

PRODUKCJA ETYLENU I AKTYWNOŚĆ OKSYDAZY ACC W PĄKACH W OKRESIE SPOCZYNKU LETNIEGO I CHŁODZENIA CEBUL TULIPANÓW

Elżbieta Węgrzynowicz-Lesiak

Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach

Wstęp

Duża wrażliwość tulipanów na etylen przypada na okres, w którym cebule po wykopaniu przechowywane są w wysokiej temperaturze. W tym czasie zachodzą procesy tworzenia się organów pąka kwiatowego. Zanieczyszczenie powietrza egzogennym etylenem lub etylen produkowany przez cebule porażone przez *Fusarium* może powodować wiele zaburzeń fizjologicznych: gumozy, nekrozy, zniekształcenie i zamieranie kwiatów, zahamowanie wzrostu korzeni i wzrostu wydłużeniowego łodygi [KAMERBEEK i in. 1971; KAMERBEEK, DE MUNK 1976; MOE i in. 1978; SANIEWSKI 1980; DE MUNK i in. 1992]. Większość badań dotyczących endogennej produkcji etylenu u tulipana prowadzono na całych cebulach. Endogenna produkcja etylenu przez zdrowe cebule jest niewielka i zależy od etapu cyklu rozwojowego oraz warunków przechowywania cebul [KAMERBEEK i in. 1971; MOE i in. 1978; PRINCE i in. 1982; KANNEWORFF, VAN DER PLAS 1994]. Brak jest danych o produkcji etylenu przez pąk kwiatowy w okresie spoczynku letniego.

Jednym z czynników indukujących produkcję etylenu w wielu roślinach jest mechaniczne uszkodzenie [YANG, HOFMAN 1984; ABELES i in. 1992]. Kluczową reakcją kontrolującą produkcję etylenu stresowego jest przemiana S-adenozylu-L-metioniny (SAM) do kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboksyowego (ACC) przy udziale syntazy ACC. Uszkodzenie może powodować również wzrost aktywności oksydazy ACC [YU, YANG 1980; WĘGRZYNOWICZ, SANIEWSKI 1991; DUNLAP, ROBACKEK 1994; WĘGRZYNOWICZ-LESIAK, SANIEWSKI 2000]. Niektóre rośliny reagują na uszkodzenie niewielkim wzrostem produkcji etylenu, a w przypadku innych produkcja etylenu wzrasta od kilku do kilkudziesięciu, a nawet kilkuset razy. Mechaniczne uszkodzenie cebul tulipanów lub złe warunki przechowywania mogą być przyczyną zwiększonego wydzielania etylenu.

Celem badań było poznanie produkcji etylenu oraz zdolności przekształcania ACC (głównego prekursora etylenu) do etylenu przez pąki kwiatowe, całe lub uszkodzane przez pocięcie, w okresie spoczynku letniego i w czasie chłodzenia cebul tulipanów.

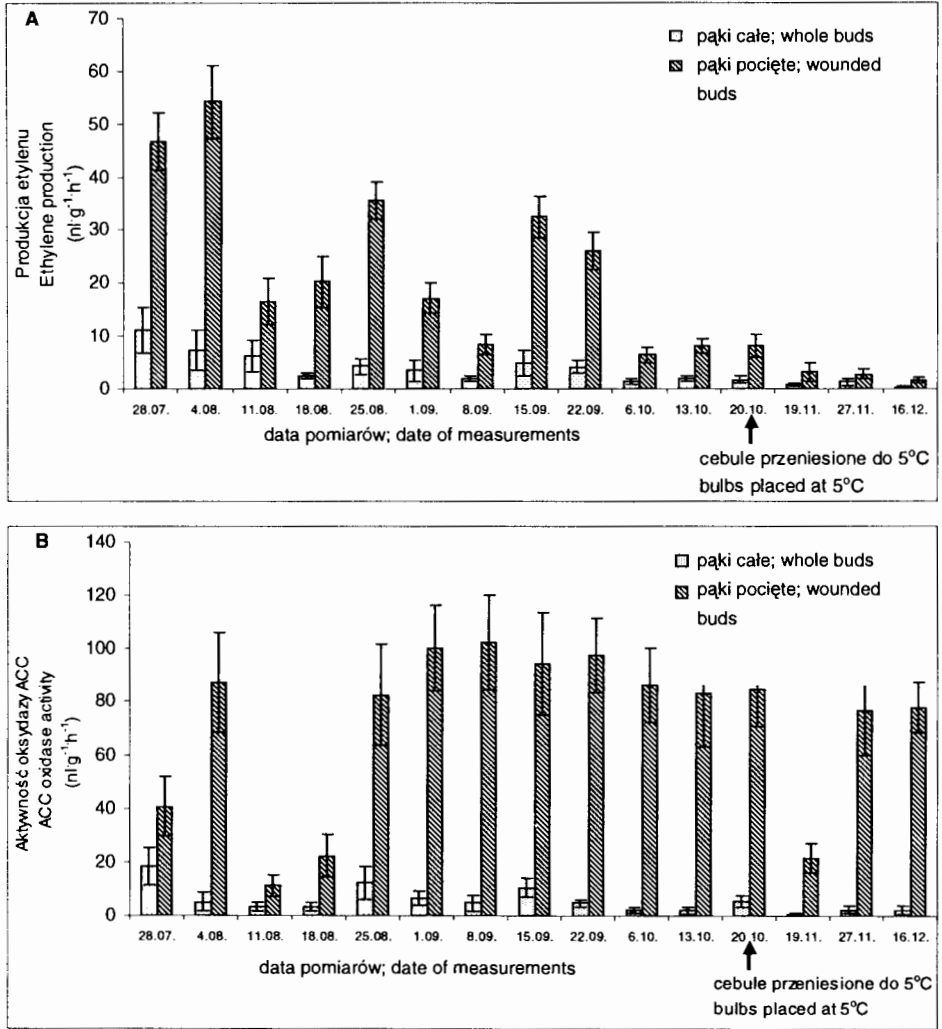
Materiał i metody

Po wykopaniu cebule tulipanów 'Apeldoorn' o obwodzie 12–14 cm przechowywano w 20°C do 20 października i następnie chłodzono na sucho w 5°C. W okresie od 28 lipca do 20 października analizy wykonywano co tydzień. Po usunięciu łusek i piętki, z 32 cebul izolowano całe rozwijające się pąki kwiatowe (łodyga, liście, kwiat). Po 20 października pąki kwiatowe izolowano po 1, 1,5 i 2 miesiącach chłodzenia. We wszystkich terminach pąki, całe lub pocięte na drobne fragmenty, wkładano pojedynczo do probówek i zamykano szczelnie gumowym korkiem. Jeden pąk stanowił jedno powtórzenie. Po 2 godzinach inkubacji wykonano pomiary produkcji etylenu. Równocześnie oznaczano aktywność oksydazy ACC *in vivo* umieszczając wyizolowane pąki, całe i pocięte, w roztworze ACC o stężeniu 1 mmol·dm⁻³. Po 2 godzinach inkubacji pąków w szczelnie zamkniętych probówkach oznaczano ilość wydzielanego etylenu. Produkcja etylenu, po dodaniu ACC, była miernikiem aktywności oksydazy ACC. Pomiary produkcji etylenu i aktywności oksydazy ACC wykonano przy użyciu chromatografu gazowego Hewlett Packard 5890. Zastosowano kolumnę szklaną o długości 1,5 m wypełnioną Chromosorbem 102. W czasie pomiarów temperatura pieca wynosiła 100°C. Analizy wykonano w 4 powtórzeniach, 2 seriach.

Wyniki i dyskusja

Produkcja etylenu w całych pąkach była niska i nie przekraczała 11 nl·g⁻¹·h⁻¹ w czasie całego okresu przechowywania cebul w 20°C i chłodzenia w 5°C. Najwięcej etylenu produkowały pąki izolowane z cebul pod koniec lipca i na początku sierpnia. W kolejnych tygodniach sierpnia i września produkcja etylenu malała (nie przekraczała 5 nl·g⁻¹·h⁻¹), a w czasie chłodzenia cebul była najniższa (poniżej 1,3 nl·g⁻¹·h⁻¹), rys. 1A. Aktywność oksydazy ACC była podobna lub wyższa niż produkcja etylenu. Najwyższą aktywność oksydazy ACC wykazywały pąki izolowane z cebul pod koniec lipca. W kolejnych tygodniach przechowywania cebul w 20°C aktywność oksydazy ACC malała, a najniższa była w pąkach izolowanych z cebul w czasie chłodzenia w 5°C (rys. 1B). Uszkodzenie pąków poprzez pocięcie na drobne fragmenty kilkakrotnie zwiększało produkcję etylenu i aktywność oksydazy ACC w porównaniu do pąków całych. Pocięte pąki najwięcej etylenu produkowały pod koniec lipca i na początku sierpnia, a najmniej w czasie chłodzenia cebul w 5°C (rys. 1A). Aktywność oksydazy ACC w pociętych pąkach była znacznie wyższa od aktywności oksydazy ACC w całych pąkach i utrzymywała się na wysokim poziomie we wszystkich terminach wykonanych pomiarów (rys. 1B).

W literaturze wykazano, że w okresie tworzenia się korzeni i organów pąka kwiatowego, całe cebule tulipana wydzielają niewielkie ilości etylenu [KAMERBIŁEK i in. 1971]. Po osiągnięciu stadium G, kiedy słupek jest całkowicie wykształcony, cebule poddane działaniu niskiej temperatury (5°C) nadal produkują mało etylenu i dopiero po upływie 12 tygodni chłodzenia ilość wydzielanego etylenu wzrasta do 0,5 μl·kg⁻¹ św. masy⁻¹·dzień⁻¹ [PRINCE i in. 1982]. W badaniach WĘGRZYNOWICZ i SANIEWSKIEGO [1992] prowadzonych na wyizolowanych z cebul słupkach i liściach, pod koniec przechowywania cebul w 17°C oraz w czasie chłodzenia w 5°C wykazano, że słupki i liście produkują niewielkie ilości etylenu. Produkcja etylenu wzrasta dopiero pod koniec chłodzenia cebul w 5°C. Pod koniec przechowywania cebul w 17°C więcej etylenu produkowały liście, natomiast w czasie chłodzenia ce-



Rys. 1. Produkcja etylenu (A) i aktywność oksydazy ACC (B) w całych i mechanicznie uszkodzonych pąkach tulipana w okresie spoczynku letniego i chłodzenia cebul tulipanów 'Apeldoorn' (wartość średnia ±SD)

Fig. 1. Ethylene production (A) and ACC oxidase activity (B) in whole buds and mechanically wounded flower buds during dormancy and cooling of 'Apeldoorn' tulip bulbs (mean value ±SD)

bul słupki produkowały więcej etylenu niż liście. Aktywność oksydazy ACC była znacznie wyższa od ilości wydzielanego etylenu zarówno w słupkach, jak i w liściach izolowanych pod koniec przechowywania cebul w 17°C oraz w czasie chłodzenia w 5°C [Więgrzynowicz, Saniewski 1992]. Kamerbeek i in. [1971] wykazali, że największą wrażliwość na egzogenny etylen wykazują cebule tulipanów bezpośrednio po wykopaniu. Nawet niewielkie ilości etylenu w pomieszczeniu, w którym przechowywane są cebule mogą powodować gumozy. Ostatnio DE WILD

i in. [2002] wykazali, że traktowanie cebul tulipanów 'Apeldoorn' etylenem o stężeniu 0,03–0,3 Pa w sierpniu-wrześniu jest przyczyną tworzenia się gum, ale nie stwierdzili oni uszkodzeń pąka kwiatowego. Natomiast obecność etylenu o stężeniu 0,1 Pa w pomieszczeniu, w którym cebule były przechowywane w 20°C w październiku-listopadzie, było przyczyną uszkodzeń pąka kwiatowego.

Produkcja etylenu pod wpływem mechanicznego uszkodzenia zależy między innymi od gatunku rośliny i stadium rozwojowego, w jakim się ona znajduje, a także od miejsca i wielkości powierzchni uszkodzonej oraz od tego, jaki organ został uszkodzony [ABELES i in. 1992]. W literaturze wykazano, że pod wpływem uszkodzenia zwiększa się aktywność syntazy ACC [YU, YANG 1980; KENDE, BOLLER 1981; YANG, HOFFMAN 1984]. Uszkodzenie może powodować również wzrost aktywności oksydazy ACC w zranionych tkankach, co wykazali YU i YANG [1980] prowadząc badania na uszkodzonych tkankach owoców cytrusowych, HYODO i in. [1993] na wycinkach mezokarpu kabaczka (*Cucurbita maxima* DUCH.), LIU i in. [1997] na hypokotylach słonecznika (*Helianthus annuus* L.) oraz WĘGRZYNOWICZ-LESIAK i SANIEWSKI [2000] na liściach tulipana. Różnorodne specyficzne bodźce lub czynniki stresowe mogą uruchamiać ekspresję różnych genów dla enzymów szlaku biosyntezy etylenu. U pomidora syntazę ACC koduje co najmniej 6 genów, dwa z nich ulegają ekspresji w czasie dojrzewania owoców i starzenia się kwiatów, a oksydazę ACC kodują 3 geny, ale tylko jeden z nich przejawia ekspresję zależną od poziomu etylenu [BARRY i in. 2000; ALEXANDER, GRIERSON 2002]. U petunii stwierdzono istnienie 4 genów oksydazy ACC, z których tylko jeden ulega etylenozależnej ekspresji w czasie starzenia się korony kwiatu [TANG i in. 1994]. W literaturze brak jest danych, jakie geny kodują oksydazę ACC w tulipanach i jak wpływa na nie uszkodzenie.

Wniosek

Na podstawie przeprowadzonych badań można przypuszczać, że w okresie spoczynku letniego niewielkie ilości etylenu są potrzebne do prawidłowego wzrostu i rozwoju pąka, a uszkodzenie indukuje produkcję etylenu oraz stymuluje aktywność oksydazy ACC.

Literatura

- ABELES F.B., MORGAN P.W., SALTVEIT M.E. 1992. *Ethylene in plant biology*. Academic Press, Inc. San Diego: 414 ss.
- ALEXANDER L., GRIERSON D. 2002. *Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening*. J. Exp. Bot. 53: 2039–2055.
- BARRY C.S., LLOP-TOUS M.I., RIERSON D. 2000. *The regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene expression during the transition from system-1 to system-2 ethylene synthesis in tomato*. Plant Physiol. 123: 979–986.
- DE MUNK W.J., DUINEVELD T.L.J., VAN DER HULST C.T.C. 1992. *The production of Apeldoorn tulips after exposure to ethylene during storage of the planting stock*. Acta Hort. 325: 61–70.

- DE WILD H.P.J., PEPPELENBOS H.W., DIJKEMA M.H.G.E., GUDE H. 2002. *Defining safe ethylene levels for long term storage of tulip bulbs*. Acta Hort. 570: 171–175.
- DUNLAP J. R., ROBACKER K.M. 1994. *Wound induced ethylene production from excised muskmelon fruit tissue*. J. Hortic. Sci. 69: 189–195.
- HYODO H., HASHIMOTO CH., MOROZUMI S., HU W., TANAKA K. 1993. *Characterization and induction of the activity of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase in the wounded mesocarp tissue of Cucurbita maxima*. Plant Cell Physiol. 34: 667–671.
- KAMERBEEK G.A., DE MUNK W.J. 1976. *A review of ethylene effects in bulbous plants*. Scientia Hort. 4: 101–115.
- KAMERBEEK G.A., VERLIND A.L., SCHIPPER J.A. 1971. *Gummosis of tulip bulbs caused by ethylene*. Acta Hort. 23: 167–172.
- KANNEWORFF W.A., VAN DER PLAS L.H.W. 1994. *Ethylene formation and the effects of ethylene respiration in tulip bulbs*. J. Plant Physiol. 143: 200–206.
- KENDE H., BOLLER T. 1981. *Wound ethylene and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase in ripening tomato fruit*. Planta 151: 476–481.
- LIU J.H., LEE-TAMON S.H., REID D.M. 1997. *Differential and wound-inducible expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase genes in sunflower seedlings*. Plant Mol. Biol. 34: 923–933.
- MOE R., DE HERTOOGH A.A., DILLEY D.R. 1978. *Influence of post-special-precooling-treatments on flower development and ethylene evolution from water- and growth regulator-injected tulip bulbs*. Meld. Norg. LandbrHogsk. 57: 1–18.
- PRINCE T.A., HERNER R.C., DE HERTOOGH A.A. 1982. *Increases in ethylene and carbon dioxide production by Tulipa gesneriana L. Prominence after completion at the cold requirement*. Scientia Hort. 16: 77–83.
- SANIEWSKI M. 1980. *Rola etylenu we wzroście i rozwoju tulipanów*. Post. Nauk Rol. 1: 37–48.
- TANG X., GOMES A.M.T.R., BHATIA A., WOODSON W.R. 1994. *Pistil-specific and ethylene-regulated expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase genes in petunia flowers*. Plant Cell 6: 1227–1239.
- WĘGRZYNOWICZ E., SANIEWSKI M. 1991. *The effect of mechanical wounding of different organs of Hippeastrum x hybr. hort. on ethylene production and ethylene-forming enzyme activity*. Bull. Pol. Acad. Sci., Ser. Sci. Biol. 39: 373–377.
- WĘGRZYNOWICZ E., SANIEWSKI M. 1992. *Distribution of ethylene production and ethylene-forming enzyme activity in different stages of growth and development of tulips*. Acta Hort. 325: 285–290.
- WĘGRZYNOWICZ-LESIAK E., SANIEWSKI M. 2000. *Wpływ uszkodzenia mechanicznego liści tulipana na produkcję etylenu i aktywność oksydazy ACC*. Zesz. Nauk. Inst. Sad. i Kwiac. 7: 163–172.
- YANG S.F., HOFFMAN N.E. 1984. *Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants*. Annu. Rev. Plant Physiol. 61: 447–450.
- YU Y.B., YANG S.F. 1980. *Biosynthesis of wound ethylene*. Plant Physiol. 66: 281–285.

Słowa kluczowe: etylen, oksydaza ACC, uszkodzenie, pąki kwiatowe, tulipan

Streszczenie

W pracy poznano produkcję etylenu oraz zdolności przekształcenia ACC do etylenu przez pąki kwiatowe, całe lub uszkodzane przez pocięcie, w okresie spoczynku letniego i chłodzenia cebul tulipanów.

Produkcja etylenu w całych pąkach była niska i nie przekraczała $11 \text{ nl}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ w czasie całego okresu przechowywania cebul w 20°C i chłodzenia w 5°C . Najwięcej etylenu produkowały pąki izolowane z cebul pod koniec lipca i na początku sierpnia, a najmniej w czasie chłodzenia cebul. Aktywność oksydazy ACC była podobna lub wyższa niż produkcja etylenu. Uszkodzenie pąków poprzez pocięcie na drobne fragmenty kilkakrotnie zwiększało produkcję etylenu i aktywność oksydazy ACC w porównaniu do pąków całych. Można więc przypuszczać, że w okresie spoczynku letniego niewielkie ilości etylenu są potrzebne do prawidłowego wzrostu i rozwoju pąka, a uszkodzenie indukuje produkcję etylenu oraz stymuluje aktywność oksydazy ACC.

ETHYLENE PRODUCTION AND ACC OXIDASE ACTIVITY IN BUDS DURING DORMANCY AND COOLING OF TULIP BULBS

Elżbieta Węgrzynowicz-Lesiak

Research Institute of Pomology and Floriculture, Skierniewice

Key words: ethylene, ACC oxidase, wounding, flower tulip buds, tulip

Summary

Ethylene production and ACC oxidase activity in whole and wounded flower buds during dormancy and cooling of tulip bulbs, were examined.

Ethylene production by whole flower buds was low (below $11 \text{ nl}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) during dormancy and cooling of tulip bulbs. The highest level of ethylene production was found when buds were isolated at the end of July and at the beginning of August, and the lowest during cooling of tulip bulbs. ACC oxidase activity was similar or higher than ethylene production without the addition of the precursor. Mechanical wounding of tulip buds (cut into pieces about 2 mm thick), greatly stimulated ethylene production and ACC oxidase activity. These results suggest that during dormancy a little amount of ethylene is required for normal growth and development of flower bud. Mechanical wounding stimulated ethylene production and ACC oxidase activity.

Dr Elżbieta **Węgrzynowicz-Lesiak**
Zakład Fizjologii i Morfogenezy Roślin Ozdobnych
Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa
ul. Pomologiczna 18
96-100 SKIERNIEWICE
e-mail: ewegrzyn@insad.pl