

FOTOPERIODYCZNA INDUKCJA KWITNIENIA ROŚLIN KRÓTKIEGO DNIA

Photoperiodic flower induction of short-day plants

Grażyna DĄBROWSKA, Anna GOC, ANDRZEJ TRETYN

Summary. Flowering of many plant species is induced by exposure to accurate photoperiod. It has been demonstrated that leaves or cotyledons are the sites of the photoperiodic perception. Phytochromes are essential components of the daylength-measuring mechanism, and which interact with the circadian rhythms. Recent development in plant molecular biology and genetics has revealed a direct relationship between genes expression and plant responses to developmental and environmental stimuli during flower induction. In this paper the some details related to molecular mechanism of floral induction in short-day plants and current stage of knowledge about their flowering have been described.

Key words: flowering, gene expression, *Pharbitis nil*

Dr Grażyna Dąbrowska, dr Anna Goc, Pracownia Genetyki, Instytut Biologii Ogólnej i Molekularnej, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, ul. Gagarina 9, 87–100 Toruń, e-mail: dabrow@biol.uni.torun.pl

Prof. dr hab. Andrzej Tretyn, Zakład Biotechnologii, Instytut Biologii Ogólnej i Molekularnej, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, ul. Gagarina 9, 87–100 Toruń

FOTOPERIODYZM

Kwitnienie roślin jest jednym z najbardziej istotnych procesów fizjologicznych zapewniających ciągłość gatunku i decydującym o jego przetrwaniu. Z tego powodu mechanizmy regulujące ten proces muszą być precyzyjne i uniezależnione od przypadkowych wpływów zewnętrznych. W regulacji przechodzenia roślin z fazy wegetatywnej do generatywnej biorą udział zarówno czynniki wewnętrzne, jak i czynniki środowiskowe (światło, temperatura). Ich rola jednak nie u wszystkich roślin jest taka sama [20].

Wiele hipotez starających się tłumaczyć mechanizm przejścia roślin do fazy generatywnej zakłada, że gotowość do kwitnienia polega na uzyskaniu przez roślinę zdolności do tworzenia poza wierzchołkami pędu określonych impulsów czy czynników (induktorów) kwitnienia, które przemieszczając się w roślinie do wierz-

chołka pędu powodują jej przejście w fazę generatywną. Związane jest to ze zróżnicowaną ekspresją genów kontrolujących proces morfogenezy kwiatów lub kwiatostanów.

Kwitnienie wywołuje zmiany we wzorcu różnicowania się merystemu wierzchołka pędu, w jego organizacji i aktywności metabolicznej. Przejście roślin do fazy generatywnej jest konsekwencją procesów metabolicznych zachodzących podczas kolejnych etapów, takich jak: indukcja kwitnienia, transdukcja sygnału kwitnienia z liści (liścieni) do merystemu wierzchołka pędu, ewokacja (inicjacja zawiązków kwiatowych), morfogeneza kwiatu [31].

Indukcja kwitnienia warunkuje przejście z fazy wegetatywnej do fazy generatywnej i jest związana z odblokowaniem genów w komórkach liścieni lub liści. Fotoperiodyczny sygnał kwitnienia jest odbierany przez liścienie lub liście i następnie przenoszony do merystemu wierzchołka pędu. W merystemie wierzchołka pędu następuje, w wyniku dotarcia bodźca kwitnie-

nia, zapoczątkowanie procesów inicjacji związków kwiatowych (ewokacja). Ostatnim, czwartym etapem w zjawisku kwitnienia jest morfogeneza elementów kwiatowych [10, 5].

W strefie klimatu umiarkowanego tylko w przypadku nielicznych gatunków roślin czynniki środowiskowe (temperatura, światło) nie mają wpływu na kwitnienie. Uznaje się, że rozwój generatywny tych roślin jest regulowany przez czynniki wewnętrzne (np. fitohormony) [61, 54]. Kwitnienie większości roślin zależy jednak od czynników zewnętrznych, takich jak odpowiednie warunki termiczne i/lub świetlne, które decydują o możliwości różnicowania generatywnego tych roślin. Wyróżnia się rośliny dnia krótkiego (SD) i długiego (LD) [20]. Rośliny neutralne przechodzą do fazy generatywnej bez wyraźnego udziału bodźców termicznych czy fotoperiodycznych, zaś rośliny wrażliwe na czynniki środowiskowe (czyli krótkiego lub długiego dnia) wkraczają w fazę rozwoju generatywnego w wyniku indukcji kwitnienia, która może być spowodowana temperaturą (wernalizacja, inaczej jaryzacja) bądź światłem (indukcja fotoperiodyczna) [54, 55]. Ponadto, czynniki te mogą wpływać zarówno na porę kwitnienia, jak i na intensywność wytwarzania pąków kwiatowych [54, 55].

U wielu gatunków roślin najistotniejszym z czynników środowiskowych wpływającym na indukcję kwitnienia jest światło, a zwłaszcza stosunek długości dnia do nocy zwany fotoperiodem. Fotoperiodyzm jest reakcją roślin na czas trwania i periodyczne następstwo okresów światła i ciemności [20, 61]. Zjawisko to zostało po raz pierwszy opisane w 1914 r. w pracy Tournoisa [48], a kilka lat później w pracy Klebsa [18]. Następnie wykazano, że sezonowe zmiany długości dnia u tytoniu (*Nicotiana tabacum*) i soi (*Glycine max*) mają znaczący wpływ na kwitnienie i cykl życiowy tych roślin [62].

Wymagania fotoperiodyczne roślin są bardzo różnorodne. Istnieją gatunki, którym do zaindukowania kwitnienia wystarczy jeden cykl (*Pharbitis nil*, *Xanthium strumarium*, *Lemna perpusilla*), natomiast innym potrzeba niekiedy od 2 do 10 cykli indukcyjnych (*Kalanchoë blossfeldiana*) [61]. Dodatkowymi czynnikami mody-

fikującymi wrażliwość roślin mogą być: natężenie i skład spektralny światła, temperatura, wilgotność gleby, skład mineralny podłoża, ontogenetyczny wiek rośliny.

Organami percepcji bodźca świetlnego u większości badanych roślin są liście i/lub młode liście. Po raz pierwszy wykazał to Czajłachjan [29] w roku 1936. Czynnikiem fotoperiodyczny działający na wszystkie liście, a w niektórych przypadkach na jeden lub kilka liści na roślinie dnia krótkiego, wywoływał taki sam efekt, jak gdyby oddziaływał na całą roślinę. Rośliny pozbawione liści, z nielicznymi wyjątkami, nie wykazywały reakcji fotoperiodycznej – działanie fotoperiodu na wierzchołki pędów lub inne strefy merystematyczne wierzchołka pędu pozostaje zwykle bez efektu [29]. Ekspozycja pąka pędowego w zarodku (*plumula*) na pojedynczy okres ciemności powoduje zmniejszenie ilości wytwarzanych pąków kwiatowych, co wskazuje na częściowe przełamanie sygnału pochodzącego z zaindukowanych liści [14, 19]. Badania *in vitro* przeprowadzone na *Pharbitis* i *Xanthium* wykazują, że inne części roślin, takie jak np.: pąki liściowe, odcinki łodyg i korzeni również rejestrują długość dnia, jednak są nieporównywalnie mniej efektywne [61]. Stosując techniki mikrochirurgiczne potwierdzono, że miejscem percepcji bodźców fotoperiodycznych *P. nil* są liście i młode rozwinięte liście [34]. Ustalono ponadto, że zaraz po zakończeniu nocy indukcyjnej, w merystemach wierzchołków pędów u *P. nil* następuje wzrost aktywności mitotycznej [7].

Wiadomo, że u *Chenopodium rubrum* liście i liście są miejscem odbioru sygnałów indukujących kwitnienie [47]. Prowadzono wiele badań dotyczących fizjologicznych podstaw fotoperiodycznej indukcji kwitnienia *Ch. rubrum*. Stwierdzono zmiany wzrostu liści, liści i korzeni u tego gatunku pod wpływem stosowania różnych warunków fotoperiodycznych – optymalnych lub suboptymalnych dla kwitnienia [60, 39]. Korzenie *Ch. rubrum* nie są zaangażowane w odbiór bodźców świetlnych, podczas gdy hypokotyl tej rośliny ma taką właściwość. Z tego powodu brano pod uwagę rolę tego organu jako miejsca syntezy i/lub miejsca, z którego transportowana jest ewentualna substancja sty-

mulująca kwitnienie [68, 65]. Uważa się, że poza liśćmi i hypokotylami również ogonki liściowe są miejscem odbioru sygnału fotoperiodycznego oraz pełnią rolę w transporcie induktora kwitnienia z liści do wierzchołka pędu [64].

Indukcja fotoperiodyczna polega na percepcji przez roślinę odpowiedniego fotoperiodu. W wyniku indukcji fotoperiodycznej zostają uruchomione procesy biochemiczne i strukturalne w merystemie wierzchołka pędu, wzrasta aktywność mitotyczna [7], co prowadzi do morfogenezy kwiatu [54, 55]. Roślina zaindukowana kwitnie nawet w warunkach nieindukcyjnych, tzn. że w takiej roślinie nastąpiły nieodwracalnie trwałe zmiany. W fotoperiodycznej indukcji kwitnienia bodziec świetlny absorbowany jest przez specyficzne receptory – fitochromy [22], które wspólnie z receptorami światła niebieskiego – kryptochromami [53, 58] regulują procesy fotomorfogenezy roślin [25]. Fizykochemiczne zmiany fotoreceptorów powodują rozpoczęcie procesów metabolicznych prowadzących do kierunkowych zmian rozwojowych [61, 54, 55].

Fitochrom występuje w dwóch fotoodwrotnych formach molekularnych – P_r i P_{fr} , z których pierwsza dominuje u roślin rosnących w ciemności, a druga u roślin poddanych działaniu światła. Fitochrom pochłaniając światło czerwone przekształca się z formy P_r w P_{fr} . Druga z tych form po pochłonięciu światła dalekiej czerwieni przekształca się ponownie w P_r [22]. Obie pule fitochromu mogą ze sobą współdziałać, czego przykładem jest fotoperiodyczna kontrola kwitnienia [69]. Poza systemem fotoreceptorów indukcja kwitnienia związana jest bezpośrednio z funkcjonowaniem zegara biologicznego, pełniącego podstawowe funkcje regulatorowe u wszystkich organizmów żywych [27]. Natomiast ostatnie wyniki analiz biochemicznych wykazały, że fitochrom jest jedną z kinaz białkowych [70, 43].

W warunkach naturalnych stosunki długości dnia do nocy (fotoperiod) są całkowicie związane z 24-godzinnym cyklem dobowym. Reakcje fotoperiodyczne roślin dnia krótkiego mogą być determinowane następującymi czynnikami: długością dziennego okresu oświetlenia, długością

okresu zaciemnienia lub względną długością obu okresów w ciągu cyklu dobowego [61, 54]. Uważa się, że u roślin dnia krótkiego w procesie indukcji kwitnienia główną rolę odgrywa faza ciemna, a krytyczna długość nocy (CNL – ang. critical night length) determinuje zakwitanie. Przerwanie indukcyjnej nocy (NB – ang. night break) impulsem światła czerwonego (R – ang. red) hamuje zakwitanie, a działanie czerwieni można odwrócić impulsem światła dalekiej czerwieni (FR – ang. far red). Natomiast dla *Chenopodium rubrum* wykazano, że naświetlanie roślin daleką czerwienią w trakcie nocy indukcyjnej powodowało hamowanie wytwarzania pąków generatywnych [40].

U roślin dnia krótkiego przerwanie nocy indukcyjnej przez krótką ekspozycję siewek na białe światło ciągłe, hamuje zakwitanie. Jest ono związane z mechanizmem regulacji fotoperiodycznej, pośredniczonej przez fitochrom. Odpowiedź ta, odwracalna światłem czerwien/daleka czerwien, była pierwszą poznaną u roślin funkcją fitochromu [61, 62]. Przerwanie nocy indukcyjnej hamuje kwitnienie w stopniu zależnym od momentu, w którym zastosuje się impuls światła [22, 11]. W przypadku *P. nil* rozkład wrażliwości na obie długości fal jest zasadniczo różny. Daleka czerwien (720–740 nm) ma maksimum hamowania na początku nocy indukcyjnej, natomiast czerwien (600–680 nm) około ósmej godziny. Do indukcji kwitnienia jest niezbędny pewien dość długi okres, w którym wymagana jest obecność P_{fr} . Jednakże w tym samym czasie czerwien może hamować kwitnienie, co wskazuje, że jednocześnie P_{fr} hamuje zakwitanie [22]. Wykazano też, że znaczna część frakcji całkowitego fitochromu występuje w formie P_{fr} przy końcu fotoperiodu. Dlatego reakcje przzerwiania nocy indukcyjnej wydają się być zależne od fitochromu, który w formie P_{fr} jest relatywnie niestabilny [62].

MECHANIZM DZIAŁANIA FITOCHROMU W INDUKCJI KWITNIENIA

Absorpcja światła przez fitochrom inicjuje kaskadę przyczynowo powiązanych zdarzeń prowadzących do zmian we wroście i rozwoju

rośliny. Łańcuch transdukcji sygnału indukowanego przez światło, a kontrolowany przez fitochrom, rozpoczyna się od konformacyjnych zmian w obrębie cząsteczki tego fotoreceptora (zwłaszcza jego domeny N-końcowej). Jednakże nie wiadomo, która część cząsteczki fitochromu jest zaangażowana w generowanie sygnału i jak ten sygnał jest przenoszony wewnątrz komórki. Zmiany zapoczątkowane przez fitochrom mogą następować bardzo szybko lub rozciągać się na wiele godzin czy dni [44]. Wydaje się, że może istnieć kilka odmiennych mechanizmów odpowiedzi komórkowych inicjowanych światłem, poprzez które fitochrom kontroluje fotomorfogenezę [59]. Każdy fitochromowy łańcuch transdukcji sygnału może być unikalny, jednakże istnieje wiele wspólnych pośrednich procesów biochemicznych niezależnych od bodźca i końcowej odpowiedzi, np: aktywacja białka G, przemiany fosfolipidów, fosforylacja białek, zmiany w stężeniu wolnego cytoplazmatycznego Ca^{2+} [44, 51]. Transdukcji sygnału świetlnego zapoczątkowanej fotokonwersją fitochromu od formy P_r do formy P_{fr} towarzyszy również uwalnianie szeregu wtórnych przekaźników [59, 52]. Jony wapnia w komórkach roślinnych mogą pełnić funkcję uniwersalnego przekaźnika uczestniczącego w przetwarzaniu bodźców zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych na odpowiedź fizjologiczną. Podwyższeniu stężenia jonów wapnia towarzyszy wzrost powinowactwa kalmoduliny (CaM) do jonów Ca^{2+} i powstanie aktywnego kompleksu Ca-CaM , który łącząc się z białkami receptorowymi może powodować ich aktywację [44, 52]. Wykazano, że zmiany poziomu Ca^{2+} u *P. nil* prawdopodobnie są zaangażowane w indukcję fotoperiodyczną [12]. Jony wapnia i jego jonofory (A23187, jonomycyna) oraz kofeina stymulowały kwitnienie, gdy były podawane roślinom bezpośrednio przed i w ciągu dwóch pierwszych godzin podczas 12-godzinnej okresu ciemności. Podawanie tych związków roślinom w kolejnych godzinach ciemności w coraz mniejszym stopniu wpływało na wytwarzanie pąków generatywnych [49].

Mechanizm działania światła poprzez fitochrom może być związany z regulacją endogen-

nego poziomu fitohormonów, takich jak: auksyny, cytokininy, gibereliny, etylen oraz kwas absycynowy [63]. Fluktuacja poziomu fitohormonów indukowana przez fitochrom i zmiany z tym związane mogą być etapem w łańcuchu transdukcji sygnału w odpowiedzi fitochromowej [44]. Poszczególne grupy substancji wzrostowych posiadają zdolności regulacyjne na różnych etapach procesów prowadzących do wytworzenia kwiatów [55].

Wrażliwość roślin na auksyny ulega zmianom, tak, że to samo stężenie tej substancji może stymulować lub hamować zakwitanie, w zależności od czasu jej zastosowania [4, 72]. U *P. nil* auksyny silnie hamowały kwitnienie, jeżeli stosowane były dolistnie bezpośrednio przed indukcyjnym okresem ciemnym [15].

Także egzogenicznie podawane cytokininy mogą powodować stymulację, jak i hamowanie kwitnienia, przy czym efekty stymulacyjne są częstsze [4]. Indukcja kwitnienia u siewek *P. nil* rosnących w warunkach nieindukcyjnych następowała w wyniku traktowania liścieni benzydloadeniną [35]. Wydaje się, że efekt działania cytokinin zależy od wrażliwości tkanki merystematycznej na ten rodzaj substancji wzrostowej. Stwierdzono, że u *P. nil* indukcyjna noc uwrażliwia wierzchołek pędu na cytokininy [1].

Różnorodność efektów wywołanych przez gibereliny sugeruje również ich zaangażowanie w procesy związane z indukcją fotoperiodyczną. GA_3 podany u *P. nil* na liścienie bezpośrednio przed indukcyjną nocą stymulował kwitnienie, a podawany po jej zakończeniu hamował kwitnienie [17].

Kwas absycynowy hamuje lub stymuluje kwitnienie, w zależności od stężenia, w jakim jest podawany roślinom [67, 30]. Wareing i El-Antably [67] wykazali, że zastosowany egzogenicznie kwas absycynowy u *P. nil* indukuje kwitnienie. W innych doświadczeniach nie obserwowano kwitnienia siewek *P. nil* rosnących w nieindukcyjnym fotoperiodycznym po zastosowaniu kwasu absycynowego [30]. Wydaje się, że kwas absycynowy nie odgrywa bezpośredniej roli w przejściu roślin do fazy generatywnej, bierze raczej udział w regulacji metabolizmu roślin, gdyż wytwarzany jest niezależnie od długo-

ści dnia i gotowości roślin do kwitnienia [4, 72, 41].

Podanie dolistnie etylenu roślinom *P. nil* podczas indukcyjnego okresu ciemnego hamuje ich zakwitanie. Natomiast zastosowanie etylenu przed nocą indukcyjną oraz w pierwszej jej połowie nie ma wpływu na kwitnienie *P. nil* [2].

Przypuszcza się, że mechanizm działania egzogennie podanej acetylocholino (ACh) na kwitnienie roślin wynika z wpływu tej substancji na przepuszczalność błon dla jonów i sugeruje, że ACh odgrywa ważną rolę w wytwarzaniu pąków kwiatowych [13, 16]. W siewkach *P. nil* zawartość ACh podlega wahaniom w zależności od warunków świetlnych i fazy rozwoju rośliny. Najwyższe stężenie ACh stwierdzono w najmłodszych, rosnących częściach rośliny [28]. Wykazano, że światło czerwone i białe podwyższają poziom ACh, a światło dalekiej czerwieni obniża stężenie tej substancji w tkankach. Egzogenne podawanie ACh i modulatorów systemu cholinergicznego w warunkach świetlnych prowadzących do zablokowania fitochromu stabilnego (P^s), którego synteza uruchamiana jest w momencie włączenia światła, wyraźnie stymuluje kwitnienie *P. nil* [28]. Podczas 16-godzinnej nocy indukcyjnej obserwuje się zmiany zawartości ACh i acetylocholinoesterazy (AChE) kontrolowane przez fitochrom stabilny. Najwyższy poziom ACh i największą aktywność AChE zanotowano w 8 godzinie okresu ciemności. Przypuszcza się, że system acetylocholina/acetylocholinoesteraza bierze udział w kontrolowanej przez fitochrom indukcji kwitnienia *P. nil*, a ACh może być specyficznym przekaźnikiem lub jednym z ogniw pośrednich w łańcuchu transdukcji sygnału świetlnego [28].

KONTROLA INDUKCJI KWITNIENIA *PHARBITIS NIL* - ROŚLIN DNIA KRÓTKIEGO

Jak dotąd, zjawisko fotoperiodycznej indukcji kwitnienia badano głównie na roślinach dnia długiego takich jak: rzodkiewnik (*Arabidopsis thaliana*) czy groch (*Pisum sativum*) [54, 55], a tylko nieliczne zespoły badawcze analizują procesy związane z kwitnieniem roślin dnia krótkiego [5, 61, 54, 55]. Przeprowadzone bada-

nia cytologiczne, fizjologiczne i biochemiczne nie doprowadziły do poznania ogólnych mechanizmów leżących u podstaw indukcji fotoperiodycznej u *P. nil* [21]. W związku z tym podjęto próby rozwiązania tego problemu stosując metody biologii molekularnej.

Pharbitis nil – wilec bluszczowaty od wielu lat należy ona do najintensywniej badanych gatunków roślin krótkodniowych [72, 23]. Cały cykl rozwojowy rośliny trwa nie dłużej niż 2–3 miesiące [21]. U odmiany Violet w odpowiedzi na pojedynczy cykl indukcyjny (krótki dzień/długa noc) są inicjowane kwiaty. Ponadto ta japońska odmiana *P. nil* jest wrażliwa na indukcję fotoperiodyczną w bardzo wczesnym stadium rozwoju rośliny (4–6 dni od skielkowania nasion), gdy tylko liścienie się rozwiną [61, 62]. Do zaindukowania kwitnienia wystarcza traktowanie siewek 16-godzinnym okresem ciemności. Pąki kwiatowe *P. nil* rozwijają się tak szybko, że już w drugim tygodniu od zakończenia indukcji można je zidentyfikować i policzyć. Stwierdzono również, że w liścieniach *P. nil* występują struktury komórkowe zwane ciałami liścieniowymi [50], które wraz z otaczającymi je komórkami mięksiszowymi mogą stanowić miejsce syntezy bądź uwalniania induktora kwitnienia [57].

W roku 1987 Lay-Yee i in. [24] jako pierwsi wykazali istnienie różnic w zawartości mRNA izolowanego z roślin rosnących w świetle ciągłym i traktowanych długą nocą indukcyjną. Badacze ci odkryli również, że przerwanie nocy indukcyjnej impulsem światła czerwonego prowadzi do obniżenia poziomu jednego z typów mRNA [24]. W kolejnych latach stwierdzono, że ekspresja genów związanych z kwitnieniem *P. nil* modulowana jest przez indukcyjny fotoperiod i wykazuje wahania dobowe [32, 37, 73]. Lay-Yee i in. [24] oraz Ono i in. [36] stwierdzili, stosując technikę translacji *in vitro* na bazie mRNA wyizolowanego z liścieni bądź pąków szczytowych *P. nil* rosnących w warunkach indukcyjnych i kontrolnych (nieindukcyjnych), istnienie niewielkich różnic ilościowych w składzie poszczególnych białek. Podobny wynik otrzymali Ono i in. [38] badając *in vivo* znakowane polipeptydy z liścieni *P. nil* z różnych wa-

runków fotoperiodycznych. U roślin rosnących w warunkach indukcyjnych znaleziono w bibliotece cDNA gen kodujący białko podobne do germiny, nazwane PnGLP (*Pharbitis nil* Germin-Like Protein) [37]. Białko to jest w dużym stopniu homologiczne do GLP (ang. germin-like protein) wykrytego w liściach gorczycy *Sinapis alba*, rośliny dnia długiego [37]. Ekspresja tego genu u *P. nil*, podobnie jak u gorczycy, podlega regulacji okołodobowej. U *S. alba* najwyższy poziom ekspresji genu kodującego białko GLP przypada na 14-tą godzinę okresu światła, podczas gdy u *P. nil* występuje on 10 godzin po rozpoczęciu nocy indukcyjnej [37]. Stwierdzono też, że mRNA *PnGLP* występuje w liścieniach i młodych liściach, a poziom ekspresji tego genu wzrasta znacząco w warunkach nocy indukcyjnej. Natomiast jego akumulacja podczas okresu ciemności hamowana jest przez krótkie naświetlanie światłem czerwonym, zastosowane w połowie indukcyjnego okresu ciemności. Jak dotąd nie udało się określić funkcji fizjologicznej GLP [37]. Podobne białko, występujące u pszenicy, funkcjonuje jako oksydaza szczawianowa [32]. W nieoczyszczonych ekstraktach pochodzących z liścieni *P. nil* nie wykryto jednak aktywności tego enzymu [32].

Zastosowanie produktów różnicowych uzyskanych techniką różnicowego profilowania ekspresji genów (ang. differential display), jako sond molekularnych w celu przeszukiwania bibliotek cDNA utworzonych z liścieni *P. nil*, umożliwiło identyfikację genów zaangażowanych w fotoperiodyczną indukcję tej rośliny. Jednym z nich okazał się gen PnC401, który ulega preferencyjnej ekspresji podczas nocy indukcyjnej [45]. Koduje on polipeptyd o łącznej masie 74 kDa zbudowany z 665 reszt aminokwasowych. Polipeptyd ten wykazuje wysoki stopień homologii do fragmentu jednego z polipeptydów *A. thaliana* o nieznannej dotąd funkcji [45]. Poziom mRNA PnC401 wykazuje fluktuacje dobowe. Po przeniesieniu siewek z ciągłego światła białego (warunki nieindukcyjne) do ciemności obserwowano stopniowy wzrost poziomu transkryptu, który osiągał maksimum w 12–16 godzinie od momentu umieszczenia roślin w warunkach nocy indukcyjnej, a następnie ulegał obni-

żeniu. Rośliny przetrzymywane przez dłuższy czas w ciemności wykazywały dobowe wahania ekspresji analizowanego genu. 10-minutowe naświetlanie światłem czerwonym w ósmej godzinie nocy indukcyjnej obniżało poziom akumulacji mRNA PnC401. Jeszcze większy wpływ na ekspresję genu PnC401 miało naświetlenie siewek *P. nil* światłem dalekiej czerwieni przed przeniesieniem ich do ciemności [45]. Wyniki te jednoznacznie wskazują, że aktywność genu PnC401 kontrolowana jest przez system fitochromowy, a jego ekspresja bezpośrednio związana jest z fotoperiodyczną indukcją kwitnienia *P. nil*. Grupa japońskich badaczy zidentyfikowała u *P. nil* jeszcze jeden gen, oznaczony jako PnTCTP (*Pharbitis nil* Transcriptionally Controlled Tumor Protein), którego polipeptyd jest prawdopodobnie związany z fotoperiodyczną indukcją kwitnienia [46]. Ekspresja tego genu powoduje powstanie polipeptydu zbudowanego ze 168 aminokwasów o łącznej masie wynoszącej 18,7 kDa. Białko to wykazuje bardzo wysoki stopień podobieństwa do tzw. transkrypcyjnie kontrolowanych białek nowotworowych (TCTP). Tego typu białka wcześniej stwierdzono u grochu, ryżu, lucerny i ziemniaka, a polipeptydy o mniejszym stopniu homologii do TCTP występują również w komórkach drożdży, kury, myszy i człowieka [46]. W warunkach dnia długiego lub światła ciągłego odnotowano niewielką akumulację mRNA PnTCTP. Natomiast u roślin traktowanych długą nocą indukcyjną lub przetrzymywanych dłuższy czas w ciemności odnotowano stopniowy wzrost poziomu mRNA genu PnTCTP. Proces akumulacji tego transkryptu rozpoczynał się w czwartej godzinie i osiągał swoje maksimum w dwunastej godzinie, a następnie utrzymywał się na wysokim poziomie aż do czterdziestej ósmej godziny okresu ciemności [46]. Ekspresja omawianego genu kontrolowana jest przez fitochrom. Podczas gdy poziom mRNA PnTCTP nie ulegał zmianie po naświetleniu siewek *P. nil* impulsem światła czerwonego lub dalekiej czerwieni w połowie nocy indukcyjnej, zastosowanie dalekiej czerwieni pod koniec okresu jasnego hamowało jego ekspresję. Na tej podstawie przypuszcza się, że ekspresja genu PnTCTP bezpośred-

nio lub pośrednio regulowana jest przez fitochrom [46]. Jak dotąd nie ustalono, jaką funkcję może pełnić produkt opisanego genu w procesie fotoperiodycznej indukcji u *P. nil*. Biorąc pod uwagę zdolność ludzkiego TCTP do wiązania jonów wapnia [46], wyniki opisanych badań mogą rzucić nowe światło na rolę wapnia w procesie kwitnienia. Znacząca rola wapnia w regulacji procesu kwitnienia była wielokrotnie sugerowana już wcześniej przez Tretyna i innych [49, 21, 56].

W siewkach *P. nil* zaindukowanych do kwitnienia znaleziono cDNA kodujący białko HMG1 (ang. High-Mobility Group 1) [73]. Klon cDNA HMG1 zawiera otwartą ramkę odczytu o długości 432 nukleotydów, kodującą peptyd o wielkości około 16 kDa. Białko to posiada konserwatywny motyw charakterystyczny dla klasy białek HMG1 i HMG2, które na swym N-końcu posiadają domenę HMG. Region ten u *P. nil* wykazuje podobieństwo sekwencji aminokwasowej do analogicznych sekwencji: u zwierząt w 47%, kukurydzy w 67% i soi w 69% [73]. Analiza poziomu mRNA wykazuje, że gen HMG1 ulega wysokiej ekspresji w tkankach organów rosnących stale w ciemności, takich jak korzenie, a niższy poziom ekspresji wykazano w tkankach łodygi i liści. Po przeniesieniu roślin do ciemności poziom mRNA HMG1 w liściach był początkowo stały, ale po upływie powyżej ośmiu godzin wykazywał wzrost ilości mRNA, aż do momentu osiągnięcia maksimum w 20. godzinie ciemności. Drugi szczyt poziomu ekspresji tego genu zaobserwowano około 24 godzin później. Sugeruje to, że ekspresja genu HMG1 regulowana jest przez endogenne rytmy zegara okołodobowego rośliny. Poziom mRNA HMG1 podczas ciemności wyraźnie się zmienił w chwili przerwania nocy przez krótkie naswietlenie światłem czerwonym, hamujące indukcję kwitnienia. Dane te pokazują, że ekspresja HMG1 regulowana jest dwoma czynnikami: wewnętrznym rytmem rośliny i cyklem światło/ciemność [73]. Ostatnio u *P. nil* zidentyfikowano kolejny polipeptyd z rodziny HMG (HMG2) [33] o wysokim stopniu identyczności zarówno na poziomie nukleotydowym (82%), jak i aminokwasowym (86%) do genu HMG1 i

jego białkowego produktu [33]. Jednakże w przeciwieństwie do HMG1, mRNA HMG2 po przeniesieniu roślin do ciemności nie wykazywało regulacji tego transkryptu rytmem okołodobowym podczas przetrzymywania roślin w ciemności przez 68 godzin. Ponadto stwierdzono, że przerwanie nocy indukcyjnej nie wywiera istotnego wpływu na poziom ekspresji HMG2, co może świadczyć, że funkcją tego genu jest kontrola metabolizmu podstawowego [33].

Molekularnymi mechanizmami fotoperiodycznej indukcji u *P. nil* zajmuje się również grupa badaczy kierowana przez Zeevaarta [25]. Ich osiągnięciem było uzyskanie bibliotek cDNA z liści siewek *P. nil* rosnących zarówno w ciągłym świetle białym, jak i w warunkach pełnej indukcji fotoperiodycznej [25]. Stosując technikę różnicowego profilowania ekspresji genów zidentyfikowano aż 150 genów, które ulegały ekspresji lub represji w trakcie indukcyjnej nocy [25]. Wśród nich stwierdzono geny kodujące różne enzymy biorące udział w procesie fotosyntezy. U *P. nil* zróżnicowanej ekspresji podlegał klon cDNA homologiczny do genu *CONSTANS (CO)*, zidentyfikowanego wcześniej u *Arabidopsis thaliana*, [42] z tym, że u wymienionej rośliny jego aktywność jest stymulowana w trakcie długiego [42], a u *P. nil* krótkiego fotoperiodu [26].

U roślin *P. nil* zaindukowanych do kwitnienia zidentyfikowano gen *inrpk1* [3]. Największą część białka kodowanego przez *inrpk1*, podobną do receptora, tworzy 26 prostych powtórzeń bogatych w leucynę (LRR). Część białka o właściwościach katalitycznych posiada konserwatywną sekwencję aminokwasową, a pozostały człon białka posiada domenę charakterystyczną dla kinaz serynowo-treoninowych (Ser/Thr) [3]. Wykazano, że poziom mRNA genu *inrpk1* wzrasta w liściach 20-krotnie w odpowiedzi na uprzednio działający, pojedynczy krótki dzień indukujący kwitnienie. Uważa się, że *inrpk1* może odgrywać pewną rolę w fotoperiodycznej indukcji kwitnienia u *P. nil* [3].

Yoshizaki i in. [71] poprzez porównanie roślin *P. nil* uprawianych w warunkach indukujących i nieindukujących kwitnienie zidentyfikowali pełnej długości cDNA genu kodującego

ferredoksyne. Analiza hybrydyzacyjna typu Northern i hybrydyzacja *in situ* wykazały, że badany transkrypt gromadził się w wierzchołku pędu i w strefie wzrostu wierzchołka korzenia. Stwierdzono, że poziom analizowanego produktu w wierzchołku pędu obniżał się w warunkach fotoperiodu indukującego kwitnienie [71].

Jeden z autorów niniejszej pracy prowadząc badania techniką różnicowego profilowania genów zidentyfikował kilka kolejnych genów zaangażowanych w fotoperiodyczną indukcję kwitnienia *P. nil* [8]. Przeszukanie biblioteki cDNA utworzonej z liścieni roślin zaindukowanych do kwitnienia umożliwiło zidentyfikowanie klonu cDNA długości 949 par zasad (pz) [9]. Wykorzystanie programu BLAST do analizy komputerowych banków genów doprowadziło do wykazania wysokiej homologii sekwencji kodowanej przez ten cDNA do sekwencji białka SNARE pochodzącego z *Oryza sativa*. Wykazano, że ekspresja genu kodującego to białko nasila się w warunkach nieindukcyjnych, a spada w trakcie indukcji. Na tej podstawie przypuszcza się, że kodowane białko może odgrywać rolę represora w procesie indukcji kwitnienia *P. nil* [9]. W uzyskanej bibliotece cDNA zidentyfikowano klon o długości 947 pz, który koduje białko wykazujące 95% poziom homologii aminokwasowej do jednego z białek (zwanych akwaporynami) tworzących kanały wodne u kukurydzy [9]. Ekspresja fragmentu genu o długości 947 pz u *P. nil* była znacząco wyższa u roślin potraktowanych nocą indukcyjną, w porównaniu z roślinami, którym noc indukcyjną przerwano w ósmej godzinie pulsem światła białego (hamującego proces kwitnienia). Na tej podstawie przypuszcza się, że na proces syntezy lub uwalniania domniemanego induktora kwitnienia może mieć wpływ międzykomórkowy przepływ wody w roślinie. Wyniki tych badań pozostają w zgodzie z sugestiami Wagnera i in. [66], którzy podkreślają istotne znaczenie sygnałów o charakterze hydraulicznym (będącym wynikiem zmian w stopniu uwodnienia komórek i tkanek) w fotoperiodycznej indukcji kwitnienia innej rośliny dnia krótkiego – *Chenopodium rubrum*.

Obecnie autorzy artykułu podjęli badania mające na celu identyfikację kolejnych genów,

które w istotny sposób mogą być zaangażowane w fotoperiodyczną indukcję kwitnienia zarówno roślin krótkiego dnia (*P. nil*, *Ch. rubrum*), jak i długiego dnia (*Ch. murale*). Wyniki tych badań mają doprowadzić do poznania ogólnych mechanizmów kontrolujących kwitnienie roślin o odmiennych wymaganiach fotoperiodycznych. Wyjaśnienie mechanizmów kontroli kwitnienia może wnieść wiele do naszej wiedzy na temat podstawowych zasad rozwoju roślin, a również będzie stanowić pomoc w sposobach manipulacji czasem kwitnienia w celu podniesienia wydajności plonów roślin użytkowych.

Praca powstała w trakcie realizacji grantu (5 P06A 030–16) finansowanego przez Komitet Badań Naukowych oraz grantu (340-B), finansowanego przez Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu.

LITERATURA

- [1] ABOU-HAIDAR S. S., MIGINIAC E., SACHS R. M. 1985. [¹⁴C] – Assimilate partitioning in phytoperiodically induced seedlings of *Pharbitis nil*. The effect of benzyladenine. *Physiol. Plant.* **64**: 265–270.
- [2] AMAGASA T., SUGE H. 1987. The mode of flower-inhibiting action of ethylene in *Pharbitis nil*. *Plant Cell Physiol.* **6**: 1159–1161.
- [3] BASSET C. L., NICKERSON M. L., COHEN R. A., MANGALATHU S. R. 2000. Alternative transcript initiation and novel post-transcriptional process of leucine-rich repeat receptor-like protein kinase gene that respond short-day photoperiodic floral induction in morning glory. *Plant Mol. Biol.* **43**: 43–58.
- [4] BERNIER G., KINET J.-M., SACHS R. M. 1981. *The physiology of flowering*. vol. II, CRC Press Inc. Boca Raton, Florida s. 42–95.
- [5] BERNIER G. 1988. The control of floral evocation and morphogenesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **39**: 175–219.
- [6] CHORY J. 1997. Light modulation of vegetative development. *Plant Cell* **9**: 1225–1234.
- [7] CZAPLEWSKA J., KOPCEWICZ J. 1991. The effect of photoperiodic treatments on mitotic activity in *Pharbitis nil* Chois. *Acta Soc. Bot. Pol.* **60**: 133–138.
- [8] DĄBROWSKA G. 2001. Metoda różnicowego namnażania – sposób poszukiwania genów ulegających specyficznej amplifikacji. *Biotechnologia* **3**: 124–133.
- [9] DĄBROWSKA G. 2001. Poszukiwanie genów zaangażowanych w fotoperiodyczną indukcję kwitnienia *Pharbitis nil*. Praca doktorska, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń.
- [10] EVANS L. T. (red) 1969. *The Induction of Flowering*, Cornell University Press Itaca, New York, s. 90–115.
- [11] FRANKHAUSER C., CHORY J. 1997. Light control of plant development. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **13**: 203–229.

- [12] FRIEDMAN H., GOLDSCHMIDT E. E., HALEVY A. H. 1989. Involvement of calcium in photoperiodic flower induction process in *Pharbitis nil*. *Plant Physiol.* **89**: 530–534.
- [13] GREEPIN H., HOROWITZ B. A., HOROWITZ L. P. 1973. Light-stimulated bioelectric responses in spinach leaves and photoperiodic induction. *Z. Pflanzenphysiol.* **68**: 336–345.
- [14] GRESSEL J., ZILBERSTEIN A., PORATH D., ARZEE T. 1980. Demonstration with fiber illumination that *Pharbitis plumules* also perceive flowering photoinduction. W: J. DE Greef (red.), *Photoreceptors and plant development*. Antwerpen University Press, Antwerpen, s. 525–530.
- [15] HALEVY A. H., SPIEGELSTEIN H., GOLDSCHMIDT E. E. 1991. Auxin inhibition of flower induction of *Pharbitis nil* not mediated by ethylene. *Plant Physiol.* **95**: 652–654.
- [16] HOSHINO T. 1979. Stimulation of acetylcholine action by – indole-acetic acid in inducing diurnal change of floral responses to chilling under continuous light in *Lenina gibba* G3. *Plant Cell Physiol.* **20**: 43–50.
- [17] KING R. W., PHARIS R. P., MANDER L. N. 1987. Gibberelins in relation to growth and flowering in *Pharbitis nil* Choisy. *Plant Physiol.* **84**: 1126–1131.
- [18] KLEBS G. 1918. Über die Blütenbildung bei *Sempervivum*. *Flora* **128**: 111–112.
- [19] KNAPP P. H., SAWHNEY S., THOMAS B., VINCE-PRUE D. 1986. Site of perception of the far-red inhibition of flowering in *Pharbitis nil* Choisy. *Plant Cell Physiol.* **27**: 1147–1152.
- [20] KOPCEWICZ J. 1998. W: J. KOPCEWICZ, S. LEWAK (red.), *Podstawy fizjologii roślin*, PWN, Warszawa, s. 413–454.
- [21] KOPCEWICZ J., TRETYN A. 1998. Physiological and cytochemical investigations on photoperiodic flower induction in *Pharbitis nil*. *Flowering Newsletter* **25**: 26–34.
- [22] KOPCEWICZ J., TRETYN A., CYMERSKI M. 1992. Fitochrom i morfogeneza roślin, PWN, Warszawa.
- [23] KULIKOWSKA-GULEWSKA H., CYMERSKI M., CZAPLEWSKA J., KOPCEWICZ J. 1995. IAA in the control of photoperiodic flower induction of *Pharbitis nil* Choisy. *Acta Soc. Bot. Pol.* **64**: 45–50.
- [24] 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.
- [25] LIU J., YU J., KENDE H., MCINTOSH L., ZEEVAART J. A.D. 1998. A molecular approach toward understanding photoperiodic induction of flowering. *Annu. Meet. American Soc. Plant. Physiol Plant Biol.* s. 12, abstrakt 11019.
- [26] LIU J., YU J., MCINTOSH L., KENDE H., ZEEVAART J. A.D. 2001. Isolation of a CONSTANS ortholog from a *Pharbitis nil* and its role in flowering. *Plant Physiol.* **125**, 1821–1830.
- [27] LUMSDEN P. J., MILLAR A. J. 1998. Biological rhythms and photoperiodism in plants. BIOS Scientific Publishers, Oxford.
- [28] ŁUKASIEWICZ-RUTKOWSKA H., TRETYN A., CYMERSKI M., KOPCEWICZ J. 1997. The effect of exogenous acetylcholine and other cholinergic agents on photoperiodic flower induction of *Pharbitis nil*. *Acta Soc. Bot. Pol.* **66**: 47–54.
- [29] MICHNIEWICZ E., ZURZYCKI J. 1985. *Fizjologia roślin*. PWR iL, Warszawa.
- [30] NAKAYAMA S., HASHIMOTO T. 1973. Effects of abscisic acid on flowering in *Pharbitis nil*. *Plant Cell Physiol.* **14**: 419–422.
- [31] O'NEILL S. D. 1992. The photoperiodic control of flowering: progress towards understanding the mechanism of induction. *Photochem. Photobiol.* **56**: 789–801.
- [32] 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.
- [33] O'NEILL S. D., ZHENG C. C. 1998. Abundance of mRNAs encoding HMG1/HMG2 class hight mobility-group DNA-binding proteins are differentially regulated in cotyledons of *Pharbitis nil*. *Plant Mol. Biol.* **37**: 235–241.
- [34] OGAWA Y., KING R. W. 1979. Indirect action of benzyladenine and other chemicals on flowering of *Pharbitis nil* Choisy. *Planta Physiol.* **63**: 643–649.
- [35] OGAWA Y., KING R. W. 1980. Flowering in seedlings of *Pharbitis nil* induced by benzyladenine applied under a non-inductive daylength. *Plant Cell Physiol.* **6**: 1109–1116.
- [36] ONO M., OKAZAKI M., HARADA H., UCHIMIYA H. 1988. In vitro translated polypeptides of different organs of *Pharbitis nil* Choisy., strain Violet under flower-inductive and non-inductive conditions. *Plant Sci.* **58**: 1–7.
- [37] ONO M., SAGE-ONO K., INONE M., KAMADA H., HARADA H. 1996. Transient increase in the level of mRNA for a germin-like protein in leaves of the short-day plant *Pharbitis nil* during the photoperiodic induction of flowering. *Plant Cell Physiol.* **37**: 855–861.
- [38] ONO M., SAGE-ONO K., YASUI M., OKAZAKI M., HARADA H. 1993. Changes in polipeptides in *Pharbitis nil* cotyledons during the first flower-inductive photoperiod. *Plant Sci.* **89**: 135–145.
- [39] OPATRNA J., ULLMANN J., PAVLOVA L., KREKULE J. 1980. Changes in organ growth of *Chenopodium rubrum* due to suboptimal and multiple photoperiodic cycles with and without flowering effect. *Biol. Plant.* **22**: 454–464.
- [40] PARKER M. W., HENDRICKS S. B., BORTHWICK H. A., SCULLY N. J. 1946. Action spectrum for the photoperiodic control of floral induction of short-day plants. *Bot. Gaz.* **108**: 1–26.
- [41] PURSE J. G. 1984. Phloem exudate of *Perilla crispa* and its effects on flowering of *P. crispa* shoot explants. *J. Exp. Bot.* **35**: 227–238.
- [42] 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.
- [43] REED J. W. 1999. Phytochromes are Pr – impatetic kinases. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2**: 393–397.
- [44] ROUX S. J. 1994. Signal transduction in phytochromes

- responses. W: R. E. KENDRICK, G. H.M. KRONENBERG (red.), *Photomorphogenesis in plants*, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Boston, London s. 187–210.
- [45] SAGE-ONO K., ONO M., HARADA H., KAMADA H. 1998. Accumulation of a clock-regulated transcript during flower-inductive darkness in *Pharbitis nil*. *Plant Physiol.* **116**: 1479–1485.
- [46] SAGE-ONO K., ONO M., HARADA H., KAMADA H. 1998. Dark induced accumulation of mRNA for a homolog of translationally controlled tumor protein (TCTP) in *Pharbitis*. *Plant Cell Physiol.* **39**: 357–360.
- [47] SALISBURY F. 1968. Photoperiodism and the flowering process. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **12**: 293–299.
- [48] TOURNOIS J. 1914. Etudes sur la sexualité du houblon. *Annu. Sci. Nat. Bot. Biol. Vég.* **19**: 149–191.
- [49] 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.
- [50] 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.
- [51] TRETYN A., KENDRICK R. E., WAGNER G. 1991. The role(s) of calcium in phytochrome action *Phytochem. Phytobiol.* **6**: 1135–1155.
- [52] TRETYN A., KOPCEWICZ J. 1989. Rola wapnia w mechanizmie działania fitochromu. *Wiad. Bot.* **2**: 65–78.
- [53] TRETYN A., KOPCEWICZ J. 1995. Fitochrom i kryptochrom: receptory regulujące fotomorfogenezę roślin. *Zeszyty Naukowe Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach* **2**: 91–99.
- [54] TRETYN A., KOPCEWICZ J. 1999. Mechanizmy kwitnienia roślin. cz. I. *Post. Biol. Kom.* **26**: 231–248.
- [55] TRETYN A., KOPCEWICZ J. 1999. Mechanizmy kwitnienia roślin. cz. II. *Post. Biol. Kom.* **26**: 249–266.
- [56] TRETYN A., KOPCEWICZ J., PAWLAK A. 1990. Fitochrom – pierwotny mechanizm działania. *Post. Biol. Kom.* **17**: 1–17.
- [57] TRETYN A., ŁUKASZEWSKA H., KOPCEWICZ J., OLEŃCZUK A., NOWAKOWSKA A. 1998. The role of cotyledons in photoperiodic flower induction of *Pharbitis nil*. W: H. GREPPIN, C. PENEL, P. SIMON (red.), *Travelling shot on plant development*, Univ. Geneva Press, Geneva, s. 51–62.
- [58] TRETYN A., WIŚNIEWSKA J. 1999. Budowa i właściwości i mechanizm działania kryptochromów – eukariotycznych receptorów światła niebieskiego. *Post. Biol. Kom.* **26**: 18–23.
- [59] TRETYN A., WIŚNIEWSKA J., JAWORSKI K. 1997. Fitochrom – struktura i właściwości. *Post. Biol. Kom.* **25**: 225–250.
- [60] ULLMANN J., SEIDLOVA F., KREKULE J., PAVLOVA L. 1985. *Chenopodium rubrum* as a model for testing the flowering effects of PGRs. *Biol. Plant.* **27**: 367–372.
- [61] VINCE-PRUE D. 1983. Photomorphogenesis and flowering. W: W. SHROPSHIRE, H. MOHR (red.), *Encyclopedia of plant physiology*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, s. 457–490.
- [62] VINCE-PRUE D. 1994. The duration of light and photoperiodic responses. W: R. E. KENDRICK, G. H.M. KRONENBERG (red.), *Photomorphogenesis in plants*, Kluwer Academic Publisher Dordrecht, Boston, London, s. 85–124.
- [63] VINCE-PRUE D., GRESSEL J. 1985. *Pharbitis nil*. W: A. H. Halevy (red.), *Handbook of flowering*, vol. IV, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, s. 47–81.
- [64] VONDRÁČKOVA Z., KREKULE J. 1997/98. The role of leaf petiole in photoperiodic induction of flowering. *Biol. Plant.* **40**: 629–632.
- [65] VONDRÁČKOVA Z., KREKULE J. 1999. The role of hypocotyl and roots in photoperiodic floral induction of *Chenopodium rubrum*. *Biol. Plant.* **1**: 96–98.
- [66] WAGNER E., NORMANN J., ALBRECHTOVA J. T.P., WALCZYNSKO P., BONZON M., GREPPIN H. 1998. Electrochemical-hydraulic signalling in photoperiodic control of flowering: is „florigen” a frequency-coded electric signal? *Flowering Newsletter* **26**: 62–74.
- [67] WAREING P. F., EL-ANTABLY H. M.M. 1967. The possible role of endogenous growth inhibitors in control of flowering. W: G. BERNIER (red.), *Proc. Lige Conf. on Flowering*, Longman, Lige, Belgium, s. 285–303.
- [68] WEBB D. 1982. Effects of light on root growth, nodulation and apogeotropism of *Zamia pumila* L. Seedlings in sterile culture. *Am. J. Bot.* **69**: 298–301.
- [69] 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.
- [70] YEH K.-C., LAGARIAS J. C. 1998. Eucaryotic phytochromes: light – regulated serine/treonine protein kinases histidine kinase ancestry. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**: 13976–13981.
- [71] YOSHIZAKI M., FURUMOTO T., FLATA S., SHINOZAKI M., IZUI K. 2000. cDNA cloning and expression analysis of a non-photosynthetic ferredoxin gene in morning glory (*Pharbitis nil*). *Biochem. Biophys. Acta* **25**: 1491, 173–278.
- [72] ZEEVAART J. A.D. 1978. Phytohormones and flower formation. W: D. S. LETHAM, P. B. GOODWIN, T. J.V. Higgins (red.), *Phytohormones and related compounds: a comprehensive treatise*, 2. Elsevier, North-Holland, Biomedicals Press, Amsterdam, s.291–327.
- [73] ZHENG C. C., BUI A. Q., O'NEILL S. D. 1993. Abundance of an mRNA encoding a high mobility group DNA-binding protein regulated by light an endogenous rhythm. *Plant Mol. Biol.* **23**: 813–823.