identidad de diferentes secuencias de proteínas BRC1a en plantas de tomate, se presentan la Tabla 1 y la Tabla 2.

Tabla 1. Porcentaje de identidad de varias secuencias de aminoácidos homólogas respecto a la SEQ ID NO: 1 o a la SEQ ID NO: 2 de diferentes plantas de tomate.

Especie 1	Tamaño (aminoácidos)	Especie 2	Tamaño (aminoácidos)	Identidad (%)
<i>S. pennellii</i> corta (SEQ ID NO: 1)	313	<i>S. lycopersicum</i> corta (SEQ ID NO: 8)	325	92
		<i>S. tuberosum</i> corta (SEQ ID NO: 9)	300	85
<i>S. pennellii</i> larga (SEQ ID NO: 2)	349	<i>S. lycopersicum</i> larga (SEQ ID NO: 10)	346	93
		<i>S. tuberosum</i> larga (SEQ ID NO: 11)	336	86

55 Los métodos para comparar las secuencias obteniendo los porcentajes de identidad son conocidos en el estado de

la técnica e incluyen, aunque sin limitación, el programa GAG, incluyendo GAP (Devereux et al., 1984. Nucleic Acids Research, 12: 287), Genetics Computer Group University of Wisconsin, Madison, (WI); BLAST, BLASTP, ClustalW2 o el servidor web Phylemon (Tarraga et al., 2007. Nucleic Acids Res, 35: W38-42). El porcentaje de identidad se ha elegido de acuerdo con la alineación de secuencia múltiple ClustalW2 del European Bioinformatics Institute.

5 Como se muestra en la Tabla 1, a pesar de la alta identidad entre las proteínas SpBRC1a y SpBRC1a, que son un 92-93 % idénticas, la función de SpBRC1a era muy diferente como se demuestra en la presente invención, cuando se expresa en *Solanum Lycopersicum* en comparación con la función de la proteína nativa SIBRC1a.

10 Tabla 2. Porcentaje de identidad entre la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 (SpBRC1a) y SpBRC1b de plantas de tomate *Solanum pennellii*

Especie 1	Tamaño (aminoácidos)	Especie 2	Tamaño (aminoácidos)	Identidad (%)
<i>S. pennellii</i> corta (SEQ ID NO: 1)	313	<i>S. pennellii</i> larga (SEQ ID NO: 2)	349	92
<i>S. pennellii</i> corta (SEQ ID NO: 1)	313	<i>S. pennellii</i> SpBRC1b (SEQ ID NO: 10)	362	37
<i>S. pennellii</i> larga (SEQ ID NO: 2)	349	<i>S. pennellii</i> SpBRC1b (SEQ ID NO: 10)	362	42

Una realización preferida de la presente invención se refiere al polinucleótido unido operativamente a cualquier secuencia reguladora que controla la expresión de dicho polinucleótido. En una realización preferida adicional de la presente invención, dicha secuencia reguladora es la SEQ ID NO: 6, la SEQ ID NO: 7 o CaMV35S.

15 La expresión "secuencia reguladora que controla la expresión de un polinucleótido" se refiere a una secuencia nucleotídica que tiene un efecto sobre la funcionalidad del gen polinucleotídico que se refiere al comienzo del transcrito a partir de una secuencia de ADN o al inicio de la traducción de una secuencia de ARN o a otras secuencias no descritas. A modo de ejemplo, entre las secuencias reguladoras de la expresión génica a la que se refieren en la presente descripción están los promotores y otros menos comunes como ciertos intrones. La naturaleza de estas secuencias reguladoras difiere dependiendo del organismo hospedador; en procariontes, estas secuencias de control habitualmente incluyen un promotor, un sitio de unión al ribosoma y señales de finalización; en eucariotas, habitualmente estas secuencias de control incluyen promotores, señales de terminación, intensificadores y a veces silenciadores.

20 Como se usa en este documento, el término "promotor" se refiere a una región del ADN en dirección 3' del punto de inicio de la transcripción de un gen y, particularmente, que es capaz de iniciar la transcripción en una célula vegetal. Los ejemplos de promotores incluyen, aunque sin limitación, promotores obtenidos de plantas, de virus de plantas o de bacterias que pueden expresar genes en células de plantas, como *Agrobacterium* o *Rhizobium*. Los promotores pueden clasificarse, por ejemplo, como promotores inducibles y constitutivos. La secuencia SEQ ID NO: 6 es el promotor inducible del gen *SIBRC1a* de *Solanum lycopersicum*. La secuencia SEQ ID NO: 7 es el promotor inducible del gen *SIBRC1a* de *Solanum tuberosum*.

30 La expresión "unido operativamente" se refiere a una yuxtaposición en que los componentes, como bien se ha descrito, tienen una relación que les posibilita funcionar en el modo pretendido. Un polinucleótido unido operativamente a cualquier secuencia reguladora que controla la expresión de dicho polinucleótido está unido de tal manera que la expresión de la secuencia codificante del polinucleótido se consigue en condiciones compatibles con la secuencia reguladora.

40 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un producto de expresión del polinucleótido de la invención. Para hacer referencia a cualquier producto de expresión del polinucleótido de la presente invención, puede usarse la expresión "producto de expresión de la invención" o "producto de expresión de la presente invención".

45 La expresión "producto de la expresión de la secuencia" como se usa en la presente descripción se refiere a cualquier producto derivado de la expresión del polinucleótido de la descripción. Por tanto, como producto derivado de la expresión del polinucleótido de la descripción se entiende, por ejemplo, el ARN que se obtiene de la transcripción de dicho polinucleótido, el ARN procesado, la proteína resultante en la traducción del ARN o posteriores modificaciones al polinucleótido dentro de la célula, con la condición de que la secuencia resultante de estos polinucleótidos modificados tengan su origen en la secuencia original o la función funcional descrita en la presente descripción.

50 Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un vector de expresión que comprende el polinucleótido de la invención. Para hacer referencia a cualquier vector que comprende el polinucleótido de la presente invención, puede usarse la expresión "vector de la invención" o "vector de la presente invención".

55 El término "vector" se refiere a un fragmento de ADN que tiene la capacidad de replicarse en un hospedador dado y, como indica el término, puede servir como vehículo para multiplicar otro fragmento de ADN que se ha unido al

mismo (inserto). El término "inserto" se refiere a un fragmento de ADN que está unido al vector; en el caso de la presente invención, el vector comprende cualquiera de los polinucleótidos de la invención que pueden replicarse en el hospedador apropiado. Los vectores pueden ser plásmidos, cósmidos, bacteriófagos o vectores víricos, sin excluir otro tipo de vectores que corresponden a esta definición de vector.

5 Otro aspecto de la presente invención se refiere a una célula hospedadora que comprende el polinucleótido, el producto de expresión o el vector de la invención, donde si la célula hospedadora es una célula vegetal, dicha célula vegetal no es de la especie *Solanum pennellii*. Hay que decir, que el polinucleótido de la presente invención (correspondiendo el núcleo principal al gen de *Solanum pennellii*) está presente en dicha célula hospedadora en  
10 forma heteróloga. Una realización preferida se refiere a la célula hospedadora de la presente invención, donde dicha célula es una célula vegetal. Más preferiblemente, la célula vegetal es una célula de *Solanum lycopersicum*.

La expresión "célula hospedadora" como se usa en la presente invención se refiere a una célula de planta eucariota y, dentro de este grupo, más preferiblemente a aquellas células que pertenecen al reino Plantae, donde cualquiera de estas células comprende el polinucleótido, el producto de expresión o el vector de la invención. Por tanto, la  
15 expresión célula vegetal comprende al menos una célula del parénquima, una célula meristemática o de cualquier tipo de célula vegetal, diferenciada o no diferenciada. Preferiblemente, la célula vegetal es una célula de planta de tomate y más preferiblemente es una célula de *Solanum lycopersicum*.

20 Para hacer referencia a cualquier célula hospedadora que comprende el polinucleótido de esta invención, puede usarse la expresión "célula hospedadora de la invención" o "célula hospedadora de la presente invención".

La presente descripción se refiere adicionalmente a un cultivo celular que comprende la célula hospedadora de la invención. Para hacer referencia a cualquier cultivo celular que comprende la célula hospedadora de la presente  
25 invención, puede usarse la expresión "cultivo celular de la invención" o "cultivo celular de la presente invención".

La expresión "cultivo celular" se refiere a un cultivo de células aisladas del mismo tipo de tejido o diferente, o un conjunto de estas células organizadas en partes de una planta o en tejidos (cultivo tisular). Los tipos de esta clase de cultivos son, por ejemplo, aunque sin limitación, un cultivo de protoplastos, callos (grupos de células vegetales  
30 indiferenciadas capaces de regenerar una planta completa con el programa organogénico apropiado) o un cultivo de células vegetales que se aíslan de plantas o de partes de plantas tales como embriones, células meristemáticas, polen, hojas o anteras.

También se describe un sistema de expresión recombinante que comprende el polinucleótido, el producto de  
35 expresión, el vector o la célula hospedadora de la invención.

El sistema de expresión recombinante puede ser, aunque sin limitación, por ejemplo, una célula hospedadora recombinante o un bacteriófago recombinante o su combinación con cualquier virus auxiliar. La fabricación recombinante implica la expresión de una construcción de ADN que codifica la proteína deseada en una célula  
40 hospedadora recombinante. La célula hospedadora puede ser procarionota o eucariota. La fabricación recombinante, sin embargo, tiene sus dificultades. Las construcciones de expresión deben optimizarse para una proteína particular y para una célula hospedadora particular. La expresión de una proteína recombinante en una célula hospedadora expone la proteína recombinante a un nuevo conjunto de enzimas de la célula hospedadora, tales como proteasas, que pueden modificar o incluso degradar la proteína recombinante. La modificación y la degradación de la proteína  
45 recombinante de interés son indeseables.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un uso del vector de expresión o de la célula hospedadora de la invención, para producir una planta de tomate, pero no una planta de la especie *Solanum pennellii*, que tiene  
50 menos brotes axilares y/o más cortos que una planta control.

La expresión "brotes axilares" puede usarse como sinónimo de "ramas laterales", "brotes laterales", "brotes secundarios", "ramificación de brotes axilares", "crecimiento de yemas axilares", y se refiere a un brote que crece desde la yema axilar localizada entre la hoja y el tallo, es decir, que crece en un nodo. En una planta control, el tallo presenta ramificación debido al crecimiento de yemas axilares en las posiciones de nodos individuales.  
55

En las plantas de tomate de la presente descripción, la longitud de las ramas laterales basales (nodos 1-6) presenta diferencias significativas con respecto a la longitud de las ramas laterales en el control.

En la presente descripción, la expresión "menos y/o más cortos" se refiere a diferencias significativas entre la presencia/ausencia y/o la longitud de los brotes axilares, respectivamente, en el nodo equivalente de las plantas de la descripción y las plantas de control. Los expertos en la materia pueden llegar a estas diferencias significativas usando cualquier estadística y cualquier método conocido en los antecedentes técnicos. Entonces, en la presente descripción las plantas que tienen menos brotes axilares y/o más cortos que una planta control tienen el fenotipo sin ramas.  
60

65 Por ejemplo, como se muestra en los ejemplos de la presente invención, las plantas IL3-5 tenían significativamente

menos brotes axilares y/o más cortos que las plantas M82 en los cotiledones, y los nodos 1, 4, 5 y 6.

La planta control es cualquier planta de tomate, de tipo silvestre que porta vectores vacíos, pero en cualquier caso la planta control no contiene el polinucleótido de la presente invención. Preferiblemente, la planta control es una planta de tomate que pertenece a la especie *Solanum lycopersicum*, preferiblemente, la planta control es una variedad de cultivo M82 de tomate. La planta control tiene la misma categoría taxonómica que la planta de tomate que comprende el polinucleótido de la invención para comparar la cantidad y/o la longitud de ramas laterales.

Otro aspecto de la presente descripción se refiere a una planta de tomate, pero no a una planta de *Solanum pennellii*, que comprende el polinucleótido, el producto de expresión, el vector, la célula hospedadora, el cultivo celular o el sistema de expresión recombinante de la descripción, donde dicha planta tiene menos brotes axilares y/o más cortos que una planta control. Por tanto, el polinucleótido de la presente descripción (correspondiendo el núcleo principal al gen de *Solanum pennellii*) está presente en la planta en forma heteróloga. Preferiblemente, la planta de tomate pertenece a la especie *Solanum lycopersicum*.

La planta de tomate de la presente descripción puede seleccionarse de especies potencialmente de plantas de tomate, por ejemplo, la planta de tomate puede seleccionarse de plantas de tomate con frutos rojos, amarillos, naranjas o amarillo-verdoso, y sin limitación de estas especies: *Solanum lycopersicum*, *Solanum peruvianum*, *Solanum pimpinellifolium*, *Solanum lycopersicoides*, *Solanum sitiens*, *Solanum juglandifolium*, *Solanum ochranthum*, *Solanum cheesmaniae* o *Solanum galapagense*.

Preferiblemente, la planta de tomate pertenece a la especie *Solanum lycopersicum*. Más preferiblemente, la variedad de la planta de tomate puede seleccionarse de la lista de nombres de reservas de la SOL Genomics Network (SGN) Breeders Toolbox (<http://solgenomics.net/breeders/index.pl>). Preferiblemente, la variedad de la planta de tomate de la especie *Solanum lycopersicum* puede seleccionarse de la lista, aunque sin limitación, Anna russian, Applause, Aussie, Baladre, Bella rosa, Black cherry, Black russian, Blondkopfchen, Brandywine, Carbon, Ceylan, Cherokee purple, Cherry yellow pear, Black Plum, Comanche, Copy, Costoluto genovese, Ditmarcher, Eros, Gallician, Glacier, Gartenperle, Green sausage, Grushovka, Harzfeuer, Hugh, Japanesse black, Jersey devil, Kosovo, Krim black, Kumato, Liguria, Limachino, Lime green salad, Manitoba, Marvel stripe, Moneymaker, Muchamiel, Opalka, RAF, Black Pear, Hawaiian pineapple, Rio grande, San marzano, Siberian, Sprite, Sugary, Sun sugar, Tigerella, Valencian, White Queen o Window box Roma.

Un aspecto adicional de la presente descripción se refiere a una planta de tomate que comprende, de forma heteróloga, un fragmento del cromosoma III de *Solanum pennellii* que comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende:

- a. una secuencia de aminoácidos de *Solanum pennellii* con al menos un 90 % de identidad con la SEQ ID NO: 1 o que es al menos un 90 % idéntica a la SEQ ID NO: 2, o
- b. la secuencia de aminoácidos de *Solanum pennellii* SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2,

en la que dicha planta tiene menos brotes axilares y/o más cortos que una planta control.

Una descripción preferida se refiere a dicha planta de tomate que comprende, de forma heteróloga, un fragmento del cromosoma III de *Solanum pennellii* que comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido, donde dicho fragmento del cromosoma III corresponde al fragmento comprendido entre el marcador de ADN TG284A y el marcador de ADN TG244 (Figura 2). Preferiblemente, el fragmento del cromosoma III corresponde al fragmento comprendido entre el marcador de ADN T0794 y el marcador de ADN TG244; más preferiblemente, al fragmento comprendido entre el marcador de ADN TG377 (o el marcador TG126 de CD4A) y el marcador de ADN TG244. La Figura 2 muestra todos los marcadores de ADN propuestos dentro del cromosoma III de *Solanum pennellii*. Los marcadores citados pueden analizarse en detalle en la base de datos Sol Genomics Network (SGN).

Una descripción preferida se refiere a la planta que comprende, de forma heteróloga, un fragmento del cromosoma III de *Solanum pennellii*, donde comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 3 que codifica la SEQ ID NO: 1, o la SEQ ID NO: 4 que codifica la SEQ ID NO: 2. Preferiblemente, dicho polinucleótido es la secuencia genómica SEQ ID NO: 5.

También se describe cualquier planta descrita anteriormente donde la expresión del polinucleótido de la invención es mayor que la expresión del gen nativo homólogo *BRC1a*.

La planta contiene el polinucleótido de la invención en homocigosis, heterocigosis o hemicigosis. También se describe cualquier planta descrita anteriormente, donde el polinucleótido está integrado en el genoma, preferiblemente integrado en homocigosis. Otro aspecto se refiere a un germoplasma de la planta de la presente invención. Preferiblemente, el germoplasma es una semilla o polen.

La expresión "planta de la presente invención" incluye cada una de las partes en dicha planta, que pueden conservarse o cultivarse en aislamiento o en combinación, así como el germoplasma. El germoplasma se define por

el material biológico que contiene la variabilidad genética intraespecífica o por los materiales genéticos que pueden perpetuar una especie o una población de dicha planta. Por tanto, el germoplasma es la semilla, el cultivo tisular para cualquier parte de la planta o las plantas establecidas en colecciones *ex situ*, sin excluir ningún otro material en el alcance de esta definición.

5 El polen tiene un alto nivel de interés ya que la transmisión de los caracteres genéticos y fenotípicos puede realizarse por la polinización de cualquier variedad de planta compatible con el polen que se menciona. De este modo, se puede producir una planta que incluye el polinucleótido de la invención, después del cruce y la selección respectivos, puede obtenerse una planta en que el polinucleótido integra un número adecuado de copias en estado estable para obtener el mismo fenotipo sin ramas deseable en las posteriores generaciones.

Para hacer referencia a cualquiera de las plantas de tomate de la presente invención, puede usarse la expresión "planta de la invención" o "planta de la presente invención".

15 La planta de la invención no pertenece a la especie *Solanum pennellii*, estando entonces el polinucleótido de la presente invención expresado en especies de plantas diferentes de *Solanum pennellii*, por lo tanto, el polinucleótido se expresa de forma heteróloga.

20 Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un método para producir plantas de tomate que tienen menos brotes axilares y/o más cortos que una planta control, que comprende:

- a. Transformar al menos una célula de planta de tomate con el vector de expresión que comprende el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones, y
- 25 b. cultivar la célula vegetal obtenida en la etapa (a) en un medio adecuado para producir al menos una planta que expresa el polinucleótido heterólogo. Otra realización de la presente invención se refiere al método para producir plantas de tomate que tienen menos brotes axilares y/o más cortos que una planta control, donde dicha planta de tomate pertenece a la especie *Solanum lycopersicum*.

30 La planta descrita en este documento puede conseguirse por transformación genética mediada por biolística, *Agrobacterium tumefaciens* o cualquier otra técnica conocida por los expertos en la materia (por ejemplo, transformación de protoplastos), que permitirán la integración del polinucleótido de la invención en cualquiera del ADN de la planta; genómico, de cloroplasto o el polinucleótido de la invención por cruce y selección.

35 El medio adecuado para cultivar la célula vegetal obtenida en la etapa (a) es un medio conocido por los expertos en la materia como, por ejemplo, la producción de una planta como es indicativa en la etapa (b) puede realizarse por medio de técnicas conocidas por los expertos en la materia, por ejemplo:

- El cultivo de embriones: aislamiento de embriones cigóticos que promueven su crecimiento como planta en un entorno artificial
- 40 - Embriogénesis somática: producción de embriones a partir de tejidos somáticos, tales como microesporas u hojas
- Organogénesis: producción de órganos tales como tallos o raíces a partir de diversos tejidos de la planta.

45 La planta descrita en este documento puede obtenerse de acuerdo con otros procesos microbiológicos, como por ejemplo:

- Obtención de cíbridos: se produce una célula con su citoplasma y el citoplasma de la otra célula y esta célula puede cultivarse en un medio adecuado para producir una planta que expresa el polinucleótido heterólogo.
- 50 - Fusión de células somáticas (preferiblemente fusión de protoplastos): a nivel citoplasmático, las plantas híbridas pueden ser el resultado de: (a) la suma del citoplasma de ambos precursores; (b) el citoplasma de un único precursor; (c) un citoplasma híbrido resultado de la recombinación de los genomas extranucleares de ambas células. La fusión de células somáticas puede aplicarse para superar la incompatibilidad en cruces interespecíficos, o para una mejor utilización de la variación interespecie y extraespecífica en cruces
- 55 interespecíficos compatibles.

### Breve descripción de las figuras

60 Para complementar la descripción que se está haciendo y para ayudar a comprender mejor las características de la invención y de acuerdo con algunos ejemplos preferidos, se han incluido las figuras donde, con carácter ilustrativo y no limitante, se representa lo siguiente:

**FIG. 1. Muestra los genes y las proteínas tipo-*BRC1* en tomate.**

65 (a) Árbol filogenético de máxima probabilidad (ML) con 1000 pseudo-réplicas de inicio de genes TB1/CYC clase II de tomate (SI, negrita) y miembros TCP representativos de clase II de *Antirrhinum majus* (Am),

*Arabidopsis thaliana* (At), *Solanum tuberosum* (St) y *Populus trichocarpa* (Pt). Las ramas con soporte de 500 o más se indican. AtTCP4/CIN son los grupos externos. (b) Estructura génica de *SIBRC1a* y de *SIBRC1b*. Las secuencias codificantes están sombreadas en negro, los intrones en blanco, 5' UTR y 3'UTR en gris claro. Debajo de cada gen, se representan las proteínas predichas codificadas por los ADNc aislados. Los recuadros azules indican los dominios TCP y R. Los recuadros rojos indican la fase codificante alternativa en la proteína *SIBRC1a* corta. El recuadro gris oscuro indica el intrón alternativo traducido en la proteína larga.

**FIG. 2. Muestra el mapa del cromosoma III de *Solanum lycopersicum* (a) y de *Solanum pennellii* (b) y la posición relativa del gen *BRC1*.**

En ambos mapas se indican varios marcadores de ADN y su posición relativa entre ellos y entre el gen *BRC1a* y el fragmento sometido a introgresión IL3-5.

TG479, T1286, CT171, T1511, T0794, TG244 son marcadores de ADN del cromosoma III de *Solanum lycopersicum* y TG40, CAB3, TG13S, CT31, TG114, TG585, TGS17, TG130, TG13B, CT22, TG66, TG39, TG247, TG288, TG50C, TG102, CT90A, TM8, TGS99, TG246, TG457, TG42, TG134, TG284A, TG377, CD4A, TG126, TG152, CD71, TG406B, TG214, CD69, CT250, TG244 y TG94. El fragmento del cromosoma III de *Solanum Pennellii* sometido a introgresión en *Solanum lycopersicum* en la línea de introgresión IL3-5 se muestra con la barra IL 3-5. (a) y (b) muestran marcadores comunes de ADN en ambos cromosomas.

**FIG. 3. Muestra la predicción de estructura secundaria de los motivos C-t largo (superior) y corto (inferior) de *SIBRC1a* de acuerdo con Jpred.**

E, estructura secundaria ampliada, H, hélice- $\alpha$ . Jnet, predicciones de accesibilidad de disolvente. B, enterrado, -, expuesto. Jnet Rel, fiabilidad de la precisión de predicción, varía de 0 a 9.

**FIG. 4. Muestra el análisis de la función de *SIBRC1a*.**

(a) Fenotipo de ramificación de brotes de mutantes puntuales *Sibrca-v171i* en comparación con sus hermanos de tipo silvestre. La longitud de ramas laterales de plantas de tomate mutantes y sus hermanos de tipo silvestre en la antesis de la primera flor. Se representan los errores típicos ( $\pm$  e.t.m.).  $N_{brca-v171i}=7$ ,  $N_{wt}=25$ . (b) Fenotipo de ramificación de brotes de plantas IL3-1 y M82 medido como en (a)  $N_{IL3-5}=12$ ,  $N_{wt M82}=15$ . Los asteriscos indican diferencias significativas ( $p<0,05$ ). (c) Plantas jóvenes M82 de tipo silvestre (izquierda) e IL3-5 (derecha) cultivadas en las mismas condiciones. Las flechas indican ramas que han crecido en plantas de tipo silvestre y yemas detenidas en IL3-5. (d) Niveles de ARNm relativos de *SIBRC1a* en yemas axilares de plantas M82 e IL3-5. El asterisco indica una diferencia significativa ( $p<0,05$ ).

**FIG. 5. Muestra el fenotipo de plantas M82 e IL3-5 adultas después de la floración.**

**Ejemplos**

Los siguientes ejemplos proporcionan una descripción, de carácter ilustrativo y no limitante, de algunos de los ensayos y condiciones de funcionamiento reivindicados en la lista dada a continuación que se refiere a la clonación y uso de *SpBRC1a* como supresor de la ramificación de brotes en tomate, así como plantas de *Solanum lycopersicum* que expresan el gen *SpBRC1a*.

En los presentes ejemplos, la expresión *SpBRC1a* es equivalente a un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 (proteína corta de corte y empalme alternativo) o de la SEQ ID NO: 2 (proteína larga de corte y empalme alternativo). *SIBRC1a* y *SIBRC1b* se refieren al gen *BRANCHED1a* o *BRANCHED1b* de *Solanum lycopersicum*.

**Ejemplo 1. Identificación de genes de tipo-*BRC1* de tomate**

Los inventores buscaron genes de tipo *CYC/TB1* en bases de datos genómicas y EST de tomate (Mueller 2009. The Plant Genome, 2: 78-92) e identificaron seis genes TCP de este grupo. Los análisis filogenéticos mostraron que dos eran genes de tipo *CYCLOIDEA* (*CYC*), dos eran genes de tipo-*BRC2* y otros dos eran genes de tipo-*BRC1*. Estos seis genes TCP se llamaron *SICYC1*, *SICYC2*, *SIBRC2a*, *SIBRC2b*, *SIBRC1a* y *SIBRC1b* (*Solanum lycopersicum* *CYC*, *BRC2*, *BRC1*) respectivamente (Figura 1 a) y se ubicaron en los cromosomas 2-6 de tomate (Figura 2). Los genes de tipo-*CYC* han demostrado expresarse en meristemos florales y estar principalmente implicados en el control de la forma de la flor en muchas especies. Los inventores se centraron en los dos genes de tipo-*BRC1* (*SIBRC1a* y *SIBRC1b*) e investigaron sus funciones durante el desarrollo de brotes laterales del tomate.

Los inventores estudiaron primero la actividad transcripcional de estos genes. Para *SIBRC1a*, los inventores aislaron dos ADNc generados por corte y empalme alternativo: uno corto, con una fase de lectura abierta (ORF) larga de 978 pares de bases (pb) dividida por dos intrones (intrones I y II) y uno largo (1041 pb), en que el intrón I se retenía y traducía (Figura 1b). El corte y empalme del intrón I era un evento relativamente raro ya que los ADNc largos se aislaron nueve veces más frecuentemente que los ADNc cortos. Estos ADNc codificaban dos proteínas con los dominios N-terminal, TCP y R idénticos pero diferentes C-terminales (C-t) de 36 y 57 aminoácidos respectivamente, debido a un desplazamiento de fase causado por el corte y empalme alternativo del intrón I (Figura 1b). Para

*SIBRC1b*, los inventores aislaron un único tipo de ADNc que contenía una ORF larga de 1089 pb dividida por un intrón (Figura 1b).

La alineación de los ADNc corto y largo de *SIBRC1a*, el ADNc de *SIBRC1b* y las secuencias genómicas de *SIBRC1a* y de *SIBRC1b* confirmaron que el intrón II de *SIBRC1a* era co-lineal con el intrón de *SIBRC1b*, lo que sugiere que este intrón también se cortaba y empalmaba en el ancestro común, antes de la duplicación. En contraste, el intrón I de *SIBRC1a* podría haber evolucionado posteriormente, después de la duplicación. Tenía conservación de fase y una alta similitud de secuencia con una región codificante (sin corte y empalme) de *SIBRC1b*. Además, el péptido C-t codificado por el ADNc de *SIBRC1a* largo (que retenía el intrón I) tenía similitud de secuencia con el péptido C-t de *SIBRC1b*, lo que apoya que esta fase se traducía en el ancestro común, que no sufría corte y empalme de esta región. Los sitios putativos de corte y empalme (gt/ag) del intrón I se encontraron en todos los genes *BRC1a* de *Solanum* estudiados, pero no en los genes *BRC1b*, lo que sugieren que evolucionaron dentro del clado *BRC1a*. De forma interesante, la región C-t de la proteína BRC1 corta se predijo que formaba una hélice- $\alpha$  fuertemente anfipática (Figura 3) altamente conservada en todas las especies *Solanum* analizadas. Por otro lado, el péptido C-t de la proteína *SIBRC1a* larga se predijo que tenía una estructura secundaria extendida (Figura 3) como la de *SIBRC1b*. Estos resultados indican que, después de la separación de *Arabidopsis* y de *Solanaceae*, una duplicación de un gen de tipo-*BRC1* ancestral, que tenía un intrón, generó dos copias del gen, *BRC1a* y *BRC1b*. Un nuevo sitio de corte y empalme alternativo evolucionó en el clado *BRC1a*, lo que sugiere un transcrito divergente, con un desplazamiento de fase 3'-terminal, que codifica una proteína con un novedoso motivo C-t predicho que forma una hélice- $\alpha$  fuertemente anfipática.

Como los sitios de corte y empalme putativos (gt/ag) del intrón I se encontraron en todos los genes *BRC1a* de *Solanum* estudiados, pero no en los genes *BRC1b*, los inventores siguieron este patrón de corte y empalme alternativo del gen *BRC1a* en la secuencia genómica del gen *SpBRC1a* y, después de identificar dicho intrón I, los inventores predijeron el ADNc corto que codifica la SEQ ID NO: 1 y el ADNc largo que codifica la SEQ ID NO: 2.

### **Ejemplo 2. *SpBRC1a* actúa como supresor de la ramificación de brotes en tomate. Función de *SIBRC1a* y de *SIBRC1b*.**

El hallazgo de dos parálogos de tipo-*BRC1* de tomate más estrechamente relacionados entre sí que con *AtBRC1*, sugiere que tuvo lugar una duplicación de *BRC1* después de la separación de las *Brassicaceae* y *Solanaceae*. Estos dos genes de tipo-*BRC1* están ubicados en diferentes cromosomas, lo que sugiere que no se originaron por duplicación segmentada sino más bien por duplicación cromosómica o durante la duplicación del genoma completo (WGD) que sucedió en *Solanaceae* hace 60-70 millones de años. La duplicación, un evento común en la evolución de los genomas, va seguida habitualmente por la pérdida de una de las copias génicas por acumulación de mutaciones perjudiciales. En *Arabidopsis*, por ejemplo, se ha descubierto un único gen *BRC1*, aunque esta especie ha experimentado varias WGD, lo que sugiere que se han perdido todas las demás copias del gen de tipo-*BRC1*. Se ha propuesto una gran cantidad de modelos para explicar la fijación, mantenimiento y evolución de genes duplicados.

Estos resultados indican que en el caso de genes de tipo-*BRC1* de tomate, *SIBRC1b* parece haber retenido la función génica de tipo-*BRC1* ancestral en la supresión de la ramificación de brotes, aunque los inventores no han sido capaces de establecer ninguna función relevante en este proceso para *SIBRC1a*. De forma coherente, se ha detectado una distribución asimétrica de restricciones selectivas en la evolución de los linajes *BRC1a* y *BRC1b* de *Solanum*: la secuencia codificante de los genes *BRC1b* ha evolucionado bajo una fuerte selección de purificación mientras que el linaje *BRC1a* ha experimentado una disminución de restricciones evolutivas.

### **2.1. Función de *SIBRC1a* y de *SIBRC1b* en tomate y su evolución en el género *Solanum*.**

En lo que se sabe, *SIBRC1b* actúa como supresor de la ramificación de brotes en tomate mientras que *SIBRC1a* no desempeña una función principal en el control de la ramificación de brotes en tomate (documento WO 2010/081917 A1). En la solicitud de patente mencionada anteriormente, los inventores llegaron a esta conclusión después de realizar experimentos usando iARN para cada uno de los genes *SIBRC1a* y *SIBRC1b*, teniendo este hecho en cuenta en las reivindicaciones finales, porque ni el uso de *SIBRC1a* ni el uso de *SIBRC1a*-iARN contribuyó a resolver ningún problema técnico. En la presente solicitud los inventores repitieron los experimentos de silenciamiento y se obtuvieron los mismos resultados que los mostrados en el documento WO 2010/081917; la pérdida de función de *SIBRC1b* conduce a crecimiento aumentado de ramas en tomate, pero la pérdida de función de *SIBRC1a* no causa crecimiento de las yemas. Como resultado, estos ejemplos se excluyen en la presente solicitud porque no proporcionan más información relevante.

#### **2.1.1. Función de *SIBRC1a***

Los patrones de ramificación de tipo silvestre de *Solanum lycopersicum* de mutantes *Sibrc1a-v220i* fuertes podrían indicar que *SIBRC1a* no desempeña una función principal en la supresión del crecimiento de yemas axilares en tomate, suscitando la posibilidad de que este gen se haya vuelto no funcional en esta especie. Otros signos de pseudogenización, tales como acumulación de mutaciones sin sentido, no se han encontrado en este gen de tomate.

Además, la transcripción está estrechamente regulada de forma espacial y temporal, y tiene lugar corte y empalme alternativo, lo que indica que no se ha perdido la regulación transcripcional y post-transcripcional. No se han detectado signos de una tendencia hacia pseudogenización en la evolución del linaje *BRC1a* de *Solanum*, tampoco. Estos resultados indican que la rápida tasa de evolución encontrada en este clado no se debe a relajación (habitualmente asociada con pérdida de función), sino en su lugar a selección positiva y adaptación. Además, los inventores han identificado varios sitios proteicos, dianas de selección positiva y que evolucionan a alta tasa de evolución, localizados en dominios potencialmente implicados en la estabilidad (dominio PEST) y la actividad transcripcional, aspectos que podrían afectar enormemente a la función proteica. Además, el corte y empalme alternativo evolucionado dentro del clado *BRC1a* da lugar a un novedoso transcrito (identificado tanto en tomate como en patata) que codifica una proteína divergente con una hélice C-t anfipática, estructura secundaria a menudo implicada en las interacciones proteína-proteína, la dimerización y la activación o represión transcripcional. Los inventores especulan que este novedoso dominio, generado por un desplazamiento de fase 3' terminal (3'-t) de los transcritos *BRC1a*, también podría estar contribuyendo a la divergencia estructural (y quizá funcional) de las proteínas *BRC1a*. Las mutaciones de desplazamiento de fase 3'-t se han propuesto como responsables de la evolución de novedosos dominios proteicos, instrumental para la diversificación de familias de factores de transcripción. En resumen, el clado *BRC1a* podría estar diversificándose en lugar de conduciendo a pérdida de función y pseudogenización.

En el caso particular del gen *SIBRC1a* de tomate, sus bajos niveles de transcripción y la función aparentemente irrelevante podría ser el resultado de la reciente evolución artificial asociada a la domesticación del tomate. Los alelos sub-expresores podrían haberse fijado durante la selección de otros loci ligados que controlan los rasgos seleccionados. Como alternativa, *SIBRC1a* podría ser funcional, pero solamente estar regulado positivamente en ciertas condiciones de desarrollo o ambientales aún no identificadas. Hasta ahora, los inventores no han detectado regulación positiva de *SIBRC1a* en plantas con función *SIBRC1b* reducida, por ejemplo, pero otras situaciones genéticas o ambientales podrían conducir a activación transcripcional de *SIBRC1a*.

### 2.1.2. Función de *SIBRC1b*

El exceso de ramificación de los brotes presentado por plantas con pérdida de función de *SIBRC1b* se parece al de los mutantes *tb1/brc1* en otras especies (Aguilar-Martinez et al. 2007. Plant Cell, 19: 458-472; Doebley et al. 1997. Nature, 386: 485-488; Finlayson 2007. Plant Cell Physiol., 48: 667-677; Minakuchi et al. 2010. Plant Cell Physiol, 51: 1127-1135, Takeda et al. 2003. Plant J., 33: 513-520) e indica que *SIBRC1b* debe haber retenido la función ancestral en la supresión del crecimiento de ramas. Esto es coherente con la baja tasa de evolución ( $w$ ) de los genes *BRC1b* en *Solanum*. Las regiones reguladoras en cis de *SIBRC1b* y los factores de actuación en trans también parecen estar conservados: *SIBRC1b* se expresa principalmente en yemas axilares detenidas, especialmente en nodos basales, como *AtBRC1* arroz *fine culm1*, y responde a decapitación como *AtBRC1* (Aguilar-Martinez et al. 2007, Arite et al. 2007. Plant Journal, 51: 1019-1029). En *Arabidopsis* y en arroz se ha propuesto que *AtBRC1* y *FC1*, respectivamente, están corriente abajo de la ruta de estrigolactona (Aguilar-Martinez et al. 2007. Plant Cell, 19: 458-472; Minakuchi et al. 2010. Plant Cell Physiol, 51: 1127-1135). Aunque en tomate esto tiene que ensayarse, la pérdida de función de *SICC7*, un gen implicado en la síntesis de estrigolactona de tomate (Vogel et al. 2009. Plant J, 61,300-311; Koltai et al. 2010. J Exp Bot, 61: 1739-1749) causa alteraciones en la ramificación vegetativa pero no en la simpodial, de forma similar a la pérdida de función de *SIBRC1b*. Sin embargo, los fenotipos *Siccd7* son mucho más fuertes que los de las líneas de iARN de *SIBRC1b* que sugieren que factores adicionales pueden controlarse por este gen. Otros genes TCP relacionados tales como *SIBRC1a*, *SIBRC2a* y *SIBRC2b*, se expresan en yemas axilares a niveles muy inferiores que *SIBRC1b*, pero los inventores no pueden descartar que, en algunas condiciones, sean relevantes para este proceso.

### 2.2. Uso de *SpBRC1a* como supresor de la ramificación de brotes axilares en tomate

Se cultivaron diferentes reservas de semillas de tomate obtenidas de Tomato Genetics Resource Centre (TGRC) de la University of California Davis. Puede hacerse mención especial con respecto a la línea de introgresión IL3-5. Como se indica en la sección de "mapas cromosómicos", se hizo el mapeo en una población de introgresión de *Solanum pennellii* usando combinaciones de cebadores y, después de la detección de los fragmentos correspondientes de PCR, los inventores concluyeron que *BRC1a* estaba ubicado en IL3-5 (Figura 2), además *BRC1b* estaba ubicado en IL6-2 y *BRC2a* en IL4-1. Por lo tanto, el fragmento sometido a introgresión de *Solanum pennellii* contiene el gen *SpBRC1a*. Para estas plantas IL3-5, no se ha mencionado hasta la fecha ni fenotipo "sin ramas" ni la expresión de *SpBRC1a*.

De forma interesante, como se muestra en la Figura 4, las líneas IL3-5, que portan una región genómica que comprende un gen *SpBRC1a*, expresaban este gen, *SpBRC1a*, a niveles cuatro veces mayores de lo que se expresa *SIBRC1a* en plantas de control M82 y presentan dominancia apical más fuerte que plantas M82. Estos resultados demuestran que la introgresión de genes *SpBRC1a* silvestres expresados en líneas de tomate de producción genera plantas con arquitectura mejorada y ramificación de brotes laterales reducida (Figuras 4 y 5).

**Ejemplo 3. *SpBRC1a* es responsable de la fuerte dominancia apical de plantas de la línea de introgresión IL3-5 y también de plantas transgénicas de *Solanum lycopersicum* para *SpBRC1a*.**

Para confirmar que *SpBRC1a*, contenido en la línea de introgresión IL3-5, es el gen responsable de la fuerte dominancia apical de estas líneas, los inventores provocaron el silenciamiento de *SpBRC1a* generando líneas transgénicas de iARN que portan una secuencia que es idéntica a parte de su secuencia codificante. Los inventores compararon el fenotipo de ramificación de las plantas transgénicas con el de M82 y con las que portan un vector binario vacío. *SpBRC1a* fue responsable de las líneas de iARN de supresión de ramas que tiene un número similar de ramas que las plantas M82.

### 3.1. *SpBRC1a* y la fuerte dominancia apical de plantas de la línea de introgresión IL3-5.

#### 3.1.1. Construcciones CaMV35S:iARN

Se clonó un producto de PCR específico de *BRC1a* (225 pb) en el vector pHANNIBAL (CSIRO) usando los sitios de restricción BamHI/Clal y XhoI/KpnI para la primera y la segunda clonación, respectivamente. los cebadores usados fueron A y B:

A: 5'GGGGCTCGAGGGATCCTGGCTACTCACAAAGTCAAATCAGCG 3' (SEQ ID NO: 17).  
B: 5'GGGGGTACCATCGATAACAACCTGGATGAATTATTGCCCTACG 3' (SEQ ID NO: 18).

Los casetes pHANNIBAL se digirieron con NotI y se subclonaron en el sitio NotI de Bluescript SK+. El casete después se digirió con SacI/SmaI y se clonó en el MCS del vector binario pBIN19. Para los controles, los inventores usaron un vector pBIN19 vacío.

#### 3.1.2. Generación de plantas transgénicas de tomate IL3-5 que comprenden las construcciones de iARN.

Los vectores binarios se transformaron en *Agrobacterium tumefaciens* cepa LBA4404. Para generar plantas de tomate transgénicas estables, los inventores usaron la línea de introgresión de *Solanum pennellii* IL3-5 en el fondo de *S. lycopersicum* frente a M-82 (LA4060). Los inventores transformaron los cotiledones de acuerdo con (Ellul et al. 2003. Theor Appl Genet, 106: 231-238). Los brotes regenerados a partir de cayos cultivados en canamicina se transfirieron a medio inductor de raíces no selectivo y se confirmaron para la integración del transgén por PCR usando los cebadores Agri51 y PDK\_Hannibal\_51.

Agri51: 5'CAACCACGTCTTCAAAGCAA 3' (SEQ ID NO: 19).  
PDK\_Hannibal\_51: 5'ATCTTCTTCGTCTTACACATCACTTG 3' (SEQ ID NO: 20).

Los niveles de expresión del transgén se cuantificaron por Q-PCR a tiempo real en el ARN de las hojas. El nivel de ploidía de los transformantes se analizó en tejido foliar, usando tejido de tipo silvestre como referencia diploide. Los núcleos se aislaron de acuerdo con (Galbraith et al. 1983. Science, 220: 1049-1051). Se realizaron análisis de citometría usando un citómetro de flujo Beckman Coulter EPICS XL-MCL. Las longitudes de las ramas se midieron en mm inmediatamente después de la antesis de la primera flor.

### 3.2. Plantas transgénicas de *Solanum lycopersicum* para *SpBRC1a* muestran fenotipo sin ramas.

Además, para confirmar que *SpBRC1a* contribuye a promover una dominancia apical más fuerte que la de las plantas de control, los inventores generaron líneas transgénicas que portan la secuencia genómica de *SpBRC1a*; SEQ ID NO: 5. Los inventores compararon el fenotipo de ramificación de las plantas transgénicas con el de las plantas de control M82 y con aquellas que portan un vector binario vacío. Los inventores observaron que las plantas transgénicas tienen menor cantidad de ramas que las plantas M82.

Se clonó *SpBRC1a* en el vector pBIN19 bajo el control de los promotores de *SpBRC1a*. Los vectores binarios se transformaron en *Agrobacterium tumefaciens* cepa LBA4404 y se generaron plantas transgénicas de *S. lycopersicum* frente a M-82 después de la regeneración.

## Procedimientos experimentales

### Material vegetal

Se obtuvieron reservas de semillas de tomate del Tomato Genetics Resource Centre (TGRC) de la University of California Davis o las proporcionó amablemente R. Fernández Muñoz (Estación Experimental La Mayora, Murcia, España). Números de acceso: Moneymaker (MM), LA2706; *Solanum pennellii*, LA0716; *Solanum pimpinellifolium*, PE-2; *Solanum habrochaites*, LA1777; *Solanum galapagense*, LA0317; *Solanum arcanum*, PE-30; *Solanum lycopersicum*, LA2706; *Solanum habrochaites glabratum*, PI 126449; *Solanum huaylasense*, LA2561; *Solanum chilense* (1969), LA1969; *Solanum peruvianum*, LA0098; *Solanum chmielewskii*, LA1028; *Solanum corneliomulleri*, LA0366; líneas de introgresión de *Solanum pennellii* en el fondo de *S. lycopersicum* frente a M-82, IL3-5, LA4047; LA4060. Se obtuvieron alelos mutantes puntuales *TILLING Slbrc1a* de la población de tomate M82 mutagenizada con EMS y una población Red Setter mutagenizada con EMS. Las semillas se germinaron en el suelo y se

trasplantaron a macetas de 1,5 l y se cultivaron en cámaras a 21 °C, fotoperiodo largo (16 h de luz, 8 horas de oscuridad), PAR 90 mmol m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>.

#### Identificación y aislamiento de genes de tipo-*BRC1* de tomate

5 Los inventores realizaron búsquedas BLAST en el sitio TIGR Solanaceae Genomics Resource ([http://jcv.org/potato/sol\\_ma\\_blast.shtml](http://jcv.org/potato/sol_ma_blast.shtml)), TIGR Plant Transcript Assemblies Database (<http://plantta.jcv.org/>) y el sitio web SOL Genomics Network Tomato Gene Index (<http://solgenomics.net/>) usando el dominio TCP de *AtBRC1*. Para obtener ADNc de longitud completa, se extrajo el ARN de yemas axilares diseccionadas con el método de guanidina-HCl. Se sintetizó el ADNc y se aislaron los ADNc de longitud completa usando los cebadores indicados en la Tabla S2.

#### Mapas cromosómicos de los genes de tipo CYC/TB1

15 Se amplificaron los fragmentos genómicos de *BRC1a*, *BRC1b* y *BRC2a* de *L. pennellii* y se secuenciaron para encontrar marcadores basados en PCR. El mapeo se hizo en una población de introgresión de *L. pennellii* (Eshed y Zamir 1995. *Genetics*, 141: 1147-1162) usando combinaciones de cebadores TCP1-F2 (5' CCTCATAAAAGGGAATCAAGGGA 3', SEQ ID NO: 13)/Le3 (5' ATTGAGAATGACTTGAAAGATAAAGATGAG 3'; SEQ ID NO: 14) y la enzima de restricción Csp6I para detectar CAPS para *BRC1a* y TCP3-F2 (5' CCTCATAAAAGGGAATCAAGGGA 3'; SEQ ID NO: 15)/TCP3-R2 (5' TATTGAAAAATCGCGCACGTA 3'; SEQ ID NO: 16) y BspHI para *BRC2a*. Se detectó un polimorfismo de longitud de fragmento de PCR para *BRC1b* usando los cebadores TCP2-F2/LeTCP2 cDNA-R. *BRC1a* estaba ubicado en IL3-5, *BRC1b* en IL6-2 y *BRC2a* en IL4-1.

#### Análisis fenotípico

25 Se midieron las longitudes de las ramas en mm inmediatamente después de la antesis de la primera flor.

#### PCR a tiempo real

30 Se recogió tejido vegetal y se aisló el ARN con el método de guanidina-HCl. Cada réplica biológica provenía de yemas axilares diseccionadas individualmente (yemas Ax) de los nodos 1-2, 3-4, 5-6 y 7-8 de 12-15 individuos. Para los otros tejidos (semilla, tallo, hoja, órganos florales) cada réplica contenía material de 7-9 individuos. Se eliminaron las trazas de ADN con TURBO DNA-free® (Ambion). Se usaron dos µg de ARN para preparar ADNc con el kit High-Capacity cDNA Archive (Applied Biosystems). Se realizó PCR cuantitativa con SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems) y el sistema de PCR a tiempo real Applied Biosystems 7500, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los cebadores usados están en la Tabla S2. Se analizaron tres réplicas biológicas en cada caso. Los valores Ct se obtuvieron con el software 7500 Systems SDS 1.3.1.21 (Applied Biosystems). Se calcularon los cambios factoriales de expresión relativa como se describe en (Aguilar-Martínez et al. 2007. *Plant Cell*, 19: 458-472). ACTIN8, cuyos niveles de expresión son constantes en todos los tejidos y condiciones analizadas, se usó como normalizador. En todas las figuras el calibrador es la muestra con la expresión más alta.

#### Aislamientos de genes de tipo-*BRC1* de especies de tomate silvestre

45 Se recogió tejido foliar joven en N(l), se molió y se usó para extraer el ADN genómico con el kit DNeasy Plant Mini (QIAGEN). Para amplificar las regiones codificantes de *BRC1a* y de *BRC1b*, los inventores realizaron reacciones de PCR con polimerasa Pwo anidada (ROCHE) de acuerdo con las instrucciones del fabricante usando los cebadores indicados en la Tabla S2.

#### Análisis filogenéticos

50 Se alinearon las secuencias de ADN que codifican el dominio TCP con MUSCLE (v3.7) y parámetros por defecto (Edgar 2004. *Nucleic Acids Res*, 32: 1792-1797). El ensayo del menor modelo evolutivo de sustitución de nucleótidos se hizo con MODELTEST. El modelo de mejor ajuste (selección AIC) fue K81+G+I (parámetro w para distribución gamma = 0,725). La reconstrucción del árbol de máximas probabilidades (ML) con el mejor modelo y 1000 pseudo-réplicas de inicio se ejecutó en PhyML (v3.0 aLRT). La conducción filogenética completa se ejecutó en el servidor web Phylemon. El árbol se representa con TreeDyn (v198.3).

#### LISTADO DE SECUENCIAS

60 <110> Consejo Superior de Investigaciones Científicas  
 <120> SpBRANCHED1a de *Solanum pennellii* y plantas de tomate con ramificación reducida que comprende este gen SpBRANCHED1a heterólogo  
 65 <130> EP2537.2

ES 2 624 280 T3

<160> 20

<170> PatentIn versión 3.5

5 <210> 1  
 <211> 313  
 <212> PRT  
 <213> *Solanum pennellii*

10 <400> 1

```

Met Tyr Pro Ser Ser Asn Asn Ser Pro Asn Ile Ser Ser Ser Ser Ser
1      5      10
Phe Phe His Ile Asn Ile Pro Ser Pro Ser Met Gln Tyr Glu Pro Glu
20     25
Phe Ile Gln Tyr Phe Gln Asp Phe Gln Phe Ile Gln Pro Ser Tyr Asp
35     40     45
Gln Asn Asn Leu Asp Thr Asn Ile Thr Arg Glu Asp Ser Asp Lys Leu
50     55     60
Asp Lys Ile Glu Glu Asp Gln Ser Ile Ile Lys Ser Cys Asn Asn Lys
65     70     75     80
Lys Asp Glu Lys Ser Ser Ser Ser Thr Ser Thr Ile Arg Arg Lys Asn
85     90     95
Asn Lys Arg Thr Thr Ser Gly Ser Ala Gly Val Gly Pro Ser Lys Lys
100    105
Asp Arg His Ser Lys Ile Asn Thr Ala His Gly Pro Arg Asp Arg Arg
115    120    125
Met Arg Leu Ser Leu Glu Ile Ala Arg Lys Phe Phe Asn Leu Gln Asp
130    135    140
Leu Leu Gly Phe Asp Lys Ala Ser Lys Thr Val Glu Trp Leu Leu Thr
145    150    155
Lys Ser Lys Ser Ala Val Asn Asp Leu Val Gln Lys Ile Asn Lys Asp
165    170    175
Lys Cys Ser Gly Ser Thr Asn Pro Asn Ile Ala Thr Val Ser Ser Pro
180    185    190
  
```

ES 2 624 280 T3

Ser Glu Ser Cys Glu Val Ile Ser Gly Val Ile Asp Glu Ser Ala Ala  
 195 200 205  
 Thr Asn Thr Ala Glu Thr His Lys Gln Gln Lys Lys Lys Val Lys Ser  
 210 215 220  
 Ile Arg Arg Ala Ile Phe His Pro Val Val Ala Lys Glu Ser Arg Lys  
 225 230 235 240  
 Glu Ala Arg Ala Arg Ala Arg Glu Arg Thr Ile Ile Lys Lys Ser Leu  
 245 250 255  
 Asn Asp Asn Thr Asn Asn Asn Asn Asn Gly Asp Gln Ser Met Ala Asp  
 260 265 270  
 Glu Asp Leu Thr Arg Ser Leu Gly Ser Trp Asn Thr Thr Phe Glu Asp  
 275 280 285  
 His Gln Ser Ala Thr Gly Ala His Leu Cys Ser Thr Ile Thr Arg Ser  
 290 295 300  
 Ile Leu Lys Phe Leu Lys Ser Ile Asn  
 305 310

- <210> 2
- <211> 349
- 5 <212> PRT
- <213> *Solanum pennellii*
- <400> 2

ES 2 624 280 T3

Met Tyr Pro Ser Ser Asn Asn Ser Pro Asn Ile Ser Ser Ser Ser Ser  
 1 5 10 15

Phe Phe His Ile Asn Ile Pro Ser Pro Ser Met Gln Tyr Glu Pro Glu  
 20 25 30

Phe Ile Gln Tyr Phe Gln Asp Phe Gln Phe Ile Gln Pro Ser Tyr Asp  
 35 40 45

Gln Asn Asn Leu Asp Thr Asn Ile Thr Arg Glu Asp Ser Asp Lys Leu  
 50 55 60

Asp Lys Ile Glu Glu Asp Gln Ser Ile Ile Lys Ser Cys Asn Asn Lys  
 65 70 75 80

Lys Asp Glu Lys Ser Ser Ser Ser Thr Ser Thr Ile Arg Arg Lys Asn  
 85 90 95

Asn Lys Arg Thr Thr Ser Gly Ser Ala Gly Val Gly Pro Ser Lys Lys  
 100 105 110

Asp Arg His Ser Lys Ile Asn Thr Ala His Gly Pro Arg Asp Arg Arg

ES 2 624 280 T3

115 120 125  
 Met Arg Leu Ser Leu Glu Ile Ala Arg Lys Phe Phe Asn Leu Gln Asp  
 130 135 140  
 Leu Leu Gly Phe Asp Lys Ala Ser Lys Thr Val Glu Trp Leu Leu Thr  
 145 150 155 160  
 Lys Ser Lys Ser Ala Val Asn Asp Leu Val Gln Lys Ile Asn Lys Asp  
 165 170 175  
 Lys Cys Ser Gly Ser Thr Asn Pro Asn Ile Ala Thr Val Ser Ser Pro  
 180 185 190  
 Ser Glu Ser Cys Glu Val Ile Ser Gly Val Ile Asp Glu Ser Ala Ala  
 195 200 205  
 Thr Asn Thr Ala Glu Thr His Lys Gln Gln Lys Lys Lys Val Lys Ser  
 210 215 220  
 Ile Arg Arg Ala Ile Phe His Pro Val Val Ala Lys Glu Ser Arg Lys  
 225 230 235 240  
 Glu Ala Arg Ala Arg Ala Arg Glu Arg Thr Ile Ile Lys Lys Ser Leu  
 245 250 255  
 Asn Asp Asn Thr Asn Asn Asn Asn Asn Gly Asp Gln Ser Met Ala Asp  
 260 265 270  
 Glu Asp Leu Thr Arg Ser Leu Gly Ser Trp Asn Thr Thr Phe Glu Asp  
 275 280 285  
 His Gln Ser Gly Ser Gln Gly Tyr Asn Asn Asn Asn Asn Asn Met Asn  
 290 295 300  
 Val Val Asp Asn Phe Asn Leu Val Asp Thr Ser Asn Trp Ser Pro Phe  
 305 310 315 320  
 Met Phe Asn Tyr His Gln Ile Asn Thr Glu Ile Ser Gln Glu His Gln  
 325 330 335  
 Leu Thr Asn Phe Gln Tyr Ser Gly Lys Leu Trp Glu Ala  
 340 345

<210> 3  
 <211> 942  
 <212> ADN  
 <213> *Solanum pennellii*

5

<400> 3

ES 2 624 280 T3

```

atgtaccctt cgagcaataa cagccccaat atttcagct ctccatcttt ttttcacatt      60
aatattccat ctccctctat gcaatatgaa cccgaattca tccaatattt ccaagatttt      120

caattcatcc aacctagtta cpatcagaat aatctcgata ccaatattac tagagaagat      180
tcggacaaac tagataaaat agaagaagat caafcaatca taaaaagctg caataacaag      240
aaggatgaga agagtagtag cagtactagt actattcgta gaaaaaaca caagagaact      300
acgagtggta gtgctgggtg aggaccttcg aagaaagata gacacagcaa aatcaacacg      360
gcacatggcc caagagaccg aagaatgaga ctatcacttg aaattgctcg caaattcttc      420
aatttgcaag acttgcttgg gttcgataaa gccagcaaaa ctgtagaatg gctaccaca      480
aagtcaaaat cagcggtgaa cgaictggtt cagaaaatta acaaagacaa atgcagcggg      540
agtacaaatc ctaatattgc tactgtatca tctccttccg aatcatgtga agttatctct      600
ggagtaatcg acgaatcagc tgcaactaat acagcagaaa ctcacaagca acagaagaaa      660
aaggftaagt cgattcgtag ggcaatattt cctccggtt tgcaaagga atcaaggaaa      720
gaagcaagag ctagggcaag ggaaagaaca ataataaaga aaagcctaaa tgataacacg      780
aataataata ataatgggta tcaatctatg gctgatgagg atttaacaag atcattagga      840
tcttggaaata ctacatttga agatcatcaa tcagcaactg gagccattt atgttcaact      900
atcaccagat caatactgaa atttctcaag agcatcaatt ga                          942

```

- <210> 4
- <211> 1050
- <212> ADN
- <213> *Solanum pennellii*

5

<400> 4

ES 2 624 280 T3

atgtaccctt cgagcaataa cagccccaat atftccagct ctfcaccttt ttttccatt 60  
 aatattccat ctctctctat gcaatagaa cccgaattca tccaatattt ccaagatttt 120  
 caattcatcc aacctagtta cgatcagaat aatctcgata ccaatattac tagagaagat 180  
 tggacaaaac tagataaaat agaagaagat caatcaatca taaaaagctg caataacaag 240  
 aaggatgaga agagtagtag cagtactagt actattcgta gaaaaaaca caagagaact 300  
 acgagtggta gtgctgggtg aggaccttcg aagaaagata gacacagcaa aatcaacacg 360  
 gcacatggcc caagagaccg aagaatgaga ctatcacttg aaattgctcg caatctctc 420  
 aatttgcaag acttgcttgg gtctgataaa gccagcaaaa ctgtagaatg gctactcaca 480  
 aagtcaaaat cagcggtgaa cgatctggtt cagaaaatta acaaagaca atgcagcggf 540  
 agtacaaatc ctaatattgc tactgtatca tctccttccg aatcatgtga agttatctct 600  
 ggagtaatcg acgaatcagc tgcaactaat acagcagaaa ctcacaaagca acagaagaaa 660  
 aaggttaagt cgattcgtag ggcaatattt catcccgttg ttgcaaagga atcaaggaaa 720  
 gaagcaagag ctagggcaag ggaagaaca ataataaaga aaagcctaaa tgataacacg 780  
 aataataata ataatggtga tcaatctatg gctgatgagg atttaacaag atcattagga 840  
 tcttggata ctacatttga agatcatcaa tcaggtagtc aaggctataa taataataat 900  
 aataatatga atgttgttga taactttaat ttggtggata ctagcaactg gagcccattt 960

atgtcaaci atcaccagat caatacigaa attctcaag agcatcaati gacgaactc 1020

cagtattcig ggaagfalg ggaagctaa 1050

- <210> 5
- <211> 1296
- <212> ADN
- <213> *Solanum pennellii*
- <400> 5

ES 2 624 280 T3

```

atgtaccctt cgagcaataa cagccccaat atttccagct ctccatcttt ttttcacatt      60
aatattccat ctccctctat gcaatatgaa cccgaattca tccaatattt ccaagatttt      120
caattcatcc aacctagtta cgaicagaat aatctcgata ccaatattac tagagaagat      180
tcggacaaac tagataaaat agaagaagat caatcaatca taaaaagctg caataacaag      240
aaggatgaga agagtagtag cagtactagt actatfcgta gaaaaaacia caagagaact      300
acgagtggtg gtgctgggtg aggaccttcg aagaaagata gacacagcaa aatcaacacg      360
gcacatggcc caagagaccg aagaatgaga ctatcacttg aaattgctcg caaattcttc      420
aatftgcaag acttgcttgg gttcgataaa gccagcaaaa ctgtagaatg gctactcaca      480
aagtcaaaat cagcggtgaa cgatctggtt cagaaaatta acaaaagaaa atgcagcggg      540
agtacaaatc ctaaatattg tactgtatca tctccttcg aatcatgtga agttatctct      600
ggagtaatcg acgaatcagc tgcaactaat acagcagaaa ctcaaaagca acagaagaaa      660
aagggttaagt cgattcgtag ggcaatattt catcccgttg ttgcaaagga atcaaggaaa      720
gaagcaagag ctaggggcaag ggaagaaca ataataaaga aaagcctaaa tgataacacg      780
aataataata ataatgggtg tcaatctatg gctgatgagg atttaacaag atcattagga      840
tcttggaata ctacatttga agatcatcaa tcaggtagtc aaggctataa taataataat      900
aataaatatg atgttggtg taactttaat ttggtggata ctagcaactg gagcccattt      960
atgttcaact atcaccagat caatactgaa attctcaag aggtatgaat taatttaatt     1020
agtgaattgt ttttttaatt attattaatc cgatcgcaaa gtatttattt gtattttttc     1080
tgttgcagca tcaattgacg aacttcagt attctgggaa gttatgggaa gcttaattag     1140
ggcaaggaag ttcttggtg tttagtgcaa cticagaaga aggcctattg gtcatggttg     1200
taatgtaaaa tgaatttgtc tattttatta ttatgtgtat tccatgaaaa aacaacttgt     1260
atftttctta taaataagct catctttatc tttcaa                                  1296

```

<210> 6

<211> 1723

5 <212> ADN

<213> *Solanum lycopersicum*

<400> 6

```

agtctgaacc cctttcacct caactgiggg aagcaggaag aattcaccaa aactttaata      60
acataftcag taaaaatttt tataatgrgt ctaagaaaag taaaatgtac gtagaattta      120
tcctgcctcg taaaaataaa gattgtatct aaaaaaaccc tcgactcaaa taatacatat      180

```

10

ES 2 624 280 T3

taacaaaatt acaaaattaac tatcaactcaa ceccaataaff tacttcaagt tgfttagggat 240  
 cacttaaggg cctttctttt fetctctttt tttttttttt ttggagaaga tgaagggtgaa 300  
 agagatgggtg gatgatggag ctaggaaaga ggagattgaa gggatatttt tttgtcaaag 360  
 tatgtgtcag ttgctatcac gtgaacttga aactaagggg caccattaga gaagacttta 420  
 gctataatat acattcattt ctataaaaaa aaatcacmac ataaacatgc ccttttttaa 480  
 cttagcttta atatatcttt taaatttgat taigcagaaa tagatattta aatttatata 540  
 aaatttaaaa agtctatcta acaatgttgt gtctacata tattatactt ggtatgatat 600  
 atatgtgtta ctgtttraat tttatataaa tttaaatatt tatttatgca aattcaaaaat 660  
 taagagatat aaatatcaag ctaaaatgaa gtccaatgaa atafatataf ataattatgc 720  
 caafataaaa tcagtgtaac tatacaacaa gtactatagt gtccctcca ctcttttttt 780  
 ctcaaattec ctttcatact ttaaactccc acatgagcta gctagagaag tctttttttt 840  
 ttttaagat tctgkggtgt facatcaatt taaacataff ttgactaatt tcatagaata 900  
 tttatcatct cttattaata acatgtgtca tattcataaa tgaatagaaa ttactaata 960  
 cagtagtact ycttttaatt tttttctaaf aaaatttaaa cgtgaaacct catgattcct 1020  
 aattatccac ttcagtaacc atfgactcac acfaacctt tgggtcaagc gaagccttct 1080  
 ttatctttat agcagatagg ggtcctttga aaagatggaa gtacaattac acctctcttt 1140  
 gtccctttgc aggtaafaac ataacatgac tttctttfat ctccatcttt ctttctttgt 1200  
 caacaagaac atacaccacc atgaatgtct ctcccattag ctaatatatt ccagctaaet 1260  
 agcttaaaara tatagtgtca atacytgcac gaacacaaaa atagccacta atatacact 1320  
 ataectaget attattatta tttatataat taagcacwra craagcaaca tacatgtaa 1380  
 gccacatatt tttaatcacc tgtctttctc aaccaaaaaag ctatattatc atcattatat 1440  
 tgaaaaaaaa attaaaaata accacatafc ctttcccact ttctctatgt gctatctttg 1500  
 tattcaaaat ttatatafcc aagagaatta tgaagagtct ctctcaaaaa aagttttaat 1560  
 taatttataa ccttttcttt tttctacttt ttgtttgatg cagctaggta gctagattat 1620  
 taaaagtgtc aaactgaaga agctgatgtt tttgtttatt tcaacttcaa tacaagtgtg 1680  
 ctaggttgtc cttatcaacc agtttctttt tttttttta aag 1723

<210> 7

<211> 665

5

<212> ADN

<213> *Solanum lycopersicum*

<400> 7

ES 2 624 280 T3

```

tcacaigaag gggcagata acaagttggt cgtatccate cttcacttc caacaatacc      60
gtacgyfacc actacctggt tccctctat ccccagctt tgtcaaaact cctttcctt      120
tccaattact tttctttaa tagagatgtt tgtttcctt tccctccc ccatattctt      180
ccctctctt tttatctctt tttcacaata gtagcaccat gectgtagct ttgatgetta      240
gacggggcga cgcgcacgcg cactcacaca actagaatag aatcaacttc tctatatatt      300

catagttatc aaaactactt atcatatacc aaaaaaaccc actgtcattc tcaagcaaat      360
aatatttttt ttaaaaaaga agaactacat atatatatat agtactacta ctattttcat      420
catcactttg gtcaatccat acagttctaa gtagtcattg ctccctctgt caaattaactg      480
tatcacgtac attgaaactag ctaggggaaa attaactctac taactctaat ttgrrttgrrt      540
aattctcttc ttattgcagc tagatttgcg taattagcag aaaaaccaaa agctgtgttc      600
atactgtctt tctcaagatc tagaccaccc atatagaccg cctcaactac agctactcca      660
caaga.                                     665

```

5 <210> 8  
 <211> 325  
 <212> PRT  
 <213> *Solanum lycopersicum*  
  
 <400> 8

ES 2 624 280 T3

Met Tyr Pro Ser Ser Asn Tyr Ser Pro Asn Ile Ser Ser Ser Ser Ser  
 1 5 10 15

Phe Phe His Ile Asn Ile Pro Ser Pro Ser Met Gln Tyr Glu Pro Glu  
 20 25 30

Phe Ile Gln Tyr Phe His Asp Phe Gln Phe Ile Gln Pro Ser Tyr Asp  
 35 40 45

Gln Asn Thr Asn Ile Pro Ala Glu Glu Ala Ala Asp Ser Asp Lys Leu  
 50 55 60

Asp Lys Ile Glu Glu Asp Gln Ser Ile Ile Lys Ser Cys Asn Asn Asn  
 65 70 75 80

Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ser Ser Ser Thr Ser Thr Ile Arg Arg Lys  
 85 90 95

Asn Asn Lys Arg Thr Thr Ser Gly Ser Ala Gly Val Gly Pro Ser Lys  
 100 105 110

Lys Asp Arg His Ser Lys Ile Asn Thr Ala His Gly Pro Arg Asp Arg  
 115 120 125

Arg Met Arg Leu Ser Leu Glu Ile Ala Arg Lys Phe Phe Asn Leu Gln  
 130 135 140

Asp Leu Leu Gly Phe Asp Lys Ala Ser Lys Thr Val Glu Trp Leu Leu  
 145 150 155 160

Thr Lys Ser Lys Ser Ala Val Asn Asp Leu Val Gln Lys Ile Asn Lys  
 165 170 175

Asp Lys Cys Ser Gly Ser Glu Asn Pro Asn Ile Ala Thr Val Ser Ser

ES 2 624 280 T3

```

                180                185                190
Pro Ser Ala Glu Ser Cys Glu Val Ile Asp Glu Ser Ala Ala Thr Asn
   195                200                205
Thr Ala Glu Thr Gln Lys Gln Gln Lys Lys Lys Val Lys Ser Ile Arg
   210                215                220
Arg Ala Ile Ile His Pro Val Val Ala Lys Glu Ser Arg Lys Glu Ala
   225                230                235
Arg Ala Arg Ala Arg Glu Arg Thr Ile Ile Lys Lys Ser Leu Asn Asp
   245                250                255
Asn Thr Asn Asn Asn Asn Asn Gly Asp Gln Ser Met Ala Asp Glu Asp
   260                265                270
Leu Thr Arg Ser Leu Arg Ser Trp Asn Thr Thr Phe Glu Asp His Gln
   275                280                285
Ser Ala Ile Gly Ala His Leu Cys Ser Thr Ile Thr Lys Ser Ile Leu
   290                295                300
Lys Phe Leu Lys Ser Ile Asn Leu Arg Thr Ser Ser Ile Leu Gly Ser
   305                310                315                320
Tyr Gly Lys Leu Asn
                325

```

- <210> 9
- <211> 300
- <212> PRT
- <213> *Solanum tuberosum*
- <400> 9

5

ES 2 624 280 T3

Met Tyr Pro Ser Ser Pro Asn Ile Ser Ser Ser Ser Ser Phe Phe His  
1 5 10 15  
Ile Asn Ile Pro Ser Pro Ser Met Gln Tyr Glu Pro Glu Phe Ile Gln  
20 25 30  
Tyr Phe His Asp Phe Gln Phe Ile Gln Pro Ala Ala Tyr Asp Gln Asn  
35 40 45  
Asn Leu Asp Thr Asn Ile Thr Ala Glu Glu Gly Asp His Lys Met Glu  
50 55 60  
Glu Asp Glu Leu Ile Met Lys Ser Cys Lys Asn Lys Lys Asp Glu Ser  
65 70 75 80  
Thr Ser Thr Thr Thr Thr Ile Arg Arg Lys Asn Asn Lys Arg Thr Thr  
85 90 95

ES 2 624 280 T3

Ser Gly Thr Gly Val Gly Pro Ser Lys Lys Asp Arg His Ser Lys Ile  
 100 105 110

Asn Thr Ala His Gly Pro Arg Asp Arg Arg Met Arg Leu Ser Leu Glu  
 115 120 125

Ile Ala Arg Lys Phe Phe Asn Leu Gln Asp Leu Leu Gly Phe Asp Lys  
 130 135 140

Ala Ser Lys Thr Val Glu Trp Leu Leu Thr Lys Ser Lys Ser Ala Val  
 145 150 155 160

Asn Asp Leu Val Gln Lys Ile Ser Lys Gly Lys Cys Ser Ala Ser Thr  
 165 170 175

Asn Pro Asn Ile Gly Val Val Ser Ser Pro Ser Glu Ser Cys Glu Val  
 180 185 190

Ile Ser Gly Val Ile Asp Glu Ser Ala Ala Thr Asn Asn Thr His Lys  
 195 200 205

Gln Gln Lys Lys Lys Lys Ser Ile Arg Arg Ala Ile Phe His Pro Val  
 210 215 220

Val Ala Lys Glu Ser Arg Thr Glu Ala Arg Ala Arg Ala Arg Glu Arg  
 225 230 235 240

Thr Lys Ile Lys Lys Ser Leu Asn Asn Asn Asn Gly Asp Gln Ser Met  
 245 250 255

Ala Pro Asp Glu Asp Leu Thr Arg Ser Leu Gly Ser Trp Ser Thr Thr  
 260 265 270

Phe Glu Asp His Gln Ser Ala Ile Gly Ala His Leu Cys Ser Thr Ile  
 275 280 285

Thr Lys Ser Ile Leu Lys Phe Leu Arg Ser Ile Asn  
 290 295 300

<210> 10  
 <211> 346  
 <212> PRT  
 <213> *Solanum lycopersicum*

5

<400> 10

Met Tyr Pro Ser Ser Asn Tyr Ser Pro Asn Ile Ser Ser Ser Ser Ser  
 1 5 10 15

Phe Phe His Ile Asn Ile Pro Ser Pro Ser Met Gln Tyr Glu Pro Glu  
 20 25 30

10

ES 2 624 280 T3

Phe Ile Gln Tyr Phe His Asp Phe Gln Phe Ile Gln Pro Ser Tyr Asp  
 35 40 45  
 Gln Asn Thr Asn Ile Pro Ala Glu Glu Ala Ala Asp Ser Asp Lys Leu  
 50 55 60  
 Asp Lys Ile Glu Glu Asp Gln Ser Ile Ile Lys Ser Cys Asn Asn Asn  
 65 70 75 80  
 Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ser Ser Ser Thr Ser Thr Ile Arg Arg Lys  
 85 90 95  
 Asn Asn Lys Arg Thr Thr Ser Gly Ser Ala Gly Val Gly Pro Ser Lys  
 100 105 110  
 Lys Asp Arg His Ser Lys Ile Asn Thr Ala His Gly Pro Arg Asp Arg  
 115 120 125  
 Arg Met Arg Leu Ser Leu Glu Ile Ala Arg Lys Phe Phe Asn Leu Gln  
 130 135 140  
 Asp Leu Leu Gly Phe Asp Lys Ala Ser Lys Thr Val Glu Trp Leu Leu  
 145 150 155 160  
 Thr Lys Ser Lys Ser Ala Val Asn Asp Leu Val Gln Lys Ile Asn Lys  
 165 170 175  
 Asp Lys Cys Ser Gly Ser Glu Asn Pro Asn Ile Ala Thr Val Ser Ser  
 180 185 190  
 Pro Ser Ala Glu Ser Cys Glu Val Ile Asp Glu Ser Ala Ala Thr Asn  
 195 200 205  
 Thr Ala Glu Thr Gln Lys Gln Gln Lys Lys Lys Val Lys Ser Ile Arg  
 210 215 220  
 Arg Ala Ile Ile His Pro Val Val Ala Lys Glu Ser Arg Lys Glu Ala  
 225 230 235 240  
 Arg Ala Arg Ala Arg Glu Arg Thr Ile Ile Lys Lys Ser Leu Asn Asp  
 245 250 255  
 Asn Thr Asn Asn Asn Asn Asn Gly Asp Gln Ser Met Ala Asp Glu Asp  
 260 265 270  
 Leu Thr Arg Ser Leu Arg Ser Trp Asn Thr Thr Phe Glu Asp His Gln  
 275 280 285  
 Ser Gly Ile Gln Gly Tyr Asn Asn Asn Asn Asn Met Asn Val Val Asp  
 290 295 300

ES 2 624 280 T3

Asn Phe Asn Leu Val Asp Thr Ser Asn Trp Ser Pro Phe Met Phe Asn  
 305 310 315 320  
 Tyr His Gln Ile Asn Thr Glu Ile Ser Gln Glu His Gln Phe Ala Asn  
 325 330 335  
 Phe Gln Tyr Ser Gly Lys Leu Trp Glu Ala  
 340 345

<210> 11  
 <211> 336  
 5 <212> PRT  
 <213> *Solanum tuberosum*  
 <400> 11

Met Tyr Pro Ser Ser Pro Asn Ile Ser Ser Ser Ser Ser Phe Phe His  
 1 5 10 15  
 Ile Asn Ile Pro Ser Pro Ser Met Gln Tyr Glu Pro Glu Phe Ile Gln  
 20 25 30  
 Tyr Phe His Asp Phe Gln Phe Ile Gln Pro Ala Ala Tyr Asp Gln Asn  
 35 40 45  
 Asn Leu Asp Thr Asn Ile Thr Ala Glu Glu Gly Asp His Lys Met Glu  
 50 55 60  
 Glu Asp Glu Leu Ile Met Lys Ser Cys Lys Asn Lys Lys Asp Glu Ser  
 65 70 75 80  
 Thr Ser Thr Thr Thr Thr Ile Arg Arg Lys Asn Asn Lys Arg Thr Thr  
 85 90 95  
 Ser Gly Thr Gly Val Gly Pro Ser Lys Lys Asp Arg His Ser Lys Ile  
 100 105 110  
 Asn Thr Ala His Gly Pro Arg Asp Arg Arg Met Arg Leu Ser Leu Glu  
 115 120 125  
 Ile Ala Arg Lys Phe Phe Asn Leu Gln Asp Leu Leu Gly Phe Asp Lys  
 130 135 140  
 Ala Ser Lys Thr Val Glu Trp Leu Leu Thr Lys Ser Lys Ser Ala Val  
 145 150 155 160  
 Asn Asp Leu Val Gln Lys Ile Ser Lys Gly Lys Cys Ser Ala Ser Thr  
 165 170 175  
 Asn Pro Asn Ile Gly Val Val Ser Ser Pro Ser Glu Ser Cys Glu Val  
 180 185 190

10

ES 2 624 280 T3

Ile Ser Gly Val Ile Asp Glu Ser Ala Ala Thr Asn Asn Thr His Lys  
 195 200 205

Gln Gln Lys Lys Lys Lys Ser Ile Arg Arg Ala Ile Phe His Pro Val  
 210 215 220

Val Ala Lys Glu Ser Arg Thr Glu Ala Arg Ala Arg Ala Arg Glu Arg  
 225 230 235 240

Thr Lys Ile Lys Lys Ser Leu Asn Asn Asn Asn Gly Asp Gln Ser Met  
 245 250 255

Ala Pro Asp Glu Asp Leu Thr Arg Ser Leu Gly Ser Trp Ser Thr Thr  
 260 265 270

Phe Glu Asp His Gln Ser Gly Ile Gln Ala Tyr Asn Asn Thr Asn Asn  
 275 280 285

Ile Met Asn Ala Val Asp Asn Phe Asn Leu Val Asp Thr Ser Asn Trp  
 290 295 300

Ser Pro Phe Met Phe Asn Tyr His Gln Ile Asn Thr Glu Ile Ser Gln  
 305 310 315 320

Glu His Gln Leu Thr Asn Phe Gln Tyr Pro Gly Lys Leu Trp Glu Ala  
 325 330 335

<210> 12  
 <211> 362  
 <212> PRT  
 <213> *Solanum pennellii*

5

<400> 12

Met Tyr Pro Pro Ser Asn Asn Asn Cys Asn Tyr Ser Pro Ile Leu Ser  
 1 5 10 15

Ser Leu Ile Cys Gln Asn Ile Pro Ser Ser Pro Cys Met Gln Tyr Glu  
 20 25 30

His Glu Leu Tyr Phe Gln Ser Phe Asn His Asp Asp Gln Tyr Tyr Phe  
 35 40 45

Gln Gln Gln Gln Leu Val Pro Leu Ile Asp Asp Leu Ser Pro His Ile  
 50 55 60

Leu Ala Asp Ser Cys Ile Glu Thr Ile Thr Lys Pro Ser Asn Cys Asn  
 65 70 75 80

His Val Leu Glu Gly Met Glu Glu Gly Arg Gly Glu Lys Lys Gly Asp  
 85 90 95

Asp Asp Val Arg Ser Ser Arg Ile Ser Ile Ser Lys Asn Asn Lys Arg

10

ES 2 624 280 T3

100 105 110  
 Ser Ser Lys Lys Asp Arg His Ser Lys Ile Asn Thr Ala Arg Gly Pro  
 115 120 125  
 Arg Asp Arg Arg Met Arg Leu Ser Leu Asp Ala Ala Arg Lys Phe Phe  
 130 135 140  
 Arg Leu Gln Asp Leu Leu Gly Phe Asp Lys Ala Ser Lys Thr Val Glu  
 145 150 155 160  
 Trp Leu Leu Thr Gln Ser Asp Ser Ala Ile Glu Glu Leu Val Ala Ala  
 165 170 175  
 Lys Gly Asn Asp Ala Gln Val Ala Gln Gln Thr Ser Cys Asn Thr Pro  
 180 185 190  
 Thr Thr Thr Thr Gly Ile Gly Ala Ile Cys Ala Ser Asn Ser Ile Ser  
 195 200 205  
 Glu Ser Cys Glu Val Ile Ser Gly Thr Asp Glu Thr Ser Ser Asn Asp  
 210 215 220  
 Lys Asn Lys Glu Thr Ala Gln Asp Glu Lys Lys Lys Arg Lys Lys Val  
 225 230 235 240  
 Val Asn Ala Ala Arg Arg Ala Val Leu Glu Pro Leu Thr Lys Glu Ser  
 245 250 255  
 Arg Asn Gln Ala Arg Ala Arg Ala Arg Glu Arg Thr Lys Ser Lys Lys  
 260 265 270  
 Met Ser Gln Thr Gly Lys Ser Lys Ala Pro Ala Asn Asp Leu Asn Pro  
 275 280 285  
 Ser Gly Ser Arg Arg Pro Ala Asn Lys Thr Cys Glu Glu Ala Gly Thr  
 290 295 300  
 His Glu Glu Leu Asn Phe His Gln Glu Lys Asn Ser Val Asp Asp Cys  
 305 310 315 320  
 Asn Phe Met Val Asn Gly Asn Trp Asn Pro Phe Thr Ile Phe Ser Tyr  
 325 330 335  
 His Glu Gln Tyr Ala Gly Ile Ser Asn Glu His Gln Leu Val Thr Asp  
 340 345 350  
 Leu Gln Phe Cys Gly Lys Leu Trp Glu Gly  
 355 360

<210> 13

<211> 23

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

## ES 2 624 280 T3

<220>  
<223> Cebador directo TCP3-F2 de SIBRC2a de *Solanum lycopersicum*

5 <400> 13  
cctcataaaa gggatcaag gga 23

<210> 14  
<211> 30  
10 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Cebador inverso Le3 de SIBRC1a de *Solanum lycopersicum*

15 <400> 14  
attgagaatg actgaaaga taaagatgag 30

<210> 15  
<211> 23  
20 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Cebador directo TCP3-F2 de SIBRC2a de *Solanum lycopersicum*

25 <400> 15  
cctcataaaa gggatcaag gga 23

30 <210> 16  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

35 <220>  
<223> Cebador inverso TCP3-R2 de SIBRC2a de *Solanum lycopersicum*

40 <400> 16  
tattgaaaaa tcg'gcacgt a 21

<210> 17  
<211> 43  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

45 <220>  
<223> Cebador directo A

50 <400> 17  
ggggctcgag ggatcctggc tactcaciaa gtcaaatca gcg 43

<210> 18  
<211> 43  
<212> ADN  
55 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Cebador inverso B

60 <400> 18  
gggggtacc atcgataaca actggatgaa ttattgcct acg 43

<210> 19  
<211> 20  
65 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

ES 2 624 280 T3

<220>

<223> Cebador directo Agri51

5

<400> 19

caaccacgtc ttcaaagcaa 20

<210> 20

<211> 26

10

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador inverso PDK\_Hannibal\_51

15

<400> 20

atcttctcg tcttacacat cacttg 26

**REIVINDICACIONES**

1. Un polinucleótido aislado, que codifica un polipéptido que comprende:
  - 5 a. una secuencia de aminoácidos de *Solanum pennellii* que es al menos un 95 % idéntica sobre la longitud completa de la SEQ ID NO: 1 o de la SEQ ID NO: 2, o
  - b. la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 o de la SEQ ID NO: 2 de *Solanum pennellii*.
- 10 2. Un polinucleótido aislado, que codifica un polipéptido que consiste en:
  - a. una secuencia de aminoácidos de *Solanum pennellii* que es al menos un 95 % idéntica sobre la longitud completa de la SEQ ID NO: 1 o de la SEQ ID NO: 2, o
  - b. la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 o de la SEQ ID NO: 2 de *Solanum pennellii*.
- 15 3. El polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dicho polinucleótido es
  - a. la SEQ ID NO: 3 que codifica la SEQ ID NO: 1, o
  - b. la SEQ ID NO: 4 que codifica la SEQ ID NO: 2.
- 20 4. El polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dicho polinucleótido es la secuencia genómica SEQ ID NO: 5.
5. El polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, unido operativamente a cualquier secuencia reguladora que controla la expresión de dicho polinucleótido, preferiblemente la secuencia reguladora es la SEQ ID NO: 6, la SEQ ID NO: 7 o CaMV35S.
- 25 6. Un producto de expresión del polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
7. Un vector de expresión que comprende el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
- 30 8. Una célula hospedadora que tiene el vector de expresión que comprende el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en la que si la célula hospedadora es una célula vegetal, dicha célula vegetal no es una célula de *Solanum pennellii*.
- 35 9. Un uso del vector de expresión de acuerdo con la reivindicación 7, o la célula hospedadora de acuerdo con la reivindicación 8, para producir una planta de tomate o un germoplasma de la misma, pero no una planta de *Solanum pennellii* o germoplasma de la misma, que tiene menos brotes axilares y/o más cortos que una planta control.
- 40 10. El uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la planta de tomate producida, o el germoplasma de la misma, se clasifica como la especie *Solanum lycopersicum*.
- 45 11. Una planta de tomate, pero no de la especie *Solanum pennellii*, que tiene el vector de expresión que comprende el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5; o que comprende la célula hospedadora de acuerdo con la reivindicación 8, en la que dicha planta tiene menos brotes axilares y/o más cortos que una planta control.
12. La planta de tomate de acuerdo con la reivindicación 11, en la que dicha planta de tomate es una planta *Solanum lycopersicum*.
- 50 13. La planta de tomate de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 o 12, en la que la expresión del polinucleótido es mayor que la expresión del gen nativo homólogo *BRC1a*.
14. Un germoplasma de la planta de tomate de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, preferiblemente el germoplasma es una semilla o polen.
- 55 15. Un método para producir plantas de tomate que tienen menos brotes axilares y/o más cortos que una planta control, que comprende:
  - 60 a. transformar al menos una célula vegetal de tomate con el vector de expresión que comprende el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, y
  - b. cultivar la célula vegetal obtenida en la etapa (a) en un medio adecuado para producir al menos una planta que expresa el polinucleótido heterólogo.
- 65 16. El método de acuerdo con la reivindicación 15, en el que la planta de tomate es una planta *Solanum lycopersicum*.

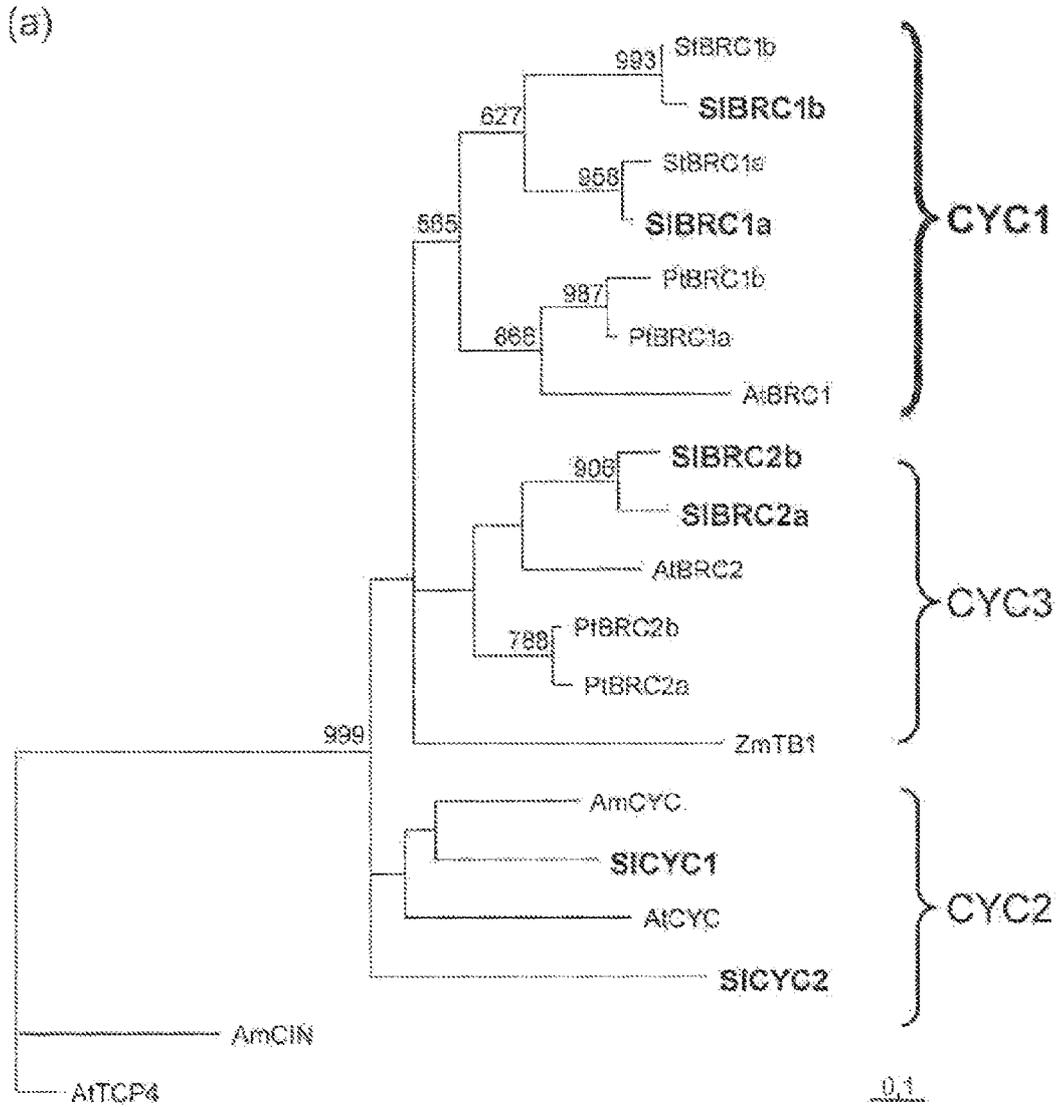


FIG. 1a

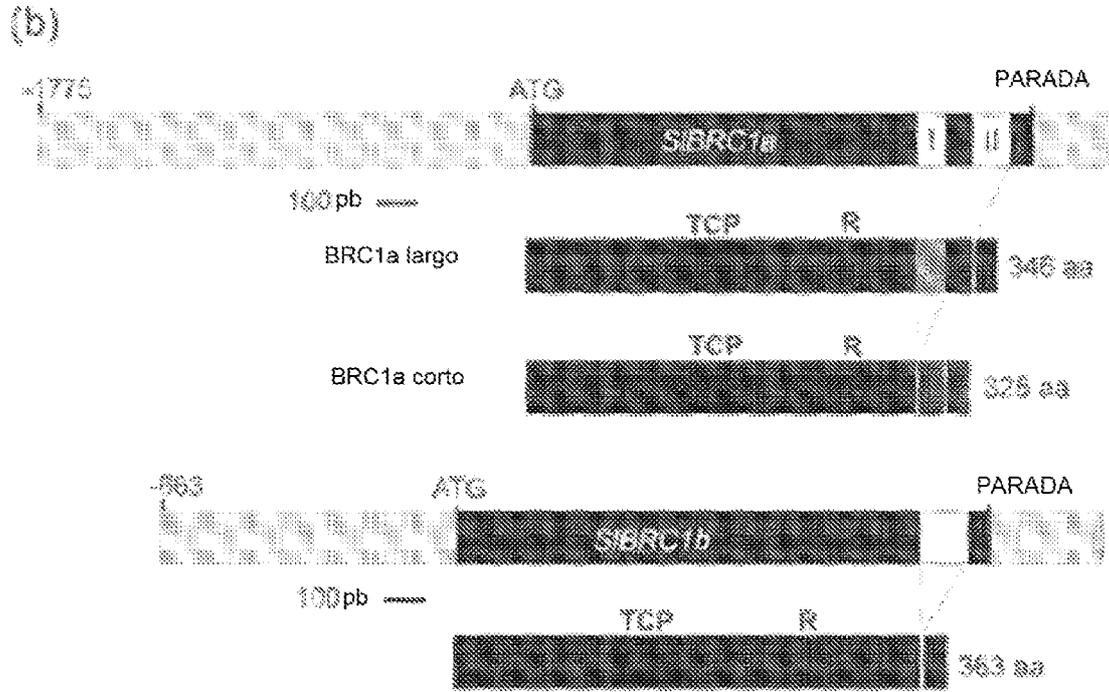


FIG. 1b (Cont.)

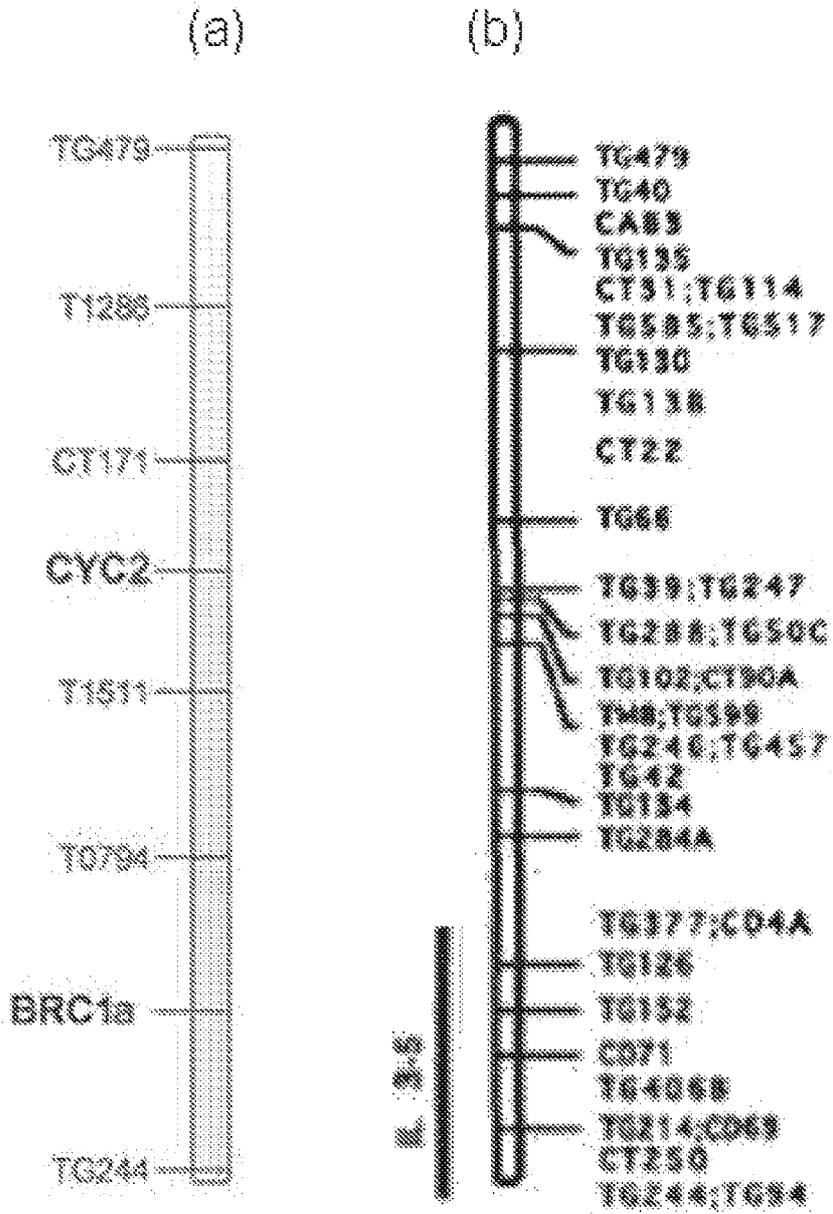


FIG. 2



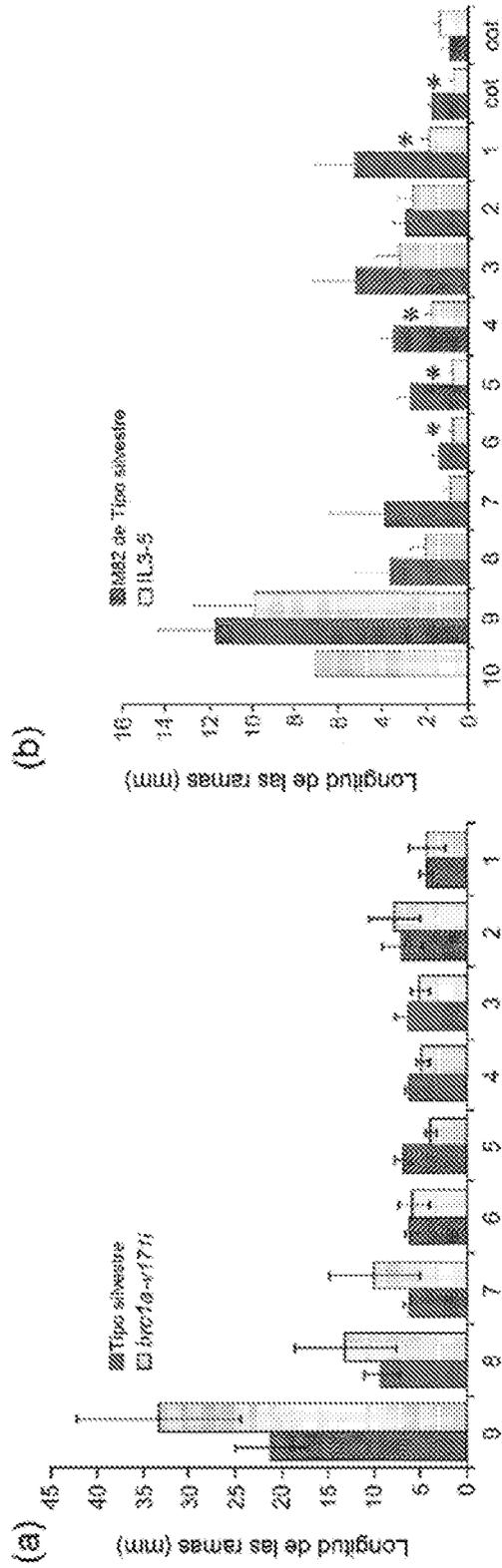


FIG. 4 a-b

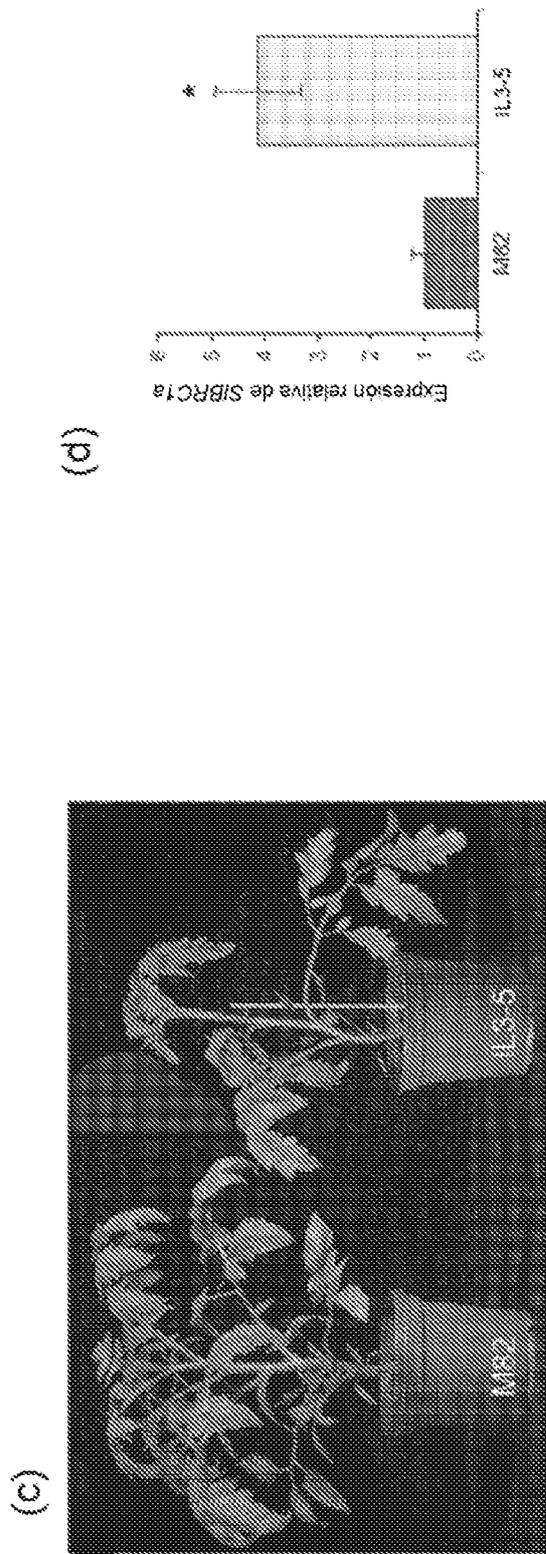
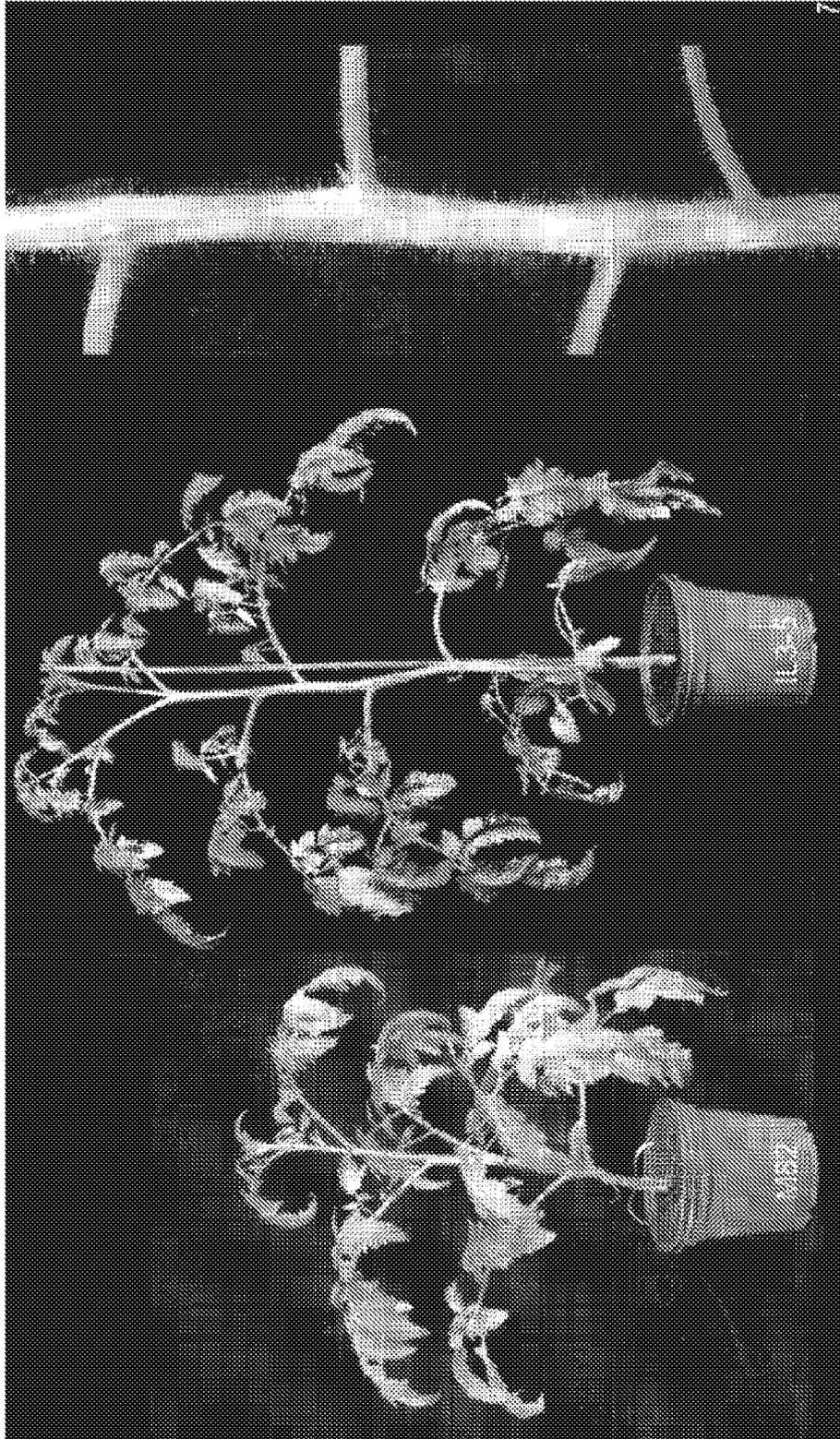


FIG. 4 c-d (Cont.)



**FIG. 5**