

## CONSERVACIÓN DE CLAVELES CORTADOS (*Dianthus caryophyllus*, L. cv. Arthur). II. CONTROL DEL METABOLISMO Y ACCIÓN DEL ETILENO

M. Serrano\*, F. Riquelme\*, J. A. del Río\*\* y M. Acosta\*\*

Recibido: marzo 1988  
Aceptado: julio 1988  
Publicado: febrero 1989

### SUMMARY

Conservation of cut carnation flowers (*Dianthus caryophyllus*, L. cv. Arthur). II. Control of ethylene metabolism and action

The senescence of cut carnations (*Dianthus caryophyllus*, L. cv. Arthur) can be delayed by compounds inhibiting ethylene biosynthesis or its hormonal mode of action. Aminoxyacetic acid (AOA) and aminoethoxyvinylglycine (AVG) extend the longevity of these flowers up to 4 days showing an inhibition in the ethylene production acting on ACC-synthase. Compounds like  $\alpha$ -aminoisobutyric acid (AIB),  $\text{CoCl}_2$ , n-propyl gallate, sodium benzoate, acetylsalicylic acid and 8-hydroxyquinoline inhibit the activity of the ethylene forming enzyme (EFE). However only AIB and 8-hydroxyquinoline delay the carnations senescence while n-propyl gallate and sodium benzoate hasten it.  $\text{CoCl}_2$  has phytotoxic effects and acetylsalicylic acid has virtually no effect on senescence.

The more effective treatments to extend cut carnations longevity are those made with silver thiosulfate (STS) which interfere with an ethylene binding receptor, preventing the autocatalytic synthesis of the hormone.

**Key words:** *Dianthus caryophyllus*, carnations, senescence, conservation, ethylene.

### RESUMEN

La senescencia de claveles cortados (*Dianthus caryophyllus*, L. cv. Arthur) puede ser retrasada por compuestos que inhiban la síntesis de etileno o su mecanismo de acción hormonal. Los compuestos ácido aminooxiacético (AOA) y aminoetoxivinilglicina (AVG) prolongan la longevidad de estas flores durante 4 días, comprobándose que inhiben su producción de etileno actuando a nivel de ACC-sintetasa. Compuestos como ácido  $\alpha$ -aminoisobutírico (AIB),  $\text{Cl}_2\text{Co}$ , galato de n-propilo, benzoato de sodio, ácido acetilsalicílico y 8-hidroxiquinoleína inhiben la actividad EFE. Sin embargo, sólo AIB y 8-hidroxiquinoleína retrasan la senescencia de los claveles, mientras que galato de n-propilo y benzoato de sodio la adelantan.  $\text{Cl}_2\text{Co}$  tiene efectos fitotóxicos y el ácido acetilsalicílico no tiene prácticamente influencia en la misma.

Los tratamientos más eficaces para prolongar la longevidad de los claveles son los realizados con tiosulfato de plata (STS), el cual bloquea la unión del etileno a su receptor hormonal, impidiendo la síntesis autocatalítica de esta hormona.

**Palabras clave:** *Dianthus caryophyllus*, claveles, senescencia, conservación, etileno.

### INTRODUCCIÓN

La senescencia de claveles se caracteriza por un aumento en su producción de etileno que

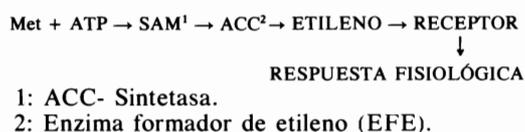
juega un papel fundamental en el proceso (MAYAK et al., 1981).

Actualmente se admite que la producción de etileno en los tejidos vegetales se verifica a

\* Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (C.S.I.C.). 30.071 Murcia.

\*\* Dep. Biología Vegetal (Fisiología Vegetal). Fac. Biología. Universidad de Murcia. 30.071 Murcia.

través del ciclo conocido como ADAMS & YANG (1979). Las etapas fundamentales de esta ruta se indican en el siguiente esquema:



ADAMS & YANG (1979) pusieron de manifiesto que S-adenosilmetionina (SAM) es un intermediario en la biosíntesis de etileno que se forma a partir de metionina y ATP. El siguiente paso es la transformación de SAM en ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) (ADAMS & YANG, 1979) catalizada por el enzima ACC-sintetasa, el cual es soluble (BOLLER *et al.*, 1979) y un elemento clave en la biosíntesis de etileno, como lo demuestran los estrictos mecanismos de control a los que está sometido (SU *et al.*, 1984; YANG & HOFFMAN, 1984). Finalmente, el ACC es transformado en etileno mediante el EFE, en un proceso dependiente de oxígeno (ADAMS & YANG, 1979) y que requiere la integridad de la membrana (LIEBERMAN, 1979), aunque el mecanismo preciso de esta reacción es aún desconocido (MAYAK *et al.*, 1981). El ACC tiene otra vía metabólica alternativa que es su conjugación con malonil-CoA para formar malonil-ACC (MACC), siendo esta vía una forma de eliminar el exceso de ACC más que un sistema para almacenarlo (AMRHEIN *et al.*, 1982; HOFFMAN *et al.*, 1983 a-b). El etileno desprendido interaccionaría con su receptor desencadenando el efecto fisiológico, en este caso la senescencia de los claveles cortados.

El objetivo de este trabajo es bloquear la ruta biosintética del etileno o su acción hormonal, mediante el empleo de diferentes compuestos químicos, con lo cual se conseguirá aumentar la longevidad de las flores de clavel (*Dianthus caryophyllus*, L. cv. Arthur).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### MATERIAL VEGETAL

Se utilizaron flores de clavel (*Dianthus caryophyllus*, L. cv. Arthur) cultivadas en invernadero y recolectadas entre los meses de enero y mayo, con una longitud de tallo aproximada de 40 cm. Una vez en el laboratorio los tallos fueron cortados oblicuamente hasta una longitud de 20 cm y las flores colocadas, individualmente, en tubos de ensayo conteniendo la disolución correspondiente. El cáliz se mantuvo en todo momento a 2-3 cm por encima del nivel de la disolución.

Las condiciones ambientales bajo las que se llevaron a cabo los experimentos fueron: 20-22 °C de temperatura y un fotoperíodo de 12 h con luz blanca.

### DISOLUCIONES CONSERVADORAS

En todos los casos los distintos compuestos empleados se disolvieron en disolución nutritiva (SN) la cual había sido diseñada previamente en el laboratorio (SERRANO *et al.*, 1988) y contenía sacarosa (5%) y estreptomina (0.2 g/l), todo ello en tampón cítrico-citrato a pH= 4.4. En todos los casos los claveles tomados como control estaban mantenidos en esta disolución.

### DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DEL PESO FRESCO

Los claveles se pesaron diariamente. El peso de los mismos, estimado el día que comenzaba cada ensayo fue considerado como el 100% y el estimado en días sucesivos fue referido como un tanto por ciento con respecto al del primer día. En todos los ensayos esta representación corresponde a la media de los pesos obtenidos a partir de cinco flores.

### CUANTIFICACIÓN DE ETILENO

Las flores eran introducidas, individualmente, en recipientes de cristal con volumen aproximado de 350 ml, cerrados herméticamente y provistos de septum de silicona. Al cabo de 1-2 h se tomaba una muestra de la atmósfera de dichos recipientes con una jeringuilla de gases. Un ml de la misma se inyectaba en un cromatógrafo de gases CROMATIX KONIK KNK 2000 con un detector de ionización de llama (FID) y con columna de acero inoxidable de 3 m de longitud total y 1/8" de diámetro externo, con relleno de alúmina 80/100 mesh. Las condiciones cromatográficas fueron: Flujo de gas portador (He), 30 ml/min; flujo de hidrógeno, 30 ml/min; flujo de aire, 22 ml/min; temperatura del detector e inyector, 120 °C y temperatura de la columna 70 °C.

### EXTRACCIÓN DEL ACC

La extracción del ACC presente en los pétalos de los claveles se realizó siguiendo el protocolo de ATTALY *et al.* (1987) con ligeras modificaciones. El tejido se trituró en mortero con ácido tricloroacético (TCA) 0.2 M en relación 1:3 (p/v). El homogeneizado fue centrifugado a 7000 × g durante 10 minutos y el sobrenadante utilizado para cuantificar el ACC.

### CUANTIFICACIÓN DEL ACC

Para la determinación cuantitativa del ACC presente en los pétalos se utilizó el método de LIZADA & YANG (1979) con ligeras modificaciones. Se optimizó para este material vegetal la siguiente mezcla de reacción: 0.2 ml de extracto, 0.2 ml de Cl<sub>2</sub>Hg 10 mM, que actúa como catalizador y 2 nmoles de

ACC (patrón interno). Dicha mezcla se introducía en viales calibrados con septum de silicona, a través del cual se inyectaban 0.5 ml de una mezcla fría de NaOH y NaOCl 5% en relación 1:2 (v/v). Estos viales se mantenían en un baño de hielo y con agitación continua durante 3 minutos. A continuación, una muestra de la atmósfera de dichos viales era cuantificada en el cromatógrafo. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. La cuantificación del ACC conjugado se consiguió mediante hidrólisis ácida del extracto con ClH 2N durante 1.5 h a reflujo (HOFFMAN *et al.*, 1982). Posteriormente el hidrolizado fue filtrado y neutralizado. La cuantificación del ACC presente en el hidrolizado permitió obtener la cantidad de ACC total del extracto y por diferencia con el ACC libre, cuantificado antes de hidrolizar, pudo conocerse la cantidad de ACC conjugado presente en el tejido. La eficacia de la conversión de ACC a etileno, en cada muestra, se determinó añadiendo una cantidad conocida de ACC como patrón interno. El nivel de ACC tanto libre como conjugado y total se expresó como nmoles de ACC / g de tejido.

**MEDIDAS DE ACTIVIDAD DEL ENZIMA FORMADOR DE ETILENO (EFE)**

En cada ensayo se utilizaron pétalos de las dos espirales externas de varios claveles que se encontraban en el mismo estado de senescencia. Los pétalos se introducían en viales calibrados, provistos de septum de silicona, que contenían la disolución de ACC patrón, con el fin de estudiar la capacidad de dichos pétalos para transformar ACC exógeno en etileno. La actividad EFE se estimó como nmoles de etileno / g de tejido, procedentes de ACC exógeno, producidos al cabo de cinco horas. Para estudiar el efecto de los inhibidores de la actividad EFE éstos fueron colocados en los mismos viales y de forma simultánea con el ACC, disponiendo siempre de controles con sólo ACC para conocer el grado de inhibición de cada compuesto. De cada uno de estos ensayos se hacían cinco réplicas.

**RESULTADOS**

**INHIBIDORES DE LA BIOSÍNTESIS DE ETILENO**

**INHIBIDORES DE LA TRANSFORMACIÓN DE SAM EN ACC**

Esta reacción está catalizada por el enzima ACC-sintetasa el cual utiliza fosfato de piridoxal como cofactor. En este trabajo se han utilizado dos inhibidores de las enzimas dependientes de fosfato de piridoxal: Aminoetoxivinilglicina (AVG) (0.1 mM) y ácido aminooxiacético (AOA) (0.5 mM) con el fin de aumentar la longevidad de los claveles cortados. Ambos compuestos retrasaron durante 4 días la pérdida de peso fresco de estas flores con respecto a los controles mantenidos en SN (fig. 1). De

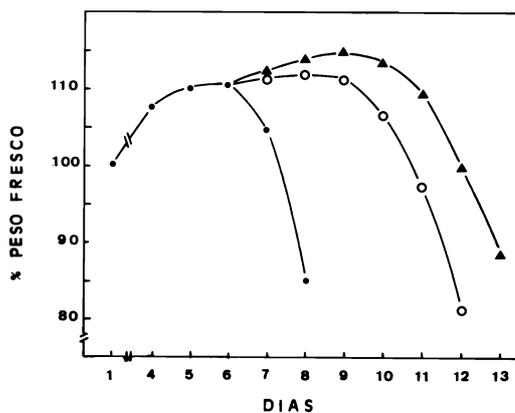


FIGURA 1. Efecto de inhibidores de ACC-sintetasa sobre la evolución en el peso fresco de claveles cortados. Tratamientos: Ácido aminooxiacético (AOA) 0.5 mM + disolución nutritiva (○) y aminoetoxivinilglicina (AVG) 0.1 mM + disolución nutritiva (▲). Controles mantenidos en disolución nutritiva (SN) (●).

Effect of ACC-synthase inhibitors on changes in fresh weight of cut carnations. Treatments: 0.5 mM aminoxyacetic acid (AOA) + nutritive solution (○) and 0.1mM aminoethoxyvinylglycine (AVG) + nutritive solution (▲). Flowers fed with nutritive solution served as a control (●).

igual forma, retrasaron la producción de etileno, destacando el hecho de que el tratamiento con AOA inhibió en más de un 50% la tasa máxima de emisión de etileno y que con AVG la inhibición fue casi completa (fig. 2).

Se investigó el efecto fisiológico ejercido por estos compuestos sobre los claveles, determinando el contenido en ACC presente en los pétalos de los mismos. Este análisis se realizó en el momento en que las flores se encontraban en su máximo de emisión de etileno y puso de manifiesto que los niveles de ACC total eran bastante más bajos en los pétalos de claveles tratados que en los controles (tabla 1).

**INHIBIDORES DE LA TRANSFORMACIÓN DE ACC EN ETILENO**

Esta reacción está catalizada por el EFE el cual se encuentra asociado a membranas y en la reacción parecen estar implicados los radicales libres (PAULIN *et al.*, 1986), aunque el mecanismo exacto de la misma aún no se conoce. Por este motivo, se ensayaron compuestos relacionados estructuralmente con el ACC o con el mecanismo de formación y actuación de los radicales libres, con el fin de inhibir este punto de la ruta biosintética que conduce a etileno.

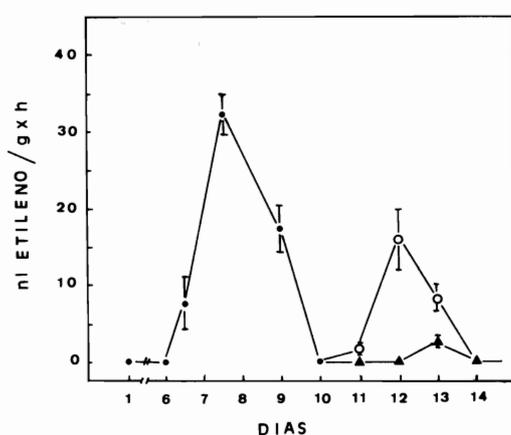


FIGURA 2. Tasa de producción de etileno por claveles tratados con inhibidores de ACC-sintetasa: Ácido aminoacético (AOA) 0.5 mM + disolución nutritiva (SN) (○) y aminoetoxivinilglicina (AVG) 0.1 mM + disolución nutritiva (SN) (▲). Controles mantenidos en disolución nutritiva (SN) (●).

Ethylene production rate by cut carnations treated with ACC-synthase inhibitors: 0.5 mM aminoxyacetic acid (AOA) + nutritive solution (SN) (○) and 0.1 mM aminoethoxyvinylglycine (AVG) + nutritive solution (SN) (▲). Flowers fed with nutritive solution (SN) served as a control (●).

TABLA 1. Niveles de ACC libre, conjugado (MACC) y total determinados en pétalos de claveles que habían sido tratados con disolución nutritiva (SN) + ácido aminoacético (AOA) (0.5 mM) y disolución nutritiva (SN) + aminoetoxivinilglicina (AVG) (0.1 mM) y en pétalos de claveles mantenidos en SN. El análisis se realizó cuando las flores se encontraban en su máxima tasa de emisión de etileno. Los valores representan la media  $\pm$  SE de los ensayos con tres réplicas cada uno de ellos.

Free, conjugated (MACC) and total ACC levels found in petals of carnations fed with nutritive solution (SN) + 0.5 mM aminoxyacetic acid (AOA) or nutritive solution (SN) + 0.1 mM aminoethoxyvinylglycine (AVG) and petals of carnations fed with SN (control). These determinations were realized when the flowers were on their maximal ethylene production rate. The data are the mean  $\pm$  SE of two separate experiments, each with triplicate.

TRATAMIENTO	ACC-LIBRE	MACC	ACC-total
SN + AOA	2.13 $\pm$ 0.1	5.60 $\pm$ 0.2	7.73 $\pm$ 0.3
SN + AVG	2.38 $\pm$ 0.2	3.87 $\pm$ 0.1	6.25 $\pm$ 0.2
Control (SN)	2.29 $\pm$ 0.2	7.76 $\pm$ 0.3	10.02 $\pm$ 0.4

#### Análogos estructurales del ACC

Ácido  $\alpha$ -aminoisobutírico (AIB).

Se observó que el AIB (10 mM) retrasaba la pérdida de peso fresco de las flores de claveles

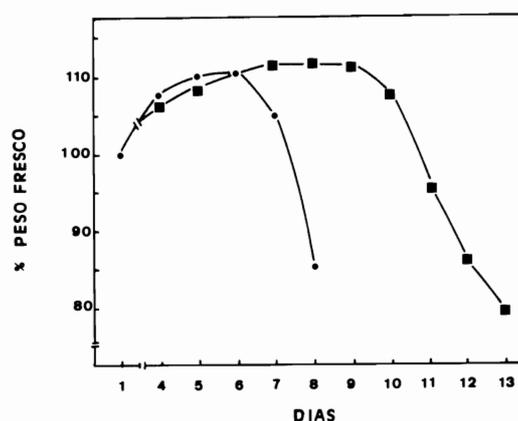


FIGURA 3. Evolución en el peso fresco de claveles tratados con un análogo estructural del ACC. Claveles tratados con ácido  $\alpha$ -aminoisobutírico (AIB) 10 mM + disolución nutritiva (SN) (■) y controles mantenidos en disolución nutritiva (SN) (●).

Changes in fresh weight of cut carnations treated with a structural analogous of ACC. Carnations treated with 10 mM  $\alpha$ -aminoisobutyric acid (AIB) + nutritive solution (SN) (■) and carnations fed with nutritive solution served as a control (SN- (●)).

durante 4 días (fig. 3). El mismo retraso pudo observarse en la producción de etileno, la cual además, fue fuertemente inhibida en los claveles tratados con este compuesto con respecto a los controles.

Se realizaron también ensayos con pétalos aislados en los que se puso de manifiesto que el AIB inhibía la actividad del EFE (tabla 2).

TABLA 2. Inhibición ejercida por diferentes compuestos sobre la actividad del enzima formador de etileno (EFE). La actividad EFE fue expresada como nmoles de etileno / g de peso fresco, procedentes de ACC exógeno. El tanto por ciento de inhibición se calculó con respecto a la actividad EFE encontrada en pétalos incubados sólo con ACC (1 mM). Los valores son la media  $\pm$  SE de 5 réplicas.

Inhibition exerted by different compounds on ethylene-forming enzyme (EFE). The EFE activity was expressed as nmol ethylene produced from exogenously applied ACC / g FW  $\times$  5 h. The percentage of inhibitor was calculated with respect to EFE activity found in petals incubated with 1 mM ACC.

TRATAMIENTO	% INHIBICIÓN (t: = 5 h)
$\alpha$ -Aminoisobutírico (10 mM)	26.5 $\pm$ 2.4
Cl <sub>2</sub> Co (10 mM)	68.6 $\pm$ 3.2
Galato de n-propilo (10 mM)	90.4 $\pm$ 2.1
Benzoato de sodio (10 mM)	50.8 $\pm$ 4.7
8-hidroxiquinoleína (1 mM)	92.3 $\pm$ 1.8
Acetilsalicílico (100 $\mu$ M)	87.7 $\pm$ 3.1

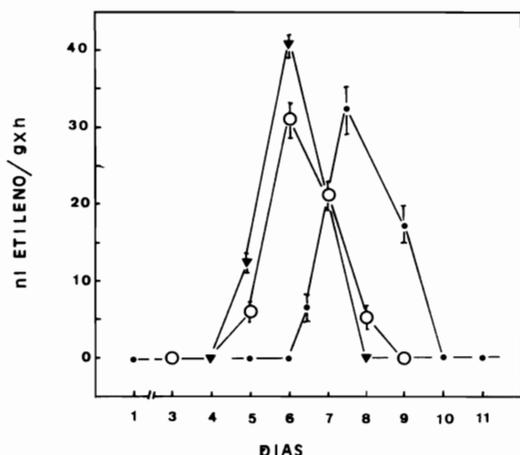


FIGURA 4. Tasa de producción de etileno por claveles tratados con atrapadores de radicales libres: galato de n-propilo (10 mM) + disolución nutritiva (SN) (○) y benzoato de sodio (10 mM) + disolución nutritiva (SN) (▼). Controles alimentados sólo con disolución nutritiva (SN) (●).

Ethylene production rate by carnations treated with some free radical scavengers: 10 mM n-propyl gallate + nutritive solution (SN) (○) and 10 mM sodium benzoate + nutritive solution (SN) (▼). Flowers fed with nutritive solution (SN) served as a control (●).

#### Atrapadores de radicales libres

Los atrapadores de radicales libres ensayados fueron benzoato de sodio y galato de n-propilo, a concentración 10 mM. Contrariamente a lo esperado, ambos compuestos aceleraron la senescencia de los claveles, ya que adelantaron su caída de peso fresco y producción de etileno (fig. 4), aunque el máximo de la tasa de producción de etileno no fue significativamente distinto al de los controles. Sin embargo, en ensayos realizados con pétalos aislados ambos compuestos fueron capaces de inhibir la actividad EFE a las concentraciones citadas anteriormente (tabla 2).

#### Otros inhibidores del EFE: Ácido acetilsalicílico, Cl<sub>2</sub>Co y 8-hidroxiquinoleína

Los tres compuestos ensayados mostraron tener un efecto inhibitorio sobre la actividad EFE en los ensayos realizados con pétalos aislados (tabla 2). Sin embargo, cuando fueron administrados en disolución a los claveles cortados su efecto fue diferente. Sólo el tratamiento con 8-hidroxiquinoleína retrasó la senescencia de estas flores durante 2 días (fig. 5) y sólo el Cl<sub>2</sub>Co inhibió la producción de etileno,

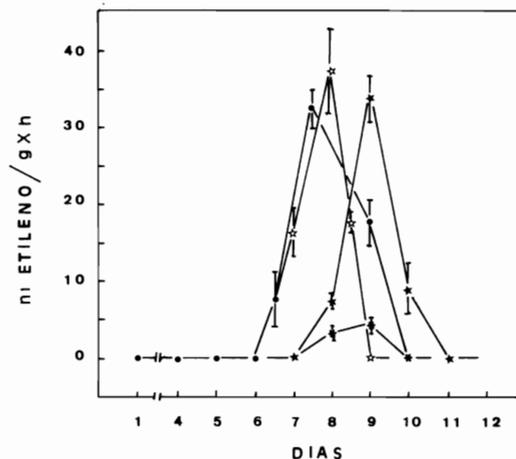


FIGURA 5. Tasa de producción de etileno por claveles tratados con ácido acetilsalicílico (100 µM) + disolución nutritiva (SN) (☆), citrato de 8-hidroxiquinoleína (1 mM) + disolución nutritiva (SN) (★) y Cl<sub>2</sub>Co 1 mM + disolución nutritiva (SN) (\*). Como controles se tomaron claveles alimentados sólo con disolución nutritiva (SN) (●).

Ethylene production rate by cut carnations treated with (100 µM) acetylsalicylic acid + nutritive solution (SN) (☆), 1 mM 8-hydroxyquinoline citrate + nutritive solution (SN) (★) and 1 mM CoCl<sub>2</sub> + nutritive solution (SN) (\*). Carnations fed with nutritive solution (SN) served as a control (●).

a las tres concentraciones en que fue ensayado (10 mM, 1 mM y 10 µM), pero también, en los tres casos tuvo un efecto perjudicial sobre los claveles, ya que sus pétalos adquirían una coloración pardo-amarillenta a los pocos días de iniciado el tratamiento. El ácido acetilsalicílico tuvo muy poco efecto retrasando la senescencia de estas flores, siendo la producción de etileno semejante a la de los controles.

#### INHIBIDORES DE LA ACCIÓN DEL ETILENO

Se procedió a la administración del ión Ag<sup>+</sup> (BEYER, 1976) a los claveles cortados, en forma de tiosulfato de plata (STS), el cual viaja por el xilema a una velocidad de 1 m/h con lo cual se asegura la llegada a la flor en muy poco tiempo (VEEN & VAN DE GEIJN, 1978).

La pérdida de peso fresco de claveles mantenidos en agua destilada después del tratamiento con STS se produjo 7 días después que en los controles y si después del tratamiento con STS los claveles se mantenían en SN el retraso era de 14 días (fig. 6). En cuanto a la producción de etileno el STS la inhibió completamente, ya que con las condiciones de cromatografía usadas no

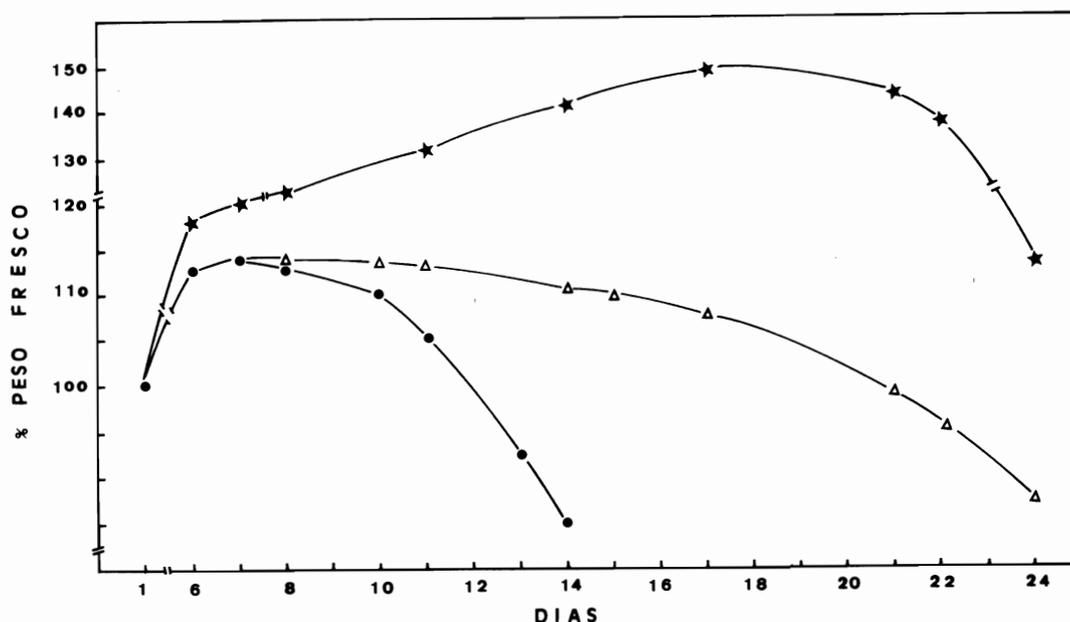


FIGURA 6. Efecto del tratamiento con tiosulfato de plata (STS) 0.2 mM, durante 12 h, sobre la evolución en el peso fresco de claveles cortados. Tras el tratamiento con STS los claveles fueron mantenidos en agua destilada ( $\Delta$ ) o en disolución nutritiva (SN) ( $\star$ ). Claveles no tratados y mantenidos en agua destilada sirvieron como control ( $\bullet$ ).

Changes in fresh weight of cut carnations treated with 0.2 silver thiosulfate (STS) for 12 h. After treatment with STS, flowers were held in distilled water ( $\Delta$ ) or in nutritive solution (SN) ( $\star$ ). Carnations untreated and held in distilled water served as a control ( $\bullet$ ).

pudo detectarse producción de etileno por ninguno de los claveles tratados con STS.

## DISCUSIÓN

Se ha comprobado que tanto AOA como AVG pueden ser usados como conservantes de flores de clavel cv. Arthur, ya que retrasan la senescencia de las mismas durante 4 días (figs. 1 y 2). Este efecto es debido a la inhibición de la actividad ACC-sintetasa, como lo demuestra la reducción significativa de la producción de etileno en los claveles sometidos a estos tratamientos (fig. 2) y los menores niveles de ACC total encontrados en sus pétalos, con respecto a los determinados en los controles mantenidos en SN (tabla 1). Sin embargo, los niveles de ACC libre permanecen prácticamente iguales en los pétalos de claveles tratados con AOA, AVG y en los controles, siendo los niveles de MACC los que disminuyen en el caso de los tratamientos con AOA y AVG. Estos resultados apoyan la hipótesis de que la conjugación sea un mecanismo para mantener los niveles de

ACC libre necesarios en cada momento, de forma que cuando disminuye la síntesis de ACC también disminuye su conjugación y cuando los niveles de ACC son elevados se activa el mecanismo de conjugación para evitar su exceso (YANG & HOFFMAN, 1984).

En cuanto a la actividad de EFE se ha comprobado que puede ser inhibida por el AIB, atrapadores de radicales libres,  $Cl_2Co$ , ácido acetilsalicílico y 8-hidroxiquinoleína (tabla 2). El AIB es un análogo estructural del ACC y ha sido demostrado que inhibe la producción de etileno tanto endógena como inducida por ACC en diferentes tejidos vegetales (SATO & ESASHI, 1980; 1982; 1983). En este trabajo se ha puesto de manifiesto que también inhibe fuertemente la producción de etileno en flores de clavel.

Los radicales libres parecen estar implicados en dos sucesos estrechamente relacionados: Síntesis de etileno (PAULIN *et al.*, (1986)) y rotura de las membranas celulares (MAYAK *et al.*, 1983). Los ensayos realizados con los atrapadores de radicales libres, benzoato de sodio y galato de n-propilo ponen de manifiesto que

ambos inhiben la actividad EFE (tabla 2), pero sin embargo, adelantan la senescencia de los claveles (fig. 4). Resultados semejantes fueron obtenidos por PAULIN *et al.*, (1986) con claveles cv. Ember, pero en este caso el 3,4,5-triclorofenol, otro atrapador de radicales libres, sí era capaz de prolongar la vida de estos claveles, los cuales producían un pico de etileno mucho más bajo. Todos estos resultados permiten proponer la existencia de un mecanismo que implique la participación de radicales libres en la actividad EFE y atribuir las diferencias observadas a la diferente vía de aplicación de estos compuestos, así como a la concentración y equilibrio iónico alcanzado en el interior de las células en cada caso.

El ácido acetilsalicílico aunque no aumentó la longevidad de los claveles cortados (fig. 5) sí inhibió significativamente la actividad EFE (tabla 2). LESLEI & ROMANI (1986) también encontraron que este ácido bloqueaba la conversión de ACC en etileno con cultivos de células de pera.

Cl<sub>2</sub>Co y 8-hidroxiquinoleína son también muy efectivos inhibiendo la actividad EFE (tabla 2). El segundo compuesto resulta útil para la conservación de claveles (fig. 5), sin embargo el primero no es útil en el caso de la variedad Arthur, pues en un amplio rango de concentraciones ensayadas provoca alteraciones en sus pétalos, aunque sí inhibe fuertemente la producción de etileno en estas flores (fig. 5).

De todos los compuestos ensayados para retrasar la senescencia de los claveles cortados cv. Arthur, el STS fue el que mostró los mejores resultados, aumentando la longevidad de estas flores en 7 y 14 días, según fuesen mantenidas en agua destilada o en SN tras el tratamiento, respectivamente (fig. 6). Conviene destacar la importancia de mantener los claveles en la SN diseñada (SERRANO *et al.*, 1988), tras el tratamiento con STS, ya que su longevidad es el doble de la que presentan cuando se mantienen en agua destilada después de haber sido tratados con STS.

En ninguno de los claveles tratados con STS se detectó producción de etileno, debido a que el ión Ag<sup>+</sup> bloquea la acción del etileno porque impide la unión de esta hormona a su receptor, inhibiendo así la síntesis autocatalítica del mismo y por tanto, el pico típico de etileno producido por los claveles senescentes de forma natural. Consecuentemente y de acuerdo con VEEN & VAN DE GEIJN (1978), el STS podría ser un buen conservante para aquellas flores que sean muy sensibles al etileno, como les sucede a los claveles, mientras que para aquellas flores menos sensibles a esta hormona, sólo sería beneficioso cuando fuesen a estar

expuestas a concentraciones elevadas de etileno exógeno.

Todo este estudio permite tener un conocimiento general sobre el control de la senescencia de claveles cv. Arthur (extrapolable a otros sistemas climatéricos) mediante la aplicación de compuestos específicos que influyen en el metabolismo y acción del etileno. Se dispone de un sistema para aumentar la longevidad de los claveles, que incluso sería interesante desde el punto de vista comercial, ya que se han realizado estudios económicos del coste de los productos empleados y algunos de ellos podrían ser rentables.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo está parcialmente financiado por la C.A.I.C.Y.T., proyecto n.º PA85-0275.

Se agradece a la Consejería de Agricultura, Pesca y Alimentación de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia la ayuda económica para la adquisición del material vegetal utilizado.

#### BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS, D. O. & YANG, S. F. 1979. Ethylene biosynthesis: Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 76: 170-174.
- AMRHEIN, N.; BREUING, F.; EBERLE, J.; SKORUPKA, M. & TOPHOF, S. 1982. The metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. In: WAREING, O. F. (Ed.): *Plant Growth Substances*, 1982: 249-258. London Academic.
- ATTA-ALY, M. A.; SALTVEIT, M. E. & HOBSON, G. E. 1987. Effect of silver ions on ethylene biosynthesis by tomato fruit tissue. *Plant Physiol.*, 83: 44-48.
- BEYER, E. M. 1976. A potent inhibitor of ethylene action in plants. *Plant Physiol.*, 58: 268-270.
- BOLLER, T.; HERNER, R. C. & KENDE, H. 1979. Assay for an enzymatic formation of an ethylene precursor, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Planta*, 145: 293-303.
- HOFFMAN, N. E.; YANG, S. F.; ICHIHARA, A. & SAKAMURA, S. 1982. Stereospecific conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene by plant tissues. Conversion of stereoisomers of 1-amino-2-ethylcyclopropanecarboxylic acid to 1-butene. *Plant Physiol.*, 70: 195-199.
- HOFFMAN, N. E.; FU, J. & YANG, S. F. 1983a. Identification and metabolism of 1-(malonylamino)cyclopropane-1-carboxylic acid in germinating peanut seeds. *Plant Physiol.*, 71: 179-199.
- HOFFMAN, N. E.; LIU, Y. & YANG, S. F. 1983b. Changes in 1-malonylamino-cyclopropane-1-carboxylic acid (MACC) content in wilted wheat leaves in relation their ethylene production rates and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) content. *Plant Physiol. (Suppl.)*: 72-73.
- LESLEI, C. A. & ROMANI, R. J. 1986. Salicylic acid: A

- new inhibitor of ethylene biosynthesis. *Plant Cell Rep.*, 5 (2): 144-146.
- LIEBERMAN, M. 1979. Biosynthesis and action of ethylene. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 30: 533-591.
- LIZADA, M. C. C. & YANG, S. F. 1979. A simple and sensitive assay for 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Anal. Biochem.*, 100: 140-145.
- MAYAK, S.; LEGGE, R. L. & THOMPSON, J. E. 1981. Ethylene formation from 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid by microsomal membranes from senescing carnation flowers. *Planta*, 153: 49-55.
- 1983. Superoxide radical production by microsomal membranes from senescing carnation flowers: an effect on membrane fluidity. *Phytochemistry*, 22: 1375-1380.
- PAULIN, A.; DROILLARD, M. J. & BUREAU, J. M. 1986. Effect of a free radical scavenger 3,4,5-trichlorophenol, on ethylene production and on changes in lipids and membrane integrity during senescence of petals of cut carnations (*Dianthus caryophyllus*). *Physiol. Plant.*, 67: 465-471.
- SATOH, S. & ESASHI, Y. 1980.  $\alpha$ -aminoisobutyric acid: a probable competitive inhibitor of conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene. *Plant Cell Physiol.*, 21: 939-949.
- 1982. Effects of  $\alpha$ -aminoisobutyric acid, and D- and L-amino acids on ethylene production and content of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid in cotyledonary segments of cocklebur seeds. *Physiol. Plant.*, 54: 147-152.
- 1983. Alphaaminoisobutyric, propyl gallate and cobalt ion and the mode of inhibition of ethylene production by cotyledonary segments of cocklebur seeds. *Plant Physiol.*, 57: 521-526.
- SERRANO, M.; ROSAURO, J.; DEL RIO, J. A. & ACOSTA, M. 1988. Conservación de la flor cortada de clavel (*Dianthus caryophyllus*, L. cv. Arthur). I. Uso de disoluciones conservadoras. *Anales de Biología*, 14 (Biología General, 3): 39-44.
- SU, L. Y.; MCKEON, T.; GRERSON, D.; CANTWELL, M. & YANG, S. F. 1984. Development of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase and polygalacturonase activities during the maturation and ripening of tomato fruit. *Hortscience*, 19: 576-578.
- VEEN, H. & VAN DE GEIJN, S. C. 1978. Mobility and ionic form of silver as related to longevity of cut carnation. *Planta*, 140: 93-96.
- YANG, S. F. & HOFFMAN, N. E. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 35: 155-189.