



Manipulacja dostępnością receptorów etylenu – konsekwencje dla rozwoju roślin *in vivo* i *in vitro*

Jan Kępczyński

Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Szczeciński, Szczecin

Manipulating the availability of ethylene receptors-consequences for *in vivo* and *in vitro* plant development

Summary

Plant hormone ethylene is involved in the regulation of many physiological processes. Response of plant tissue to ethylene requires binding of ethylene to its receptor, probably containing metal, perhaps copper. Manipulation of ethylene perception allows to modulate physiological processes in order to know the role of ethylene and also to commercially control some processes. There are many compounds which interact with the ethylene receptor. Some compounds bind reversibly eg. 2,5-norbornadiene and some unreversibly eg. cyclopropenes bind to ethylene receptor. Cyclopropenes and 1-MCP are very effective blocking agents for ethylene receptor. Its application at low concentration, 0.5 nM, for 24 hours protects carnations and bananas from the effects of ethylene for ca. 12 days. 1-MCP is commonly used in studies and was registered to be used in a number of horticultural products in several countries. The effect of 1-MCP on *in vivo* seed germination, seedlings growth, flower senescence and fruit ripening as well as *in vitro* shoot formation, rhizogenesis and somatic embryogenesis are discussed.

Key words:

1-methylcyclopropene, 1-MCP, 2,5-norbornadiene, 2,5-NBD, cyclopropene, diazocyclopentadiene, DACP, ethylene receptor, *trans*-cyclooctene.

Adres do korespondencji

Jan Kępczyński,
Katedra Fizjologii
i Biotechnologii Roślin,
Wydział Nauk
Przyrodniczych,
Uniwersytet Szczeciński,
ul. Wąska 13,
71-415 Szczecin;
e-mail:
jkep@univ.szczecin.pl

1. Wstęp

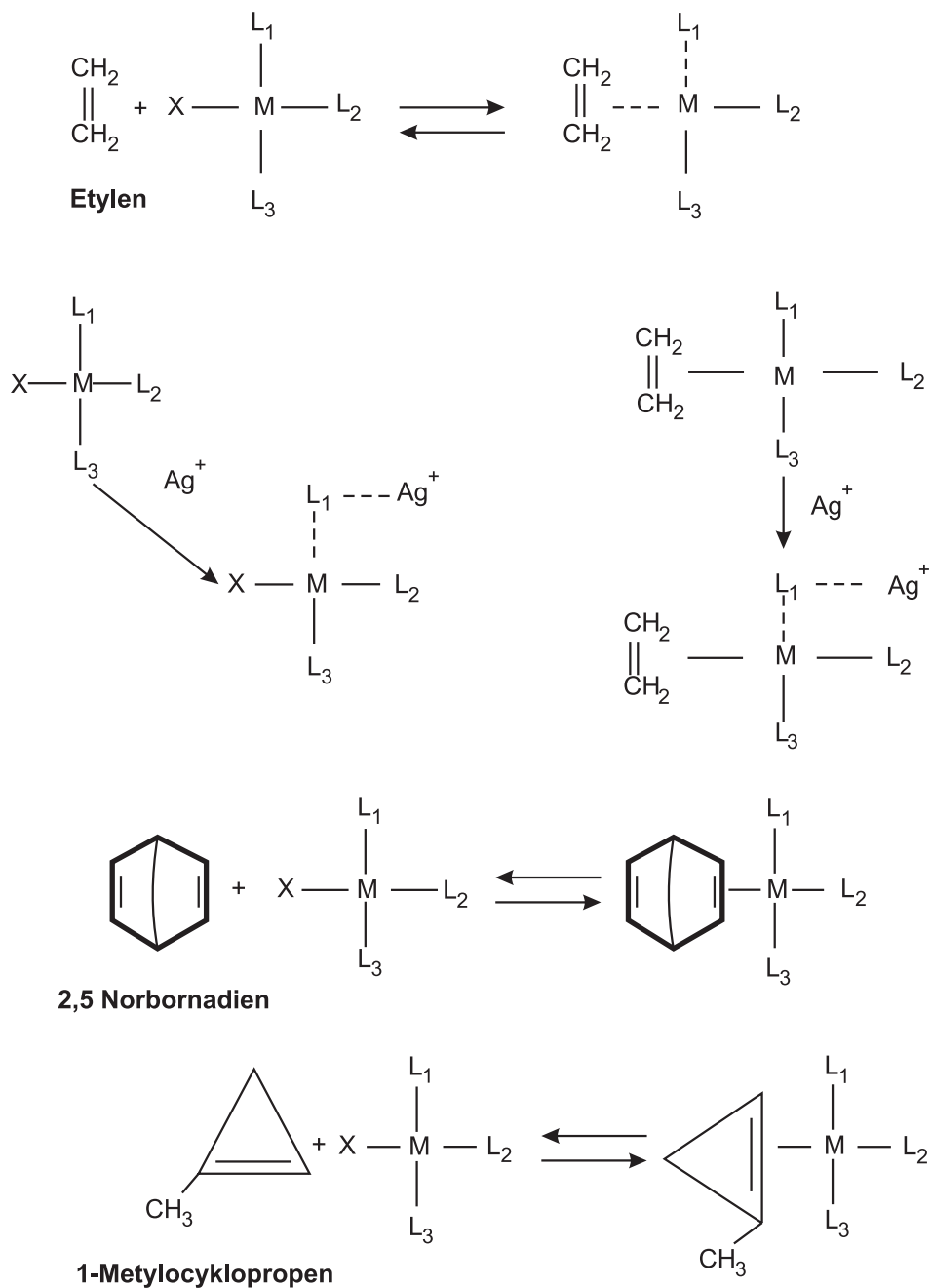
Historia badań dotyczących etylenu zapoczątkowana była obserwacją wpływu gazu ulatniającego się z latarni ulicznych na przyspieszanie defoliacji rosnących w pobliżu drzew. W 1901 r.

rosyjski student D. Neljubow wykazał, że etylen obecny w gazie wywołuje potrójną reakcję siewek grochu polegającą na a) zahamowaniu wzrostu, b) zwiększeniu grubości oraz c) anormalnym wzroście horyzontalnym (1). Dziewięć lat później Cousin udowodnił, że lotne związki wydzielane przez pomarańcze przyspieszają dojrzewanie bananów, a w 1934 r. Gane wykazał, że etylen jest naturalnym produktem metabolizmu roślin. Wtedy gaz ten został zaklasyfikowany do hormonów roślinnych. W kolejnych 25. latach znaczenie etylenu jako hormonu było podważane. Uważano, że głównymi hormonami są auksyny, a etylen pełni nieistotną funkcję pośrednią. Dopiero zastosowanie w 1959 r. chromatografii gazowej do oznaczania etylenu zapoczątkowało dynamiczny rozwój badań dotyczących udziału etylenu w różnych procesach. Doprowadziło to do uznania tego związku za jeden z najważniejszych hormonów roślinnych. Obecnie wiadomo, że etylen jest nie tylko produkowany przez większość tkanek roślinnych, a także przez bakterie i grzyby. Tkanki roślinne produkują etylen z metioniny poprzez S-adenozylometioninę przekształcaną do bezpośredniego prekursora etylenu, kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboksyłowego (ACC). Etylen indukuje m.in. ustępowanie spoczynku, kiełkowanie, epinastie, kwitnienie, dojrzewanie, starzenie i opadanie organów. Hormon ten hamuje wzrost elongacyjny u większości roślin, jakkolwiek u ryżu stymuluje wydłużanie międzywęźli siewek. Wykazano, że etylen wpływa również na gąbki morskie oraz kultury *in vitro* komórek ssaków. Hormon ten pełni szczególną funkcję we wzroście i rozwoju roślin lub ich organów w kulturach *in vitro*. W pojemnikach hodowlanych w związku z ograniczeniem wymiany gazowej dochodzi do kumulacji etylenu indukowanego stresem związanym z cięciem tkanki i obecnością auksyn i cytokinin w pożywce, które indukują produkcję tego hormonu (2). Reakcja roślin na etylen zależy od jego stężenia oraz wrażliwości tkanki w danym stadium ontogenezy, co związane jest z obecnością lub brakiem receptorów zdolnych do wiązania etylenu. Procesy fizjologiczne, kontrolowane przez etylen, można regulować manipulując stężeniem etylenu w tkance poprzez: 1) dostarczanie etylenu lub związków z których etylen jest produkowany (ACC) lub uwalniany na drodze rozkładu (etefon), 2) zastosowanie odpowiednich inhibitorów jego biosyntezy oraz 3) modyfikacje różnych etapów szlaku biosyntezy na drodze transformacji (3,4). Można też kontrolować wrażliwość na etylen poprzez: 1) stosowanie związków wiążących się z receptorem etylenu lub 2) modyfikację syntezy receptorów etylenu na drodze transformacji.

Celem artykułu jest omówienie wiązania etylenu, jego inhibitorów wiązania oraz przedstawienie przykładów ich wykorzystania do regulacji procesów fizjologicznych *in vivo* i *in vitro*.

2. Wiązanie etylenu

Warto podkreślić, że już 39 lat temu Burg i Burg (1967) (5) przedstawili hipotezę, że pojawienie się reakcji fizjologicznej pod wpływem etylenu jest uwarunkowane



Rys. 1. Schemat wiązania inhibitorów działania etylenu do jego receptora.

utworzeniem kompleksu etylenu z receptorem. Hipoteza ta opiera się na znanej od 1827 r. informacji, że olefiny tworzą kompleksy z metalami (6) oraz na wynikach doświadczeń, w których sprawdzano wpływ etylenu oraz nienasyconych węglowodorów na wzrost siewek grochu. Wykazano, że w celu wywołania połowy maksymalnej reakcji na etylen należy zastosować 100 razy wyższe stężenie propylenu lub 2800 razy wyższe stężenie acetylenu niż etylenu. Ustalono korelację pomiędzy aktywnością biologiczną nienasyconych węglowodorów a ich zdolnością do tworzenia kompleksów z jonem srebra.

Sisler i Yang w 1984 r. zaproponowali model działania etylenu (rys. 1). Zgodnie z ich koncepcją receptor etylenu zawiera jon metalu związany z czterema ligandami. Funkcje ligandów mogą pełnić cysteina, histydyna lub nienasycone kwasy tłuszczowe (7). Zastąpienie cysteiny lub histydyny z wykorzystaniem transformacji, innym aminokwasem wyeliminowało reakcję *Arabidopsis* na etylen oraz wiązanie etylenu w drożdżach (8,9). W obecności etylenu jeden z ligandów ulega wymianie na etylen i powstaje kompleks, który umożliwia pojawienie się reakcji fizjologicznej. W ostatnim dziesięcioleciu nastąpił ogromny postęp w badaniach dotyczących receptorów etylenu. Zidentyfikowano kilka białek receptorowych zlokalizowanych w błonach retikulum endoplazmatycznego odpowiedzialnych za wiązanie etylenu. Sklonowano też geny kodujące syntazę tych białek. Udowodniono, że wysokie powinowactwo białek receptorowych do etylenu uwarunkowane jest obecnością jonów wapnia.

3. Inhibitory wiązania etylenu

3.1. Dwutlenek węgla

Dwutlenek węgla zapobiega lub zmniejsza reakcję na etylen jeśli stężenie etylenu jest niskie i nie przekracza wartości 1 $\mu\text{l/l}$ (5). Sugerowano, że gaz ten jest konkurencyjnym inhibitorem działania etylenu. Uniemożliwia on całkowicie lub częściowo ujawnienie się wpływu etylenu na wiele procesów m.in. dojrzewanie owoców, starzenie kwiatów i zakładanie warstwy odcinającej (1). W związku z tym gaz ten w wysokich stężeniach (np. 3-5%) znalazł powszechne zastosowanie w przechowywaniu owoców.

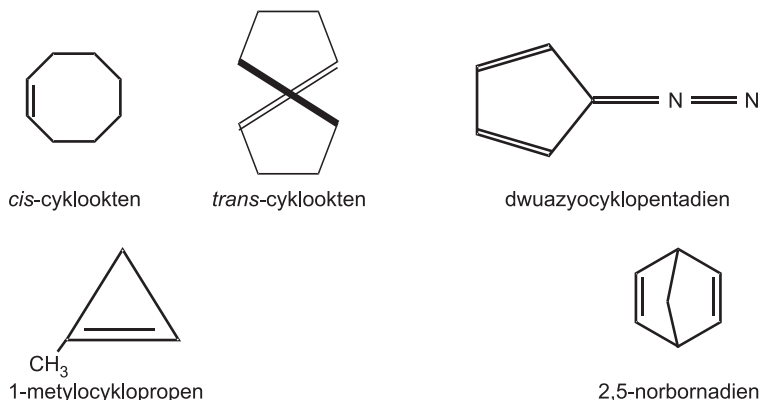
3.2. Jony srebra

Działanie etylenu w wielu procesach takich jak wzrost, opadanie organów, starzenie kwiatów ciętych i determinacja płci blokują jony srebra (1). W badaniach często stosowane były azotan srebra i tiosiarczan srebra. Tiosiarczan srebra znalazł za-

stosowanie w praktyce do przedłużania trwałości kwiatów ciętych. Zgodnie z koncepcją Sislera i Yanga (6) jon srebra może reagować z jednym z ligandów, wtedy niemożliwe jest przyłączenie etylenu. Może też przyłączyć się do ligandu receptora związanego z etylenem, co powoduje zmniejszenie skuteczności etylenu.

3.3. Cykliczne olefiny

Sisler i Pian (1973) (10) wykazali, że niektóre cykliczne olefiny uniemożliwiają ujawnienie się wpływu etylenu na oddychanie liści tytoniu. Informacja ta została w pełni wykorzystana dziesięć lat później. Sisler i Yang (1984) (6) sprawdzili aktywność olefin wykorzystując tzw. test siewek grochu. Stosując mieszaniny różnych stężeń olefin z różnymi stężeniami etylenu stwierdzili, że cykliczne olefiny są konkurencyjnymi inhibitorami działania etylenu współzawodniczącymi z tym hormonem o miejsce wiązania na receptory. Najbardziej aktywną olefiną okazał się 2,5-norbornadien (NBD) (rys. 2). Wiąże się on nietrwale z receptorem. Zablokowanie wpływu etylenu wymaga stałej obecności cząsteczek gazu w otaczającej atmosferze. Po usunięciu jego cząsteczek z atmosfery cząsteczki norbornadienu stopniowo opuszczają receptor i przyłączanie etylenu umożliwia przebieg zablokowanego wcześniej procesu. Wpływ norbornadienu zanika szybciej jeśli tkankę potraktowaną wcześniej tym związkiem umieści się w atmosferze etylenu. Zahamowanie określonego procesu norbornadienem można w pożądanym momencie zniwelować wprowadzając do atmosfery dużą ilość etylenu, ponieważ jego cząsteczki wypierają norbornadien z receptora i tworzy się aktywny kompleks odpowiedzialny za indukcję danej reakcji fizjologicznej. Był on często stosowany w badaniach procesów kontrolowanych przez etylen (1), np. w ustępowaniu spoczynku szarłatu. Nasiona szarłatu szorstkiego znajdujące się w spoczynku pierwotnym kiełkują pod wpływem etylenu, a wpływ tego hormonu nie ujawnia się w obecności norbornadienu (11). Podobną zależność stwierdzono w doświadczeniach z nasionami szarłatu zwiślego znajdującego się w spoczynku wtórnym (12). Sugeruje to, że wiązanie etylenu jest niezbędne dla ustąpienia obydwu typów spoczynku. Wykorzystując norbornadien wykazano, że ustępowanie spoczynku wtórnego nasion szarłatu zwiślego przez giberelinę lub benzyloadeninę wymaga wiązania etylenu (13). Dzięki zastosowaniu NBD udowodniono niezbędność etylenu w kiełkowaniu niespoczynkowych nasion szarłatu (14) oraz nasion kilku innych gatunków (15). Olefina ta hamuje kiełkowanie zarodników oraz wzrost i rozwój strzępek grzybni *Botrytis cinerea* (16). Hamuje ona również inne procesy przyspieszane przez etylen, tj. dojrzewanie owoców, starzenie kwiatów i opadanie liści (1). NBD wykorzystywano również w badaniach znaczenia etylenu w różnych procesach fizjologicznych w kulturach *in vitro*. Okazało się, że wiązanie endogennego etylenu jest niezbędne dla wzrostu tkanki kalusowej oraz różnicowania somatycznych zarodków *Medicago sativa* (17). NBD jest stosowany w postaci cieczy, która szybko odparowuje. Związek ten posiada bardzo nieprzyjemny zapach,



Rys. 2. Wzory inhibitorów wiązania etylenu.

co utrudnia stosowanie go w badaniach oraz uniemożliwia wykorzystanie w praktyce do opóźniania procesów dojrzewania owoców lub przedłużania trwałości kwiatów ciętych (1).

3.4. Cyklookteny

Cyklookteny działają antagonistycznie w stosunku do etylenu. Porównanie aktywności dwóch form *trans*-cyklooktenu z *cis*-cyklooktenem wskazuje na bardzo duże różnice w ich aktywności (7). *Trans*-cyklookten był 650 razy bardziej aktywny niż jego forma *cis* (rys. 2, tab.). *Trans*-cyklookten posiada wystarczającą lotność umożliwiającą traktowanie tkanek w formie gazu. Zwykle jest on skuteczny w stężeniach 50-100 razy niższych niż NBD. Zablokowanie receptorów etylenu jest możliwe tylko wtedy, jeśli jest on obecny cały czas w atmosferze otaczającej tkankę. Ograniczeniem w stosowaniu tego związku jest jego niedostępność w handlu.

3.5. Dwuazyocyklopentadien

Dwuazyocyklopentadien (DACP) charakteryzuje się niską skutecznością jako inhibitor działania etylenu (18,19). Jednak pod wpływem światła fluorescencyjnego dochodzi do fotorozkładu związku, a produkty fotolizy są bardzo aktywnymi inhibitorami wiązania etylenu. Mogą one blokować ujawnienie się wpływu etylenu przez 12 dni, jeśli są przez ten okres obecne w atmosferze. DACP jest niedostępny w handlu.

3.6. Cyklopropeny

Cyklopropeny wiążą się trwale z receptorem etylenu. Związki te są aktywne w bardzo niskich stężeniach (20). W większości doświadczeń wystarczyło jednokrotne traktowanie przez 12 do 24 h w celu całkowitego zablokowania receptorów. Cyklopropeny współzawodniczą z etylenem o miejsce wiązania na receptorze (21). Jeśli inhibitory te są zastosowane po wcześniejszym potraktowaniu tkanki etylenem ich działanie antagonistyczne może się nie ujawniać. Cyklopropeny użyte przed traktowaniem etylenem skutecznie blokowały działanie etylenu. Jednoczesne zastosowanie cyklopropenów i etylenu w znacznym stopniu ogranicza skuteczność inhibitorów. Etylen użyty po traktowaniu cyklopropenem, w stężeniu 600 razy wyższym niż stężenie inhibitora nie znosi jego oddziaływania. Po 10-12 dniach od momentu traktowania cyklopropenem tkanki odzyskują wrażliwość na etylen (7). Nie wiadomo czy cyklopropeny zostają uwolnione z receptorów czy syntetyzowane są nowe receptory, które wiążą etylen. Spośród cyklopropenów najbardziej aktywnymi inhibitorami są związki posiadające podstawniki w pozycji 1 (rys. 2). W miarę zwiększania wielkości podstawnika od grupy metylowej do propylowej uzyskanie takiego samego poziomu inhibicji wymaga zastosowania wyższego stężenia (21). Jednak 1-butylocyklopropen i cyklopropeny o większym podstawniku są bardziej aktywne niż 1-metylocyklopropen (1-MCP). Przykładem jest 1-heksylocyklopropen, który hamuje dojrzewanie bananów przez 20 dni, 1-nonylocyklopropen przez 35 dni, a 1-MCP przez 12 dni. Cyklopropeny stosowane w formie gazu są nietoksyczne, nie mają nieprzyjemnego zapachu. Najczęściej stosowanym cyklopropenem jest 1-MCP (C_4H_6), który posiada masę cząsteczkową 54 (rys. 2). Charakteryzuje się on 10-krotnie większym powinowactwem do receptora niż etylen. Jest on aktywny w znacznie niższych stężeniach niż etylen. Obecnie znanych jest 5 różnych zarejestrowanych preparatów zawierających 1-MCP. W USA i Kanadzie zarejestrowano preparaty EthylBlock i SmartFresh. Po dodaniu wody do preparatu SmartFresh dochodzi do uwolnienia 1-MCP w postaci lotnej (22); jego uwalnianie trwa dłużej w niższych temperaturach. Zarówno optymalne stężenie inhibitora jak też czas traktowania są ustalane doświadczalnie dla danej rośliny lub jej organu. Dotychczas najczęściej stosowano 1-MCP w stężeniach od 0,5 n/l do 1 μ /l w temperaturze od 20 do 25°C (23). Stężenie tego inhibitora można oznaczać wykorzystując chromatografię gazową. Stężenie 1-MCP w pojemnikach obniża się w miarę upływu czasu. Stwierdzono, że po 24 godzinach od momentu zastosowania w temperaturze 5°C stężenie inhibitora uległo obniżeniu do jednej trzeciej wartości początkowej. W doświadczeniach z wykorzystaniem brokuł i bananów stwierdzono, że należy stosować wyższe stężenie 1-MCP jeśli stosuje się krótszy czas traktowania (24,25). Jabłka odmiany Empire wymagają krótszego okresu traktowania 1-MCP o tym samym stężeniu niż odmiany Cortland (26). Zwykle owoce bardziej dojrzałe znajdujące się bliżej klimakterium i charakteryzujące się wyższą produkcją etylenu są mniej wrażliwe na 1-MCP (27). Stwierdzono, że 1-MCP był skuteczny jeśli zastosowano go po przechowaniu kiwi niż przed

(28). Zwykle jednokrotne traktowanie cyklopropenem było wystarczające. Jednak w doświadczeniach z wykorzystaniem owoców awokado dwukrotne traktowanie 1-MCP było bardziej skuteczne niż jednokrotne (29). Natomiast brokuły wystarczyło traktować tylko raz (30). Porównano skuteczność 1-MCP z innymi inhibitorami wiązania etylenu w doświadczeniu z wykorzystaniem bananów (tab.). Największą aktywnością charakteryzował się 1-MCP, a najmniejszą *cis*-cyklookten. Oznaczono też szybkość dyfuzji etylenu oraz jego inhibitorów wiązania z receptorów (7). Etylen dyfundował z miejsca wiązania w ciągu od 2 minut do 24 godzin w zależności od tkanki. Połowa związanego NBD opuszczała kielki soczewicy w ciągu 3 godzin, a *trans*-cyklooktenu w ciągu 6 godzin.

Tabela

Stężenie inhibitorów wiązania etylenu wymagane do zablokowania jego wpływu na banany (7)

Związek	Stężenie (nM ⁻¹)
2-5-NBD	55 000
<i>trans</i> -cyklookten	780
<i>cis</i> -cyklookten	512 000
1-MCP	0,7
3,3-MCP	700

4. Wykorzystanie 1-MCP w badaniach nad znaczeniem etylenu w procesach fizjologicznych

4.1. Kielkowanie nasion i wzrost siewek

1-MCP zastosowano w doświadczeniach z wykorzystaniem nasion *Striga hermonthica* (31). Kielkowanie tych nasion jest indukowane przez strigolaktony produkowane przez korzenie lub syntetyczne oraz przez etefon lub ACC. Stymulacja kielkowania przez syntetyczny strigolakton była związana z indukcją produkcji etylenu przed pojawieniem się kielka. Zahamowanie produkcji etylenu aminoetoksywinyloglicyną (AVG) uniemożliwiło indukcję kielkowania przez syntetyczny strigolakton. Jeśli dodatkowo do roztworu mieszaniny zawierającej strigolakton i AVG dodano prekursor biosyntezy etylenu – ACC, nasiona skielkowały. Traktowanie 1-MCP w stężeniu 1,5 µM uniemożliwiło kielkowanie nasion w obecności strigolaktonu, AVG i ACC. Działanie zatem etylenu, produkowanego z ACC jest niezbędne dla skielkowania nasion (31). Zaobserwowano, że 1-MCP uniemożliwia pojawienie się tzw. potrójnej reakcji siewek *Arabidopsis thaliana* wywoływanej przez etylen (32). Wystąpienie potrójnej reakcji siewek grochu zablokował również etylocyklopropen (21).

4.2. Dojrzewanie owoców klimakterycznych

Dojrzewanie owoców klimakterycznych jest skorelowane ze znacznym zwiększeniem oddychania i produkcji etylenu. Natomiast podczas dojrzewania owoców nieklimakterycznych nie dochodzi do wzrostu tempa oddychania, a produkcja etylenu utrzymuje się na niskim poziomie. 1-MCP stosowano najczęściej do traktowania owoców klimakterycznych. Preparat SmartFresh wykorzystywany do produkcji 1-MCP został zatwierdzony w 2002 r. w USA do stosowania na jabłka, melony, brzoskwinie, gruszki, śliwki i pomidory (33). Wykazano, że 1-MCP opóźnia dojrzewanie i starzenie owoców, powoduje obniżenie produkcji etylenu, oddychania, opóźnienie zmiany koloru i mięknięcia. Jednak niekiedy produkcja etylenu jest stymulowana przez ten inhibitor prawdopodobnie w wyniku utraty autoinhibicji kontrolowanej przez etylen. Zaobserwowano zróżnicowaną wrażliwość owoców w stosunku do 1-MCP. Zależy ona od gatunku, odmiany i stopnia dojrzałości. 1-MCP stosowany w stężeniu $1\mu\text{l/l}$ odpowiednim do opóźnienia dojrzewania jabłek blokuje całkowicie dojrzewanie gruszek. Zatem należy stosować go w niższych stężeniach w celu zapewnienia pożądanej jakości konsumpcyjnej gruszek (34). Niekorzystnym zjawiskiem jest brak inhibicji pod wpływem cyklopropenu zmian koloru skórki gruszek, co obniża wartość handlową owoców. Smak oraz aromat owoców jest również kontrolowany przez etylen. Czasami 1-MCP powoduje zmniejszenie produkcji lotnych związków decydujących o aromacie owoców, co może nie być akceptowane przez konsumentów. W celu opóźnienia dojrzewania często owoce przechowuje się w niskich temperaturach. Wrażliwość wielu owoców na zbyt niską temperaturę stanowi czynnik ograniczający ich długoterminowe przechowywanie, ponieważ pojawiają się uszkodzenia wywołane chłodem (ang. *chilling injury*). Okazało się, że 1-MCP może być wykorzystany do ograniczenia tych uszkodzeń (35) np. owoców jabłek i awokado (36). Natomiast zwiększenie uszkodzeń chłodem obserwowano jeśli morele, brzoskwinie, śliwki potraktowano 1-MCP (37,38). Zmniejszenie uszkodzeń spowodowanych chłodem było skorelowane z zahamowaniem produkcji etylenu. Ostatnio podjęto badania nad wykorzystaniem 1-MCP do opóźnienia dojrzewania tropikalnych i subtropikalnych owoców, które nie mogą być przechowywane w niskiej temperaturze z powodu uszkodzeń wywoływanych chłodem. W wielu krajach nie ma odpowiednich chłodni do przechowywania owoców i są one przechowywane w temperaturze otoczenia. Również w takim przypadku 1-MCP może mieć duże zastosowanie w praktyce. Badano wpływ 1-MCP na dojrzewanie tropikalnych owoców gruszy właściwej i papai (39,40). Inhibitor ten dwukrotnie wydłużył okres ich przechowywania. Jeśli zastosowano 1-MCP w stężeniu $0,9\mu\text{l/l}$ przez 6 godzin wtedy owoce te podobnie jak awokado lub gruszki po zastosowaniu zbyt wysokiego stężenia nie dojrzwały. Oprócz korzystnego wpływu na przechowywanie owoców metylocyklopropan również wpływa korzystnie na zawartość niektórych związków. Mianowicie jabłka odmian Delicious i Empire traktowane inhibitorem wiązania zawierały więcej antyoksydantów niż nietraktowane po przechowywaniu w niskiej temperaturze (41).

4.3. Dojrzewanie nieklimakterycznych owoców

Znacznie mniej informacji jest na temat zastosowania 1-MCP w przechowywaniu owoców nieklimakterycznych niż klimakterycznych (42). Wyniki przeprowadzonych dotychczas badań wskazują na mniejszą przydatność metylocyklopropenu do opóźnienia dojrzewania owoców nieklimakterycznych niż klimakterycznych. Metylocyklopropen opóźniał rozkład chlorofilu w owocach cytrusowych, stymulowany egzogennym etylenem, jednocześnie indukował syntezę etylenu (43). W innych doświadczeniach wykazano zwiększanie pod wpływem 1-MCP uszkodzeń wywołanych chłodem w owocach przechowywanych w niskich temperaturach (44). Uszkodzenia spowodowane chłodem ulegały zmniejszeniu jeśli ananasy traktowano metylocyklopropenem (45). Korzystny wpływ 1-MCP zaznaczył się też po traktowaniu nim arbuzów (46). Pod wpływem egzogenego etylenu w arbuzach tworzą się wypełnione wodą przestrzenie, co związane jest z degradacją fosfolipidów. 1-MCP blokując receptory etylenu zapobiega powstawaniu tego niekorzystnego zjawiska. Ponadto 1-MCP obniżył rozkład witaminy C w ananasach przechowywanych w niskiej temperaturze (45).

4.4. Starzenie warzyw

Niewiele jest danych dotyczących wykorzystania 1-MCP w celu opóźnienia starzenia warzyw. Mniejsze zainteresowanie warzywami wynika prawdopodobnie stąd, że wiele z nich jest konsumowane prawie bezpośrednio po zbiorze. Brokuły są bardzo wrażliwe na etylen, który inicjuje procesy starzenia i żółknięcie. 1-MCP opóźnia te procesy (47). Natomiast nie zapobiega żółknięciu ogórków (48). 1-MCP zapobiega fizjologicznym uszkodzeniom marchwi i sałaty związanym z obecnością etylenu (47).

4.5. Starzenie kwiatów

Wiadomo, że etylen jest bardzo ważnym czynnikiem odpowiedzialnym za starzenie ciętych kwiatów wielu gatunków, np. goździków, ostróżek, groszku pachnącego oraz róż. W celu przedłużenia trwałości kwiatów ciętych stosowano różne preparaty zawierające m.in. inhibitory biosyntezy etylenu. Jednak zahamowanie lub ograniczenie produkcji etylenu nie zabezpiecza kwiatów przez wpływem etylenu pochodzącego z innych źródeł. Zaczęto zatem stosować tiosiarczan srebra (STS) w celu zablokowania działania etylenu. Jednak stanowi on zagrożenie dla środowiska ze względu na toksyczność jonu srebra. Dlatego odkrycie cyklopropenów, w tym 1-MCP, stworzyło nowe możliwości dla przedłużania trwałości kwiatów ciętych. Zastosowanie cyklopropenów zapobiega desykcji, opadaniu kwiatów, pąków,

żółknięciu liści. Traktowanie ciętych kwiatów goździka 0,5 nM 1-MCP przez 24 h zabezpieczyło je przed wpływem etylenu przez około 12 dni (49). Stwierdzono inhibicję opadania płatków korony lub kwiatów goździków, alstromerii, lwiej paszczy, spowodowaną przez 1-MCP (50). Zastosowanie cyklopropenu umożliwia przedłużenie trwałości kwiatów ciętych o kilka dni. Na przykład trwałość kwiatów storczyka została przedłużona o 6-7 dni jeśli potraktowano je 1-MCP (51). Cyklopropeny zabezpieczają również rośliny ozdobne doniczkowe przed niekorzystnym wpływem etylenu. 1-MCP zapobiega opadaniu kwiatów begonii, pąków i liści róży (50). Najczęściej wpływ 1-MCP jest widoczny, wtedy gdy cięte kwiaty lub rośliny doniczkowe narażone są na egzogenny etylen.

4.6. Organogeneza i embriogeneza *in vitro*

W związku z kumulacją etylenu w pojemnikach hodowlanych pojawia się konieczność ograniczenia działania etylenu jeśli mamy do czynienia z tkanką wrażliwą na ten hormon. 1-MCP indukował rozwój bocznych pędów *Hanconia speciosa* (52). Metylocyklopropen zastosowany w stężeniu 0,3 i 1 μM podwyższył liczbę tworzonych pędów, ich długość oraz liczbę dłuższych liści w kulturach kiwi (53). Aplikacja 1-MCP w kulturach róży spowodowała zwiększenie liczby tworzonych korzeni (54). Ponadto inhibitor ten w znacznym stopniu obniżył produkcję etylenu. 1-MCP zastosowany podczas fazy indukcji w kulturach *in vitro* hipokotyli geranium zwiększył liczbę otrzymanych somatycznych zarodków (55). 1-MCP był również aplikowany w różnych stadiach somatycznej embriogenezy lucerny. Zastosowanie go w fazie namnażania spowodowało zmniejszenie produkcji zawiesiny oraz etylenu (Kępczyńska, Zielińska, dane nie publikowane). Konsekwencją obecności etylenu w fazie namnażania było również obniżenie produkcji zarodków. Na podstawie analizy poszczególnych stadiów zarodków wykazano, że inhibicja wiązania etylenu w fazie namnażania ograniczyła formowanie zarodków liścieniowych, a zwiększyła produkcję globularnych. Również obecność 1-MCP podczas różnicowania odbiła się niekorzystnie na produkcji zarodków. Na podstawie tych danych wykazano, że działanie etylenu jest potrzebne do produkcji i formowania prawidłowo rozwiniętych zarodków. Inhibitor wiązania zastosowany podczas różnicowania również zahamował produkcję etylenu.

5. Podsumowanie

Spośród dotychczas poznanych inhibitorów wiązania etylenu najbardziej obiecującymi są cyklopropeny, a wśród nich 1-metylocyklopropen. Związki te wiążą się do receptora etylenu uniemożliwiając jego przyłączenie, tym samym wywołanie reakcji fizjologicznej. Cyklopropeny działają antagonistycznie w stosunku do egzo-

gennego etylenu, a także często również w stosunku do endogennego. Związek ten był najczęściej stosowany w celu opóźnienia dojrzewania owoców lub starzenia kwiatów. Może on być wykorzystywany zarówno w badaniach w celu poszerzenia wiedzy o znaczeniu etylenu w różnych procesach fizjologicznych. Jest on najbardziej przydatnym z dotychczas poznanych inhibitorów wiązania. Korzystnymi cechami są nietoksyczność, brak niekorzystnego wpływu nawet wtedy gdy zastosowane zostanie zbyt wysokie stężenie. Niewątpliwą zaletą jest wykazywanie aktywności w bardzo niskich stężeniach oraz brak zapachu. Należy też podkreślić przydatność 1-MCP dla praktyki ogrodniczej w zablokowaniu lub opóźnieniu procesów dojrzewania owoców i starzenia kwiatów ciętych oraz doniczkowych. Większość aplikacji wykonano w laboratorium. Dopracowania wymagają warunki traktowania dla poszczególnych gatunków, a nawet odmian w produkcji na dużą skalę. W pewnych sytuacjach pożądane jest całkowite zablokowanie wiązania etylenu, a w innych częściowe. Niekiedy nie można było z nieznanymi przyczynami całkowicie zablokować wszystkich receptorów. Bardzo mało jest danych na temat zastosowania 1-MCP w kulturach *in vitro*. Niewątpliwie wykorzystanie tego inhibitora w hodowli *in vitro* umożliwi poznanie znaczenia etylenu w procesach organogenezy i somatycznej embriogenezy. Należy również rozważyć możliwości wykorzystania 1-MCP w praktyce podczas mnożenia roślin technikami *in vitro* na dużą skalę w przypadku roślin wrażliwych na etylen.

Praca finansowana ze środków KBN, nr grantu 3PO6A00425.

Literatura

1. Kępczyński J., (1988), *Wiad. Bot.*, 32, 47-60.
2. Florek I., Kępczyński J., (1994), I Ogólnopolska Konferencja „Zastosowanie kultur *in vitro* w fizjologii roślin”, Kraków, (15-17.12.1994), 37-44.
3. Kępczyński J., Kępczyńska E., (2000), *Biotechnologia*, 49, 72-82.
4. Kępczyński J., Kępczyńska E., (2005), *Acta Physiol. Plant.*, 27, 213-220.
5. Burg S. P., Burg E. A., (1967), *Plant Physiol.*, 42, 144-145.
6. Sisler E. C., Yang S. F., (1984), *Phytochem.*, 23, 2765-2768.
7. Sisler E. C., Serek M., (1999), *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 40, 1-7.
8. Schaller G. E., Bleecker A., (1995), *Science*, 270, 1809-1811.
9. Schaller G. E., Coonfield M. C., Hall A., Bleecker A. B., (1997), 8th International Conference on *Arabidopsis* Research, Madison, WI.
10. Sisler E.C., Pian A., (1973), *Tob. Sci.*, 17, 68-72.
11. Kępczyński J., Kępczyńska E., Bihun M., (2003), *Plant Growth Regul.*, 38, 57-62.
12. Kępczyński J., Bihun M., Kępczyńska E., (2003), *Seed Sci. Res.*, 13, 69-74.
13. Kępczyński J., Bihun M., Kępczyńska E., (2006), *Plant Growth Regul.*, 48, 119-126.
14. Kępczyński J., Karssen C. M., (1985), *Physiol. Plant.*, 63, 49-52.
15. Kępczyński J., Kępczyńska E., (1997), *Physiol. Plant.*, 101, 720-726.
16. Kępczyńska E., (1993), *Plant Growth Regul.*, 13, 65-69.
17. Kępczyński J., McKersie B. D., Brown D. C., (1992), *J. Exp. Bot.*, 43, 1199-1202.
18. Sisler E. C., Blankenship S. M., (1993), *Plant Growth Regul.*, 12, 125-132.

19. Sisler E. C., Blankenship S. M., (1993), *Plant Growth Regul.*, 12, 155-160.
20. Sisler E. C., Alwan T., Goren R., Serek M., Apelbaum A., (2003), *Plant Growth Regul.*, 40, 223-228.
21. Feng X., Apelbaum A., Sisler E. C., Goren R., (2004), *Plant Growth Regul.*, 42, 29-38.
22. Sisler E. C., Blankenship S. M., (1996), Patent Number 5.518.988. (25)
23. Blankenship S. M., Dole J. M., (2003), *Postharvest Biol. Technol.*, 28, 1-25.
24. Ku V. V. V., Wills R. B. H., (1999), *Postharvest Biol. Technol.*, 17, 127-132.
25. Jang W., Joyce D. C., Macnish A. J., (1999), *Plant Growth Regul.*, 28, 77-82.
26. DeEll J. R., Murr D. P., Porteous M. D., Rupasinghe H. P. V., (2002), *Postharvest Biol. Technol.*, 24, 349-353.
27. Mir N. A., Curell E., Khan N., Whitaker M., Beaudry R. M., (2001), *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 126, 618-624.
28. Kim H. O., Hewett E. W., Lallu N., (2001), *Acta Hort.*, 553, 167-170.
29. Pesis E., Ackerman M., Ben-Aire R., Feygenberg O., Feng X., Apelbaum A., Goren R., Prusky D., (2002), *Postharvest Biol. Technol.*, 24, 171-181.
30. Able A. J., Wong L. S., Prasad A., O'Hare T. J., (2002), *Postharvest Biol. Technol.*, 26, 147-155.
31. Sugimoto Y., Ali M. A., Yabuta S., Kinoshita H., Inanaga S., Itai A., (2003), *Physiol. Plant.*, 119, 137-145.
32. Hall A. E., Findell J. L., Schaller G. E., Sisler E. C., Bleecker A. B., (2000), *Plant Physiol.*, 123, 1449-1457.
33. Warner H., Kollman G., Bates B., Faubion D., (2003), *Acta Hort.*, 628, 221-226.
34. Ekman J. H., Clayton M., Biasi W. V., Mitcham E. J., (2004), *Postharvest Biol. Technol.*, 31, 127-136.
35. Watkins C. B., (2006), *Int. J. Postharvest Technology and Innovation*, 1, 62-68.
36. Woolf A. B., Tapia-Requejo C., Cox K. A., Jackman R. C., Gunson R. C., Arpaia M. L., White A., (2005), *Postharvest Biol. Technol.*, (in press).
37. Dong L., Laurie S., Zhou H. W., (2002), *Postharvest Biol. Technol.*, 24, 135-145.
38. Fan X., Argenta L., Mattheis J. P., (2002), *HortScience*, 37, 134-138.
39. Basseto E., Jaconino A. P., Pinheiro A. L., Kluge R. A., (2005), *Postharvest Biol. Technol.*, 35, 303-308.
40. Moya-Leon M. A., Moya M., Herrera R., (2004), *Postharvest Biol. Technol.*, 34, 211-218.
41. McLean D. D., Murr D. P., DeEll J. R., (2003), *Postharvest Biol. Technol.*, 29, 183-194.
42. Lurie S., (2005), *Stewart Postharvest*, 4, 1-4.
43. Mullins E. D., McCollum T. G., McDonald R. E., (2000), *Postharvest Biol. Technol.*, 19, 155-164.
44. Porat R., Weiss B., Cohen L., Daus A., Goren R., Dorby S., (1999), *Postharvest Biol. Technol.*, 15, 155-163.
45. Selvarajah S., Bauchot A. D., John P. J., (2001), *Postharvest Biol. Technol.*, 23, 167-170.
46. Mao L., Karakurt Y., Huber D. J., (2004), *Postharvest Biol. Technol.*, 33, 1-9.
47. Fan X., Mattheis J. P., (2000), *HortScience*, 35, 885-887.
48. Nillson T., (2005), *Postharvest Biol. Technol.*, 36, 113-125.
49. Sisler E. C., Dupille E., Serek M., (1996), *Plant Growth Regul.*, 18, 79-86.
50. Serek M., Sisler E. C., Reid M. S., (1995), *Plant Growth Regul.*, 16, 93-97.
51. Hayes J. A., Johnston J. W., (1998), *New Zealand Journal of Crop and Hort. Sci.*, 26, 319-324.
52. Pereira-Netto A. B., (2001), *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 66, 1-7.
53. Arigita L., Sanchez Tames R., Gonzales A., (2003), *Plant Growth Regul.*, 40, 59-64.
54. Kępczyński J., Nemojkina A., Kępczyńska E., (2006), *Plant Growth Regul.*, (in press).
55. Hutchinson M. J., Murr D., Krishnaraj S., Seneratna T., Saxena P. K., (1998), *In-vitro Cell. Dev. Bio-Plant.*, 33, 136-141.