

## FLORIGEN – LEGENDA CZY RZECZYWISTOŚĆ?

### FLORIGEN – LEGEND OR REALITY?

Waldemar WOJCIECHOWSKI, Jacek KĘSY, Jan KOPCEWICZ

Zakład Fizjologii i Biologii Molekularnej Roślin, Instytut Biologii Ogólnej i Molekularnej, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń

*Streszczenie:* 70 lat temu Mikhail Chailakhyan zaproponował hormonalną teorię kwitnienia uważając, że w liściach powstaje specyficzny hormon kwitnienia, florigen, który transportowany jest następnie do wierzchołka wzrostu. Poszukiwanie mitycznego florigenu zakończyło się niepowodzeniem. Badania wykazały jednak, że u podstaw indukcji kwitnienia leży współdziałanie grupy genów charakteryzujących się wysoką aktywnością w obrębie komórek wiązek przewodzących. Mobilny sygnał kwitnienia może być produktem jednego z tych genów bądź to w formie transkryptu mRNA, bądź białka.

*Słowa kluczowe:* florigen, indukcja kwitnienia, geny kwitnienia.

*Summary:* It is almost 70 years since Mikhail Chailakhyan put forward his hormonal theory of flowering induction, which envisaged the leaves producing and exporting to the shoot apex a specific floral hormone which he called „florigen”. The search for isolation of mythical florigen ended unsuccessfully. However, the investigations have shown that fundamental for flower induction is cooperation between family of flowering genes which express high activity in cells of vascular bundles. The mobile flowering signal could be a product of one of them in the form of transcript mRNA or protein.

*Key words:* florigen, flower induction, flowering genes.

*Wykaz skrótów:* **ABA** – abscisic acid; **AP1** – apetala 1, **AP2** – apetala 2, **CO** – *CONSTANS*, **FCA** – *flowering locus CA*, **FD** – *flowering locus D*, **FLC** – *flowering locus C*, **FT** – *flowering locus T*, **FY** – *flowering locus Y*, **GA** – gibberellic acid, gibberellin, **ga1** – *GA requiring 1*, **gai** – *gibberellin insensitive*, **GUS** – *beta-glucuronidase*, **HD1** – *heading date 1*, **HD3a** – *heading date 3a*, **IDI** – *indeterminate 1*, **LFY** – *leafy*, **MFT** – *mother of FT and TFL1*, **SOCI** – *suppressor of overexpression of constans 1*, **TFL1** – *terminal flower 1*, **spy** – *spindly*, **TSF** – *twin sister of FT*.

*Autorzy dedykują tę pracę  
Profesorowi **Marianowi Michniewiczowi**,  
nestorowi badań nad hormonami roślinnymi i kwitnieniem w Polsce*

## 1. WSTĘP

70 lat temu Mikhail Chailakhyan pracując w Instytucie Fizjologii Roślin w Moskwie nad problemem fotoperiodycznej kontroli kwitnienia doszedł do wniosku, że w wyniku indukcji pojawia się w liściach hormon kwitnienia, który nazwał florigenem [16, 17]. Wniosek ten wysnuł na podstawie obserwacji, że sygnał fotoperiodyczny jest przyjmowany przez liście, zaś różnicowanie generatywne zachodzi w wierzchołkach wzrostu, istnieje więc konieczność przekazania informacji i mobilny florigen jest właśnie jej nośnikiem. Również przekazywanie w wyniku szczepień sygnału kwitnienia z zaindukowanych donorów do wegetatywnych receptorów stanowiło podstawę do wysunięcia przez Chailakhyana koncepcji florigenu. Koncepcja ta zakładała więc, że w wyniku indukcji fotoperiodycznej powstaje w liściach specyficzny, uniwersalny hormon kwitnienia – florigen, który przemieszcza się floemem do wierzchołka wzrostu, zmieniając wzorzec jego różnicowania z wegetatywnego na generatywny. Wytworzony w zaindukowanych do kwitnienia roślinach florigen jest także przekazywany drogą szczepień, powodując kwitnienie roślin wegetatywnych. Koncepcja ta została szeroko zaakceptowana i stała się przez kilkadziesiąt lat dominującym sposobem myślenia w badaniach mechanizmów kwitnienia. Okazało się jednak, że istnienia tak rozumianego florigenu nie sposób udowodnić. Z drugiej strony nie sposób także zaprzeczyć, że mobilny sygnał kwitnienia powstaje w liściach, skąd przemieszcza się do wierzchołków wzrostu, a także jest przekazywany drogą szczepień. Do czego więc 70 lat badań nad najbardziej tajemniczym i kontrowersyjnym w fizjologii kwitnienia problemem doprowadziło? Czy teoria mistycznego florigenu jest ciągle żywa, czy jest już tylko wspomnieniem historii, echem zawiedzionych nadziei?

## 2. HISTORIA BADAŃ NAD FLORIGENEM

Badania nad fotoperiodyczną kontrolą kwitnienia prowadzone w latach trzydziestych ubiegłego stulecia przez Chailakhyana, Cholodnego, Moshkova, Kuijpera i innych, doprowadziły do postawienia koncepcji florigenu. Chailakhyan oparł się na faktach, iż liście są organami receptorowymi dla bodźca fotoperiodycznego w kwitnieniu rośliny dnia krótkiego (SDP) *Chrysanthemum indicum* oraz wykazał, że można wywołać indukcję kwitnienia wskutek międzygatunkowego szczepienia między SDP *Helianthus*

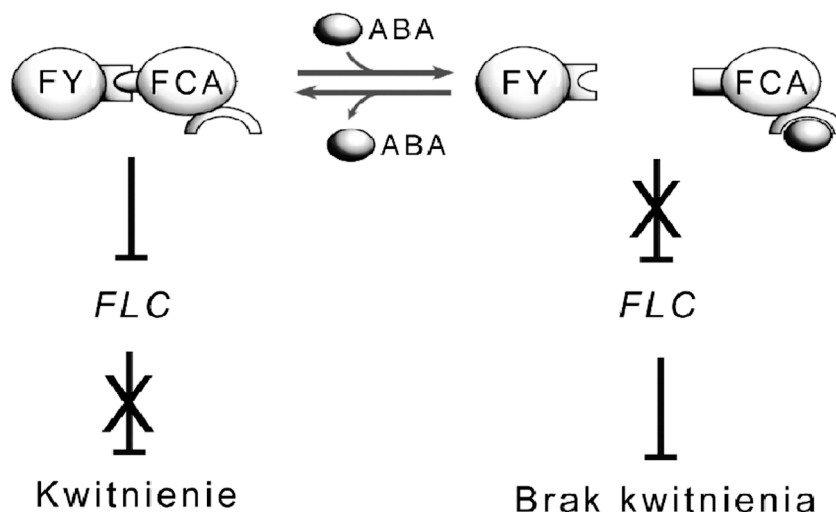
*tuberosus* L. i rośliną neutralną (NDP) *Helianthus annuus* L. [77]. Dalsze badania wykazały, że bodziec kwitnienia jest przekazywalny poprzez różne gatunki roślin należących do różnych typów wrażliwości fotoperiodycznej, a więc pomiędzy SDP i LDP (roślinami dnia długiego), jak również NDP (roślinami neutralnymi) [78]. Wyciągnięto stąd wniosek, że florigen jest uniwersalnym dla wszystkich roślin hormonem kwitnienia. Wydawało się wtedy, że pozostaje tylko kwestia izolacji i chemicznej identyfikacji tej substancji, aby problem mechanizmu indukcji fotoperiodycznej został rozwiązany. Rzeczywistość jednak okazała się dużo bardziej skomplikowana. Szeroko prowadzone badania izolacji florigenu w wielu czołowych pracowniach na świecie kończyły się niepowodzeniami. Badano zarówno ekstrakty z liści, jak i eksudaty floemowe. Generalnie, wielokrotnie uzyskiwano częściowo aktywne w procesie kwitnienia frakcje, ale identyfikacja była albo niemożliwa ze względu na niskie stężenie substancji aktywnych, bądź identyfikowano, w konsekwencji, substancje nieaktywne [21]. Niepowodzenie tych badań prowadziło do frustracji, jednakże porażki tłumaczono niedoskonałością metod izolacji i identyfikacji, jak również brakiem odpowiednich testów kwitnieniowych. W tej sytuacji Anton Lang w 1956 roku odkrył, że gibereliny, jak również bogate w gibereliny ekstrakty z roślin są w stanie wywołać indukcję kwitnienia u rozetowych roślin dnia długiego, także u *Arabidopsis thaliana* rosnących w warunkach nieindukcyjnego dnia krótkiego [43]. Badania te wykazały dużą rolę giberelin w kwitnieniu, a uczestniczył w nich przebywający ówczesnie w pracowni prof. A. Langa w Kalifornii profesor Marian Michniewicz [47] z Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, pionier polskich badań nad hormonami roślinnymi i fizjologią kwitnienia. Wykazanie roli giberelin w kwitnieniu spowodowało, że M. Chailakhyan zmodyfikował w 1958 roku wyjściową koncepcję florigenu, przyjmując, że jest on dwuskładnikowym kompleksem złożonym z giberelin i antezyn [18]. Gibereliny miałyby być odpowiedzialne za tworzenie łodyg kwiatowych, a antezyny, hipotetyczne hormony kwiatowe, za tworzenie kwiatów. Chailakhyan zakładał, że przy nieindukcyjnych fotoperiodach antezyny są limitującym czynnikiem w zakwitaniu SDP, a gibereliny u LDP. Zaczęto więc poszukiwać antezyn. Historia jednak powtórzyła się. Próby izolacji i identyfikacji antezyn kończyły się niepowodzeniami [19]. Powracała frustracja i zniechęcenie. Starano się dalej modyfikować koncepcję florigenu proponując istnienie także antyflorigenu (inhibitora kwitnienia). O kierunku różnicowania wierzchołka wzrostu (wegetatywny/generatywny) decydować miałyby wewnętrzna równowaga florigenu i antyflorigenu [78]. Jednakże brak możliwości potwierdzenia istnienia florigenu doprowadził do redefinicji bodźca kwitnienia i zanegowania jego uniwersalności. Zaczęto kwestionować, że florigen jest substancją drobnocząsteczkową i postulowano kompleksowość jego struktury [10]. Zaobserwowano, że w tworzeniu kwiatów grochu bierze udział dominujący allel *Sn*. Jednocześnie wpływa on jednak także na zwiększenie liczby młodocianych liści, skrócenie międzywęźli, hamowanie rozwoju owoców. W wielu doświadczeniach wykazano, że bodźce kwitnienia przenoszone przez szczepienia wpływają również na inne procesy rozwojowe. Nie są więc uniwersalne czy też wybiórczo specyficzne. Zaczęły się także pojawiać sugestie, że przemieszczający się bodziec kwitnienia może być różny u różnych roślin, co także negowało uniwersalność florigenu [8]. W rezultacie pojawiły się nowe koncepcje tłumaczące mechanizm

kwitnienia, takie jak: hipoteza różnorodności pokarmowej (rola asymilatów) [61], wieloczynnikowy model kwitnienia [9] czy też przyjęcie, że sygnał kwitnieniowy jest natury fizycznej [71]. Zdawać trzeba sobie z tego sprawę, że koncepcje te pojawiły się przede wszystkim z powodu niemożności określenia struktury chemicznej florigenu, jednak przekonanie o potrzebie poznania natury mobilnego induktora kwitnienia pozostało. Badania nad mechanizmami indukcji kwitnienia w erze biologii molekularnej prowadzone są na dwóch poziomach: hormonalnym i molekularno-genetycznym. Wniosły one nowe spojrzenie także na koncepcję florigenu. Zagadnienia te były szeroko omawiane w naszych wcześniejszych pracach przeglądowych [42, 66, 67].

### 3. BADANIA UDZIAŁU SUBSTANCJI NISKOCZĄSTECZKOWYCH W INDUKCJI KWITNIENIA

Zdecydowana większość powstałych modeli kwitnienia przypisywała bodźcom kwitnienia drobnocząsteczkową hormonalną naturę. Naturę taką miał mieć florigen, antyflorigen i antezyny. Jedyną substancją spełniającą w dużej mierze wymagania postawione florigenowi była giberelina. U wielu roślin dnia długiego, jak np. *Samolus parviflorus*, *Rudbeckia bicolor* oraz *Lolium temulentum* gibereliny całkowicie zastępują w indukcji kwitnienia fotoperiod [11, 38]. Zmiany poziomu giberelin w trakcie indukcji kwitnienia u *Lolium temulentum* wykazują przebieg w pełni zgodny z klasyczną teorią Chailakhyana. Percepcja indukcyjnego fotoperiodu wywołuje wzrost poziomu giberelin w liściach, z których są one transportowane do wierzchołka wzrostu pędu, gdzie indukują kwitnienie [37]. Równocześnie u wielu gatunków roślin gibereliny nie tylko nie stymulują indukcji kwitnienia, ale nawet ją hamują [54]. I chociaż z tego względu giberelin nie można nazwać florigenem, to współczesne badania genetyczne wykonane na *Arabidopsis thaliana* potwierdzają jednak istotną rolę tych hormonów w indukcji kwitnienia. W warunkach dnia krótkiego mutant biosyntezy giberelin *gal* nie kwitnie, dopóki nie zostaną dostarczone egzogenne gibereliny [74], natomiast mutant szlaku transdukcji sygnału giberelinowego *gai* kwitnie bardzo późno, a mutant *spy*, charakteryzujący się konstytutywną odpowiedzią na gibereliny jest wcześniej kwitnący [35]. Aktywność genu *LFY* u mutantu *gal* jest obniżona, a jego aktywacja dniem długim jest opóźniona, natomiast u mutantu *spy* rosnącego na dniu krótkim jest podwyższona [14]. Doświadczenia na mutantach, korespondujące w pełni z wcześniejszymi obserwacjami fizjologicznymi, doprowadziły ostatecznie do odkrycia u *Arabidopsis thaliana* zależnego od giberelin szlaku sygnałowego bezpośrednio aktywującego geny kwitnienia (ryc. 2) [12]. Nie wiadomo jednak, czy identyczny szlak funkcjonuje także u innych roślin stymulowanych do kwitnienia przez gibereliny. Wyjaśnienia wymaga również rola giberelin w indukcji kwitnienia u pozostałych roślin.

Pomimo wielu lat badań, mechanizmy działania pozostałych hormonów roślinnych w indukcji kwitnienia nie zostały poznane w takim stopniu jak funkcjonowanie giberelin. Auksyny i etylen zazwyczaj stymulują kwitnienie roślin dnia długiego i hamują indukcję



RYCINA 1. Schemat inaktywacji kompleksu białkowego FCA-FY przez ABA w mechanizmie kontroli aktywności transkrypcyjnej genu *FLC*. Białkowy produkt genu *FLC* jest represorem kwitnienia. Jego ekspresja jest negatywnie regulowana między innymi przez kompleks białkowy FCA-FY. W związku z tym odpowiednio wysoki poziom zagregowanych białek FCA-FY umożliwia roślinie wytworzenie kwiatów. ABA uniemożliwia tworzenie się kompleksów FCA-FY, wskutek czego dochodzi do ekspresji genu *FLC* i wytwarzanie kwiatów nie następuje (na podstawie [62] zmodyfikowany)

roślin dnia krótkiego. Choć zdarzają się pojedyncze przypadki pełnej stymulacji lub hamowania kwitnienia przez te hormony, jak np. indukcja kwitnienia ananasa przez etylen [11], to nie zawsze jest to skorelowane z endogennymi zmianami ich poziomu w trakcie kwitnienia. Eufemistycznie można stwierdzić, że wpływ omawianych hormonów na kwitnienie jest zróżnicowany i zależy od gatunku, wieku czy stanu fizjologicznego rośliny [65]. Jednakże stwierdzenie takie powinno być poparte dalszymi szczegółowymi badaniami nad rolą tych substancji w kwitnieniu. I chociaż nie należy się spodziewać, że którykolwiek z hormonów roślinnych jest chailakhyanowskim florigenem, to ich oddziaływanie ze szlakami sygnałowymi prowadzącymi do zakwitania nie budzi wątpliwości. Ostatnio okazało się na przykład, że jądrowe białko FCA odgrywające istotną rolę w regulacji ekspresji genu *FLC* u *Arabidopsis*, jest receptorem kwasu abscysynowego [57]. Białkowy produkt genu *FLC* jest represorem kwitnienia, a jego ekspresja jest hamowana między innymi przez kompleks białek FCA-FY. Selekttywne wiązanie ABA do białka FCA zapobiega tworzeniu się kompleksu FCA-FY. Prowadzi to do podwyższenia poziomu *FLC*, a w konsekwencji do hamowania kwitnienia (ryc. 1). Uzyskane wyniki badań molekularnych są zgodne z obserwacjami fizjologicznymi, w których egzogeny ABA hamuje kwitnienie *Arabidopsis thaliana*, a mutanty cechujące się niedoborem ABA kwitną wcześniej w warunkach dnia krótkiego [44].

Chociaż znaczenie poszczególnych hormonów roślinnych w procesie indukcji kwitnienia jest jeszcze mało zrozumiałe, należy pamiętać, że uczestniczą one powszech-

nie w regulacji procesów morfogenezy. Udowodniono, że zarówno auksyny, jak i cytokininy i gibereliny pełnią zasadniczą rolę w funkcjonowaniu merystemu wierzchołkowego pędu [29]. Stąd też ich udział w przejściu wierzchołka wzrostu pędu z rozwoju wegetatywnego do generatywnego jest oczywisty. Wszelkiego rodzaju aplikacje hormonów mogą więc modyfikować kwitnienie poprzez ich zaangażowanie w ewokacji lub dyferencjacji kwiatu. Hormony roślinne mogą również uczestniczyć w powstawaniu i transporcie bodźca kwitnienia.

Niejasna rola poszczególnych hormonów w indukcji kwitnienia wynika również z faktu, że wchodzi one w liczne interakcje ze szlakami biosyntezy i szlakami sygnałowymi innych hormonów [27, 69]. Zarówno auksyny, jak i cytokininy silnie stymulują produkcję etylenu [2, 70], natomiast etylen wpływa na transport auksyn [64]. Auksyna stymuluje również biosyntezę giberelin [59]. Dodatkowym elementem zależności pomiędzy różnymi czynnikami regulującymi zakwitanie jest fakt silnego związku metabolizmu cytokinin z metabolizmem cukrów [28].

Doświadczenia fizjologiczne pokazują zaangażowanie w proces kwitnienia również innych regulatorów wzrostu roślin, takich jak: poliaminy, brasinosteroidy, kwas jasmonowy czy kwas salicylowy [24]. Takie substancje jak kwas jasmonowy czy kwas salicylowy prawdopodobnie uczestniczą w indukcji kwitnienia wywoływanej różnego rodzaju środowiskowymi czynnikami stresowymi, jak np. atak patogena, susza, ekstremalne temperatury czy intensywne oświetlenie. Nie jest wykluczone, że wchodzi one w tych procesach w interakcje z etylenem i kwasem abscysynowym.

Ważną rolę w regulacji kwitnienia odgrywają również cukry. Regulacyjna rola tych cząsteczek w procesach wzrostu i rozwoju została szeroko opisana w literaturze, także polskojęzycznej [33, 62]. Na znaczenie cukrów w indukcji kwitnienia wskazują zarówno wcześniejsze badania fizjologiczne, jak i ostatnie badania genetyczno-molekularne. U *Arabidopsis* dodatek sacharozy do pożywki wywołuje częściowe zniesienie efektu fenotypowego wywołanego mutacją genu *CONSTANS* [52, 58], a także stymuluje ekspresję genu *LFY* w siewkach transgenicznych [14]. Rośliny transgeniczne charakteryzujące się podwyższonym poziomem sacharozy kwitną wcześniej niż odpowiednie rośliny nietransformowane [45, 49]. Istotna rola cukrów i substancji azotowych w indukcji kwitnienia u *Sinapis alba* stała się podstawą troficznego teorii indukcji kwitnienia [10]. Jednak cukry, podobnie jak i poszczególne hormony roślinne nie są uniwersalnymi induktorami kwitnienia.

#### **4. BADANIA MOLEKULARNO-GENETYCZNE MECHANIZMÓW INDUKCJI KWITNIENIA**

Prowadzone przez wiele lat badania nad identyfikacją biochemiczną uniwersalnego induktora kwitnienia nie przyniosły spodziewanych wyników. Do prac opartych na szczepieniach oraz doświadczeniach fizjologicznych wprowadzono dodatkowo analizy biochemiczne. Na początku lat 70 ubiegłego wieku zastosowano po raz pierwszy



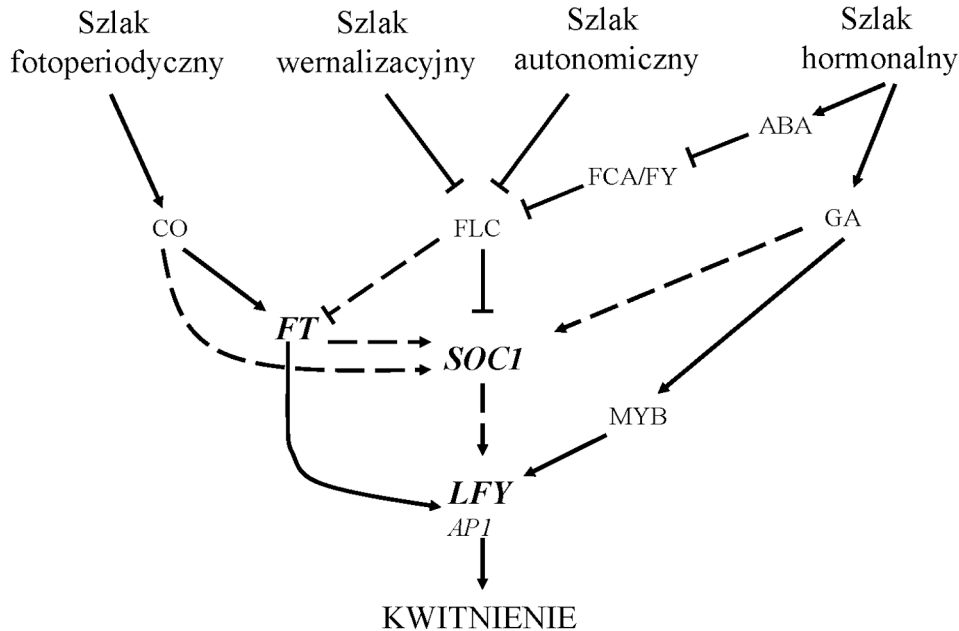
dodatkowo obserwacje mutantów u grochu. Pozwoliły one odkryć szereg mutacji wpływających w sposób znaczący na zakwitanie roślin tego gatunku. Potwierdziły one ponadto jeden z istotnych postulatów teorii Chailakhyana określający miejsce powstawania florigenu. Geny ulegające mutacji, kontrolujące przejście grochu do fazy rozwoju generatywnego funkcjonują w liściach [50]. Dopiero zastosowanie bardziej zaawansowanych technik biologii molekularnej pozwoliło na dokładniejszą identyfikację, charakterystykę oraz poznanie funkcji genów związanych z indukcją kwitnienia. Dużym atutem prowadzonych wtedy prac było zastosowanie do badań mechanizmu indukcji kwitnienia nowego gatunku *Arabidopsis thaliana*, który w krótkim czasie stał się organizmem modelowym w szerokim zakresie prac nad fizjologią i biologią molekularną roślin. Na początku lat 90 zidentyfikowano szereg genów, które w wyniku dalszych analiz okazały się być niezwykle istotne w regulacji mechanizmów indukcji kwitnienia. Opisano mutacje zarówno przyspieszające, jak i opóźniające zakwitanie rzodkiewnika [25, 41, 55, 71, 73]. Dzięki dokładnym analizom biochemicznym, a także badaniom prowadzonym na mutantach genów kwitnienia zidentyfikowano cztery zasadnicze szlaki indukcji kwitnienia: fotoperiodyczny, wernalizacyjny, autonomiczny i hormonalny (giberelinowy) [44]. Jak pokazały dalsze badania, poznane geny funkcjonowały na różnych poziomach szlaków indukcji kwitnienia (ryc. 2). Były wśród nich zarówno geny związane z zegarem biologicznym, geny bezpośrednio zaangażowane w zmiany tożsamości merystematycznej komórek stożka wzrostu, jak również geny determinujące rozwój kolejnych okółków kwiatowych.

Duża ilość zidentyfikowanych genów uczestniczących, w sposób bezpośredni czy też pośredni, w mechanizmach indukcji kwitnienia uniemożliwiała identyfikację jednego uniwersalnego induktora kwitnienia. Bardziej prawdopodobną stała się rozpowszechniona już wtedy wieloczynnikowa koncepcja indukcji kwitnienia [9]. Klasyczna teoria florigenu Chailakhyana zaczęła przechodzić do historii, jednak obecność mobilnego sygnału kwitnieniowego, przemieszczającego się z liści do wierzchołka wzrostu, została potwierdzona w wyniku późniejszych badań.

#### 4.1. Elementy szlaku fotoperiodycznego

Prowadzone przez wiele lat badania pozwoliły na identyfikację oraz precyzyjne określenie mechanizmów funkcjonowania poszczególnych elementów szlaku fotoperiodycznego indukcji kwitnienia. Opisano kolejne etapy odbierania i przekazywania w komórkach liścia bodźców fotoperiodycznych. Wskazano na szczególną rolę w tych przemianach fitochromów i kryptochromów oraz zaprezentowano sposób działania tych fotoreceptorów. Wykazano ponad wszelką wątpliwość, że funkcjonowanie fotoperiodycznej indukcji kwitnienia w znacznej mierze kontrolowane jest przez elementy zegara biologicznego. Zagadnienia te były już omawiane w literaturze polskojęzycznej [26, 79].

Przeprowadzone badania wykazały, że wiodącym w kaskadzie przemian prowadzących do zakwitania w szlaku fotoperiodycznym jest gen *CONSTANS*. W roku 1995 zidentyfikowano kodowane przez ten gen białko jądrowe zawierające domenę palca cynkowego, będące potencjalnym czynnikiem transkrypcyjnym [56]. Mutacja w obrębie genu *CO* u *Arabidopsis thaliana* opóźnia kwitnienie, nadekspresja zaś przyspiesza.



RYCINA 2. Schemat współdziałania szlaków indukcji kwitnienia u *Arabidopsis thaliana*. U podstaw funkcjonowania wszystkich szlaków indukcji kwitnienia leżą modulacje aktywności szeregu genów, efektem których są zmiany zachodzące w ekspresji elementów kluczowych dla poszczególnych dróg prowadzących do zakwitania, tzn. CO, FLC, MYB. Najistotniejsza z punktu widzenia tych oddziaływań jest kontrola transkrypcji genów integratorowych *FT*, *SOCI* i *LFY* przez wspomniane powyżej czynniki. Każdy ze szlaków kontrolowany jest dzięki zmianom aktywności genów wrażliwych na różne warunki środowiskowe lub zmiany natury endogennej. Wśród nich wyróżnić można geny zegara okołodobowego, zaangażowane w szlak fotoperiodyczny czy geny o aktywności modulowanej niską temperaturą. W szlaku autonomicznym i hormonalnym działają jeszcze inne geny, przynajmniej częściowo niezależnie od pozostałych. Sama kontrola indukcji kwitnienia regulowana może być zarówno na poziomie zmian aktywności transkrypcyjnej genów, jak również obróbki potranslacyjnej, a także współdziałania ich produktów białkowych (przygotowano na podstawie [25, 39, 41, 44, 51, 55, 63, 71, 73] zmodyfikowany)

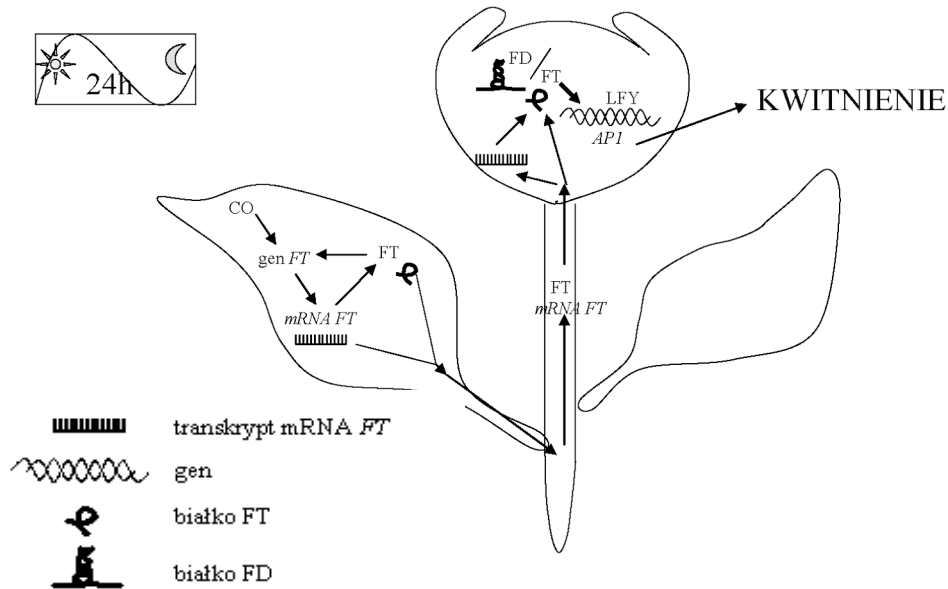
O znaczeniu tego genu dla zjawiska indukcji kwitnienia świadczą też elementy docelowe, regulowane aktywnością kodowanego przezeń białka. Są nimi geny integratorowe szlaków indukcji kwitnienia *SOCI*, *FT* oraz *LFY* (ryc. 2) [39, 51, 63]. Mechanizm działania produktu białkowego genu *CONSTANS* pozostaje wciąż jednak nieznan. Pomimo występowania tak charakterystycznej domeny i podobieństwa do czynników transkrypcyjnych z rodziny GATA1, nie potwierdzono eksperymentalnie zdolności wiązania się tego białka do DNA. Konsekwencją tego stało się założenie, iż do swej aktywności CO wymaga innego czynnika transkrypcyjnego [32]. Aktywność transkrypcyjna CO, a także stabilność jego produktu białkowego znajduje się pod stałą kontrolą zegara okołodobowego [68]. Z drugiej strony CO aktywuje ekspresję genów determinujących wzorec różnicowania komórek merystemu wierzchołkowego. Może być zatem swoistym łącznikiem pomiędzy wczesnymi elementami indukcji a kluczowymi



czynnikami procesu inicjacji (ewokacji) tworzenia kwiatu. Kolejne prace wykazały, że ekspresja genu *CO* zachodzi najefektywniej w komórkach liścia, zaś aktywność produktu białkowego identyfikowano niemal wyłącznie w wiązkach przewodzących [4]. Zgodnie z koncepcją florigenu uniwersalny induktor powstaje w liściach czy liścieniach, a następnie transportowany jest systemem wiązek przewodzących do komórek wierzchołka. Na podstawie doświadczeń ze szczepieniami oraz kontrolowaną ekspresją genu *CO* wysunięto postulat, że to właśnie *CO* może pretendować do roli mitycznego florigenu [6]. Koncepcja ta została jednak zarzucona równie szybko, jak powstała. Powodem były dokładne analizy funkcji genu *FT* w procesie indukcji kwitnienia.

Nowy sposób myślenia o zmianach towarzyszących indukcji kwitnienia pojawił się w efekcie prac prowadzonych na kukurydzy, a dotyczących aktywności genu *ID1* [23]. Na podstawie analizy licznych mutantów wyselekcjonowano gen pozwalający na prawidłowy rozwój wegetatywny roślinie, która nie zakwita. Kodowane przezeń białko zidentyfikowano jako czynnik transkrypcyjny z domeną palca cynowego. Badania aktywności transkrypcyjnej pokazały jednoznacznie, że gen ten ulega ekspresji jedynie w niedojrzałych liściach. Uzyskane wyniki sugerują udział *ID1* w kontroli aktywności transkrypcyjnej genów odpowiedzialnych bezpośrednio za przejście kukurydzy z fazy wzrostu wegetatywnego w generatywny oraz wpływ tego białka na transport induktora kwitnienia systemem wiązek przewodzących do komórek merystematycznych. Podobieństwa strukturalne, lokalizacja aktywności, a także efekt wywierany na roślinę pozwoliły na wysunięcie postulatu, że funkcjonalnym odpowiednikiem *ID1* u roślin dwuliściennych jest *CO* [22]. Ze względu na zdecydowanie dokładniejszą znajomość elementów szlaków indukcji kwitnienia u *Arabidopsis*, kwestią czasu wydawało się zidentyfikowanie regulowanego przez *CO* czynnika determinującego zakwitanie. Podejrzenie niemal automatycznie padło na regulowane przez *CO* geny integrowane szlaków indukcji kwitnienia *SOC1*, *LFY* oraz *FT*. Ostatnie prace pokazują, że najważniejszym z nich jest ten ostatni.

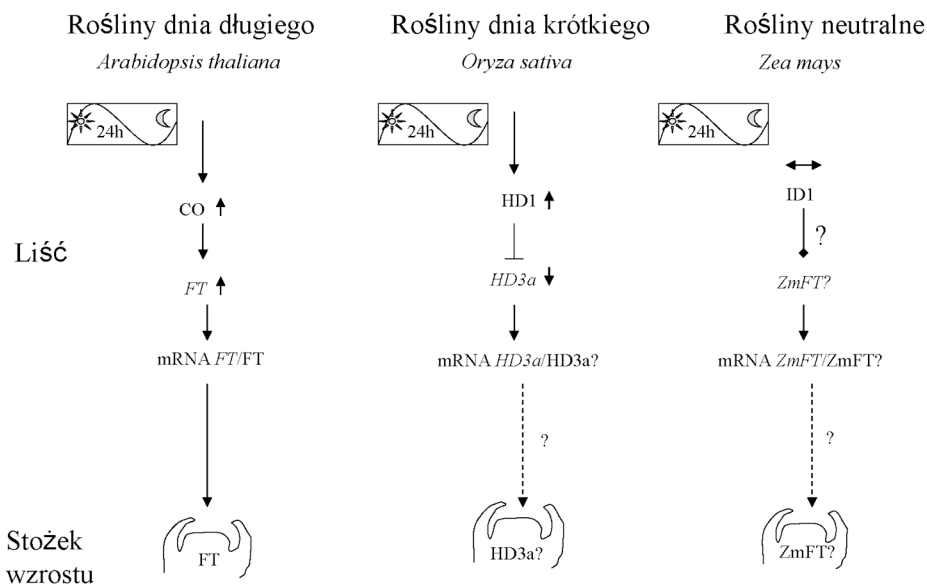
Pierwsze obserwacje mutantu *ft* poczynione zostały już na początku lat 90 [40]. Sam gen wyizolowały niezależnie dwie grupy badawcze [36, 39]. Jak wykazano, *FT* budową przypomina inhibitor kinaz typu *RAF* (*RKIP*), białko występujące u zwierząt, a także białko wiążące fosfatyfyloetanolaminę (*PEBP*). Badania aktywności transkrypcyjnej wykazały obecność mRNA *FT* we wszystkich badanych organach, zaś sama rola tego białka przez długi czas była nieznana. Na podstawie analizy mutantów stwierdzono jedynie, że współdziała ono w kontrolowaniu czasu kwitnienia z innym genem integrowanym *LFY* [60]. Przełom w postrzeganiu roli tego niewielkiego białka (32 kDa) przyniosły późniejsze badania. Zlokalizowano precyzyjnie miejsce pierwotnej ekspresji genu *FT*. Są nim wiązki przewodzące, a dokładniej komórki floemu liści oraz wierzchołka. A więc miejsca, w których może dochodzić do bezpośredniej aktywacji genu *FT* przez białko *CO*. Powstało w związku z tym pytanie, czy *FT* jest mobilnym sygnałem kwitnienia. Badania wykazały, że zlokalizowane w komórkach floemu białko *CO* aktywuje ekspresję genu *FT*. Powstające na bazie tego transkryptu niewielkie białko transportowane jest poprzez floem oraz systemem plazmodezm do komórek merystematycznych stożka wzrostu (ryc. 3) [24].



RYCINA 3. Schemat powstawania oraz transportu sygnału w procesie fotoperiodycznej indukcji kwitnienia u *Arabidopsis thaliana*. Wzrost aktywności transkrypcyjnej genu *CO* w liściach pod wpływem indukcyjnego fotoperiodu powoduje wzmożoną ekspresję genu *FT*. Transkrypt mRNA *FT* bądź białko *FT*, poprzez fiolet transportowane są do komórek wierzchołka wzrostu. Tam białko *FT* współdziałając z czynnikami transkrypcyjnymi, takimi jak *FD* i *LFY*, zwiększa ekspresję genów *LFY* oraz *API* (przygotowano na podstawie [13 i 34] zmodyfikowany)

Odmienny pogląd zaprezentowano na podstawie badań z kontrolowaną lokalną ekspresją *FT*. Obserwacje prowadzono na roślinach transgenicznym, w których gen *FT* znajdował się pod kontrolą promotora białek szoku cieplnego. Zaindukowanie ekspresji genu *FT* już w jednym liściu, pojedynczym bodźcem termicznym było wystarczające do zainicjowania kwitnienia. Stwierdzono ponadto wzrost aktywności transkrypcyjnej genu *FT* w wierzchołku wzrostu już 6 godzin po zadziałaniu bodźca skierowanego na liść. Powyższe obserwacje w zestawieniu z danymi pochodzącymi z kontrolnych roślin zawierających konstrukt z genem *GUS* wykazały, że z liści do komórek stożka wzrostu transportowany jest transkrypt genu *FT* (ryc. 3) [34].

Należy jednak nadmienić, że zaprezentowany model oddziaływań dotyczy tylko wyników prac przeprowadzonych na *Arabidopsis*, roślinie dnia długiego. Powstaje zatem pytanie, na ile sytuacja u *Arabidopsis* ma charakter uniwersalny. Istnieją pewne dane sugerujące, że u roślin o różnej wrażliwości fotoperiodycznej kontrola aktywności genów integratorskich odbiega od modelu opisanego u *Arabidopsis*. Pierwszą wskazówką w tym kierunku mogą być wyniki prac prowadzonych na ryżu, roślinie dnia krótkiego, u której zidentyfikowano kilka genów kwitnienia homologicznych do występujących u rzodkiewnika. Najważniejszymi dla kontroli kwitnienia są *HD1* oraz *HD3*, będące genami homologicznymi do *CO* i *FT*. Zależności w ekspresji tych genów



RYCINA 4. Porównanie kluczowych elementów szlaku kwitnienia u roślin o różnej wrażliwości fotoperiodycznej. Wzrost ilości białka CO oraz jego homologa HD1 zidentyfikowanego u ryżu, wywołują przeciwstawne efekty w kontroli *FT* oraz *HD3a*. Istnienia podobnych zależności nie potwierdzono dotychczas u roślin neutralnych, jednak wydaje się, że mogą one mieć, przynajmniej w zarysie, przebieg podobny do opisanych u pozostałych grup roślin (na podstawie [22] zmodyfikowany). ↑ ↓ – wzrost lub spadek aktywności transkrypcyjnej genów

są jednak całkowicie przeciwstawne do obserwowanych u *Arabidopsis* (ryc. 4). Podwyższony poziom aktywności *HD1* powoduje spadek aktywności *HD3* [30].

Udowodnienie możliwości transportu białka, względnie mRNA *FT* z liści do wierzchołka wzrostu jest poważnym argumentem dla tych, którzy chcą w nim widzieć przemieszczający się sygnał kwitnienia. Jeśli sygnałem mobilnym miałby być transkrypt otwarty, pozostaje pytanie, czy nie wymaga on dodatkowych czynników, np. białek transportujących [13]. Nierozstrzygnięta pozostaje jeszcze jedna kwestia. Z prowadzonych doświadczeń wynika, że gen *FT* podlega pozytywnej autoregulacji przez białko FT. Czy taka pętla pozytywnej sprzężenia zwrotnego ma miejsce tylko w komórkach liścia? Czy wymagane jest ciągłe dostarczanie sygnału indukcji, czy po przetransportowaniu do wierzchołka wzrostu FT całkowicie uniezależnia się od sygnałów płynących z liścia? Wyniki badań pokazują, że w komórkach stożka wzrostu także dochodzi do uaktywnienia podobnego mechanizmu autoregulacji. Sugeruje to, że wystarczającym do zainicjowania kwitnienia powinno być już jednorazowe uaktywnienie genu *FT* oraz przetransportowanie tego sygnału do wierzchołkowych komórek merystematycznych.

Docelowymi dla aktywności FT są geny *LFY* i *APETALA1*. Jak wykazano eksperymentalnie w tym przypadku, FT skazany jest na współdziałanie z FD, czynnikiem transkrypcyjnym należącym do rodziny białek bZIP. Zainicjowanie ekspresji genu *API*

możliwe jest tylko wtedy, gdy obydwa białka obecne są w komórkach stożka wzrostu [1]. Konieczne jest spełnienie jeszcze jednego warunku, którym jest wzrost aktywności transkrypcyjnej genu *LFY*, również zaangażowanego w kontrolę ekspresji *API*. Wynika z tego, że do zainicjowania kwitnienia wymagane jest współdziałanie przynajmniej kilku czynników aktywnych.

Jak widać, ostatnie dokonania zmieniają nasze poglądy na proces powstawania, transportu oraz rodzaj induktora kwitnienia. Upraszczając całą sprawę można uważać, że u podstaw indukcji kwitnienia leży współdziałanie niewielkiej grupy genów charakteryzujących się najwyższą aktywnością w obrębie komórek wiązek przewodzących. Mobilny zaś sygnał jest produktem jednego z tych genów czy to w formie transkryptu mRNA czy białka.

Trzeba jednak zachować ostrożność, bo gdyby mechanizm kwitnienia był tak prosty, to możliwe byłoby łatwe zahamowanie kwitnienia np. mutacją genu *FT*. Takiej zależności jednak nie sposób zaobserwować nie tylko w przypadku tego genu. Nie udało się dotychczas uzyskać u *A. thaliana* mutantu, który w ogóle nie zakwita. Powodem takiego stanu rzeczy jest mnogość szlaków indukcji kwitnienia, a także wielość odpowiadających sobie funkcjonalnie czynników w tych szlakach modulujących proces indukcji kwitnienia. Ponadto, jak pokazały niedawne badania, *FT* jest tylko jednym z członków rodziny czynników mających wpływ na indukcję kwitnienia. Należą do niej m.in. takie geny, jak *TSF*, *MFT* czy *TFL1*. Pierwszy z nich również ulega ekspresji w komórkach floemu i funkcjonuje częściowo w sposób podobny, równoległe do *FT* [75]. Wzrost aktywności transkrypcyjnej drugiego z tych genów także skutkuje przyspieszeniem zakwitania [76]. Przeciwnie działanie stwierdzono w przypadku genu *TFL1*, opóźniającego kwitnienie. Antagonistyczne działanie względem *FT* jest jeszcze bardziej zastanawiające ze względu na sposób regulacji, jakiej gen ten podlega. Jak wykazano, zarówno *FT*, jak i *TFL1* regulowane są pozytywnie przez *CO*, jednak ich funkcjonowanie wydaje się być niezależne [36].

Ciekawy mechanizm kontroli indukcji kwitnienia funkcjonuje w szlaku wernalizacyjnym czy autonomicznym (ryc. 2). Kluczową rolę odgrywa tu także gen *FT* lub czynniki mu pokrewne. Z wcześniejszych badań wiadomo, że kluczowym dla funkcjonowania obydwu szlaków jest produkt genu *FLC*. Jest on w tych szlakach nadrzędnym inhibitorem kwitnienia. Efektem działania *FLC* jest zahamowanie transkrypcji, m.in. genu *FT* [46]. Początkowe prace wskazywały na wierzchołek wzrostu jako główne miejsce percepcji bodźców temperaturowych. Potwierdzała to także aktywność transkrypcyjna genu *FLC*, którego największe ilości identyfikowano w wierzchołku wzrostu pędu i korzenia [3]. Transkrypt tego genu wykrywany jest jednak także w liściach [31]. Gdzie wobec tego *FLC* hamuje aktywność *FT*: w liściach czy w komórkach wierzchołka wzrostu? A może mamy do czynienia z dwoma niezależnymi mechanizmami, w których to szlak autonomiczny inaktywuje transkrypcję *FLC* umożliwiając w liściach powstawanie *FT*. Podczas gdy wernalizacja na zasadzie podobnego mechanizmu wyłącza ten gen w obrębie stożka wzrostu odblokowując transkrypcję genu *FT*.

Jak widać, pytań dotyczących modelu powstawania mobilnego induktora kwitnienia jest wiele. Jak wiele może być samych induktorów, tego nie wiemy. Wydaje się, że *FT* jest jednym z głównych, ale nie jedynym. Postulowany w teorii florigenu mobilny sygnał

kwitnienia niewątpliwie jednak istnieje. W tym zakresie Chailakhyan nie mylił się. Mylił się tylko co do natury florigenu.

#### 4.2. Regulatorowe RNA jako bodziec kwitnienia

Niezwykle ciekawe było odkrycie kilka lat temu nowego, regulatorowego rodzaju RNA, charakteryzującego się wysoką specyficznością działania oraz możliwością rozprzestrzeniania się w roślinie. Określono go mianem niskocząsteczkowego RNA (sRNA). Dokładniejsze badania pokazały, że wśród tego typu cząsteczek wyróżnić możemy dwie klasy, z których dla procesów rozwoju i różnicowania roślin ważniejsze jest mikro RNA (miRNA). Prowadzone dotychczas prace pozwoliły scharakteryzować u *Arabidopsis thaliana* kilkaset genów kodujących różne miRNA [7, 15, 48, 72]. Znajdują się wśród nich także takie, które w sposób bezpośredni lub pośredni wpływają na procesy różnicowania generatywnego związane z funkcjonowaniem szlaków indukcji kwitnienia [5, 20].

Nadekspresja miR172 – jednego z miRNA – w siewkach *Arabidopsis* powoduje przyspieszenie kwitnienia i zaburzenie tożsamości organów kwiatowych [53]. miR172 oddziałuje z mRNA białek czynników transkrypcyjnych z rodziny APETALA2, hamując ich translację. Chociaż lokalizacja miR172 w genetycznych szlakach kontrolujących kwitnienie nie została jeszcze precyzyjnie określona, wydaje się, że funkcjonuje on powyżej genów *SOC1* i *FT* [5]. W regulację kwitnienia zaangażowany jest również inny sRNA – miR159. Jego nadekspresja w siewkach *Arabidopsis* powoduje obniżenie poziomu transkryptu *MYB33* i *LFY*. Wskutek tego następuje opóźnienie kwitnienia roślin uprawianych w warunkach dnia długiego. Białko MYB33 jest pozytywnym czynnikiem w giberelinowej regulacji kwitnienia u *Arabidopsis* w warunkach dnia krótkiego. Wykazano również, że poziom miR159 jest pozytywnie regulowany przez same gibereliny, co wskazuje na złożony charakter udziału miR159 w regulacji kwitnienia.

### 5. PODSUMOWANIE

Czy wobec przedstawionych powyżej faktów teoria Chailakhyana jest nadal aktualna, czy też powinna znaleźć się już tylko w pamięci historycznej. Jednoznaczna odpowiedź na to pytanie jest trudna. W koncepcji Chailakhyana istnieją bowiem słuszne i niesłuszne postulaty.

Podstawowe założenie teorii Chailakhyana mówi, że induktor kwitnienia powstaje w liściach lub liścieniach. Z badań nad mechanizmami działania szlaku fotoperiodycznego bezwzględnie wynika, że zasadnicze dla indukcji zmiany mają miejsce właśnie w tych organach. Co więcej, centrum tych przemian mieści się w okolicach wiązek przewodzących, miejsc, którymi sygnał transportowany jest z liści do wierzchołka wzrostu. Stwierdzono, że co najmniej jeden z elementów szlaków indukcji kwitnienia (FT) jest cząsteczką mobilną, transportowaną w formie transkryptu mRNA bądź

peptydu, z komórek liści do wierzchołka wzrostu. Stanowi to niejako urzeczywistnienie wizji Chailakhyana o transporcie induktora kwitnienia, sama jednak natura tego induktora jest inna. Nie jest on drobnocząsteczkowym hormonem, chociaż oczywiste jest, że Chailakhyan nie mógł 70 lat temu przewidzieć istnienia mRNA, czy też wyobrazić sobie transportowanych w obrębie całego organizmu białek czy peptydów. Zakładał on przemieszczanie się substancji drobnocząsteczkowej. Takiego specyficznego i uniwersalnego dla wszystkich roślin florigenu nie ma. Funkcjonowanie układów hormonalnych jest oczywiście niezwykle istotne dla tego procesu i z całą pewnością muszą one być uwzględniane w teorii opisującej całościowo mechanizm indukcji kwitnienia, ale nie one są mobilnymi sygnałami kwitnienia. Najwięcej wątpliwości budzi założenie Chailakhyana dotyczące uniwersalności induktora kwitnienia. Jak pokazują wyniki badań prowadzonych na *A. thaliana*, a także na innych gatunkach roślin, czynników kontrolujących zakwitanie jest wiele. Wiele jest też dróg prowadzących do wytworzenia kwiatów. Jak pokazały wyniki badań kilku ostatnich lat prowadzonych głównie na *Arabidopsis*, szlaków kontrolujących kwitnienie można wyodrębnić przynajmniej kilka. Wydaje się, że aktywność zdecydowanej większości z nich, jeśli nie wszystkich, skupia się na niewielkiej grupie genów integratorowych, których wzrost aktywności transkrypcyjnej jest warunkiem koniecznym inicjacji kwitnienia. Wśród genów integratorowych szczególną rolę odgrywa gen *FT*.

Tak więc teoria Chailakhyana ma już znaczenie głównie historyczne. Uniwersalnego drobnocząsteczkowego hormonu – florigenu nie ma. Jednakże koncepcja florigenu przez 70 lat inspirowała do badań mechanizmów kwitnienia, przez co wniosła wielki wkład do postępu wiedzy w tej dziedzinie. Poszukiwanie zaś mobilnych induktorów kwitnienia jest dalej aktualne. Wyjaśnienia wymaga także mechanizm przekazywania sygnału kwitnienia poprzez szczepienia roślin.

## LITERATURA

- [1] ABE M, KOBAYASHI Y, YAMAMOTO S, DAIMON Y, YAMAGUCHI A, IKEDA Y, ICHINOKI H, NOTAGUCHI M, GOTO K, ARAKI T. FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. *Science* 2005; **309**: 1052–1056.
- [2] ABEL S, NGUYEN MD, CHOW W, THEOLOGIS A. ACS4, a primary indoleacetic acid-responsive gene encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* 1995; **270**: 19093–19099.
- [3] AMASINO R. Vernalization, competence, and the epigenetic memory of Winter. *Plant Cell* 2004; **16**: 2553–2559.
- [4] AN H, ROUSSOT C, SUAREZ-LOPEZ P, CORBESIER L, VINCENT C, PINEIRO M, HEPWORTH S, MOURADOV A, JUSTIN S, TURNBULL C, COUPLAND G. CONSTANS acts in the phloem to regulate a systemic signal that induces photoperiodic flowering of *Arabidopsis*. *Development* 2004; **131**: 3615–3626.
- [5] AUKERMAN MJ, SAKAI H. Regulation of flowering time and floral organ identity by a microRNA and its *APETALA2*-like target genes. *Plant Cell* 2003; **15**: 2730–2741.
- [6] AYRE BG, TURGEON R. Graft transmission of a floral stimulant derived from CONSTANS. *Plant Physiol* 2004; **135**: 2271–2278.
- [7] BARTEL DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; **116**: 281–297.



- [8] BERNIER G. The flowering process as an example of plastic development. W: Jennings DH, Trewavas AJ (eds.). *Plasticity in plants*. The Company of Biologists, Cambridge 1986: 257–286.
- [9] BERNIER G. The control of floral evocation and morphogenesis. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1988; **39**: 175–219.
- [10] BERNIER G, HAVELANGE A, HOUSSA C, PETITJEAN A, LEJEUNE P. Physiological signals that induce flowering. *Plant Cell* 1993; **5**: 1147–1155.
- [11] BERNIER G, KINET JM, SACHS RM. The physiology of flowering 1981; Vol. I, II, CRC Press, Boca Raton, FL.
- [12] BLÁZQUEZ MA. Flower Development Pathways. *J Cell Sci* 2000; **113**: 3547–3548.
- [13] BLÁZQUEZ MA. Plant science. The right time and place for making flowers. *Science* 2005; **309**: 1024–1025.
- [14] BLÁZQUEZ MA, GREEN R, NILSSON O, SUSSMAN MR, WEIGEL D. Gibberellins promote flowering of *Arabidopsis* by activating the *LEAFY* promoter. *Plant Cell* 1998; **10**: 791–800.
- [15] BURG SP, BURG EA. The interaction between auxin and ethylene and its role in plant growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1966; **55**: 262–269.
- [16] CHAILAKHYAN MKH. On the hormonal theory of plant development. *CR (Dokl) Aca Sci URSS* 1936; **12**: 443–447.
- [17] CHAILAKHYAN MKH. Concerning the hormonal nature of plant development processes. *CR (Dokl.) Acad Sci URSS* 1937; **16**: 227–230.
- [18] CHAILAKHYAN MKH. Hormonale Faktoren des Pflazenblühens. *Bio Zbl* 1958; **77**: 641–662.
- [19] CHAILAKHYAN MKH, LOZHNKOVA V, SEIDLOVA F, KREKULE J, DUDKO N, NEGRETZKY V. Floral and growth responses in *Chenopodium rubrum* L. to an extract from flowering *Nicotiana tabacum* L. *Planta* 1989; **178**: 143–146.
- [20] CHEN X. A microRNA as a translational repressor of *APETALA2*. *Arabidopsis* flower development. *Science* 2004; **303**: 2022–2025.
- [21] CLELAND CF. The flowering enigma. *Bioscience* 1978; **28**: 265–269.
- [22] COLASANTI J. Decoding the floral stimulus: what's next? *Flowering Newslett* 2005; **40**: 24–26.
- [23] COLASANTI J, YUAN Z, SUNDARESAN V. The indeterminate gene encodes a zinc finger protein and regulates a leaf-generated signal required for the transition to flowering in maize. *Cell* 1998; **93**: 593–603.
- [24] CORBESIER L, COUPLAND G. Photoperiodic flowering of *Arabidopsis*: Integrating genetic and physiological approaches to characterization of the floral stimulus. *Plant Cell Environ* 2005; **28**: 54–66.
- [25] COUPLAND G. Genetic and environmental control of flowering time in *Arabidopsis*. *Trends Genet* 1995; **11**: 393–397.
- [26] FRANKOWSKI K, KEŚY J, KOPCEWICZ J. Fitochrom i transdukcja sygnału świetlnego. *Post Biochem* 2001; **47**: 184–191.
- [27] GAZZARRINI S, MCCOURT P. Cross-talk in plant hormone signalling: what *Arabidopsis* mutants are telling us. *Ann Bot* 2003; **91**: 605–612.
- [28] HAVELANGE A, LEJEUNE P, BERNIER G. Sucrose/cytokinin interaction in *Sinapis alba* at floral induction: a shoot-to-root-to-shoot physiological loop. *Physiol Plant* 2000; **109**: 343–350.
- [29] HAY A, CRAFT J, TSIANTIS M. Plant hormones and homeoboxes: bridging the gap? *BioEssays* 2004; **26**: 395–404.
- [30] HAYAMA R, YOKOI S, TAMAKI S, YANO M, SHIMAMOTO K. Adaptation of photoperiodic control pathways produces short-day flowering in rice. *Nature* 2003; **422**: 719–722.
- [31] HE Y, MICHAELS SD, AMASINO RM. Regulation of flowering time by histone acetylation in *Arabidopsis*. *Science* 2003; **302**: 1751–1754.
- [32] HEPWORTH SR, VALVERDE F, RAVENSCROFT D, MOURADOV A, COUPLAND G. Antagonistic regulation of flowering-time gene *SOC1* by CONSTANS and FLC via separate promoter motifs. *EMBO J* 2002; **21**: 4327–4337.
- [33] HETMAN A, KOWALCZYK S. Mono- i disacharydy drożdżowymi, roślinnymi i zwierzęcymi cząsteczkami sygnałowymi regulującymi ekspresję genów. *Post Biol Kom* 2003; **30**: 87–113.
- [34] HUANG T, BOHLENIUS H, ERIKSSON S, PARCY F, NILSSON O. The mRNA of the *Arabidopsis* gene *FT* moves from leaf to shoot apex and induces flowering. *Science* 2005; **309**: 1694–1696.
- [35] JACOBSEN SE, OLSZEWSKI NE. Mutations at the *SPINDLY* locus of *Arabidopsis* alter gibberellin signal transduction. *Plant Cell* 1993; **5**: 887–896.

- [36] KARDAILSKY I, SHUKLA VK, AHN JH, DAGENAIS N, CHRISTENSEN SK, NGUYEN JT, CHORY J, HARRISON MJ, WEIGEL D. Activation tagging of the floral inducer *FT*. *Science* 1999; **286**: 1962–1965.
- [37] KING RW, EVANS LT. Gibberellins and flowering of grasses and cereals: Prizing open the lid of the “florigen” black box. *Annu Rev Plant Biol* 2003; **54**: 307–328.
- [38] KING RW, MORITZ T, EVANS LT, JUNTILLA O, HERLT AJ. Long-day induction of flowering in *Lolium temulentum* involves sequential increases in specific gibberellins at the shoot apex. *Plant Physiol* 2001; **127**: 624–632.
- [39] KOBAYASHI Y, KAYA H, GOTO K, IWABUCHI M, ARAKI T. A pair of related genes with antagonistic roles in mediating flowering signals. *Science* 1999; **286**: 1960–1962.
- [40] KOORNNEEF M, HANHART CJ, VAN DER VEEN JH. A genetic and physiological analysis of late flowering mutants in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Gen Genet* 1991; **229**: 57–66.
- [41] KOORNNEEF M, PETERS AJM. Floral transition mutants in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ* 1997; **20**: 779–784.
- [42] KOPCEWICZ J, KULIKOWSKA-GULEWSKA H, CYMERSKI M. Fotoperiodyczna indukcja kwitnienia roślin. *Wiad Bot* 1993; **37**: 73–85.
- [43] LANG A. Physiology of flower initiation. W: Ruhland W. (ed.) *Encyclopedia of Plant Physiology*, Springer-Verlag, Berlin 1965; **15**: 1380–1536.
- [44] MARTINEZ-ZAPATER JM, COUPLAND G, DEAN C, KOORNNEEF M. The transition to flowering in *Arabidopsis*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, wyd. Cold Spring Harbor, NY 1994; pod red. Mayerowitz EM, Somerville CR: 403–433.
- [45] MICALLEG B, HASKINS KA, VANDERVEER PJ, ROH KS, SHEWMAKER CK, SHARKEY TD. Altered photosynthesis, flowering, and fruiting in transgenic tomato plants that have an increased capacity for sucrose synthesis. *Planta* 1995; **196**: 327–334.
- [46] MICHAELS SD, AMASINO RM. *FLOWERING LOCUS C* encodes a novel MADS domain protein that acts as a repressor of flowering. *Plant Cell* 1999, **11**: 949–956.
- [47] MICHNIEWICZ M, LANG A. Effect of nine different gibberellins on stem elongation and flower formation in cold-requiring and photoperiodic plants grown under non-inductive conditions. *Planta* 1962; **58**: 549–563.
- [48] MLOTSHWA S, VOINET O, METTE MF, MATZKE M, VAUCHERET H, DING SW, PRUSS G, VANCE VB. RNA silencing and the mobile silencing signal. *Plant Cell* 2002; **14**: 289–301.
- [49] MÜLLER-RÖBER B, SONNEWALD U, WILLMITZER L. Inhibition of the ADP-glucose pyrophosphorylase in transgenic potatoes leads to sugar-storing tubers and influences tuber formation and expression of tuber storage protein genes. *EMBO J* 1992; **11**: 1229–1238.
- [50] MURFET IC. Flowering in *Pisum*: three distinct phenotypic classes determined by the interaction of a dominant early and a dominant late gene. *Heredity* 1971; **26**: 243–257.
- [51] NILSSON O, LEE I, BLAZQUEZ MA, WEIGEL D. Flowering-time genes modulate the response to *LEAFY* activity. *Genetics* 1998; **150**: 403–410.
- [52] OHTO M, ONAI K, FURUKAWA Y, AOKI E, ARAKI T, NAKAMURA K. Effects of sugar on vegetative development and floral transition in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2001; **127**: 252–261.
- [53] PARK W, LI J, SONG R, MESSING J, CHEN X. CARPEL FACTORY, a Dicer homolog, and HEIN1, a novel protein, act in microRNA metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *Curr Biol* 2002; **12**: 1484–1495.
- [54] PHARIS RP, KING RW. Gibberellins and reproductive development in seed plants. *Ann Rev Plant Physiol* 1985; **36**: 517–568.
- [55] PINEIRO M, COUPLAND G. The control of flowering time and floral identity in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 1998; **117**: 1–8.
- [56] PUTTERILL J, ROBSON F, LEE K, SIMON R, COUPLAND G. The *CONSTANS* gene of *Arabidopsis* promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc finger transcription factors. *Cell* 1995; **80**: 847–857.
- [57] RAZEM FA, EL-KEREAMY A, ABRAMS SR, HILL RD. The RNA-binding protein FCA is an abscisic acid receptor. *Nature* 2006; **439**: 290–294.
- [58] ROLDÁN M, GÓMEZ-MENA C, RUIZ-GARCÍA L, SALINAS J, MARTÍNEZ-ZAPATER JM. Sucrose availability on the aerial part of the plant promotes morphogenesis and flowering of *Arabidopsis* in the dark. *Plant J* 1999; **20**: 581–590.
- [59] ROSS JJ, O’NEILL DP, SMITH JJ, KERCKHOFFS LHJ, ELLIOTT RC. Evidence that auxin promotes gibberellin A1 biosynthesis in pea. *Plant J* 2000; **21**: 547–552.

- [60] RUIZ-GARCIA L, MADUENO F, WILKINSON M, HAUGHN G, SALINAS J, MARTINEZ-ZAPATER JM. Different roles of flowering-time genes in the activation of floral initiation genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 1997; **9**: 1921–1934.
- [61] SACHS RM, HACKETT WP. Chemical control of flowering. *Acta Hort* 1977; **68**: 29–49.
- [62] SCHROEDER JI, KUHN JM. Abscisic acid in bloom. *Nature* 2006; **439**: 277–278.
- [63] SHEEN J, ZHOU L, JANG J-C. Sugars as signaling molecules. *Curr Opin Plant Biol* 1999; **2**: 410–418.
- [64] SUAREZ-LOPEZ P, WHEATLEY K, ROBSON F, ONOUCHI H, VALVERDE F, COUPLAND G. CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*. *Nature* 2001; **410**: 1116–1120.
- [65] SUTTLE JC. Effect of ethylene treatment on polar IAA transport, netIAA uptake and specific binding of N-1-naphthylphthalamic acid in tissues and microsomes isolated from etiolated pea epicotyls. *Plant Physiol* 1988; **88**: 795–799.
- [66] TAKENO K. Is florigen concept still alive? *Flowering Newslett* 1999; **28**: 54–58.
- [67] TRETYN A, KOPCEWICZ J. Mechanizmy kwitnienia roślin. I. Uwarunkowania fizjologiczno-środowiskowe. *Post Biol Kom* 1999; **26**: 231–248.
- [68] TRETYN A, KOPCEWICZ J. Mechanizmy kwitnienia roślin. II. Genetyczna i molekularna kontrola indukcji kwitnienia. *Post Biol Kom* 1999; **26**: 249–266.
- [69] VALVERDE F, MOURADOV A, SOPPE W, RAVENSCROFT D, SAMACH A, COUPLAND G. Photoreceptor regulation of CONSTANS protein in photoperiodic flowering. *Science* 2004; **303**: 1003–1006.
- [70] VANDENBUSSCHE F, VAN DER STRAETEN D. Shaping the shoot: a circuitry that integrates multiple signals. *Trends Plant Sci* 2004; **9**: 499–506.
- [71] VOGEL JP, SCHUERMAN P, WOESTE K, BRANDSTATTER I, KIEBER JJ. Isolation and characterization of *Arabidopsis* mutants defective in the induction of ethylene biosynthesis by cytokinin. *Genetics* 1998; **149**: 417–427.
- [72] von ARNIM AG, OSTERLUND MT, KWOK SF, DENG XW. Genetic and developmental control of nuclear accumulation of COP1, a repressor of photomorphogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 1997; **114**: 779–788.
- [73] WAGNER E, NORMANN J, ALBRECHTOVA JTP, WALCZYNSKO P, BONZON M, GREPPIN H. Electrochemical-hydraulic signalling in photoperiodic control of flowering: Is florigen a frequency coded electric signal? *Flowering Newslett* 1998; **26**: 62–74.
- [74] WEIGEL D. The genetics of flower development: from floral induction to ovule morphogenesis. *Annu Rev Genet* 1995; **29**: 19–39.
- [75] WILSON RN, HECKMAN JW, SOMERVILLE CR. Gibberellin is required for flowering in *Arabidopsis thaliana* under short days. *Plant Physiol* 1992; **100**: 403–408.
- [76] YAMAGUCHI A, KOBAYASHI Y, GOTO K, ABE M, ARAKI T. TWIN SISTER OF FT (TSF) acts as a floral pathway integrator redundantly with FT. *Plant Cell Physiol* 2005; **46**: 1175–1189.
- [77] YOO SY, KARDAILSKY I, LEE JS, WEIGEL D, AHN JH. Acceleration of flowering by overexpression of *MFT* (*MOTHER OF FT AND TFL1*). *Mol Cells* 2004; **17**: 95–101.
- [78] ZEEVAART JAD. Flower formation as studied by grafting. *Mededel Landbouwhogeschool Wageningen* 1958; **53**: 1–88.
- [79] ZEEVAART JAD. Physiology of flower formation. *Annu Rev Plant Physiol* 1976; **27**: 321–348.
- [80] ZIENKIEWICZ A, TRETYN A, KOPCEWICZ J. Molekularne i fizjologiczne podstawy funkcjonowania roślinnego zegara okołodobowego. *Post Biol Kom* 2004; **31**: 607–623.

*Redaktor prowadzący – Maria Olszewska*

*Otrzymano: 30.08. 2006 r.*

*Przyjęto: 14.11. 2006 r.*

*ul. Gagarina 41/210, 87-100 Toruń,*

*wojc@biol.uni.torun.pl*