

## Metabolismo del etileno en hojas de olivo

J. C. Fernández-Maculet y B. Vioque\*

Departamento de Fisiología y Tecnología Postrecolección  
Instituto de la Grasa y sus Derivados  
41012 Sevilla (España)

(Recibido el 30 de mayo de 1989)

J. C. FERNÁNDEZ-MACULET and B. VIOQUE. *Ethylene Metabolism in Olive Tree Leaves*. Rev. esp. Fisiol., 46 (2), 129-132, 1990.

Olive tree tissues are able to metabolize ethylene. This metabolism is inhibited by heat killing and carbon disulfide. Rubber stoppers usually employed to close the incubation vials release carbon disulfide, thereby modifying the values obtained for ethylene. The ethylene consumption rate has been found to be 9 nl/h · g, an intermediate value among the different plant tissues so far examined.

Key words: Olive tree, Metabolism, Ethylene, Carbon disulfide.

El etileno es una importante hormona vegetal que regula muchos aspectos del crecimiento, desarrollo y senescencia de las plantas, siendo la única de naturaleza gaseosa (7). El mecanismo por el cual ejerce su función no es bien conocido, no habiéndose aislado ningún sistema libre de células que refleje todas las características de su acción *in vivo* (10). No obstante, el metabolismo del etileno y su modo de acción parecen estar estrechamente relacionados (6-8).

Los primeros estudios sobre un posible metabolismo del etileno fueron realizados por BUHLER *et al.* (11), aunque los resultados obtenidos no fueron convincentes hasta que se consiguió por primera vez  $^{14}\text{C}_2\text{H}_4$  altamente purificado (4). A partir

de estudios realizados con semillas de guisante y *Vicia faba* se ha propuesto una ruta oxidativa del etileno, vía óxido de etileno, que conduce a  $\text{CO}_2$  y a un conjugado del etilenglicol con glucosa (6, 8, 12).

Se ha demostrado que una gran variedad de tejidos vegetales metabolizan el etileno, realizando algunos una oxidación parcial a óxido de etileno (*Vicia faba*) y otros una oxidación total a  $\text{CO}_2$  (algodón) (9). Estudios con  $^{18}\text{O}_2$  indican que una monooxigenasa está implicada en el metabolismo del etileno (10), aunque otros afirman que no existe una incorporación real de  $\text{O}_2$  en el etileno o en otros alquenos susceptibles de ser metabolizados (3).

El disulfuro de carbono es un compuesto volátil capaz de inhibir el metabolismo oxidativo del etileno (5) y de otros alquenos (1). En el presente trabajo

\* A quien debe dirigirse la correspondencia.

se pone de manifiesto que las hojas de olivo metabolizan el etileno, y que esta reacción se inhibe por el sulfuro de carbono.

### Material y Métodos

Se utilizan hojas de olivo (*Olea europaea* L. cv. Picual) de árboles de unos 14 años de edad, previamente lavadas y esterilizadas con hipoclorito sódico, cortadas en discos de 4 mm de diámetro, con un peso aproximado de 7-8 mg.

Los discos de hojas se exponen a  $S_2C$  (180  $\mu$ l/l) durante 15 min a temperatura ambiente (13) y, posteriormente, se incuban cinco discos con 1 ml de ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) 1 mM, en la oscuridad, a 30 °C, con agitación, en viales de 11 ml cerrados con tapón de goma o de teflón.

Otros cinco discos, sin tratar, tratados con  $S_2C$  o hervidos 15 min, se incuban con 1 ml de agua bidestilada y 10 ml de etileno patrón (10  $\mu$ l/l), en las condiciones indicadas anteriormente.

La determinación del etileno se realiza inyectando muestras de 1 ml del espacio de cabeza en un cromatógrafo gaseoso Hewlett Packard 5890 A, con detector de ionización de llama y columna de alúmina (2 m  $\times$  3 mm d.i.). La determinación del  $S_2C$  con detector fotométrico de llama con filtro para azufre y columna capilar de fenilmetilsilicona al 5 %.

Los resultados representan la media  $\pm$   $\sigma$  de dos ensayos independientes con viales triplicados en cada uno de ellos.

### Resultados y Discusión

Cuando se exponen tejidos de *Vicia faba* a concentraciones de  $S_2C$  de 180  $\mu$ l/l, la liberación de etileno a partir de ACC exógeno se incrementa en un 70 % (13). La exposición de discos de hojas de olivo a esa misma concentración de sulfuro de

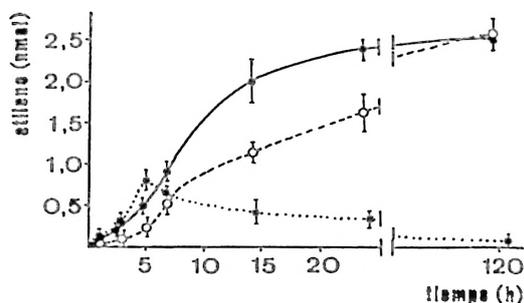


Fig. 1. Etileno liberado por tejidos de olivo incubados con ACC 1 mM en viales cerrados con distintos tipos de tapón.

● Tapón de goma; \* Papel de aluminio aislando la goma; ○ Papel de aluminio sin aislar la goma.

carbono, no modifica los valores de etileno obtenidos tras incubación con ACC cuando se utilizan tapones de goma para cerrar los viales de incubación. La falta de respuesta de los tejidos de olivo al tratamiento con  $S_2C$  puede ser debida a: 1) La inexistencia de metabolismo etilénico en dichos tejidos; 2) El sulfuro de carbono no ejerce ningún efecto sobre dicho metabolismo; 3) La liberación de  $S_2C$  por los tapones de goma (5), producto que puede interferir en la oxidación del etileno. Si se aíslan los tapones de goma del medio de incubación con papel de aluminio, el etileno que puede medirse en el espacio de cabeza de las incubaciones es menor (fig. 1). Esta disminución no es debida a la inhibición de la producción de etileno por el papel de aluminio, ya que si se coloca de forma que no aisle totalmente el tapón de goma, se produce un ligero retraso en la liberación de etileno, pero no una variación en la cantidad total producida. Estos resultados sugieren que los tapones de goma pueden liberar  $S_2C$ .

Para comprobarlo se han incubado discos de hojas de olivo con ACC en viales cerrados con tapón de goma y en viales cerrados con tapón de teflón (material inerte) (tabla I). Tras 48 h de incubación, la concentración de etileno es mucho mayor

Tabla I. Producción de etileno por tejidos de hoja de olivo en viales cerrados con diferente tipo de tapón.

Tiempo (h)	Tapón goma (nmol)	Tapón teflón (nmol)
3	0,11 ± 0,03	0,04 ± 0,01
6	0,25 ± 0,04	0,11 ± 0,02
24	0,60 ± 0,10	0,29 ± 0,08
48	1,30 ± 0,10	0,27 ± 0,06

en los viales cerrados con tapón de goma. Estos datos sugieren que cuando se utilizan tapones de teflón, el etileno producido a partir del ACC va siendo metabolizado, disminuyendo así su concentración en el espacio de cabeza. En cambio, al utilizar tapones de goma, el S<sub>2</sub>C liberado por los mismos inhibe dicho metabolismo, probablemente actuando como inactivador de la etileno monooxigenasa (2). La liberación de compuestos azufrados por los tapones de goma ha sido comprobada por cromatografía gaseosa. En el espacio de cabeza de viales cerrados con tapón de goma aparece, tras 24 h de incubación a 30 °C, un pico a igual tiempo de retención (0,74 min) que el S<sub>2</sub>C. Si los viales se calientan 1 h en estufa a 105 °C, el pico de S<sub>2</sub>C es mucho mayor y va acompañado de un pequeño pico de otro compuesto azufrado a 0,62 min, presumiblemente SOC. Estos compuestos no aparecen en el espacio de cabeza de viales cerrados con tapones de teflón sometidos a idénticos tratamientos.

Tabla II. Etileno presente en viales de incubación de tejidos de olivo con etileno exógeno. Los datos expresan tanto por ciento del etileno inicial (10 µl/l).

Tiempo (h)	Tapón teflón		Tapón goma
	Discos hervidos	Discos sin hervir	
0	98±1	97±1	98±1
6	96±1	72±9	85±9
24	90±2	39±9	91±4

Tabla III. Etileno producido por tejidos de olivo tratados con S<sub>2</sub>C y sin tratar, incubados con ACC 1 mM en viales cerrados con tapón de teflón.

Tiempo (h)	Tratados (nmol)	Sin tratar (nmol)
6	0,19 ± 0,04	0,11 ± 0,03
24	0,90 ± 0,10	0,53 ± 0,09
48	1,40 ± 0,20	0,49 ± 0,07

Para comprobar que los tejidos de olivo metabolizan el etileno, se incuban en agua discos hervidos y sin hervir con etileno exógeno (10 µl/l), saturante para la etileno monooxigenasa (2), determinándose el etileno a varios tiempos. Con tapones de teflón (tabla II) desaparece, aproximadamente, el 60 % del etileno inicial (24 h de incubación); con tapones de goma o discos hervidos, sólo desaparece un 10 %, valor que puede deberse a difusión del gas ya que se sitúa dentro de los obtenidos por otros autores (3). El hecho de que los discos hervidos no metabolizan el etileno está de acuerdo con los resultados de BEYER y BLOMSTROM (9).

Por último, para comprobar que las diferencias en el etileno medido son realmente debidas a inhibición del metabolismo, por el S<sub>2</sub>C desprendido por los tapones de goma (tabla I), se han incubado con ACC discos de hojas de olivo tratados y no tratados con S<sub>2</sub>C en viales cerrados con tapón de teflón. Se comprueba que el S<sub>2</sub>C, tras 24 h de incubación, aumenta sobre un 70 % el etileno (tabla III).

Los resultados expuestos ponen de manifiesto la existencia de un metabolismo del etileno en una planta no anual de hoja perenne. Todos los estudios hasta ahora realizados se referían a plantas anuales (8). Este metabolismo se inhibe por el S<sub>2</sub>C que desprenden los tapones de goma generalmente utilizados en las incubaciones. La tasa de consumo de etileno ha sido calculada en 9 nl/h · g, lo que sitúa al olivo en una posición intermedia entre plantas de alto metabolismo (alfalfa, haba) y de

bajo metabolismo (tomate, judía) (8). Debido a la no disponibilidad de  $^{14}\text{C}_2\text{H}_4$ , no ha sido posible estudiar qué metabolitos se forman y si la oxidación que llevan a cabo estos tejidos es completa o incompleta.

#### Agradecimiento

Al Dr. A. Cert por su inestimable ayuda en la puesta a punto del método de determinación del  $\text{S}_2\text{C}$ .

#### Resumen

Se estudia el metabolismo de etileno en discos de hojas de olivo. Este metabolismo es inhibido por calor y sulfuro de carbono. Los taponés de goma, generalmente utilizados para cerrar los viales de incubación, liberan  $\text{S}_2\text{C}$ , modificando los valores de etileno obtenidos. La tasa de consumo de etileno es de  $9 \text{ nl/h} \cdot \text{g}$ , intermedia entre las especies vegetales hasta ahora estudiadas.

Palabras clave: Olivo, Metabolismo, Etileno, Disulfuro de carbono.

#### Bibliografía

1. Abeles, F. B.: *J. Plant Growth Regul.*, 3, 85-89, 1984.
2. Abeles, F. B.: En «Ethylene: Biochemical, Physiological and Applied Aspects» (Fuchs, Y. y Chalutz, E., eds.) Nijhoff, M. and Junk, W. Publishers, La Haya, 1984, pp. 75-85.
3. Abeles, F. B. y Dunn, L. J.: *J. Plant Growth Regul.*, 4, 123-128, 1985.
4. Beyer, E. M., Jr.: *Nature*, 255, 144-147, 1975.
5. Beyer, E. M., Jr.: *Plant Physiol.*, 60, 203-206, 1977.
6. Beyer, E. M., Jr.: En «Aspects and Prospects of Plant Regulators» (Jeffcoat, B., ed.). Monograph 6. British Plant Growth Regulation Groups, Wessex Press, Wantage, U.K., 1980, pp. 27-38.
7. Beyer, E. M., Jr.: En «Recent advances in the Biochemistry of Fruit and Vegetables» (Friend, J. y Rhodes, M. J., eds.). Academic Press, Londres, 1981, pp. 107-121.
8. Beyer, E. M., Jr.: En «Ethylene: Biochemical, Physiological and Applied Aspects» (Fuchs, Y. y Chalutz, E., eds.). Nijhoff, M. and Junk, W. Publishers, La Haya, 1984, pp. 65-74.
9. Beyer, E. M., Jr. y Blomstrom, D. C.: En «Plant Growth Substances 1979» (Skoog, F., ed.). Springer-Verlag, Berlín, 1980, pp. 208-218.
10. Beyer, E. M., Jr., Morgan, P. W. y Yang, S. F.: En «Advanced Plant Physiology» (Wilkins, M. B., ed.). Pitman Press, Londres, 1984, pp. 111-126.
11. Buhler, D. R., Hansen, E. y Wang, C. H.: *Nature*, 179, 48-49, 1957.
12. Dodds, J. H. y Hall, M. A.: *Int. Rev. Cytol.*, 76, 299-325, 1982.
13. Peiser, G. D., Wang, T. T., Hoffman, N. E., Yang, S. F., Liu, H. W. y Walsh, C. T.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81, 3059-3063, 1984.