

ANDRZEJ TRETYN<sup>1</sup> i JAN KOPCEWICZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Zakład Biotechnologii*

<sup>2</sup>*Zakład Fizjologii i Biologii Molekularnej Roślin*

*Instytut Biologii Ogólnej i Molekularnej*

*Uniwersytet Mikołaja Kopernika*

*Gagarina 9, 87-100 Toruń*

*E-mail: tran@biol.uni.torun.pl*

*kopcew@biol.uni.torun.pl*

## GENETYCZNA KONTROLA KWITNIENIA ROŚLIN OKRYTONASIENNYCH

### WPROWADZENIE

Zazwyczaj przejście z fazy rozwoju wegetatywnego do generatywnego zachodzi w najbardziej korzystnym, z punktu widzenia reprodukcyjnego, czasie, zapewniającym wytworzenie maksymalnej liczby kwiatów, a następnie nasion. Gotowość do kwitnienia polega na uzyskaniu zdolności do tworzenia w obrębie wierzchołka lub poza nim określonych sygnałów, impulsów czy induktorów kwitnienia, które przemieszczając się w roślinie, indukują w wierzchołkach wzrostu pędu tworzenie zawiązków kwiatowych (LANG 1965, KINET 1993). Kwitnienie roślin występujących w naszych szerokościach geograficznych (klimacie umiarkowanym) indukowane jest temperaturą (termoindukcja, wernalizacja, jaryzacja), bądź światłem (indukcja fotoperiodyczna, fotoindukcja generatywna) (LANG 1966, BERNIER 1988, KINET i współaut. 1993, TRETYN i KOPCEWICZ

1999a). Szereg roślin uprawnych sprowadzonych do Europy z tropików (gdzie nie ma dobowych i sezonowych zmian długości dnia i temperatury) kwitnie po osiągnięciu określonego etapu rozwojowego (TRETYN i KOPCEWICZ 1999a).

U roślin jednorocznych, dwuletnich i wieloletnich kwitnących i owocujących tylko jeden raz w ich cyklu życiowym (monokarpicznych) tworzenie kwiatów inicjuje proces ich starzenia się i obumierania. Natomiast u roślin wieloletnich, kwitnących wielokrotnie (polikarpicznych), każdego roku (lub sezonu wegetacyjnego) tylko część merystemów wegetatywnych przekształca się w generatywne. W przypadku roślin polikarpicznych sam proces zawiązywania kwiatów nie jest wystarczającym czynnikiem inicjującym starzenie i śmierć organizmu (BATTEY i TOOKE 2002).

### FOTOPERIODYCZNA INDUKCJA KWITNIENIA

Fotoperiodyzm jest reakcją licznych gatunków roślin i zwierząt na zmieniający się w cyklu dobowym czas trwania i periodyczne następstwo okresów światła i ciemności. Jest on wyrazem ewolucyjnego przystosowania się

organizmów żywych do funkcjonowania w środowisku charakteryzującym się dobowymi zmianami w zmieniających się sezonowo warunkach świetlnych otoczenia.

Zjawisko fotoperiodyzmu u roślin zostało po raz pierwszy pisane w 1920 r. przez GARNER i ALLARD. Jednakże dopiero od około 10 lat obserwuje się zasadniczy postęp w badaniach nad tym procesem, głównie dzięki pracom poświęconym mechanizmowi działania zegara biologicznego (MOURADOV i współaut. 2002, HAYAMA i COUPLAND 2003).

Biorąc pod uwagę wymagania fotoperiodyczne wyróżnia się rośliny dnia krótkiego (ang. short day plants, SDP) i długiego (ang. long day plants, LDP), rośliny krótko-długodniowe (SLDP), długo-krótkodniowe (LSDP) oraz fotoperiodycznie neutralne (ang. day neutral plants, DNP) (LANG 1965, THOMAS i VINCE-PRUE 1997, TRETYN i KOPCEWICZ 1999a). Rośliny dnia krótkiego (np. wilec wielkokwiatowy, *Pharbitis nil*; komosa czerwona, *Chenopodium rubrum*) indukowane są do kwitnienia w warunkach, gdy okres ciemności (nocy indukcyjnej) przekroczy krytyczną wartość. Tego typu rośliny kwitną zazwyczaj wczesną wiosną lub wczesną jesienią. Kwitnące latem rośliny dnia długiego (np. rzodkiewnik pospolity, *Arabidopsis thaliana*; lulek czarny, *Hyoscyamus niger*) do indukcji tego procesu wymagają odpowiednio długiej fazy jasnej (dnia) i krótkiego okresu ciemności (nocy) (THOMAS i VINCE-PRUE 1997, TRETYN i KOPCEWICZ 1999a). U roślin typu SLDP i LSDP, inicjacja kwitnienia jest uzależniona od ekspozycji roślin na określone fotoperiody w odpowiedniej kolejności. Kwitnienie roślin fotoperiodycznie neutralnych (np. pomidora, kukurydzy) jest niezależne od fotoperiodu, a ich przejście z fazy rozwoju wegetatywnego do generatywnego jest indukowane czynnikami natury wewnętrznej, np. osiągnięciem określonego stadium rozwojowego (THOMAS i VINCE-PRUE 1997, TRETYN i KOPCEWICZ 1999a).

U roślin o ilościowej reakcji fotoperiodycznej (wrażliwości względnej), ekspozycja na indukcyjny fotoperiod tylko przyspiesza kwitnienie, podczas gdy u roślin o jakościowej reakcji fotoperiodycznej (wrażliwości bezwzględnej) działanie odpowiedniego fotoperiodu warunkuje indukcję fotoperiodyczną (TRETYN i KOPCEWICZ 1999a). Niektórym roślinom o bezwzględnej wrażliwości wystarczy tylko jeden indukcyjny fotoperiod do zakwitnięcia (np. *Pharbitis nil*, *Chenopodium rubrum*), inne zaś wymagają kilku odpowiednich fotoperiodów (np. *Hyoscyamus niger*). U tych ostatnich często obserwuje się efekt sumowania indukcyjnych fotoperiodów, nawet gdy przerywane są one nieindukcyjnymi warunkami świetlnymi (THOMAS i VINCE-PRUE 1997).

W wyniku indukcji fotoperiodycznej dochodzi do powstania w roślinie pewnych trwałych zmian, które początkowo nie są zauważalne zarówno na poziomie anatomicznym, jak i morfologicznym. Ten przejściowy stan nazywany jest ewokacją (BERNIER 1988).

Organami biorącymi udział w percepcji bodźców fotoperiodycznych są młode liście bądź liścienie (BERNIER 1988, TRETYN i KOPCEWICZ 1999a). Rośliny muszą osiągnąć określone stadium rozwoju generatywnego, aby móc odpowiadać na bodźce świetlne. Wiąże się to z koniecznością uzyskania przez liście (bądź liścienie) stanu kompetencji, to jest zdolności metabolicznej do produkcji (bądź uwalniania) z tych organów induktora lub degradacji inhibitora kwitnienia. Z kolei miejsce docelowego działania induktora kwitnienia, merystem wierzchołkowy pędu, musi być anatomicznie i fizjologicznie przygotowany do odbioru tego sygnału (ADAMS i współaut. 2001).

#### KONTROLA KWITNIENIA *ARABIDOPSIS THALIANA*, ROŚLINY DŁUGODNIOWEJ

Modelową rośliną, która od ponad 10 lat przykuwa uwagę fizjologów, biochemików, genetyków i biologów molekularnych jest *Arabidopsis thaliana* (KOORNNEEF i DERVEEN 1991). Od czterech lat znana jest sekwencja genomu tego organizmu (*ARABIDOPSIS GENOME INITIATIVE* 2000). Do tej pory poznana została funkcja dużej liczby genów tej rośliny (IZAWA i współaut. 2003).

Rzodkiewnik pospolity jest rośliną fakultatywnie długodniową. Zakwita znacznie wcześniej, gdy rośnie w warunkach długiego dnia, w porównaniu z krótkim dniem (BAGNALL 1992, COUPLAND 1997, HAMMAD i VAN TIENDEREN 1997). U większości ekotypów (linii genetycznych) kwitnienie tej rośliny przyspiesza również niska temperatura. W warunkach naturalnych do inicjacji kwitnienia

dochodzi około 25 dni po skielkowaniu nasion. Natomiast odmiany laboratoryjne, uprawiane w warunkach długiego dnia (16 godzin światła / 8 godzin ciemności), zakwitają o kilka dni wcześniej (BAGNALL 1992). Jeżeli te same odmiany (linie genetyczne) rośliny są traktowane krótkim fotoperiodem (8-10 godzin światła na dobę) proces kwitnienia rozpoczyna się po 6 tygodniach wzrostu wegetatywnego, czemu towarzyszy wytworzenie się większej liczby liści w rozecie i na pędzie (KOORNNEEF i współaut. 1998). Najbardziej sprzyjające warunki prowadzące do wczesnego zakwitania występują wiosną. Wykształcone jesienią rośliny, podczas zimy przechodzą proces termoindukcji (wernalizacji) i kwitną wiosną nawet w warunkach niesprzyjającego fotoperiodu (krótkiego dnia). Natomiast następne ich pokolenie,

rozwijające się z nasion powstałych tego samego roku, indukowane są do kwitnienia długim fotoperiodem i do jesieni mogą zakończyć kolejny cykl rozwojowy (BAGNALL 1992, HAMMAD i VAN TIENDEREN 1997).

Fotoperiodyczna indukcja kwitnienia *A. thaliana* kontrolowana jest przez dwa układy fotoreceptorów: fitochromy i kryptochromy (GUO i współaut. 1998). Absorbowane przez kryptochrom światło niebieskie (od ok. 400 do 500 nm) stymuluje, podczas gdy operujące poprzez fitochrom światło czerwone (od ok. 600 do 700 nm) hamuje kwitnienie rzodkiewnika. Rośliny typu dzikiego (WT) rosnące na ciągłym świetle niebieskim zakwitają już w 15 dni, natomiast gdy rosną na ciągłym świetle czerwonym (o tym samym natężeniu, co niebieskie) dopiero 30 dni po skielkowaniu nasion (GUO i współaut. 1998).

#### MUTANTY KWITNIENIOWE *ARABIDOPSIS THALIANA*

Do tej pory uzyskano wiele mutantów rzodkiewnika, które w warunkach określonego typu fotoperiodu (krótkiego lub długiego) charakteryzują się opóźnionym lub przyspieszonym zakwitaniem, w porównaniu do roślin typu dzikiego (WT). Mutanty te można podzielić na dwie grupy: wcześnie- i późnokwitnące (COUPLAND 1997, KOORNNEEF i współaut. 1998).

Obecnie znanych jest szereg mutacji (wszystkie o charakterze recesywnym) prowadzących do przedwczesnego zakwitania *A. thaliana*. Najbardziej ekstremalnym przykładem tego typu roślin są mutanty *embryogenic flower 1* i *2* (*emf1* i *emf2*), które, będąc niewrażliwe na fotoperiod i wernalizację, kwitną w bardzo wczesnych stadiach rozwojowych, bez uprzedniego wytworzenia liści (ZAGATTA i współaut. 1996). Badania anatomiczne wykazały, że już w trakcie rozwoju embrionalnego u mutantu *emf* dochodzi do powstania merystemu kwiatostanowego, z pominięciem stadium merystemu wegetatywnego. Omawiana mutacja ma charakter plejotropowy, gdyż poza przedwczesnym zakwitaniem *emf1* i *emf2* posiadają nienormalnie zbudowane kwiaty (ZAGATTA i współaut. 1996). Przypuszcza się, że geny *EMF1* i *EMF2* pełnią kluczową rolę w blokowaniu przedwczesnego kwitnienia, a ich aktywność ulega stopniowemu obniżaniu podczas rozwoju, aż do podprogowego

poziomu, który umożliwia przekształcenie merystemu wegetatywnego w kwiatostanowy. Gen *EMF1* koduje białko (czynnik transkrypcyjny) biorące udział w kontroli procesu transkrypcji (YOFSHIDA i współaut. 2001), podczas gdy *EMF2* koduje peptyd homologiczny do Su(z)12 z grupy PcG (od Polycomb Group) muszki owocowej (AUBERT i współaut. 2001). Jednym z genów, którego aktywność wydaje się być regulowana przez *EMF1* i *2* jest gen *APETALA1* (*API*), który jest bezpośrednio zaangażowany w proces morfogenezy kwiatów (PIÑERIO i COUPLAND 1998). Natomiast inny represor procesu kwitnienia, gen *COURLY LEAF* (*CLF*), podobnie jak *EMF2*, koduje białko z rodziny PcG. Peptyd ten blokuje przedwczesną ekspresję *AGAMOUS* (*AG*), genu który, podobnie jak *API*, zaangażowany jest w powstawanie kwiatów (GOODRICH i współaut. 1997).

Przedwczesne kwitnienie obserwuje się również u mutantów *early flowering 3* (*elf3*) i *terminal flower* (*tfl*). Mutant *tfl* charakteryzuje się krótkimi pędami kwiatostanowymi (na których powstaje od 1 do 5 kwiatów) zakończonymi organami przypominającymi kwiaty szczytowe (ALVAREZ i współaut. 1992). W warunkach długiego dnia wymaga on krótszej fotoperiodycznej indukcji w porównaniu do roślin typu dzikiego (WT). Uważa się, że ulegający ekspresji podczas wzrostu wegetatywnego gen *TLF* poprzez

odbiór sygnałów środowiskowych reguluje czas wejścia rośliny w stadium rozwoju generatywnego (BRADLEY i współaut. 1997, COUPLAND 1997).

Wszystkie mutacje prowadzące do późnego zakwitania rzodkiewnika można podzielić na trzy grupy. Mutanty pierwszej grupy (*fca*, *fpa*, *ld*, *fve* i *fy*) bez względu na warunki świetlne wchodzi w fazę rozwoju generatywnego później od form dzikich, natomiast wernalizacja przyspiesza ich zakwitanie (KOORNNEEF i współaut. 1998). Z drugiej strony, traktowanie chłodem nie wywiera istotnego wpływu na kwitnienie mutantów *co*, *fd*, *fe*, *fha*, *ft*, *fwa* i *gi* (PIÑERIO i COUPLAND 1998). Natomiast ich zakwitanie jest odwleczone w czasie w warunkach długiego fotoperiodu. W przypadku trzeciej

grupy mutantów opóźnienie w kwitnieniu wynika z zaburzeń w syntezie i wrażliwości roślin na działanie giberelin. Wymienione powyżej mutacje dotyczą prawdopodobnie trzech z czterech możliwych szlaków wiodących do kwitnienia *A. thaliana*: (1) autonomicznego, (2) zależnego od długiego fotoperiodu i (3) indukowanego przez giberelinę (KOORNNEEF i współaut. 1998, PIÑERIO i COUPLAND 1998) (patrz Ryc. 1).

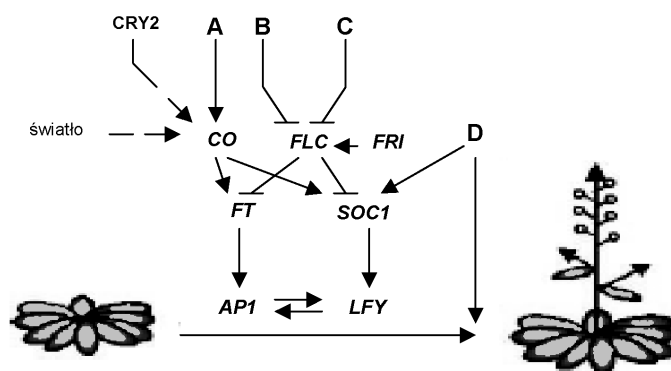
Jak dotąd u rzodkiewnika nie uzyskano mutantu całkowicie pozbawionego zdolności do kwitnienia. Może to świadczyć o złożoności tego procesu i sugerować, że wyłączenie któregoś z genów zaangażowanych w proces indukcji kwitnienia prowadzi do kompensacji jego aktywności przez inne geny (PIÑERIO i COUPLAND 1998).

#### SZLAKI KONTROLI KWITNIENIA *ARABIDOPSIS THALIANA*

Z analizy mutantów rzodkiewnika wynika, że przejście z fazy rozwoju wegetatywnego do generatywnego tej rośliny kontrolowane jest przez cztery różne, aczkolwiek częściowo kompensujące się szlaki. Są to szlaki indukowane przez giberelinę, długi fotoperiod, niską temperaturę oraz tzw. szlak autonomiczny (Ryc. 1).

Pierwszy z nich, zależny od metabolizmu gibereliny, prowadzi do aktywacji genu *LEAFY* (*LFY*), bezpośrednio odpowiedzialnego za

przekształcanie merystemu wegetatywnego w kwiatostanowy (BLAZQUEZ i współaut. 1998). Drugi ze szlaków kwitnieniowych uruchamiany jest w warunkach długiego dnia. Podczas indukcyjnego fotoperiodu dochodzi do aktywacji genu *CONSTANS* (*CO*), który poprzez wpływ na *LFY* prowadzi do ekspresji genów homeotycznych zaangażowanych w morfogenezę kwiatów (SUAREZ-LOPEZ i współaut. 2001). Trzeci z funkcjonujących u rzodkiewnika pospolitego szlaków kontro-



Ryc. 1. Cztery szlaki prowadzące do indukcji kwitnienia *A. thaliana*. Głównymi genami kontrolującymi aktywność genów tożsamości merystemowej (*LFY*) i organowej (*AP1*) są odpowiednio geny *SOC1* i *FT*.

Światło bezpośrednie (absorbowane przez fitochromy i kryptochromy) lub pośrednio (działając poprzez rejestrujący fotoperiod zegar dobowy) aktywuje ekspresję genu *CO* (pozytywnego regulatora genów *FT* i *SOC1*). Również represja genu *FLC*, poprzez proces wernalizacji i szlak autonomiczny prowadzi do aktywacji tych genów. Natomiast giberelina działając poprzez gen *SOC1* lub bezpośrednio, przez szlak zależny od tego fitohormonu indukuje kwitnienie *A. thaliana*. Dalszy opis (wraz z pełnymi nazwami genów) w tekście. A, B, C i D – odpowiednio szlak zależny od fotoperiodu, wernalizacji, szlak autonomiczny i stymulowany przez giberelinę. (wg MOURADOVA i współaut. 2002, zmodyfikowana).

lujących kwitnienie tej rośliny (omówiony w jednym z poniższych rozdziałów) wymaga przełamania przez niską temperaturę (wernalizację) hamującego działania specyficznych dla tego procesu genów. W kontrolę ostatniego z omawianych szlaków – autonomicznego, zaangażowane są m.in. geny *FCA*, *FVE* i *LD* (MOURADOV i współaut. 2002).

Od prawie 50 lat znany jest stymulacyjny efekt gibereliny na kwitnienie *Arabidopsis thaliana* (LANGRIDGE 1957). W latach 90. ubiegłego stulecia wykazano, że u mutantów *ga1*, *ga4*, *ga5*, charakteryzujących się zaburzeniami w biosyntezie tego fitohormonu, poza wpływem na kiełkowanie nasion i wzrost wegetatywny, obserwuje się również zaburzenia w procesie kwitnienia (WILSON i współaut. 1992). Okazało się, że wspomniane mutacje dotyczą genów kodujących enzymy zaangażowane w biosyntezę giberelin (TALON i współaut. 1990, SUN i KAMIYA 1994). Aktywność tych genów ulega stymulacji w wyniku przeniesienia roślin z warunków krótkiego do długiego dnia, czemu towarzyszy indukcja kwitnienia (XU i współaut. 1995).

Wśród mutantów rzodkiewnika jest grupa roślin, które zakwitają później w warunkach długiego fotoperiodu, podczas gdy rosnąc w warunkach krótkiego dnia kwitną w podobnym czasie co rośliny typu dzikiego. Ponadto mutanty te nie są wrażliwe na wernalizację. Wspomniane mutacje dotyczą genów *CO*, *CRYPTOCHROME2/FHA* (*CRY2*), *GIGANTEA* (*GI*), *FLOWERING LOCUS T* (*FT*) i *FWA* (MOURADOV i współaut. 2002).

Jednym z najlepiej poznanych genów kontrolujących kwitnienie *A. thaliana* jest *CONSTANS* (*CO*). Gen ten koduje białko (składające się z 373 aminokwasów) zawierające dwa tzw. palce cynkowe, które swą budową przypominają czynniki transkrypcyjne z rodziny GATA-1 (PUTTERILL i współaut. 1995). Ponadto, w *CO* występują sekwencje aminokwasowe odpowiedzialne za jego jądrową lokalizację i oddziaływanie z innymi białkami. *CO* mRNA ulega stopniowej akumulacji w merystemie wierzchołkowym roślin traktowanych długim fotoperiodem. Mutanty *co* uprawiane w warunkach długiego dnia kwitną później, natomiast rośliny transgeniczne, zawierające więcej kopii tego genu, kwitną wcześniej od form typu dzikiego (PUTTERILL i współaut. 1995).

U roślin rosnących w warunkach długiego dnia, *CO* mRNA podlega dobowym oscylacjom

z dwoma maksymami ekspresji: na początku dnia i w drugiej połowie nocy. Te dobowe oscylacje utrzymują się nawet po przeniesieniu roślin na ciągłe światło, co sugeruje, że ekspresja *CO* podlega kontroli poprzez zegar biologiczny (SUAREZ-LOPEZ i współaut. 2001). Genem kontrolowanym przez *CO*, który jest bezpośrednio zaangażowany w proces kwitnienia jest *FT* (SUAREZ-LOPEZ i współaut. 2001). Aktywacja *CO* przez światło ma charakter post-transkrypcyjny, a fotoreceptorami które mogą być zaangażowane w ten proces jest kryptochrom 2 (*cry2*) i fitochrom A (*phyA*). Do takiego wniosku doprowadziły wyniki następujących obserwacji. Otóż wykazano, że u mutantów *cry2* i *phyA* obserwuje się opóźnione (w stosunku do WT) kwitnienie, podczas gdy nadekspresja *CRY2* i *PHYA* prowadzi do wcześniejszego zakwitania transgenicznych roślin traktowanych krótkim fotoperiodem (MOURADOV i współaut. 2002). Na tej podstawie można przypuszczać, że obydwa fotoreceptory bezpośrednio zaangażowane są w odbiór bodźców fotoperiodycznych i stymulację kwitnienia *A. thaliana* (MOURADOV i współaut. 2002).

Do wykrycia autonomicznego szlaku kwitnienia u *A. thaliana* doszło w wyniku analizy mutantów, u których kwitnienie stymulowane jest niską temperaturą (wernalizacją), natomiast bez względu na warunki świetlne kwitną one później od roślin typu dzikiego (KOORNEEF i współaut. 1991). Mutacje te dotyczą między innymi genów *LUMINODEPENDENS* (*LD*), *FCA* (*FLOWERING CA*), *FPA*, których budowa i funkcja zostały poznane i opisane (LEE i współaut. 1994, MACKNIGHT i współaut. 1997, SCHOMBURG i współaut. 2001). I tak *LD* koduje czynnik transkrypcyjny zawierający tzw. homeodomenę (LEE i współaut. 1994), natomiast na bazie *FCA*, *FPA* powstają białka wiążące RNA (MACKNIGHT i współaut. 1997, SCHOMBURG i współaut. 2001). Mutacje we wszystkich trzech wyżej wymienionych genach powodują wzrost ekspresji *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*), negatywnego regulatora procesu kwitnienia (MICHAELIS i AMASINO 2001).

Choć kwitnienie u rzodkiewnika może być kontrolowane na drodze czterech różnych szlaków istnieją pewne elementy (geny), które integrują dwa lub więcej z nich. I tak, geny *CO* i *FLC*, będące składnikami szlaku długodniowego i autonomicznego, działając od siebie niezależnie w zróżnicowany sposób wpływają na ekspresję

genów *SOC1* i *FT*. Przy czym *CO* aktywuje, a gen *FCL* hamuje ekspresję tych genów (LEE i współaut. 2000, SAMACH i współaut. 2000). Warto nadmienić, że gen *SOC1* jest również terminalnym elementem szlaku zależnego od gibbereliny (BONHOMME i współaut. 2000).

Przypuszcza się, że przeciwstawne działanie *CO* i *FLC* na ekspresję genów *FT* i *SOC1* odgrywa istotną rolę w kontroli kwitnienia rzodkiewnika w różnych porach roku (MOURADOV i współaut. 2002, PINERIO i współaut. 2003).

#### KONTROLA INDUKCJI KWITNIENIA ROŚLIN KRÓTKODNIOWYCH

Jedną z modelowych i najczęściej badanych roślin krótkodniowych jest *Pharbitis nil* (ang. morning glory). Jej japońska odmiana Violet indukowana jest do kwitnienia pojedynczym, 16-godzinnym okresem ciemności w stadium młodocianym, 4–6 dni od skielkowania nasion. Pierwsze zawiązki kwiatowe są już widoczne 12–14 dni od zakończenia indukcji, natomiast cały cykl rozwojowy trwa 2–3 miesiące (KOPCEWICZ i TRETYN 1998; TRETYN i KOPCEWICZ 1999a, b; DĄBROWSKA i współaut. 2002).

Poprzez szczepienia i stosowanie technik mikrochirurgicznych ustalono, że miejscem percepcji bodźców fotoperiodycznych *P. nil* są liścienie, a syntetyzowany w nich induktor transportowany jest do wierzchołka wzrostu, gdzie inicjuje powstawanie zawiązków kwiatowych (OGAWA 1993). Wykazano również, że wewnątrz liścieni omawianej rośliny występują struktury zwane ciałami liścieniowymi (TRETYN i współaut. 1996, 1997), które wraz z otaczającymi je komórkami miękiszowymi mogą stanowić miejsce syntezy bądź uwalniania induktora kwitnienia (TRETYN i współaut. 2003). Ustalono ponadto, że podczas indukcyjnej nocy w liścieniach *P. nil* dochodzi do istotnych zmian w akumulacji jonów wapnia oraz endogennym poziomie poszczególnych fitohormonów (TRETYN i współaut. 1990, 1994, 1996, 1997, 2003; KOPCEWICZ i TRETYN 1998).

Pod koniec lat 80. i na początku 90. ubiegłego wieku odkryto występowanie istotnych ilościowych i jakościowych różnic w populacjach mRNA (LAY-YEE i współaut. 1987, O'NEILL i współaut. 1994) i białek (ONO i współaut. 1988, 1993) izolowanych z siewek *P. nil* rosnących na ciągłym świetle i traktowanych indukcyjną długą nocą. Okazało się również, że ekspresja genów zaangażowanych w proces fotoperiodycznej indukcji kwitnienia tej rośliny wykazuje dobowe oscylacje (ZHENG i współaut. 1993).

Stosując techniki dwukierunkowej elektroforezy zauważono, że zawartość jednego z polipeptydów wyizolowanych z liścieni *Pharbitis nil* (o molekularnej masie 22 kDa) wzrasta w drugiej połowie indukcyjnej nocy (ONO i współaut. 1996). Białko to zostało następnie użyte do przeszukiwania bibliotek cDNA uzyskanych z liścieni roślin rosnących na ciągłym świetle i poddanych indukcyjnemu fotoperiodowi. Zidentyfikowany tą drogą klon cDNA koduje białko wykazujące duży stopień homologii do GLP (ang. germin-like protein) z liści gorzycy jasnej *Sinapis alba* (ONO i współaut. 1996). Podobnie jak u gorzycy, również u *P. nil* zawartość mRNA *PnGLP* podlegała dobowym oscylacjom, z tą różnicą, że u pierwszej z wymienionych roślin maksimum aktywności badanego genu przypadało na 14-tą godzinę okresu światła, a u drugiej miało to miejsce 10 godzin po rozpoczęciu indukcyjnej nocy (ONO i współaut. 1996).

Zastosowanie do analiz bibliotek cDNA uzyskiwanych z liścieni *P. nil* techniki różnicowego profilowania genów (ang. differential display) pozwoliło na identyfikację wielu genów zaangażowanych w fotoperiodyczną indukcję tej rośliny. Jednym z nich okazał się *PnC401*, który ulega preferencyjnej ekspresji podczas indukcyjnej nocy (SAGE-ONO i współaut. 1998a). Gen ten koduje zbudowane z 665 reszt aminokwasowych białko, które wykazuje wysoki stopień homologii do jednego z polipeptydów rzodkiewnika o nie poznanej dotąd funkcji. Wykazano natomiast, że aktywność genu *PnC401* kontrolowana jest przez system fitochromowy, a jego ekspresja bezpośrednio związana jest z fotoperiodyczną indukcją kwitnienia u *P. nil* (SAGE-ONO i współaut. 1998a).

SAGE-ONO i współaut. (1998b) u *P. nil* zidentyfikowali również gen *PnTCTP*, który koduje zbudowane z 168 reszt aminokwasowych białko, wykazujące duże podobieństwo do tzw. transkrypcyjnie kontrolowanych białek tumor-

owych (ang. transcriptionally controlled tumor protein, TCTP) człowieka, zwierząt, grzybów i roślin. Na ciągłym świetle lub w warunkach długiego dnia obserwowano niewielką akumulację mRNA *PnTCTP*. Natomiast u roślin traktowanych długą indukcyjną nocą lub trzymanyh przez dłuższy czas w ciemności, odnotowano stopniowy wzrost poziomu tego informacyjnego RNA (SAGE-ONO i współaut. 1998b).

Jak dotąd nie ustalono, jaką funkcję może pełnić produkt genu *PnTCTP* w procesie fotoperiodycznej indukcji u *P. nil*. Biorąc pod uwagę zdolność ludzkiego TCTP do wiązania jonów wapnia wyniki opisanych badań mogą rzucić nowe światło na rolę tego kationu w procesie kwitnienia. Na istotne znaczenie  $Ca^{2+}$  w fotoperiodycznej indukcji kwitnienia wielokrotnie wskazywał TRETYN i współaut. (1990, 1994, 1997, 2003). Ostatnio z liścieni *P. nil* oczyszczono i biochemicznie scharakteryzowano dwa białka wiążące  $Ca^{2+}$ : kinazę białkową zależną od jonów wapnia i kalmodulinę (JAWORSKI i współaut. 2003a, b). Ponadto wykazano, że aktywność enzymatyczna pierwszego z nich ulega podwyższeniu w trakcie indukcyjnego fotoperiodu (JAWORSKI i współaut. 2003a). Na wewnątrzkomórkową homeostazę  $Ca^{2+}$  w liścieniach *P. nil* może mieć wpływ inny wtórny przekaznik informacji – cGMP. SZMIDT-JAWORSKA i współaut. (2003a) wykazali, że związki podwyższające i obniżające komórkowy poziom tego cyklicznego nukleotydu, po ich naniesieniu na liście siewek *P. nil* poddanych podindukcyjnemu fotoperiodowi, odpowiednio podwyższają i obniżają liczbę pąków kwiatowych zawiązywanych przez tę roślinę. Co więcej, we wspomnianych organach wykryto obecność zarówno cGMP (SZMIDT-JAWORSKA i współaut. 2003b), jak i kinazy białkowej zależnej od tego cyklicznego nukleotydu (SZMIDT-JAWORSKA 2003a).

Ponieważ obydwie wyżej wspomniane wtórne przekazyki informacji zaangażowane są w mechanizm działania fitochromu (TRETYN 1999) można przypuszczać, że udział tego fotoreceptora w fotoperiodycznej indukcji

kwitnienia polega na kontroli cytoplazmatycznego stężenia  $Ca^{2+}$  i cGMP (TRETYN i współaut. 1997). Zmiany ich komórkowego stężenia, odbierane przez odpowiednie czujniki: kalmodulinę (JAWORSKI i współaut. 2003b), kinazę zależną od jonów wapnia (JAWORSKI i współaut. 2003a) oraz kinazę zależną od cGMP (SZMIDT-JAWORSKA i współaut. 2003a) mogą uruchamiać szlaki przemian metabolicznych prowadzący do syntezy lub/i uwalniania induktora kwitnienia.

Stosując technikę różnicowego profilowania genów (LIU i współaut. 1998) porównali biblioteki cDNA otrzymane z liścieni siewek *P. nil* rosnących na ciągłym świetle i poddanych indukcyjnemu okresowi ciemności. Wśród zidentyfikowanych tą drogą 150 różnych genów większość kodowała białka strukturalne i enzymy związane z przebiegiem jasnej i ciemnej fazy fotosyntezy. Wśród pozostałych genów największe zainteresowanie wywołał ortolog *CONSTANS* (*CO*) rzodkiewnika (LIU i współaut. 1998). W trakcie dalszych badań wykazano jednak, że u *A. thaliana* ekspresja *CO* rośnie na długim, natomiast u *P. nil* na krótkim fotoperiodzie (HAYAMA i COUPLAND 2003).

DĄBROWSKA (2001), po zastosowaniu techniki różnicowego profilowania genów (ang. differential display), zidentyfikowała kilka klonów cDNA zaangażowanych w fotoperiodyczną indukcję kwitnienia *P. nil*. Dwa spośród nich, o długości 949 i 947 pz, poddano dalszej analizie. Pierwszy z nich koduje polipeptyd wskazujący wysoki stopień homologii do białka SNARE ryżu (*Oryza sativa*). Ekspresja genu kodującego to białko rośnie w warunkach nieindukcyjnych, a spada podczas indukcyjnej nocy (DĄBROWSKA 2001). Natomiast drugi ze scharakteryzowanych cDNA (długości 947 pz) koduje białko wykazujące 95% poziom homologii aminokwasowej w porównaniu do białka kanału wodnego (akwaporyny) kukurydzy. Ekspresja tego genu była znacząco niższa u roślin potraktowanych indukcyjnym fotoperiodem (DĄBROWSKA 2001).

#### PORÓWNANIE ROŚLIN DŁUGO- I KRÓTKODNIOWYCH

Mimo znacznego nasilenia badań nad molekularnymi mechanizmami fotoperiodycznej indukcji kwitnienia *Pharbitis nil*

dalecy jesteśmy od pełnego zrozumienia tego procesu. Znacznie bardziej obiecujące wyniki mogą dostarczyć badania prowadzone na innej

krótkodniowej roślinie – ryżu (YANO i współaut. 2001). Po zsekwencjonowaniu w 2002 r. genomów dwóch uprawnych odmian tego gatunku (GOFF i współaut. 2002, YU i współaut. 2002) powstały możliwości prowadzenia badań porównawczych nad genetycznymi uwarunkowaniami procesu kwitnienia u ryżu oraz u fakultatywnie długodniowego rzodkiewnika, którego genom zsekwencjonowano pod koniec 2000 roku (ARABIDOPSIS GENOME INITIATIVE 2000).

U obu wyżej wspomnianych gatunków roślin w odbiorze bodźców fotoperiodycznych uczestniczą te same rodziny fotoreceptorów: fitochromy i kryptochromy. Podczas gdy u rzodkiewnika funkcjonują cztery geny kodujące tzw. fitochrom stabilny (B, C, D i E) i jeden fitochrom labilny (A) w genomie ryżu zidentyfikowano sekwencje kodujące trzy różne fitochromy (A, B i C). Z drugiej strony ryż zawiera trzy geny kodujące różne kryptochromy, podczas gdy u rzodkiewnika występują dwie tego typu sekwencje DNA (IZAWA i współaut. 2003). U ryżu zidentyfikowano ortologi genów *TOC1*, *GI*, *CCA1*, *ELF3* i *ZTL*, które u rzodkiewnika zaangażowane są w mechanizm działania zegara biologicznego (YANOVSKY i KAY 2001, IZAWA i współaut. 2003). Na tej podstawie można przypuszczać, że mechanizmy odbioru sygnałów świetlnych i ich przekazywania do zegara dobowego są wspólne dla roślin jedno- i dwuliściennych, krótko- i długodniowych (patrz Ryc. 2).

Główną rolę w fotoperiodycznej indukcji kwitnienia *Arabidopsis thaliana* odgrywają dwa geny; *CONSTANS* (*CO*) i *LEAFY* (*LFY*) (MOURADOV i współaut. 2002, HAYAMA i COUPLAND 2003). Ortologi obu tych genów (nazwanych odpowiednio *HD1* od *Heading date1* i *RFL* od *RICE FLO/LEAFY*) występują w pojedynczych kopiach w genomie ryżu (YANO i współaut. 2000, KYOZUKA i współaut. 1998). U rzodkiewnika poza *LFY* produkt genu *CONSTANS* kontroluje ekspresję dwóch innych genów: *FT* i *SOC1* (patrz powyżej). W ge-

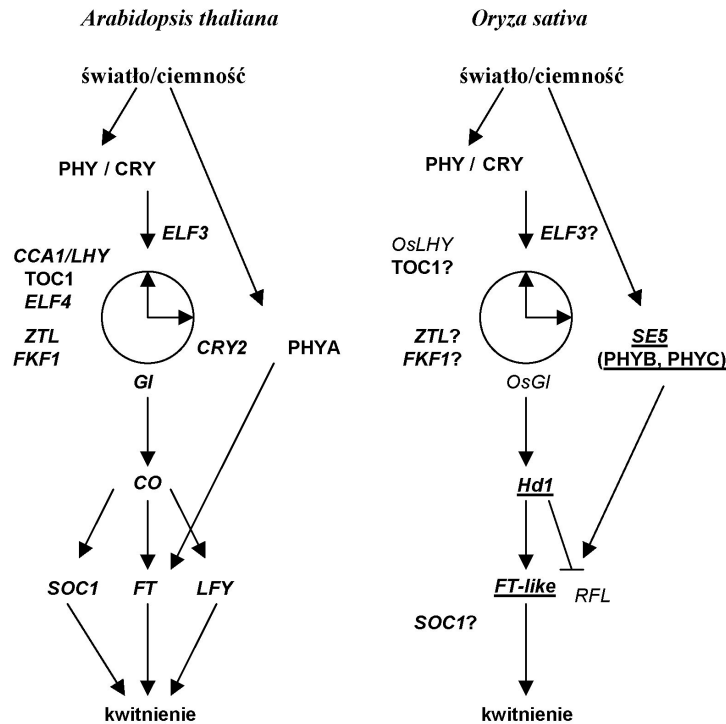
nomie ryżu stwierdzono występowanie co najmniej jednego genu będącego odpowiednikiem *SOC1* (IZAWA i współaut. 2003) i aż 10 genów *FT*-podobnych (IZAWA i współaut. 2002). Fakt ten może wskazywać, że u ryżu poza kwitnieniem geny *FT*-podobne mogą brać udział w regulacji jeszcze innych procesów.

Choć w fotoperiodycznej indukcji kwitnienia roślin długo- (rzodkiewnik) i krótkodniowych (ryż) biorą udział ortologi tych samych genów molekularne mechanizmy kontroli tego procesu mogą być odmienne (Ryc. 1). Podczas gdy gen *CO* promuje kwitnienie w warunkach długiego dnia, odpowiednik tego genu u ryżu (*Hd1*) stymuluje ten proces w warunkach krótkiego dnia, a hamuje w warunkach dnia długiego. Ekspresja obu tych genów kontrolowana jest przez zegar biologiczny, który reguluje dobowe oscylacje poziomu ekspresji *CO* i *Hd1*. Natomiast światło może odgrywać podwójną rolę w kontroli fotoperiodycznej indukcji kwitnienia. Z jednej strony odbierane przez fotoreceptory sygnały świetlne uczestniczą w dostrajaniu (ang. entrainment) zegara dobowego, z drugiej natomiast pośrednio (poprzez ten zegar) oraz bezpośrednio modulują ekspresję obu wyżej wymienionych genów. U rzodkiewnika (Ryc. 2), w zależności od warunków świetlnych, w percepcji indukcyjnego długiego fotoperiodu mogą brać udział dwa fotoreceptory: kryptochrom 2 (*cry2*) lub/i fitochrom labilny (*phyA*). Natomiast fitochrom stabilny (*phyB*) hamuje kwitnienie tej rośliny w warunkach krótkiego fotoperiodu (GUO i współaut. 1998, MOCKLER i współaut. 1999, YANOVSKY i KAY 2002). U rzodkiewnika w warunkach indukcyjnego fotoperiodu *CO* stymuluje wzrost ekspresji *FT*. Z kolei u ryżu (Ryc. 2), poza działaniem poprzez zegar dobowy bodźce świetlne odbierane są przez fitochromy stabilne (*phyB* i *phyC*), które działając na ekspresje genów *FT-like* modulują odpowiedź kwitnieniową tej rośliny (IZAWA i współaut. 2003).

#### KONTROLA KWITNIENIA ROŚLIN FOTOPERIODYCZNIE NEUTRALNYCH

Wiedza na temat molekularnych mechanizmów kontrolujących indukcję kwitnienia roślin fotoperiodycznie neutralnych pozostaje fragmentaryczna. Do tej pory powszechnie przyjmowano, że wraz ze

wzrostem stopnia dojrzałości w ich merystemach wegetatywnych zachodzą bliżej nieokreślone zmiany (metaboliczne lub/i strukturalne), które prowadzą do ich przekształcania się w merystemy generatywne.



Ryc. 2. Porównanie genetycznych uwarunkowań fotoperiodycznej indukcji kwitnienia rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*) i ryżu (*Oryza sativa*) rośliny krótko-dniowej.

Homologi genów rzodkiewnika u ryżu ustalono na podstawie istniejących sekwencji DNA (pogrubiona czcionka), analizy ekspresyjnej mRNA (zwykła czcionka) i na podstawie dowodów genetycznych (podkreślona czcionka). Dalszy opis (wraz z pełnymi nazwami genów) w tekście (wg IZAWY i współaut. 2003, zmodyfikowana).

Osiągnięcie takiej dojrzałości mogłoby być spowodowane dotarciem do merystemów wegetatywnych odpowiedniej ilości asymilatów lub/i fitohormonów. Badania przeprowadzone w ostatnich latach na fotoperiodycznie neutralnej kukurydzy rzucają nowe światło na inicjację kwitnienia tej grupy roślin (COLASANTI i współaut. 1998).

Wywodząca się z tropików kukurydza kwitnie po wytworzeniu określonej liczby liści. Odmienne od tego wzorca rozwojowego zachowuje się mutant *idl* (*indeterminate*) (COLASANTI i współaut. 1998). W początkowym okresie rozwoju tworzy on znacznie więcej liści w porównaniu do roślin typu dzikiego. Mimo to nie jest on zdolny do osiągnięcia etapu pełnej dojrzałości, poprzedzającego inicjację kwiatów. W miejsce kwiatostanów rozwijających się w pachwinach liści powstają rozgałęzione pędy wegetatywne. Po sklonowaniu genu *IDI* okazało się, że koduje on białko posiadające motywy palców cynkowych, charakterystyczne dla jednej z grup czynników transkrypcyjnych. Badania nad wzorcem ekspresji *IDI* wykazały, że ulega on aktywacji w najmłodszych, niedojrzałych

liściach trzydniowych siewek kukurydzy. Jego ekspresja rosła w kolejno pojawiających się zawiązkach liściowych, aż do momentu osiągnięcia przez roślinę wieku dojrzałości generatywnej. Aktywności *IDI* nie notowano w korzeniu, dojrzałych liściach, merystemie wierzchołkowej, elementach kwiatostanów i kwiatów (COLASANTI i współaut. 1998). Na podstawie uzyskanych wyników sugeruje się, że w niedojrzałych liściach kukurydzy syntetyzowana jest substancja, która po dotarciu do merystemu wierzchołkowego inicjuje proces powstawania kwiatostanu i kwiatów. Uważa się, że domniemana substancja syntetyzowana jest w wyspecjalizowanych częściach liści (ang. revertant somatic sectors), w których dochodzi do aktywacji genu *IDI*. Nie wyklucza się możliwości, że bezpośredni produkt tego genu ma zdolność przemieszczania się z liści do wierzchołka wzrostu.

*IDI* jest pierwszym zidentyfikowanym i sklonowanym genem roślin fotoperiodycznie neutralnych, którego produkt może bezpośrednio uczestniczyć w procesie indukcji kwitnienia (COLASANTI i współaut. 1998). Jego ekspresja na terenie niedojrzałych liści precyzyjnie

tw. troficznej teorii kwitnienia. Popiera natomiast hipotezę zakładającą istnienie u roślin cząsteczki sygnałowej, która ma zdolność do przemieszczania się i której synteza, na podobieństwo florigenu, zachodzi

w liściach (lub liścieniach), a jej miejscem docelowego działania jest wegetatywny wierzchołek wzrostu pędu.

#### WERNALIZACJA (TERMOINDUKCJA)

Warunki termiczne otoczenia nie wywierają indukcyjnego wpływu na kwitnienie tzw. roślin jarych. Natomiast u wielu roślin ozimych okresowe działanie obniżonej temperatury ma istotny wpływ na przejście z fazy wegetatywnej do generatywnej. Dla jednych z nich czynnik ten jest całkowicie niezbędny (obligatoryjny), podczas gdy dla innych stanowi jedynie element przyspieszający (fakultatywny) kwitnienie. Rośliny wymagające wernalizacji przechodzą okres chłódów późną jesienią i/lub zimą w fazie spęczniałych nasion lub młodych siewek (jednoroczne oziminy), bądź w stadium dojrzałości wegetatywnej (rośliny dwu- i wieloletnie). Temperatury indukujące kwitnienie wahają się w granicach od 0 do +10°C. Długość okresu wernalizacji, to jest niezbędna ilość dni trwania obniżonej temperatury, jest zróżnicowana w zależności od gatunku. Najczęściej wynosi on od kilkunastu do kilkudziesięciu dni. Wernalizacji mogą ulegać różne organy roślin, jednakże efektywna indukcja kwitnienia zachodzi w dzielących się lub zdolnych do podziału komórkach (TRETYN i KOPCEWICZ 1999a). W nasionach miejscem percepcji bodźca temperaturowego są zarodki, natomiast w przypadku siewek i dojrzałych wegetatywnie roślin są nim merystemy wierzchołkowe pędów. Po odbiorze efekt wernalizacji zostaje na pewien czas utrwalony. Przykładowo rozwijają się w warunkach nieindukcyjnego fotoperiodu zwernalizowane rośliny *Hyoscyamus niger* mogą utrzymać efekt wernalizacyjny przez okres około 100 dni. Po pewnym czasie jednak efekt wernalizacji zanika i rośliny ulegają dewernalizacji, która zachodzi również w wyniku ich traktowania podwyższoną temperaturą (około 40°C przez okres 1–2 dni) (TRETYN i KOPCEWICZ 1999a).

Jak wykazano, efekt wernalizacji nie podlega przekazaniu następnym pokoleniom roślin. Zdobyte podczas wernalizacji zdolności do kwitnienia zanikają podczas procesu mejozy, prowadzącego do powstawania komórek linii generatywnej. Wykazano także,

że rośliny namnażane drogą mikropropagacji z materiału poddanego wcześniej wernalizacji są zdolne do kwitnienia.

Mechanizmy leżące u podstaw wernalizacji nie są do końca poznane. Uważa się, że w niskich temperatur dochodzi do zmian przepuszczalności błon komórkowych lub/i do zmian w poziomie ekspresji genów „wernalizacyjnych”. Dużą rolę w tym procesie odgrywają również fitohormony, a zwłaszcza gibereliny (KOORNNEEF i współaut. 1998, PIÑERIO i COUPLAND 1998).

Badania nad genetyczną kontrolą wernalizacji wskazują, że w zależności od gatunku za wymagania wernalizacyjne odpowiedzialne są pojedyncze bądź wielokrotne geny o charakterze dominującym bądź recesywnym. Przykładowo, u pszenicy proces termoindukcji kontrolowany jest przez kilka genów z rodziny *Vrn*. Zmienność pomiędzy tymi genami jest w głównej mierze przyczyną różnic w wymaganiach wernalizacyjnych odmian ozimych i jarych. Recesywne allele powodują „ozimność” i wrażliwość na działanie niskich temperatur.

Jednymi z pierwszych, którzy podjęli badania nad molekularnym mechanizmem wernalizacji byli BURN i współaut. (1993). Badacze ci wykazali, że późnokwitnące mutanty dwóch roślin z rodziny krzyżowych – *Arabidopsis thaliana* i *Thlaspi arvense* – zakwitają znacznie wcześniej po potraktowaniu ich chłodem. Z drugiej strony rośliny poddane działaniu 5-azacytydyną (związkiem hamującym aktywność metylotransferazy DNA) zakwitają bez uprzedniej termoindukcji. Jednakże następne ich pokolenia do zakwitania wymagały ponownego traktowania chłodem. Zablokowanie transkrypcji metylotransferazy przez wprowadzenie antysensownego mRNA doprowadziło do około 70% spadku poziomu metylacji DNA, podczas gdy u roślin kontrolnych, poddanych wernalizacji wartość ta sięga jedynie 15% (FINNEGAN i współaut. 1998). Transgeniczne rośliny rzodkiewnika zakwitają znacznie szybciej od

kontrolnych, nawet bez ich uprzedniego traktowania chłodem. Właściwość tę utrzymywały w dwóch kolejnych pokoleniach. Również u mutantu *ddml* (ang. decreased DNA methylatin), charakteryzującego się obniżonym poziomem metylacji DNA, indukowane chłodem zakwitanie obserwowano znacznie wcześniej niż u roślin kontrolnych. Jednakże, podobnie jak u form dzikich, potomstwo wspomnianego mutantu nie było zdolne do zakwitania bez uprzedniej termoindukcji (FINNEGAN i współaut. 1998). Zaproponowano, że w warunkach obniżonej temperatury, w komórkach będących w fazie S (podczas replikacji DNA), dochodzi do spadku poziomu metylacji nukleotydów cytozynowych. Prowadzi to do odblokowania genów związanych z indukcją kwitnienia. Wśród nich mogą być geny kodującego hydroksylazę kwasu kaurenowego, kluczowego enzymu uczestniczącego w biosyntezie giberelin (BURN i współaut. 1993).

W ostatnich kilku latach wzrosło zainteresowanie rolą metylacji DNA w kontroli wzrostu i rozwoju roślin, a zwłaszcza w regulacji ich kwitnienia. Z dostępnych danych wynika, że u roślin wyższych od kilku do około 30% reszt cytozynowych wchodzących w skład DNA ulega metylacji (SMITH i współaut. 1995). Biorąc pod uwagę fakt, że u zwierząt metylacja DNA jest jednym z mechanizmów uczestniczących w tzw. remodelowaniu chromatyny, można sądzić, że proces ten odgrywa podobną rolę w komórkach roślinnych (KASS i współaut. 1997).

Ustalono, że do zajścia procesu wernalizacji wymagana jest obecność w merystemie wierzchołkowym dzielących się komórek. Im dłuższy jest okres chłodu tym większa ilość komórek poddana jest jego działaniu, a tym samym odpowiedź wernalizacyjna jest większa. Indukowana chłodem demetylacja może efektywnie przebiegać podczas fazy S cyklu komórkowego, kiedy zachodzi proces replikacji DNA. Powoduje to, iż po kolejnych rundach replikacji przybywa komórek z zdemetylowanym DNA, co prowadzi do zmian struktury przestrzennej chromatyny i odblokowania określonych genów. Po osiągnięciu ponadprogowego poziomu białek (prawdopodobnie specyficznych czynników transkrypcyjnych), będących produktami tych genów, dochodzi do zainicjowania morfogenezy kwiatów, w których, jak można przypuszczać, utrzymuje

się niski poziom metylacji DNA (TRETYN i KOPCEWICZ 1999a).

Wernalizacja może prowadzić do demetylacji jedynie pewnych specyficznych odcinków chromatyny. Może mieć ona charakter przejściowy, gdyż przeniesienie roślin rzodkiewnika do podwyższonej temperatury powoduje ponowną metylację DNA (FINNEGAN i współaut. 1998). Dlatego, by (po zakończeniu okresu chłodu) uzyskane właściwości mogły pozostać trwałe podczas wzrostu roślin w wyższej temperaturze (od zakończenia wernalizacji do inicjacji zawiązków kwiatowych może upłynąć wiele miesięcy), istotne dla kwitnienia odcinki DNA powinny być blokowane przez specyficzne białka (czynniki transkrypcyjne) lub podlegać konformacyjnym zmianom uniemożliwiającym ich ponowną metylację (TRETYN i KOPCEWICZ 1999a).

W ostatnich kilku latach u rzodkiewnika zidentyfikowano szereg genów biorących udział w procesie wernalizacji (Ryc. 3). Wśród nich wymienić można *FCA* i *VRN1* i 2 oraz *FRI* (KOORNNEEF i DERVEEN 1991, CHANDLER i współaut. 1996, KOORNNEEF i współaut. 1998, MICHAELS i AMASINO 2001). Mutacja w genie *FCA* prowadzi do znacznego przyspieszenia procesu kwitnienia późnokwitnących ekotypów rzodkiewnika po ich traktowaniu przez okres od 2 do 8 tygodni temperaturą 4°C (KOORNNEEF i DERVEEN 1991, KOORNNEEF i współaut. 1998). Z kolei mutacja w loci *VRN1* powodowała, że termoindukowane rośliny zakwitają wcześniej, gdy wytworzą o połowę mniej liści niż formy typu dzikiego (CHANDLER i współaut. 1996).

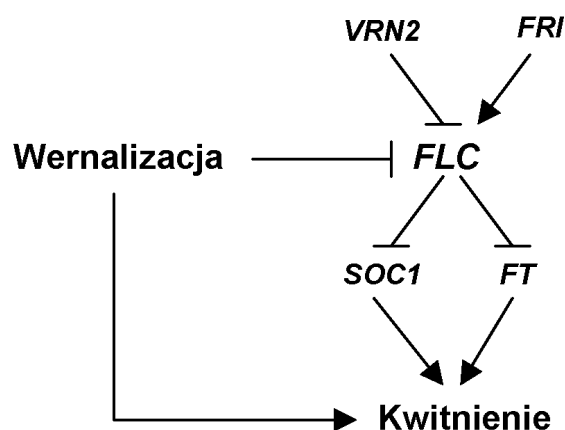
*FLC* koduje czynnik transkrypcyjny z rodziny MADS-box, który hamuje ekspresję genów uczestniczących w autonomicznym i zależnym od wernalizacji szlaku indukcji kwitnienia rzodkiewnika (patrz powyżej). Wspomniany czynnik transkrypcyjny ma zdolność do wiązania się z sekwencjami promotorowymi dwóch innych genów: *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1* (*SOC1*) i *FLOWERING LOCUS T* (*FT*). Pierwszy z nich, podobnie jak *FLC*, koduje czynnik transkrypcyjny z rodziny MADS-box (LEE i współaut. 2000), natomiast drugi z wymienionych genów – *FT*, koduje polipeptyd podobny do inhibitora kinaz białkowych typu RAF (SAMACH i współaut. 2000). Hamujący wpływ *FLC* na kwitnienie pogłębiany jest przez

gen *FRIGIDA* (*FRI*), którego białkowy produkt, w nieznanym dotąd sposób, stymuluje wzrost ekspresji *FLC* (MICHAELS i AMASINO 2001). Poza *FRI* na funkcjonowanie genu *FLC* mają wpływ produkty genów *VERNALIZATION 1* i *2* (*VRN1*, *2*). Wykazano, że *VRN2* koduje polipeptyd o wysokim stopniu podobieństwa do białka Su(z)12 *Drosophila melanogaster* (GENDALL i współaut. 2001). *VRN2* nie wywiera bezpośredniego wpływu na aktywność *FLC*, lecz działając przeciwnie do produktu tego genu bierze udział w utrzymywaniu stanu wernalizacji. Podobną funkcję może pełnić gen *VRN1*, który koduje białko wiążące się w sposób niespecyficzny z DNA (LEVY i współaut. 2002). Poza dwiema domenami B3, biorącymi udział w wiązaniu się białka z DNA, *VRN1* zawiera sekwencję jądrowej lokalizacji oraz dwa regiony typu PEST, biorące udział w proteosomalnej degradacji białek. Jak dotąd nie udało się stwierdzić specyficznego wiązania się *VRN1* do genu *FLC*. I choć nie ma na to bezpośrednich dowodów przypuszcza się, że *VRN1* wraz z *VRN2* mogą być składnikami kompleksu biorącego udział w represji *FLC* (LEVY i współaut. 2002).

Genem, który może być bezpośrednio zaangażowany w odpowiedzi na chłód jest *HIGH EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENES 1* (*HOS1*) (LEE i współaut. 2001). Mutacje w tym genie prowadzą do wczesnego zakwitania rzodkiewnika oraz do spadku poziomu ekspresji *FLC*. Ze względu na specyficzną budowę, charakterystyczną dla ligaz ubikwitynowych, przypuszcza się że *HOS1* może pełnić funkcje negatywnego regu-

latora innych, poza kwitnieniem, szlaków transdukcji sygnałów (LEE i współaut. 2001).

Na zakończenie warto wspomnieć o ciekawych wynikach, jakie uzyskano porównując genomy rzodkiewnika i ryżu. Otóż u tej drugiej z roślin nie stwierdzono ortologów podstawowych genów (*FRI*, *FLC*, *VRN1*, *VRN2*), które uczestniczą w indukowanym chłodem kwitnieniu u rzodkiewnika (MOURADOV i współaut. 2002, SIMPSON i DEAN 2002). Na tej podstawie przypuszcza się, że u „ciepłolubnego” ryżu, w trakcie jego ewolucji doszło do utraty genów odpowiedzialnych za kontrolę procesu wernalizacji (IZAWA i współaut. 2003).



Ryc. 3. Genetyczna regulacja procesu wernalizacji u *Arabidopsis thaliana*.

Kwitnienie rośliny może być bezpośrednio indukowane w wyniku działania chłodu lub pośrednio poprzez represję *FLC*, negatywnego regulatora *SOC1* i *FT*. Ekspresja *FLC* może być dodatkowo modulowana przez *VRN2* i *FRI*, z których pierwszy obniża, a drugi podwyższa wymagania wernalizacyjne. Dalszy opis (wraz z pełnymi nazwami genów) w tekście. (wg MOURADOVA i współaut. 2002, zmodyfikowana).

## CHEMICZNA NATURA INDUKTORA KWITNIENIA

Wyniki kilkudziesięciu lat badań nad mechanizmami indukcji kwitnienia wskazują na możliwość wytwarzania w liściach specyficznego induktora kwitnienia, który po przetransportowaniu do wierzchołka wzrostu inicjuje w nim morfogenezę organów generatywnych (BERNIER 1988). Już prawie 70. lat temu rosyjski fizjolog roślin M. K. CHAILAKHYAN (1936) sugerował, że w tkankach zaindukowanych roślin dochodzi do syntezy hormonu kwitnienia – florigenu. Jednakże jak do tej pory hormon taki nie został wyizolowany i chemicznie zidentyfikowany. Stąd też od około 15. lat powszechnie

akceptowany jest wieloczynnikowy model kontroli kwitnienia. Zakłada on, że o zaiscieniu indukcji generatywnej decydują zarówno czynniki natury fizycznej, jak i chemicznej. Wśród tych ostatnich główną rolę przypisuje się różnego typu fitohormonom oraz asymilatom (BERNIER 1988). Akceptacja wieloczynnikowego modelu indukcji kwitnienia nie oznacza całkowitego zaprzestania badań nad florigenem (AUKERMAN i AMASINO 1998). Wręcz przeciwnie, od kilku lat pojawiają się publikacje, które wskazują na występowanie u roślin specyficznych stymulatorów (florigenu) i inhibitorów

(antyflorigenu) omawianego procesu (KREKULE 1979, WELLER i współaut. 1997). Dostarczane są również dowody wskazujące na troficzny charakter induktora kwitnienia (KINET 1993, CORBESIER i współaut. 1998, MITROVIĆ i współaut. 2000).

Na występowanie u roślin syntetyzowanych w liściach substancji mogących hamować i indukować kwitnienie wskazują wyniki badań przeprowadzonych ostatnio na rzodkiewniku. Stosując technikę laserowej mikroskopii konfokalnej GISEL i współaut. (2002) przeanalizowali symplastyczny transport niskocząsteczkowego (520 Da) fluorochromu (HPTS) z ogonków liściowych do wierzchołków pędu *A. thaliana*. Okazało się, że tak ukierunkowany transport HPTS zachodzi od wczesnych faz wzrostu wegetatywnego do chwili osiągnięcia przez roślinę stadium rozwojowego, w którym jest ona gotowa do przyjęcia bodźca fotoperiodycznego. Na podwyższenie tempa symplastycznego transportu stosowanego fluorochromu nie miał jednak wpływu indukcyjny fotoperiod. Podobne wyniki uzyskano dla roślin typu dzikiego oraz wcześnie- (*phyB*, *tfl1*) i późno- (*ft*, *co*) kwitnących mutantów rzodkiewnika (GISEL i współaut. 2002).

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań wnioskuje się, że liście generatywnie niedojrzałych siewek rzodkiewnika produkują substancję hamującą proces kwitnienia. Zablockowanie symplastycznego transportu substancji o antyflorigenicznej aktywności ma jednak przejściowy charakter. Przemieszczanie się HPTS z liści do wierzchołka pędu ulega przywróceniu po zaindukowaniu rośliny do kwitnienia (GISEL i współaut. 2002). Nie ustalono jednak, w jaki sposób induktor kwitnienia osiąga merystem wierzchołkowy. Przypuszcza się, że w przeciwieństwie do HPTS, induktor kwitnienia może mieć charakter chemiczny lub jego masa cząsteczkowa jest niższa od 500 Da (GISEL i współaut. 2002).

W świetle najnowszych badań, poza teorią florigenu (AUKERMAN i AMASINO 1998), uzyskano szereg dowodów eksperymentalnych potwierdzających słusność troficznego charakteru induktora kwitnienia (CORBESIER i współaut. 1998). Od dawna było wiadomo, że cukry, a zwłaszcza sacharoza, mogą odgrywać istotną rolę w indukcji kwitnienia zarówno u roślin krótko-, jak i

długodniowych (HOUSSA i współaut. 1991, LEJEUNE i współaut. 1993).

Pod koniec lat 90. ubiegłego wieku wyselekcjonowano kilka mutantów rzodkiewnika, które wykazują zaburzenia w metabolizmie cukrowców i procesach fotoperiodycznej indukcji kwitnienia (KOORNNEEF i współaut. 1998). Wśród nich wymienić można mutanty *pgm* (od phosphoglucomutase) i *adg1* (ang. ADP glucose pyrophosphorylase 1), które charakteryzują się zaburzeniami w procesie powstawania ziaren skrobi w komórkach liści oraz *sex1* (ang. starch excess 1) i *cam1* (ang. carbohydrate accumulation mutant 1) wykazujące nadmierną akumulację tego polisacharydu (KOORNNEEF i współaut. 1998). Mutanty *pgm* i *sex1* poddawano indukcyjnemu długiemu fotoperiodowi (LD) lub krótkiemu okresowi światła o parametrach zapewniających podobną wydajności procesu fotosyntezy (ang. displaced short day, DSD). Okazało się, że oba typy mutantów indukowane były do kwitnienia, gdy okres światła był dłuższy od 16 godzin. W wyniku ekspozycji roślin na LD (prowadzącej do podwyższonego kwitnienia) obserwowano szybki i przejściowy wzrost transportu węglowodanów z liści do wierzchołków pędu. Natomiast po zastosowaniu pojedynczego DSD, który tylko w niewielkim stopniu stymulował kwitnienie, nie zauważono istotnych zmian w transporcie tych związków poza liście (CORBESIER i współaut. 1998). Wykazano również, że w przypadku stosowania LD przejściowy wzrost transportu węglowodanów nie wymaga ich mobilizacji z ziaren skrobi. Tego typu proces obserwowano jednak podczas traktowania roślin *A. thaliana* DSD. Na podstawie tych oraz wcześniej uzyskanych wyników badań (HOUSSA i współaut. 1991, LEJEUNE i współaut. 1993) przypuszcza się, że transportowane poprzez floem węglowodany są jednym z ważniejszych składników kompleksu substancji wpływających na indukcję kwitnienia roślin fotoperiodycznie wrażliwych.

Cukry poza udziałem w indukcji kwitnienia mogą odgrywać istotną rolę w procesie morfogenezy kwiatów. DURDAN i współaut. (2000) prowadząc badania na izolowanych wierzchołkach wzrostu *Pharbitis nil* opisali zróżnicowany wpływ glukozy, fruktozy i sacharozy na tworzenie się poszczególnych okółków kwiatowych tej rośliny. W przypadku fruktozy i sacharozy izolowane z zaindukowanych do kwitnie-

nia wierzchołki wzrostu *P. nil* wytwarzały wszystkie cztery okółki kwiatowe w przeciągu 72 godzin. Natomiast obecność glukozy w podłożu stymulowała powstawanie zawiązków kwiatowych w przeciągu jednej doby (DURDAN i współaut. 2000).

Na istotną rolę glukozy w fotoperiodycznej indukcji kwitnienia *P. nil* wskazują również badania przeprowadzone przez TRETYNĄ i współaut. (2003). Stosując technikę chromatografii gazowej autorzy badali zmiany zawartości cukrów w liścieniach i wierzchołkach wzrostu siewek *P. nil* poddanych fotoperiodycznej indukcji kwitnienia. W liścieniach roślin kontrolnych (rosnących na ciągłym świetle) odnotowano większą ilość cukrów redukujących (fruktozy i glukozy) w porównaniu do sacharozy. Natomiast po zakończeniu 16-godzinnej indukcyjnej ciemności stwierdzono istotny spadek zawartości fruktozy i glukozy, podczas gdy poziom sacharozy był podobny jak w liścieniach roślin kontrolnych. W wierzchołkach pędów roślin kontrolnych (rosnących na ciągłym świetle) dominującą formą cukrów była glukoza. Podczas indukcyjnej nocy zawartość glukozy w tych organach spadała 6-krotnie, podczas gdy

stężenie fruktozy i sacharozy było podobne jak w wierzchołkach wzrostu roślin kontrolnych (TRETYN i współaut. 2003).

Gromadzona na terenie wierzchołków wzrostu *P. nil* glukoza (TRETYN i współaut. 2003) może być substratem wykorzystywanym do produkcji związków wysokoenergetycznych. THIGPEN i SACHS (1985) wykazali, że podczas indukcyjnej nocy wzrasta ilość ATP w plumulach i stożkach wzrostu. Natomiast po zakończeniu indukcyjnej nocy poziom tych związków w wierzchołkach wzrostu podlegała gwałtownemu spadkowi, co mogło być wynikiem podwyższonej aktywności metabolicznej tego organu spowodowanego dotarciem do niego induktora kwitnienia.

Mimo istnienia coraz większej liczby dowodów potwierdzających bezpośredni wpływ węglowodanów na proces indukcji kwitnienia, należy wyjaśnić, czy transport asymilatów z liści do merystemów wierzchołkowych pędów ma charakter przyczynowo-skutkowy, czy też dostarczane do tych organów cukry są jedynie czynnikiem wspomagającym lub wzmagającym działanie induktora kwitnienia.

## PODSUMOWANIE

W ostatnim dziesięcioleciu dokonano istotnego postępu na drodze wiodącej do zrozumienia molekularnych mechanizmów kontrolujących proces kwitnienia roślin. Stało się to głównie, dzięki wysiłkom wielu naukowców pracujących na modelowej roślinie *Arabidopsis thaliana*. Kwitnienie tej rośliny, w zależności od ekotypu, może być indukowane zarówno przez długi fotoperiod, jak i niską temperaturę oraz zachodzić niezależnie od tych czynników środowiskowych. Sygnały środowiskowe odbierane są przez dwa geny; *GI* oraz *CO*, a następnie przekazywane są do genów *LFY*, *FT* i *SOC1*, które promują lub integrują różne szlaki wiodące do kwitnienia. Docelowymi genami, które znajdują się pod ich bezpośrednią kontrolą są *AP1*, *AP3*, *PI*, *AG*, geny homeotypyczne inicjujące proces morfogenezy kwiatów (MOURADOV i współaut. 2002).

Sklonowanie większości dotąd zidentyfikowanych genów kwitnieniowych *A. thaliana* pozwala wyciągać bardziej ogólne wnioski na temat molekularnych uwarunkowań procesu indukcji kwitnienia. Istnieje coraz więcej

dowodów, że przejście roślin przez poszczególne fazy ontogenezy uwarunkowane jest zmianami w strukturze chromatyny (jej remodelowaniem), które prowadzą do zróżnicowanej ekspresji genów kontrolujących morfogenezę roślin (VERBSKY i RICHARDS 2001, MEYER 2001, LUSSE 2002, FRANSZ i DE JONG 2002). Już z obecnie dostępnych danych wynika, że remodelowanie chromatyny może być głównym epigenetycznym mechanizmem kontrolującym przejście roślin z fazy rozwoju wegetatywnego do generatywnego (SUNG i współaut. 2003, WAGNER 2003).

Remodelowanie chromatyny polega na odwracalnej modyfikacji DNA (metylacji cytozyny) i białek histonowych (ich fosforylacji, acylacji, metylacji, ADP-rybozylacji i ubikwitynizacji), które wpływają na jej zmiany konformacyjne. W wyniku kondensacji/dekondensacji chromatyny dochodzi do obniżenia lub podwyższenia dostępności czynników transkrypcyjnych do sekwencji promotorowych określonych genów (MEYER 2001, LUSSE 2002).

O udziale procesu remodelowania chromatyny w regulacji kwitnienia świadczą wyniki badań prowadzonych nad rolą metylacji DNA. Wykazano, że u mutantów *decreased DNA methylation (ddm1)* obserwuje się zmiany w ekspresji jednego z genów kwitnieniowych – *FWA* (KAKUTANI 1996). Ekspresja *FWA* ulega modulacji w wyniku zależnych od metylacji DNA zmian struktury chromatyny w regionie, w którym występuje ten gen. *FWA* koduje czynnik transkrypcyjny, którego ekspresja opóźnia proces kwitnienia rzodkiewnika (SOPPE i współaut. 2000). Szerzej o roli metylacji DNA w regulacji procesu wernalizacji pisano powyżej.

Istnieje coraz więcej dowodów wskazujących, że w przypadku rzodkiewnika kontrola kwitnienia polega na blokowaniu genów, których ekspresja mogłaby doprowadzić do przedwczesnego zakwitu tej rośliny. Wśród nich podstawową rolę w omawianym procesie mogą pełnić następujące geny: *TFL1*, *ELF3* i *4*, *EMF1* i *2* oraz *FLC* (SUNG i współaut. 2003). Okazało się, że większość z nich koduje homologi białek regulujących proces remodelowania chromatyny u zwierząt i grzybów. I tak *EMF2*, jak również zaangażowany w proces wernalizacji gen *VRN2*, kodują homologi białka Su[z]12 (ang. suppressor of zeste12), które u muszki owocowej kontroluje przebieg procesu embriogenezy (BIRVE i współaut. 2001). Do tej samej, określanej jako PcG (ang. polycomb group) grupy białek należą produkty genów *FERTILIZATION INDEPENDENT SEEDS2 (FIS)*, *FERTILIZATION-INDEPENDENT ENDOSPERM (FIE)* oraz *CURLY LEAF (CLF)*. Okazało się, że wszystkie te geny, poza wpływem na rozwój wegetatywny (*CLF*) oraz powstawanie nasion (*FIS*, *FIE*), są represorami procesu kwitnienia (SUNG i współaut. 2003). U zwierząt białka z grupy PcG, wchodząc w skład wielkich kompleksów poprzez ich wpływ na stan kondensacji chromatyny, biorą udział w blokowaniu ekspresji genów homeotycznych (BIRVE i współaut. 2001).

Poza wyżej wymienionymi, kilka innych genów kwitnieniowych może być zaangażowanych w proces remodelowania chromatyny. Przykładowo represor procesu kwitnienia *TFL2*, ze względu na jego podobieństwo do *HETEROHROMATIN PROTEIN1 (HP1)* muszki owocowej przemianowany został na *LIKE HETEROHROMATIN PROTEIN1 (LHP1)* (GAUDIN i współaut. 2001). U zwierząt białko

HP1 rozpoznając zmetylowaną formę histonu H3 powoduje przekształcanie się heterochromatyny w euchromatynę (FRANSZ i DE JONG 2002). Odwrotnie, przebiegające przemiany strukturalne chromatyny (od formy zdekondensowanej do zwartej) katalizuje kompleks białkowy określany nazwą SWITCH2/ SUCROSE NON-FERMENTATING2 (SWI2/ SNF2). Uzyskano dowody wskazujące na udział LHP1 i SWI/SNF w regulacji procesu kwitnienia. U rzodkiewnika homologiem SWI/SNF jest *SPLAYED (SYD)*, represor *LFY*, kluczowego genu uczestniczącego w regulacji kwitnienia tej rośliny (WAGNER i MEYEROWITZ 2002). Z kolei LHP1 może uczestniczyć w regulacji ekspresji *CO* i represji *FT* podczas wegetatywnego wzrostu *A. thaliana* (WAGNER 2003). Ostatnio wykazano, że dwa inne geny, *VRN1* i *EARLY BOLTING IN SHORT DAYS (EBS)* kodują białka mogące uczestniczyć w procesie remodelowania chromatyny (PINERIO i współaut. 2003).

Reasumując, przy obecnym poziomie wiedzy wydaje się, że w przypadku *A. thaliana* regulacja procesu kwitnienia zachodzi na dwóch różnych poziomach. Pierwszy poziom regulacji tego procesu może być wynikiem globalnej represji całego programu kwitnieniowego (przez geny *EMF1* i *EMF2*). Natomiast drugi może wynikać z blokowania kwitnienia poprzez hamowanie aktywności genów tożsamości organowej (*AP1*, *AG*) odpowiedzialnych za morfogenezę kwiatów. Na drugi poziom regulacji istotny wpływ mogą wywierać czynniki środowiskowe (SUNG i współaut. 2003).

Wiele etapów w rozwoju roślin kontrolowanych jest przez czynniki środowiskowe, głównie światło, fotoperiod i temperaturę. Przykładowo, w trakcie poszczególnych faz rozwojowych, od kiełkowania nasion poprzez fazę juwenilną, wzrostu wegetatywnego, rozwoju generatywnego, a na starzeniu się kończąc, obserwuje się stałe zmiany w poziomie metylacji DNA (BITONTI i współaut. 2002, TRETYN i współaut. 2002). Produkty genów *PIKLE (PKL)* i *EMF2*, poprzez wpływ na strukturę chromatyny kontrolują przekształcanie się zarodków w siewki, a następnie podczas wzrostu wegetatywnego blokują ponowne włączenie się programu embrionalnego (OGAS i współaut. 1999, MOON i współaut. 2002, TAKADA i współaut. 2002). Z kolei *EMF2*, *FIE*, *SYD*, *LHP1* i *CLF*

przeciwdziałają przedwczesnemu włączeniu się programu reprodukcyjnego w trakcie wzrostu wegetatywnego (WAGNER 2003). Natomiast geny *FIS*, *MEDEA* (*MEA*) oraz *FIE* po zaindukowaniu *A. thaliana* do kwitnienia blokują tworzenia się nasion przed powstaniem zygoty (CHAUDHURY i współaut. 2001, LOHE i CHAUDHURY 2002, BAROUX i współaut. 2002). Po fuzji męskiej i żeńskiej komórki płciowej totipotencjalna zygota przechodzi kilka rund podziałów, którym towarzyszą zmiany w strukturze materiału genetycznego (w wyniku jego remodelowania). U zwierząt, w przeciwieństwie do roślin, realizacja podstawowego programu

genetycznego zachodzi w trakcie wczesnych faz rozwojowych (na etapie embriogenezy). Natomiast komórki roślinne nawet podczas rozwoju post-embrionalnego zachowują mniej lub bardziej (w zależności od stopnia zróżnicowania) totipotentne właściwości. Umożliwia to m.in. różnicowanie się organów wegetatywnych w generatywne w odpowiedzi na bodźce środowiskowe. Pozwala również na morfogenezę korzeni z pędów lub liści, czy też organogenezę pędów z korzeni lub niezróżnicowanej tkanki kalusowej (FRANSZ i DE JONG 2002).

## GENETIC CONTROL OF FLOWERING OF ANGIOSPERM PLANTS

### S u m m a r y

Plants have developed mechanisms to integrate both endogenous and environmental cues for regulation of flowering time. When environmental and physiological (e.g. photoperiod, temperature) (e.g. stage of development) conditions are appropriate plants undergo the floral transition and become reproductive. The timing of flowering initiation depends on the balanced expression of many different genes that are regulated by both endogenous and environmental factors. As a result of physiological, genetic, and molecular analysis of *Arabidopsis thaliana* mutants altered in flowering time the existence of a long-promotion pathway, a gibberellic-acid promotion pathway, as well as vernalization and autonomous pathway were discovered and characterized. A few dozen of genes involved in flower induction of *Arabidopsis* were identified. Some of them can integrate two or three flowering pathways.

Floral repression is likely to be the principal mechanism for maintaining vegetative development. Floral repressor inhibit the floral signaling pathways at various levels.

Some of genes involved in vernalization and photoperiodic flower induction encode putative chromatin-associated proteins. They probably function as epigenetic silencers that repress promotion of flowering, and thereby maintain vegetative growth.

The complete genome sequences of two plant species; *Arabidopsis thaliana* (long-day dicot) and *Oryza sativa* (short-day monocot) have been published recently. Since that time, comparative genomics and molecular genetics on photoperiod-induced flowering process became possible. Using this approach some differences between long- and short-day plants were established at the molecular level.

### LITERATURA

- ADAMS S. R., PEARSON S., HADLEY P., 2001. *Improving quantitative flowering models through a better understanding of the phase of photoperiod sensitivity*. J. Exp. Bot. 52, 655–662.
- ALVAREZ J., GULI C. L., YU X. -H., SMYTH D. R., 1992. *Terminal flower: a gene affecting inflorescence development in Arabidopsis thaliana*. Plant J. 2, 103–116.
- ARABIDOPSIS GENOME INITIATIVE, 2000. *Analysis of the genome sequence of the flowering plant Arabidopsis thaliana*. Nature 408, 796–815.
- AUBERT D., CHEN L., MOON Y.-H., MARTIN D., CASTLE L. A., YANG C. -H., SUNG Z. R., 2001. *EMF1, a novel protein involved in the control of shoot architecture and flowering in Arabidopsis*. Plant Cell 13, 1865–1875.
- AUKERMAN M. J., AMASINO R. M., 1998. *Floral induction and florigen*. Cell 93, 491–494.
- BAGNALL D. J., 1992. *The control of flowering of Arabidopsis thaliana by light, vernalisation and gibberellins*. Aust. J. Plant. Physiol. 19, 401–409.
- BAROUX C., SPILLANE C., GROSSNIKLAUS U., 2002. *Genomic imprinting during seed development*. Adv. Genet. 46, 165–214.
- BATTEY N. H., TOOKE F., 2002. *Molecular control and variation in the floral transition*. Curr. Opin. Plant Biol. 5, 62–68.
- BERNIER G., 1988. *The control of floral evocation and morphogenesis*. Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol. 39, 175–219.
- BIRVE A., SENGUPTA A.K., BEUCHLE D., LARSSON J., KENNISON J.A., RASMUSON-LESTANDER A., MULLER J., 2001. *Su(z)12, a novel Drosophila Polycomb group gene that is conserved in vertebrates and plants*. Development 128, 3371–3379.
- BITONTI M. B., COZZA R., CHIAPPETTA A., GIANNINO D., RUFFINI CASTIGLIONE M., DEWITTE W., MARIOTTI D.,

- VAN ONCKELE H., INNOCENTI A. M., 2002. *Distinct nuclear organization, DNA methylation pattern and cytokinin distribution mark juvenile, juvenile-like and adult vegetative apical meristems in peach (Prunus persica (L.) Batsch)*. J. Exp. Bot. 53, 1047–1054.
- BLÁZQUEZ M. A., GREEN R., NILSSON O., SUSSMAN M. R., WEIGEL D., 1998. *Gibberellins promote flowering of Arabidopsis by activating the LEAFY promoter*. Plant Cell 10, 791–800.
- BONHOMME F., KURZ B., MELZER S., BERNIER G., JACQMARD A., 2000. *Cytokinin and gibberellins activate SaMADS A, a gene apparently involved in regulation of the floral transition in Sinapis alba*. Plant J. 24, 103111.
- BRADLEY D., RATCLIFFE O., CINCENT C., CARPENTER R., COEN E., 1997. *Influorescence commitment and architecture in Arabidopsis*. Science 275, 80–83.
- BURN J. B., BAGNALL D. J., METZGER J. D., DENNIS E. S., PEACOCK W. J., 1993. *DNA methylation, vernalization, and the initiation of flowering*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 287–291.
- CHAILAKHYAN M. K., 1936. *On the hormonal theory of plant development*. C.R. (Dokl) Acad. Sci. USSR 3, 443–447.
- CHANDLER J., WILSON A., DEAN C., 1996. *Arabidopsis mutants showing an altered response to vernalization*. Plant J. 10, 637–644.
- CHAUDHURY A. M., KOETUNOW A., PAYNE T., LUO M., TUCKER M. R., DENNIS E. S., PEACOCK W. J., 2001. *Control of early seed development*. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 17, 677–699.
- COLASANTI J., YUAN Z., SUNDERSAN V., 1998. *The indeterminate gene encodes a zinc finger protein and regulates a leaf-generated signal required for the transition to flowering in maize*. Cell 93, 593–603.
- CORBESIER L., LEJEUNE P., BERNIER G., 1998. *The role of carbohydrates in the induction of flowering in Arabidopsis thaliana: comparison between the wild type and a starchless mutant*. Planta 206, 131–137.
- COUPLAND G., 1997. *Regulation of flowering by photoperiod in Arabidopsis*. Plant Cell Environ. 20, 785–789.
- DĄBROWSKA G., 2001. *Poszukiwanie genów zaangażowanych w fotoperiodyczną indukcję kwitnienia Pharbitis nil*. Rozprawa doktorska. Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń.
- DĄBROWSKA G., GOC A., TRETYN A., 2002. *Fotoperiodyczna indukcja kwitnienia roślin krótkiego dnia*. Wiad. Bot. 46, 45–54.
- DURDAN S. F., HERBERT R. J., ROGERS H. J., FRANCIS D., 2000. *The determination time of the carpel whorl is differentially sensitive to carbohydrate supply in Pharbitis nil*. Plant Physiol. 123, 189–200.
- FINNEGAN E. J., GENDER R. K., KOVAC K., PEACOCK W. J., DENNIS E. S., 1998. *DNA methylation and the promotion of flowering by vernalization*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 5824–5829.
- FRANSZ P. F., DE JONG J. H., 2002. *Chromatin dynamics in plants*. Curr. Opin. Plant Biol. 5, 560–567.
- GARNER W. W., ALLARD H. A., 1920. *Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants*. J. Agric. Res. 18, 506–553.
- GAUDIN V., LIBAULT M., POUTEAU S., JUUL T., ZHAO G., LEFEBVRE D., GRANDJEAN O., 2001. *Mutation in LIKE HETEROCHROMATIN PROTEIN 1 affect flowering time and plant architecture in Arabidopsis*. Development 128, 4847–4858.
- GENDALL A. R., LEVY Y. Y., WILSON A., DEAN C., 2001. *The VERNALIZATION 2 gene mediates the epigenetic regulation of vernalization in Arabidopsis*. Cell 107, 525–535.
- GISEL A., HEMPEL F. D., BARELLA S., ZAMBRYSKI P., 2002. *Leaf-to-shoot apex movement of symplastic tracer is restricted coincident with flowering in Arabidopsis*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, 1713–1717.
- GOFF S. A., RICKE D., LAN T.-H. i współaut., 2002. *A draft sequence of the rice genome (Oryza sativa L. ssp. japonica)*. Science 296, 92–100.
- GOODRICH J., PUANGSOMLEE P., MARTIN M., LONG D., MEYEROWITZ E. M., COUPLAND G., 1997. *A Polycomb-group gene regulates homeotic gene expression in Arabidopsis*. Nature 386, 44–51.
- GUO H., YANG H., MOCKLER T. C., LIN C., 1998. *Regulation of flowering time by Arabidopsis photoreceptors*. Science 279, 1360–1363.
- HAMMAD I., VAN TIENDEREN P. H., 1997. *Natural variation in flowering time among populations of the crucifer Arabidopsis thaliana*. Plant Spec. Biol. 12, 15–23.
- HAYAMA R., COUPLAND G., 2003. *Shedding light on the circadian clock and the photoperiodic control of flowering*. Curr. Opin. Plant Biol. 6, 13–19.
- HOUSSA P., BERNIER G., KINET J. M., 1991. *Qualitative and quantitative analysis of carbohydrates in leaf exudate of the short-day plant, Xanthium strumarium L. during flowering transition*. J. Plant Physiol. 138, 24–28.
- IZAWA T., OIKAWA T., SUGIYAMA N., TANISAKA T., YANO M., SHIMAMOTO K., 2002. *Phytochrome mediates the external light signal to repress FT orthologs in photoperiodic flowering of rice*. Genes Dev. 16: 2006–2020.
- IZAWA T., TAKAHASHI Y., YANO M., 2003. *Comparative biology comes into bloom: genomic and genetic comparison of flowering pathways in rice and Arabidopsis*. Curr. Opin. Plant Biol. 6, 113–120.
- JAWORSKI K., SZMIDT-JAWORSKA A., TRETYN A., KOPCEWICZ J., 2003a. *Biochemical evidence for a calcium-dependent protein kinase from Pharbitis nil and its involvement in photoperiodic flower induction*. Phytochemistry 62, 1047–1055.
- JAWORSKI K., SZMIDT-JAWORSKA A., TRETYN A., KOPCEWICZ J., 2003b. *Calmodulin from Pharbitis nil: purification and characterization*. Biol. Plant., w druku.
- KAKUTANI T., JEDDELOH J. A., FLOWERS S. K., MUNAKATA K., RICHARDS E. J., 1996. *Developmental abnormalities and epimutations associated with DNA hyper-methylation mutations*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 12406–12411.
- KASS S. U., PRUSS D., WOLFFE A. P., 1997. *Does DANN methylation repress transcription?* Trends Genet. 13, 444–449.

- KINET J.-M., 1993. *Environmental, chemical, and genetic control of flowering*. Hort. Rev. 15, 38–47.
- KREKULE J., 1979 *Stimulation and inhibition of flowering*. [W:] *La Physiologie de la Floraison*. CHAMPAGNAT P., JACQUES R. (red.). CNRS, Paris, 19–57.
- KOORNNEEF M. N., DERVEEN J. H., 1991. *A genetic and physiological analysis of late-flowering mutants in Arabidopsis thaliana*. Mol. Gen. Genet. 229, 57–66.
- KOORNNEEF M., HANHART C. J., VAN DER VEEN J. H., 1991. *A genetic and physiological analysis of late flowering mutants in Arabidopsis thaliana*. Mol. Gen. Genet. 229, 57–66.
- KOORNNEEF M., ALONSO-BLANCK C., PEETERS A. J. M., SOPPE W., 1998. *Genetic control of flowering time in Arabidopsis*. Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol. 49, 345–370.
- KOPCEWICZ J., TRETYN A., 1998. *Physiological and cytochemical investigations on photoperiodic flower induction in Pharbitis nil*. Flowering Newslett. 25, 264.
- KYOZUKA J., KONISHI S., NEMOTO K., IZAWA T., SHIMAMOTO K., 1998. *Down-regulation of RFL, the FLO/LFY homolog of rice, accompanied with panicle branch initiation*. Proc. Natl Acad. Sci USA 95, 1979–1982.
- LANG A., 1965. *Physiology of flower initiation*. [W:] *Encyclopedia Plant Physiology*. RUHLAND W. (red.). Springer-Verlag, Berlin, 15, 1379–1536.
- LANGRIDGE J., 1957. *Effect of day-length and gibberellic acid on the flowering of Arabidopsis*. Nature 180, 36–37.
- LAY-YEE M., SACHS R. M., REID M. S., 1987. *Changes in cotyledon mRNA during floral induction of Pharbitis nil cv. Violet*. Planta 171, 104–109.
- LEE I., AUKERMAN M. J., GORE S. L., LOHMAN K. N., MICHAELS S. D., WEAVER L. M., JOHN M. C., FELDMANN K. A., AMASINO R. M., 1994. *Isolation of LUMINI DEPENDENTS; a gene involved in the control of flowering time in Arabidopsis*. Plant Cell 6, 75–83.
- LEE H., SUH S.-S., PARK E., CHO E., AHN J. H., KIM S.-G., LEE J. S., KWON Y. M., LEE I., 2000. *The AGAMOUS-LIKE 20 MADS domain protein integrates floral inductive pathways in Arabidopsis*. Genes Dev. 14, 2366–2376.
- LEE H. J., XIONG L. M., GONG Z. Z., ISHITANI M., STEVENSON B., ZHU J. K., 2001. *The Arabidopsis HOS1 gene negatively regulates cold signal transduction and encodes a RING finger protein that displays cold-regulated nucleocytoplasmic partitioning*. Genes Dev. 15, 912–924.
- LEJEUNE P., BERNIER G., REQUIER M.-C., KINET J.-M., 1993. *Sucrose increase during floral induction in the phloem sap collected at the apical part of the shoot of the long-day plant Sinapis alba L.* Planta 190, 71–74.
- LEVY Y. Y., MESNAGE S., MYLNE J. S., GENDALL A. R., DEAN C., 2002. *Multiple roles of Arabidopsis VRN1 in vernalization and flowering time control*. Science 297, 243–246.
- LIU J., YU J., KENDE H., MCINTOSH L., ZEEVAART J. A. D., 1998. *A molecular approach toward understanding photoperiodic induction of flowering*. Annu. Meeting Am. Soc. Plant Physiol. Plant Biol., 11019.
- LOHE A. R., CHAUDHURY A., 2002. *Genetic and epigenetic progress in seed development*. Curr. Opin. Plant Biol. 5, 19–25.
- LUSSEY A., 2002. *Acetylated, methylated, remodeled: chromatin states for gene regulation*. Curr. Opin. Plant Biol. 5, 437–443.
- MACKNIGHT R., BONCROFT I., PAGE T., LISTER C., SCHMIDT R., LOVE K., WESTPHAL L., MURPHY G., SHERSON S., COBBETT C., DEAN C., 1997. *FCA, a gene controlling flowering time in Arabidopsis, encodes a protein containing RNA-binding domains*. Cell 89, 737–745.
- MEYER P., 2001. *Chromatin remodelling*. Curr. Opin. Plant Biol. 4, 457–462.
- MICHAELS S. D., AMASINO R. M., 2001. *Loss of FLOWERING LOCUS C activity eliminates the late-flowering phenotype of FRIGIDA and autonomous pathway mutations but not responsiveness to vernalization*. Plant Cell 13, 935–941.
- MITROVIĆ A., ŽIVANOWIĆ B., ČULAFIĆ L. J., 2000. *The effects of photoperiod, glucose and gibberellic acid on growth in vitro and flowering of Chenopodium murale*. Biol. Plant. 43, 173–177.
- MOCKLER T. C., GUO H., YANG H., DUONG H., LIN C., 1999. *Antagonistic action of Arabidopsis cryptochromes and phytochrome B in the regulation of floral induction*. Development 126, 2073–2082.
- MOON Y.-H., CHEN L., PAN R.-L., CHANG H.-S., ZHU T., MAFFEO D., SUNG Z. R., 2002. *EMF repression of embryo and flower development in Arabidopsis*. XIII International Conference on Arabidopsis Research, 11–22.
- MOURADOV A., CREMER F., COUPLAND G., 2002. *Control of flowering time: interacting pathways as a basis for diversity*. Plant Cell (Suppl.), S111–S130.
- O'NEILL S. D., ZHANG X. S., ZHENG C. C., 1994. *Dark and circadian regulation of mRNA accumulation in the short-day plant Pharbitis nil*. Plant Physiol. 104, 569–580.
- OGAS J., KAUFMANN S., HENDERSON J., SOMERVILLE C., 1999. *PICKLE is a CHD3 chromatin-remodeling factor that regulates the transition from embryonic to vegetative development in Arabidopsis*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 13839–13844.
- OGAWA Y., 1993. *Movement of floral stimulus in the cotyledon and petiole of Pharbitis nil seedlings*. Bul. Fac. Bioresources Mie. Univ. 10, 200–207.
- ONO M., OKAZAKI M., HARADA H., UCHIMIYA H., 1988. *In vitro translated polypeptides of different organs of Pharbitis nil Chois, strain Violet under flower-inductive and non-inductive conditions*. Plant Sci. 58, 1–7.
- ONO M., SAGE-ONO K., INONE M., KAMADA H., HARADA H., 1996. *Transient increase in the level of mRNA for germin-like protein in leaves of the short-day plant Pharbitis nil during the photoperiodic induction of flowering*. Plant Cell Physiol. 37, 855–861.
- ONO M., SAGE-ONO K., YASUI M., OKAZAKI M., HARADA H., 1993. *Changes in polypeptides in Pharbitis nil cotyledons during the first flower-inductive photoperiod*. Plant Sci. 89, 135–145.

- PIÑERIO M., COUPLAND G., 1998. *The control of flowering time and floral identity in Arabidopsis*. Plant Physiol. 117, 1-8.
- PIÑERIO M., GOMEZ-MENA C., SCHAFER R., MARTINEZ-ZAPATA J. M., COUPLAND G., 2003. *EARLY BOLTING IN SHORT DAYS is related to chromatin remodeling factors and regulates flowering in Arabidopsis by repressing FT*. Plant Cell 15, 1552-1562.
- PUTTERILL J., ROBSON F., LEE K., SIMON R., COUPLAND G., 1995. *The CONSTANS gene of Arabidopsis promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc finger transcription factors*. Cell 80, 847-857.
- SAGE-ONO K., ONO M., HARADA H., KAMADA H., 1998a. *Accumulation of a clock-regulated transcript during flower-inductive darkness in Pharbitis nil*. Plant Physiol. 116, 1479-1485.
- SAGE-ONO K., ONO M., HARADA H., KAMADA H., 1998b. *Dark-induced accumulation of mRNA for a homolog of translationally controlled tumor protein (TCTP) in Pharbitis*. Plant Cell Physiol. 39, 357-360.
- SAMACH A., ONOUCHI H., GOLD S. E., DITTA G. S., SCHWARZ-SOMMER Z., YANOFKY M. F., COUPLAND G., 2000. *Distinct roles of CONSTANS target genes in reproductive development of Arabidopsis*. Science 288, 1613-1616.
- SCHOMBURG F. M., PATTON D. A., MEINKE D. W., AMASINO R. M., 2001. *FPA, a gene involved in floral induction in Arabidopsis, encodes a protein containing RNA-cognition motifs*. Plant Cell 13, 1427-1436.
- SIMPSON G. G., DEAN C., 2002. *Arabidopsis, the Rosetta stone of flowering time?* Science 296, 285-289.
- SOPPE W. J. J., JACOBSEN S. E., ALONSO-BLANCO C., JACKSON J. P., KAKUTANI T., KOORNNEEF M., PEETERS A. J. M., 2000. *The late flowering phenotype of fwa mutants is caused by gain-of-function epigenetic alleles of a homeodomain gene*. Mol. Cell 6, 791-802.
- SUAREZ-LOPEZ P., WHEATLEY K., ROBSON F., ONOUCHI H., VELVERDE F., COUPLAND G., 2001. *CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in Arabidopsis*. Nature 410, 1116-1120.
- SUN T. P., KAMIYA Y., 1994. *The Arabidopsis ga1 locus encodes the cyclase ent-kaurene synthetase-A of gibberellin biosynthesis*. Plant Cell 6, 1509-1518.
- SUNG Z. R., CHEN L., MOON Y. -H., LERTPIRIYAPONG K., 2003. *Mechanisms of floral repression in Arabidopsis*. Curr. Opin. Plant Biol. 6, 29-35.
- SZMIDT-JAWORSKA A., JAWORSKI K., TRETYN A., KOPCEWICZ J., 2003a. *Cyclic GMP in the photoperiodic flower induction of Pharbitis nil*. J. Plant Physiol., w druku.
- SZMIDT-JAWORSKA A., JAWORSKI K., TRETYN A., KOPCEWICZ J., 2003b. *Biochemical evidence for cGMP-regulated protein kinase in Pharbitis nil*. Phytochemistry 63, 635-642.
- SMITH J. G., HILL S. R., BALDWIN J. P., 1995. *Plant chromatin structure and post-translational modifications*. Crit. Rev. Plant Sci. 14, 299-328.
- TAKADA S., KOTAKE T., GOTO K., 2002. *Arabidopsis TERMINAL FLOWER2 (TLF2) gene encodes an HP1-like protein and negatively regulates FT expression*. XIII International Conference on Arabidopsis Research, 11-22.
- TALON M., KOORNNEEF M., ZEEVAART J. A. D., 1990. *Accumulation of c19-gibberellins in the gibberellin-insensitive dwarf mutant gai of Arabidopsis thaliana (L) Heynh*. Planta 182, 501-505.
- THIGPEN S. P., SACHS R. M., 1985. *Changes in ATP in relation to floral induction in Pharbitis nil*. Physiol. Plant. 65, 156-162.
- THOMAS B., VINCE-PRUE D., 1997. *Photoperiodism in plants*. Academic Press, London.
- TRETYN A., 1999. *Calcium-dependent signal transduction pathways in plants – phytochrome mechanism of action as an example*. Polish J. Pharmacol. 51, 145-151.
- TRETYN A., KOPCEWICZ J., 1999a. *Mechanizmy kwitnienia roślin. I. Uwarunkowania fizjologiczno-środowiskowe*. Post. Biol. Kom. 26, 231-248.
- TRETYN A., KOPCEWICZ J., 1999b. *Mechanizmy kwitnienia roślin. II. Genetyczna i molekularna kontrola indukcji kwitnienia*. Post. Biol. Kom. 26, 249-266.
- TRETYN A., CYMERSKI M., CZAPLEWSKA J., ŁUKASIEWICZ H., PAWLAK A., KOPCEWICZ J., 1990. *Calcium and photoperiodic flower induction in Pharbitis nil*. Physiol. Plant. 80, 388-392.
- TRETYN A., CZAPLEWSKA J., CYMERSKI M., KOPCEWICZ J., KENDRICK R. E., 1994. *The mechanism of calcium action on flower induction in Pharbitis nil*. J. Plant Physiol. 144, 562-568.
- TRETYN A., KENDRICK R. E., FUJIOKA S., SAKURAI A., 1996. *Cytochemical and histochemical characterization of cotyledonary bodies from Pharbitis nil seedlings*. Protoplasma 191, 205-214.
- TRETYN A., ŁUKASZEWSKA H., KOPCEWICZ J., OLEŃCZUK A., NOWAKOWSKA A., 1997. *The role of cotyledons in photoperiodic flower induction of Pharbitis nil*. [W:] *Travelling shot on plant development*, GREPPIN H., PENEL C., SIMON P. (red.), Univ. Geneva Press, Geneva, 51-62.
- TRETYN A., DĄBROWSKA G., BALCEREK M., TREJGELL A. J., 2002. *Involvement of gene expression in photoperiodic flower induction of Pharbitis nil*. Botanikertagung, Freiburg, 04-09.
- TRETYN A., GŁOWACKA K., GALOCH E., KASPRZAK K., KULIKOWSKA-GULEWSKA H., KOPCEWICZ J., 2003. *Investigation on the chemical nature of flower-inducing factor(s) in short-day plant Pharbitis nil*. [W:] *Phytohormones in plant biotechnology and agriculture*. MACHACKOVA I. (red.). Kluwer Academic Press, Dordrecht, w druku.
- VERBSKY M. L., RICHARDS E. J., 2001. *Chromatin remodeling in plants*. Curr. Opin. Plant Biol. 4, 494-500.
- WAGNER D., 2003. *Chromatin regulation of plant development*. Curr. Opin. Plant Biol. 6, 20-28.
- WAGNER D., MEYEROWITZ E. M., 2002. *SPLAYED, a novel SWI/SNF ATPase homolog, controls reproductive development in Arabidopsis*. Curr. Biol. 12, 85-94.
- WELLER J. L., REID J. B., TAYLOR S. A., MURFET S. A., MURFET I. C., 1997. *The genetic control of flowering in pea*. Trends Plant Sci. 2, 412-418.

- WILSON R. N., HECKMAN J. W., SOMERVILLE C. R., 1992. *Gibberellin is required for flowering in Arabidopsis thaliana under short days*. Plant Physiol. 100, 403–408.
- XU Y. L., LI L., WU K. Q., PEETERS A. J. M., GAGE D. A., ZEEVAART J. A. D., 1995. *The ga5 locus of Arabidopsis thaliana encodes a multifunctional gibberellin 20-oxidase – molecular-cloning and functional expression*. Proc. Natl. Acad. Sci USA 92, 6640–6644.
- YANO M., KATAYOSE Y., ASHIKARI M., YAMANOUCHI U., MONNA L., FUSE T., BABA T., YAMAMOTO K., UMEHARA Y., MAGAMURA Y., SASAKI T., 2000. *Hd1, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering time gene CONSTANS*. Plant Cell 12, 2473–2484.
- YANO M., KOJIMA S., TAKAHASHI Y., LIN H., SASAKI T., 2001. *Genetic control of flowering time in rice, a short-day plant*. Plant Physiol. 127, 1425–1429.
- YANOVSKY M., KAY S.A., 2001. *Signaling networks in the plant circadian system*. Curr. Opin. Plant Biol. 4, 429–435.
- YOFSHIDA N., YANAI Y., CHEN L., KATO Y., HIRATSUKA J., MIWA T., SUNG Z. R., TAKAHASHI S., 2001. *EMBRYONIC FLOWER2, a novel polycomb group protein homolog, mediates shoot development and flowering in Arabidopsis*. Plant Cell 13, 2471–2481.
- YU J., HU S., WANG J. i współaut., 2002. *A draft sequence of the rice genome (Oryza sativa L. ssp. indica)*. Science 296, 79–92.
- ZAGATTA M. T., HIKS K. A., JACOBS C. I., YOUNG J. C., HANGARTEN R. P., MEEKS-WAGNER D. R., 1996. *The Arabidopsis ELF3 gene regulates vegetative photomorphogenesis and the photoperiodic induction of flowering*. Plant J. 10, 691–702.
- ZHENG C.C., BUI A.Q., O'NEILL S.D., 1993. *Abundance of an mRNA encoding a high mobility group DNA-binding protein is regulated by light and an endogenous rhythm*. Plant Mol. Biol. 23, 813–823.