



## **Analisis Molekuler dan Morfologi *P. amabilis* Transgenik dengan Gen Pembungaan *PaFT***

**Ida Ayu Purnama Bestari\***

Jurusan Biologi dan Perikanan Kelautan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Ganesha, Singaraja, 81116

[\\*purnama.bestari@undiksha.ac.id](mailto:purnama.bestari@undiksha.ac.id)

### **Abstract**

*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume or moon orchid is a type of orchid that has high economic and aesthetic value, but the flowering time is relatively long. Induction of flowering was carried out by inserting the *PaFT* gene with the ubiquitin promoter in the plant to obtain transgenic candidate plants (transformants). Transformant plants were grown in New Phalaenopsis (NP) medium for 40 weeks. Molecular analysis on transformant plants obtained *P. amabilis* transgenic. Amplification with ubiquitin (forward) and T-Nos (reverse) and deg *PaFT* primers in transgenic plants obtained DNA sequences of 1137 bp and 533 bp, while for non-transformant plants with deg *PaFT* primers, DNA bands of 1500 bp were obtained. The development of transgenic and non-transformant plants were then compared at 10, 20, 30, and 40 weeks of age. The results showed that transgenic plants produced multiple shoots/multishoots and longer roots compared to the roots of non-transformant plants. According to the literature study, there are morphological differences in some plants that carry the *flowering locus T* gene compared to nontransformant/wildtype plants.

**Keyword:** *Phalaenopsis amabilis*, multishoot, *PaFT* gene, transgenic, *flowering locus T*

### **Abstrak**

*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume atau anggrek bulan merupakan jenis anggrek yang memiliki nilai ekonomis dan estetika tinggi, namun waktu pembungaan relatif lama. Induksi pembungaan dilakukan dengan menginsersikan gen *PaFT* bersama promotor Ubikuitin sehingga diperoleh tanaman kandidat transgenik (transforman). Tanaman transforman ditumbuhkan di medium *New Phalaenopsis* (NP) selama 40 minggu. Analisis molekuler pada tanaman transforman diperoleh *P. amabilis* transgenik. Amplifikasi dengan primer Ubi (*forward*) dan T-Nos (*reverse*) dan deg *PaFT* pada tanaman transgenik diperoleh sekuens DNA 1137 bp dan 533 bp, sedangkan untuk tanaman nontransforman dengan primer deg *PaFT* diperoleh pita DNA sepanjang 1500 bp. Perkembangan tanaman transgenik dan non transforman kemudian dibandingkan pada umur 10, 20, 30, dan 40 minggu. Diperoleh hasil tanaman transgenik menghasilkan multitunas/*multishoot* dan akar yang lebih panjang dibandingkan dengan akar tanaman *wildtype*. Menurut studi literatur terdapat perbedaan morfologi pada beberapa tanaman yang membawa gen *flowering locus T* dibandingkan dengan tanaman *wildtype*/nontransforman

**Kata kunci:** *Phalaenopsis amabilis*, multitunas, gen *PaFT*, transgenik, *flowering locus T*

## Pendahuluan

Pembungaan pada tanaman dibagi menjadi 2 tahapan yaitu tahap transisi (*floral transition*) dan perkembangan organ bunga (*floral development*). Tahap transisi merupakan tahap akhir masa vegetatif menuju tahap awal masa generatif. Tahap inisiasi diatur oleh faktor lingkungan (fotoperiodesitas dan suhu) dan faktor genetik (gen pembungaan) (Xu et al., 2012). Pada tanaman *Phalaenopsis amabilis* penyinaran hari pendek dan suhu dingin akan mengaktifkan kerja gen pada tahap transisi seperti gen CO, GI, FD, FE, FHA, FT, dan FWA. Gen tersebut akan menonaktifkan kerja floral repressor sehingga terjadi perubahan meristem vegetatif menjadi meristem infloresens (Howell, 1998). *Flowering Locus T* (FT) adalah salah satu gen penting dalam pengaturan pembungaan, gen lainnya adalah *Flowering Locus D* (FD) yang menjadi perantara gen FT dan *Terminal Flower 1* (TFL1). Ketiga gen tersebut memainkan peran penting dalam transisi bunga dan perkembangan perbungaan (Cheng et al., 2020)

Pada tanaman *Arabidopsis thaliana*, cahaya akan mengaktifkan kerja gen pada tahap transisi seperti gen CO, FD, dan FT. Gen tersebut akan menonaktifkan *kerja floral repressor* sehingga terjadi perubahan meristem vegetatif menjadi meristem infloresens (Bouche et al., 2016). Pada tanaman padi ditemukan gen *Heading date 3* (*Hd3a*) dan *Rice Flowering Locus T* (*RFLT*) ortholog dari gen FT. Aktivitas gen *Hd3a* yang diaktivasi oleh *OsTrx1*, *Ehd1*, *SIP1* menyebabkan padi memasuki fase pembungaan (Tamaki et al., 2007; Komiya, Yokoi & Shimamoto, 2009; Jiang et al., 2018). Pada tanaman *Brachypodium*, barley (*Hordeum vulgare*) dan gandum ditemukan *Flowering Locus T* (FT) yang menjadi gen penting dalam pembungaan (Lv B et al., 2014; Li et al., 2015). Penelitian dengan menggunakan tanaman legume ditemukan gen FT yang menginduksi pembungaan yaitu *FTa*, *FTb*, dan *FTc* (Książkiewicz et al., 2016).

*Phalaenopsis amabilis* (L) Blume atau anggrek bulan merupakan salah satu tanaman anggrek asli Indonesia yang memiliki nilai ekonomis dan estetika tinggi. Pembungaan menjadi faktor penting dalam budidaya tanaman, sedangkan tanaman ini memerlukan waktu lebih dari 3 tahun untuk berbunga (Bercu et al., 2011). Percepatan pembungaan adalah hal yang penting dilakukan untuk meningkatkan produksi tanaman dan mempersingkat waktu pembungaan. Gen pembungaan tanaman *P. amabilis* berhasil diisolasi oleh Dr. Seonghoe Jang dari *Academia Sinica, Biotechnology Center in Southern*. Gen *PaFT* merupakan ortholog dari gen FT yang dimiliki *P. amabilis*.

Gen *PaFT* disisipkan pada T-DNA dengan promoter ubikuitin dan terminaton T-Nos. Analisis molekuler dan morfologi dilakukan untuk memperoleh tanaman transgenik yang membawa gen *PaFT* dan membedakan dengan tanaman *wildtype*/nontransforman. Analisis molekuler dilakukan dengan deteksi T-DNA *Ubipro::PaFT* pada tanaman transforman sehingga diperoleh tanaman transgenik. Identifikasi morfologi dengan mengamati jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar dan panjang akar. Melalui studi literatur kemudian dilakukan perbandingan fenotip dengan beberapa tanaman transgenik yang membawa gen *Floweing locus T*.

## Metode

### a. Alat dan Bahan

Bahan tanaman adalah 45 protokorm hasil transformasi genetik dengan *Agrovacterium tumefaciens*. Medium kultur adalah *New Phalaenopsis* (NP). Isolasi DNA dengan metode modifikasi Murray & Thompson (1989) CTAB 3%. Deteksi T-DNA pada tanaman transforman dengan PCR (Takara).

Primer T-DNA *PaFT* yaitu *Ubi* (5'-TTGTCGATGCTCACCCCTG-3') dan *Tnos* (5' GATCTAGTAACATAGATGACACCGCG-3'), amplifikasi gen *PaFT* yaitu deg PaFT-F1: (5'-TTGTCGATGCTCACCCCTG-3'), deg PaFT-R1: (5'-GATCTAGTAACATAGATGACA CCGCG-3'). Sebagai kontrol digunakan primer Trnl-F untuk DNA.

### b. Prosedur Penelitian

#### 1. Subkultur

Subkultur dilakukan pada 45 protokorm transforman *P. amabilis* setiap 2-4 minggu pada medium NP0. Protokorm ditanam dengan pencahayaan fotoperiodesitas hari pendek (8 jam terang dan 16 jam gelap) suhu 25°C. Analisis TDNA *PaFT* dilakukan pada saat protokorm tumbuh menjadi tanaman yang lengkap di umur 30 – 40 minggu.

#### 2. Amplifikasi T-DNA *Ubi::PaFT* pada *P. amabilis* transforman

Genom tanaman kandidat dan tanaman *wildtype* diisolasi dengan metode CTAB. Deteksi T-DNA *PaFT* pada genom *P. amabilis* dengan metode Semiarti et al. (2011). Bahan 10 ng DNA genom tanaman transforman, dNTP mixture, ddH<sub>2</sub>O, Taq Polymerase, taq buffer, primer T-DNA yaitu *Ubi* (*forward*) dan *TNos* (*reverse*), primer gen *PaFT* yaitu deg PaFT-F1 (*forward*) dan deg PaFT-R1 (*reverse*), primer Trnl-F. Siklus PCR 35 siklus; predenaturasi 94°C 5 menit, denaturasi 94°C 1 menit, annealing primer T-DNA PaFT 57°C; primer PaFT 54°C; Trnl-F: 58°C, masing-masing selama 30 detik, elongasi 72°C 1 menit 30 detik, post elongasi 72°C 5 menit, dan *cooling* 4°C 10 menit.

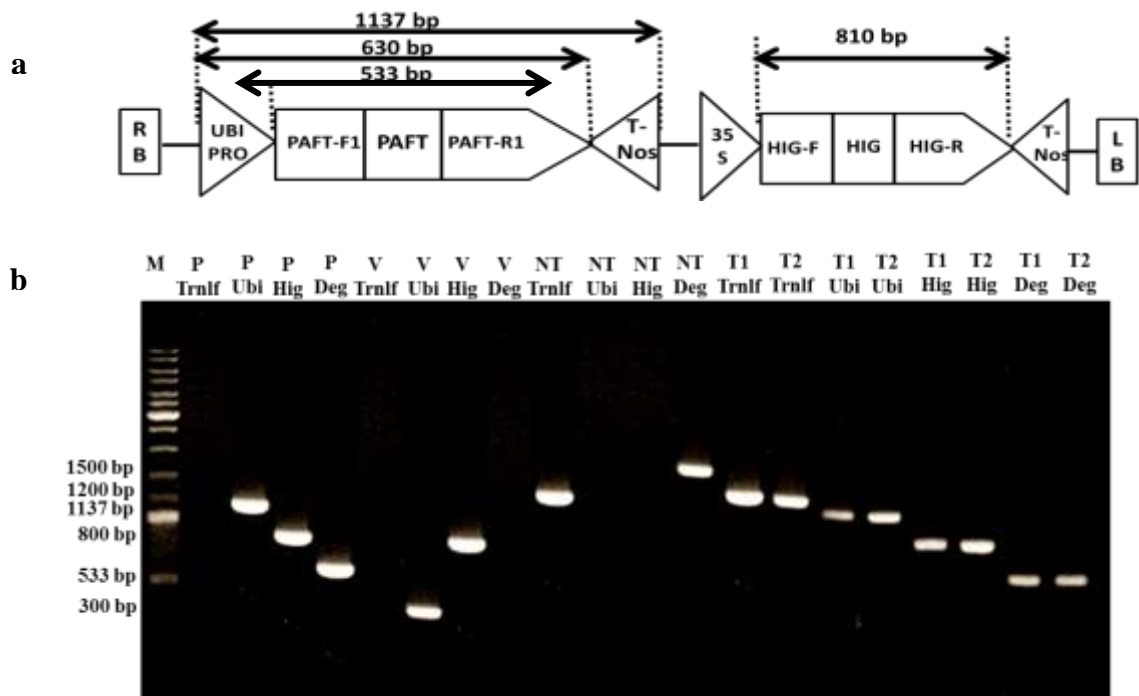
#### 3. Identifikasi Morfologi

Identifikasi morfologi dilakukan dengan mengamati dan menghitung jumlah tunas, jumlah daun, panjang daun, jumlah akar, panjang akar dan perkembangan tanaman anaman *P. amabilis* transgenik dan nontransforman/ *wildtype*. Analisis morfologi tanaman transgenik pembawa gen pembungaan dilakukan studi literatur pada beberapa jurnal untuk mengetahui karakter morfologi tanaman transgenik.

## Hasil dan Pembahasan

### a. Analisis Molekuler Tanaman Transgenik *P. amabilis*

Amplifikasi DNA genom dengan primer Ubi dan T-Nos dihasilkan pita DNA 1137 bp, menunjukkan T-DNA terintegrasi pada genom tanaman transgenik. Sekuen DNA hasil amplifikasi berdasarkan konstruksi plasmid pGAS102 (Gambar 1a). Amplifikasi pGAS102 dan vektor dengan primer universal trnl-F tidak menghasilkan sekuen DNA. Amplifikasi primer Ubi dan T-Nos pada pGAS102 menghasilkan DNA 1137 bp, pada vektor dihasilkan pita DNA 300 bp. Vektor tidak mengandung fragment *PaFT* hanya bagian promoter (Ubi) dan terminator (T-Nos). Amplifikasi pGAS102 dengan deg PaFT menghasilkan pita DNA 533 bp. Amplifikasi dengan primer trnl-F pada DNA genom tanaman *wildtype* dan transgenik dihasilkan DNA sepanjang 1200 bp (Gambar 1b).



Primer	PGAS102	Vektor	NT	T1	T2
Trnlf	-	-	+	+	+
Ubi-TNos	+	+	-	+	+
HPT	+	+	-	+	+
Deg PaFT	+	-	+	+	+

**Gambar 1 a)** Konstruksi Plasmid pGAS102. **Gambar b)** (P) Amplifikasi plasmid pGAS102, (V) vektor, tanaman nontransforman (NT), tanaman transgenik (T1 dan T2) masing-masing berurutan primer Trnlf, Ubi (*forward*) dan T-Nos (*reverse*), Higromisin-F (*forward*) dan Higromisin-R (*reverse*), deg PaFT-F1 (*forward*) dan deg PaFT-R1 (*reverse*). Tanda (+) menghasilkan pita DNA, (-) tidak menghasilkan pita DNA.

Amplifikasi dengan primer Ubi dan T-Nos pada DNA genom tanaman nontransforman/*wildtype* tidak menghasilkan pita DNA, sedangkan pada genom *P. amabilis* transgenik menghasilkan pita sepanjang 1137 bp. Tanaman positif transgenik apabila amplifikasi dengan primer ubi dan T-nos menghasilkan DNA sepanjang 1137 bp. Amplifikasi dengan primer deg PaFT-F1 dan deg PaFT-R1 pada genom tanaman *wildtype* menghasilkan DNA sepanjang 1500 bp, sedangkan pada tanaman transgenik dihasilkan pita DNA sepanjang 533 bp. Hasil amplifikasi DNA sepanjang 1500 bp merupakan gen *PaFT* endogen tanaman *P. amabilis*. Perbedaan panjang gen *PaFT* endogen dan transgen *PaFT* karena gen *PaFT* endogen memiliki intron berbeda dengan transgen *PaFT* yang sudah dihilangkan bagian intronnya.

### b. Kajian Morfologi Tanaman Transgenik *P. amabilis* dan Beberapa Tanaman Transgenik Pembawa Gen *Flowering Locus T*

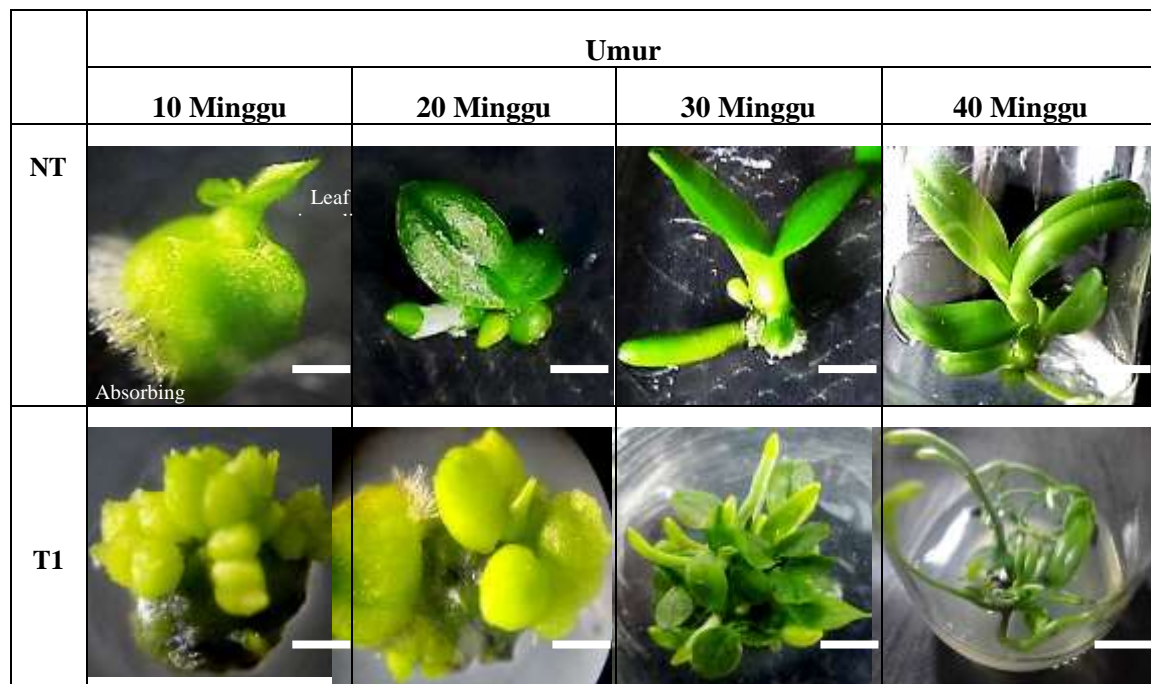
Perbandingan rata-rata jumlah tunas dan panjang akar tanaman *P. amabilis* transgenik dibandingkan dengan *wildtype*, jumlah tunas pada tanaman transgenik lebih banyak dan panjang akar yang lebih panjang dibandingkan *wildtype*. Jumlah daun tanaman *P. amabilis* transgenik dan nontransforman diperoleh rata-rata jumlah daun *P. amabilis* nontransforman lebih banyak dibandingkan *P. amabilis* transgenik. Hasil pengukuran panjang daun di minggu ke 30 diperoleh hasil panjang daun nontransforman lebih panjang dibandingkan daun tanaman transgenik. Jumlah akar tanaman transgenik pada umur 40 minggu lebih banyak dibandingkan tanaman non transforman (Tabel 1).

**Tabel 1.** Identifikasi Morfologi Tanaman nontransforman dibandingkan transgenik

	Rerata Pertumbuhan Tanaman															
	JT	JD	JA	PA	JT	JD	JA	PA	JT	JD	JA	PA	JD	PD	JA	PA
N	1	1	0	0	1	2	2	0,8	1	2	2	2	6	5	2	6
T								cm				cm		cm		cm
T	>10	0	0	0	>10	1	0	0	>10	2	2	1	4	2	4	11
								cm				cm		cm		cm
	<b>10 minggu</b>				<b>20 minggu</b>				<b>30 minggu</b>				<b>40 minggu</b>			

Keterangan: JT: Jumlah Tunas, JD: Jumlah Daun, JA: Jumlah Akar, PD: Panjang Daun, PA: Panjang Akar

Pengamatan perkembangan pada tanaman *wildtype* dan tanaman transgenik mulai umur 10 minggu sampai umur 40 minggu. Diperoleh perbedaan pertumbuhan tanaman *wildtype* dengan perkembangan *singleshoot*, sedangkan tanaman transgenik dengan perkembangan *multishoot* (Gambar 2). Secara umum perkembangan tanaman transgenik lebih pendek dibandingkan tanaman transgenik, sedangkan untuk akar tanaman transgenik memiliki akar yang lebih panjang dan lebih banyak dibandingkan nontransforman.



**Gambar 2.** Perkembangan tanaman nontransformatan dan tanaman transgenik umur 10, 20, 30 dan 40 minggu. Keterangan: 10 minggu, NT: memiliki 1 tunas/*singleshoot*, T1: memiliki banyak tunas/*multishoot*; 20 minggu, NT tumbuh menjadi tanaman utuh, T1: masing-masing bagian apikal tunas *multishoot* meruncing menunjukkan perkembangan *shoot apical meristem*; 30 minggu, NT dan T1 tumbuh menjadi tanaman utuh; 40 minggu, tanaman *wildtype* dan transgenik menjadi tanaman utuh.

Perbedaan morfologi *P. amabilis wildtype* dan *P. amabilis* transgenik terletak pada jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, panjang akar, dan panjang daun didukung oleh penelitian yang berhubungan dengan berbagai tanaman transgenik pembawa gen *Flowering Locus T*. Tanaman *Arabidopsis thaliana* transgenik yang disisipi gen *GmFT2a* dan *GmFT5a* dari tanaman *Glycin max* memiliki ukuran daun yang lebih kecil dan jumlah daun lebih sedikit dibandingkan tanaman *wildtype* (Kong *et al.*, 2010). Padi transgenik yang disisipkan gen *HvFT1*, *HvFT2*, dan *HvFT3* dari tanaman *barley* (*Hordeum vulgare*) memiliki ukuran tanaman yang lebih pendek, daun yang lebih kecil dan jumlah daun lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman *wildtype* (Kikuchi *et al.*, 2009).

Penyisipan gen pengatur pembungaan *PtAGL24* dari tanaman *Poncirus trifolia* ke dalam *Arabidopsis thaliana* selain menyebabkan percepatan pembungaan juga mengubah bentuk morfologi tanaman, yaitu munculnya daun pada perbungaan *Arabidopsi thaliana* (Sun *et al.*, 2016). Penyisipan gen FT dari *Citrus clementina* yaitu gen *CcFT3* ke cangkakan *Carrizo citrange* (*Citrus sinensis* Osb. × *Poncirus trifoliata* L. Raf.) menghasilkan tanaman transgenik yang memiliki duri yang lebih kecil dibandingkan tanaman *wild type* (Soares *et al.*, 2020). Penelitian gen pembungaan *FLOWERING LOCUS T-like gene* yaitu *MeFT1* gen endogenous dari tanaman cassava. Gen *MeFT1* dengan promoter *e Cassava vein mosaic virus* (CsVMV) sehingga gen *MeFT1* mengalami overekspresi. Selain terjadi *early flowering* juga mengalami peningkatan pembentukan cabang pada tanaman transgenik cassava (Odipio *et al.*, 2020).

Penyisipan gen *Flowering Locus T* tanaman kapas yaitu *GhFT1* ke dalam tanaman tembakau, menghasilkan tembakau transgenik dengan internodus yang lebih panjang dibandingkan tanaman tembakau *wildtype*, selain itu tanaman transgenik memiliki pertumbuhan tunas lateral yang lebih banyak dibandingkan *wildtype* (Li et al., 2015). Pada tanaman apel yang disisipi gen pembungaan dari tanaman *A. thaliana* mengalami pertumbuhan internodus perbungaan yang lebih panjang dibandingkan dengan tanaman *wildtype* (Tanaka et al., 2014). *Platycodon grandiflorus* memiliki gen pembungaan *FlgFT* yang merupakan ortholog dari gen *FT* *A. thaliana*. Penyisipan gen *FlgFT* pada *Platycodon grandiflorus* dengan promotor 35S menyebabkan pertumbuhan dwarfisme pada tanaman transgenik tetapi waktu perbungaan yang lebih pendek (Kim et al., 2022).

Gen *PISTILLATA* (*PI*) pada tembakau merupakan *MADS-box genes* dari *Phalaenopsis*. Tembakau transgenik dengan gen *PI* memiliki morfologi lebih pendek dibandingkan tanaman *wildtype* (Guo et al., 2007). Tanaman padi transgenik yang disisipi gen pembungaan *CO* memiliki karakter agronomi lebih baik dibandingkan tanaman padi kontrol, namun tidak menunjukkan waktu pembungaan lebih cepat (Irshanty et al., 2014). Penyisipan gen menyebabkan perubahan fungsional pada suatu tanaman transgenik jika gen disisipkan dari tanaman yang berbeda (*heterologous plants*) (Hsiao et al., 2011). Overekspresi gen *TERMINAL FLOWER 1* (*TFL1*) pada *Arabidopsis thaliana* selain mempengaruhi proses pembungaan juga mempengaruhi arsitektur tanaman. Terjadi peningkatan jumlah daun tanaman dan cabang dari perbungaan, sedangkan overekspresi gen *FT* menyebabkan jumlah daun dan cabang perbungaan yang lebih sedikit (Liu et al., 2021).

## Penutup

Tanaman transgenik yang mengandung transgen *Ubipro::PaFT* memiliki jumlah tunas yang lebih banyak dan akar yang lebih panjang dibandingkan dengan tanaman non transforman. Tanaman transgenik memiliki pita DNA 1137 bp yang merupakan T-DNA pembawa gen *PaFT*. Amplifikasi dengan primer deg *PaFT* menghasilkan DNA sepanjang 1500 bp pada tanaman *wildtype* yang merupakan gen *PaFT* asli tanaman.

## Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Prof. Dr. Endang Semiarti, MS, M.Sc dan Dr. Ixora Sartika Mercuriani, M.Si. yang telah membimbing penelitian ini.

## Daftar Pustaka

- Bercu, R., A. Bavaru., and L. Broasca. 2011. Anatomical Aspects of *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume. *Annals of RSCB*, 16 (2).
- Bouché, F., D'Aloia, M., Tocquin, P. et al. Integrating roots into a whole plant network of flowering time genes in *Arabidopsis thaliana*. *Sci Rep* 6, 29042 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep29042>
- Cheng, X., Guifen, L., Nick, K., Yuhong, T., Jiangqi, W. 2020. Genetic regulation of flowering time and inflorescence architecture by *MtFDa* and *MtFTa1* in *Medicago truncatula*. *Journal Plant Physiology* **185** (1): 161-178.
- Guo, B., Hexige, S., Zhang, T., Pittman, J. K., Chen, D., Ming, F. 2007. Cloning and Characterization of a PI-like MADS-Box Gene in *Phalaenopsis* Orchid. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, **40**: 845-852.
- Howell, S. H. 1998. *Molecular of Plant Development*. Cambridge University Press.
- Hsiao, Y-Y., Pan, Z-J., Hsu, C-C., Yang, Y-P., Hsu, C-Y, Chuang, Y-C, Shih, H-H., Chen, W-H., Tsai, W-C., Chen, H-H. 2011. *Plant Cell Physiol.*, **52** (9): 1467-1486.
- Irshanty, F. M., Andi, S., Santoso, T. J. 2014. Morphological and Molecular Analysis and Flowering Time of T2 Generation Transgenic Rice cv. Nipponbare Carrying *CONSTANS (CO)* Gene. *Makara J. Sci* **18** (1): 7-12
- Jiang, P., Shiliang, W., Han, Z., Hao, L., Fei, Z., Yanhua, S., Zuntao, X., Haiyan, L., Qian, Q., Yong, D. 2018. SIP1 participates in regulation of flowering time in rice by recruiting *OsTrx1* to *Ehd1*. *New Phytologist* **219** (1): 422 – 435.
- Kikuchi, R., Kawahigashi, H., Ando, T., Toonoka, T., Handa, H. 2009. Molecular and Functional Characterization of PEBP Genes in Barley Reveal the Diversification of Their Roles in Flowering. *Plant Physiology*, **149**: 1341–1353.
- Kim, G.; Rim, Y.; Cho, H.; Hyun, T.K. 2022. Identification and Functional Characterization of FLOWERING LOCUS T in *Platycodon grandiflorus*. *Plants* 2022, *11*, 325. <https://doi.org/10.3390/plants11030325>
- Komiya R., Yokoi S. & Shimamoto K. 2009. A gene network for long-day flowering activates RFT1 encoding a mobile flowering signal in rice. *Development*, **136**: 3443–3450.
- Kong, F., B. Liu., Z. Xia., S. Sato., B. M. Kim., S. Watanabe., T. Yamada., S. Tabata., A. Kanazawa., K. Harada., and J. Abe. 2010. Two Coordinately Regulated Homologs of *Flowering Locus T* are Involved in The Control of Photoperiodic Flowering in Soybean. *Plant Physiology*, **154**: 1220–1231
- Książkiewicz, M., Rychel, S., Nelson, M. N., Wyrwa, K., Naganowska, B., Wolko, B. 2016. Expansion of the phosphatidylethanolamine binding protein family in legumes: a case study of *Lupinus angustifolius* L. *FLOWERING LOCUS T* homologs, *LanFTc1* and *LanFTc2*. *BMC Genomics* (2016) 17:820
- Li, C., Lin, H., Dubcovsky, J. 2015. Factorial combinations of protein interactions generate a multiplicity of florigen activation complexes in wheat and barley. *The Plant Journal* **2015** (84): 70 – 82.



- Li C, Zhang Y, Zhang K, Guo D, Cui B, Wang X and Huang X. 2015. Promoting flowering, lateral shoot outgrowth, leaf development, and flower abscission in tobacco plants overexpressing cotton *FLOWERING LOCUS T (FT)*-like gene *GhFT1*. *Front. Plant Sci.* 6:454. doi: 10.3389/fpls.2015.00454
- Liu, L., Lijie, X., Yupeng, J. & Hao, Y. 2021. Regulation by FLOWERING LOCUS T and TERMINAL FLOWER 1 in Flowering Time and Plant Architecture. *Small Struct*, 2, <https://doi.org/10.1002/sstr.202000125>
- Lv B, Nitcher R, Han X, Wang S, Ni F, et al. (2014) Characterization of FLOWERING LOCUS T1 (FT1) Gene in Brachypodium and Wheat. *PLoS ONE* 9(4): e94171. doi:10.1371/journal.pone.0094171.
- Odipto J, Getu B, Chauhan RD, Alicai T, Bart R, Nusinow DA, et al. (2020) Transgenic overexpression of endogenous FLOWERING LOCUS T-like gene MeFT1 produces early flowering in cassava. *PLoS ONE* 15(1): e0227199. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227199> Soares,
- J. M., Kyle, C. W., Wenming, Q., Daniel, S., Lamiaa, M. M., Mahmoud, Hao, W., Patrick, H., Janice, Z., Kawther, A. J., Jude, W. G., Manjul, D. 2020. The vascular targeted citrus *FLOWERING LOCUS T3* gene promotes non-inductive early flowering in transgenic Carrizo rootstocks and grafted juvenile scions. *Nature research* 10:21404 <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78417-9>
- Tamaki S., Matsuo S., Wong H.L., Yokoi S. & Shimamoto K. 2007. Hd3a protein is a mobile flowering signal in rice. *Science*, **316**: 1033–1036.
- Tanaka, N., Ayano, U., Narumi, S., Naozumi, M., Sadao, K., Sae, T., Yuki, T-M., Masato, W. 2014. Overexpression of *Arabidopsis FT* gene in apple leads to perpetual flowering. *Plant Biotechnology*, **31**: 11–20.
- Semiarti, E., Indrianto, A., Purwantoro, A., Machida, Y., Machida, C. 2011. *Agrobacterium-Mediated Transformation of Indonesian Orchids for Micropropagation*. In: Genetic Transformation. *InTech, Croatia*: 215-240. ISBN 978-953-307-364-4 2.
- Sun L-M, Zhang J-Z and Hu C-G (2016) Characterization and Expression Analysis of PtAGL24, a SHORT VEGETATIVE PHASE/AGAMOUS-LIKE 24 (SVP/AGL24)-Type MADS-Box Gene from Trifoliolate Orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.). *Front. Plant Sci*, **7**: 823. doi: 10.3389/fpls.2016.00823
- Xu, F., Xiaofeng, R., Xiaohua, H., Shuiyuan, C. 2012. Recent Advances of Flowering Locus T Gene in Higher Plants. *Int. J. Mol. Sci.* **2012** (13): 3773-378, doi:10.3390/ijms13033773