

INFORMACION

Las peroxidasas y la conversión del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico en etileno.

Por B. Vioque* y J. C. Fernández-Maculet

Instituto de la Grasa y sus Derivados.

Avda. Padre García Tejero, 4

41012 - SEVILLA.

RESUMEN

Las peroxidasas y la conversión del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico en etileno.

En el trabajo se discute el papel de las peroxidasas en el último paso de la ruta de biosíntesis del etileno, la conversión del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico en etileno.

PALABRAS-CLAVE: *Acido indolacético - Acido 1-aminociclopropano-1-carboxílico - Enzima formador de etileno - Etileno - Información (artículo) - Peroxidasa.*

SUMMARY

Peroxidases and the conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene.

In this paper the role of peroxidases in the last step of the ethylene biosynthesis pathway, the conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, is discussed.

KEY-WORDS: *1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid - Ethylene - Ethylene forming enzyme - Indolacetic acid - Information (paper) - Peroxidase.*

1. INTRODUCCION

El papel preponderante del etileno como hormona de la maduración y senescencia de los vegetales es sobradamente conocido, regulando muchos aspectos de la fisiología de las plantas superiores (1).

Su ruta de biosíntesis quedó establecida en 1979 con el descubrimiento del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) como precursor inmediato de la hormona (2) (3); según el siguiente esquema: Metionina → S-adenosilmetionina → ACC → etileno.

Aunque se conocen muchos detalles de esta ruta, quedan todavía puntos oscuros. Así, el enzima o sistema enzimático que cataliza la conversión oxidativa de ACC en etileno, denominado enzima formador

de etileno (EFE), no ha podido aún ser aislado y caracterizado in vitro.

Se han descrito, no obstante, varios sistemas libres de células capaces de catalizar dicho paso (4) (5) (6) (7) (8) (9). Aunque todos ellos tienen semejanzas con el EFE nativo, poseen sin embargo otras propiedades diferentes: baja afinidad hacia el ACC, bajo rendimiento y, con la excepción del sistema de protoplastos y vacuolas (8) (9), no presentan estereoespecificidad (10), por lo que se duda de su significado fisiológico.

Las peroxidasas han traído considerable atención debido a su amplia distribución, versatilidad, gran número de isoformas, la increíble cantidad de sustratos con los que pueden actuar y su variación en número y actividad durante los procesos fisiológicos (11). Desde que en 1955 Kenten (12) demostrase que el ácido indol-3-acético (AIA) puede ser degradado por peroxidasa purificada en ausencia de H₂O₂, se ha profundizado en la cuestión de la dualidad de funciones (AIA-oxidasa y peroxidasa) de estas enzimas, llegando a la conclusión de que todos los isoenzimas de peroxidasa pueden exhibir ambas actividades, dependiendo de la presencia o ausencia de modificadores alostéricos (13).

Las peroxidasas en la biosíntesis de etileno.

Durante mucho tiempo se han relacionado las peroxidasas con la biosíntesis de etileno debido a su influencia sobre los procesos de maduración, senescencia y abscisión (14) (15) (16), y a una serie de hechos típicos de la producción de etileno in vivo, como son: necesidad de oxígeno (17), participación de radicales libres (18) e incluso la sugerencia de la implicación de peróxidos (19). El incremento paralelo en la producción de etileno y la actividad peroxidasa durante la maduración de frutos de tomate (20), la relación entre peroxidasas y etileno de estrés (1) y la propuesta de una localización del sistema sintetizador de etileno en un complejo membrana plasmá-

tica-pared celular (21) parecen estar en línea con este punto de vista.

Antes del descubrimiento del ACC como precursor inmediato del etileno se describieron sistemas modelo in vitro en los cuales las peroxidasas catalizaban la formación de etileno a partir de metional (22) y de ácido α -ceto- γ -metiltiobutírico (KMB) (23) (24).

Los trabajos ya citados sobre formación de etileno a partir de KMB, los de Konze y Kende (4) con ACC, así como las ideas de Adams y Yang (2) sobre la posible participación del H_2O_2 y una oxidasa en la rotura del anillo de ciclopropano, llevaron a Vioque y cols. (5) a proponer que el sistema AIA-oxidasa/peroxidasa podría actuar in vivo en el paso ACC \rightarrow etileno. Las características de este sistema enzimático, estudiadas por Vioque y cols. en el olivo (25) (26) coincidían con las atribuidas hasta entonces al EFE (2) (3) (4). Extractos enzimáticos de hojas de olivo, con actividades AIA-oxidasa y peroxidasa, transforman el ACC en etileno in vitro en presencia de AIA, diclorofenol, Mn^{2+} y fosfato de piridoxal (5).

La participación de este sistema enzimático y su sustrato, AIA, en el último paso de la biosíntesis del etileno explicaría la bien conocida estimulación de la producción de etileno en tejidos pretratados con auxina (27).

Después de que Vioque y cols. (5) sugirieran la participación del sistema AIA-oxidasa/peroxidasa en la conversión de ACC en etileno in vivo, el papel de las peroxidasas en dicho paso ha sido objeto de investigación y, aunque los resultados no son concluyentes, las pruebas en apoyo de dicha hipótesis son cada vez mayores.

Macháková y Zmrhal (28) y Rohwer y Mäder (29), utilizando peroxidasa purificada de trigo y guisante, respectivamente, concluyeron que "si bien el ACC no se convierte en etileno por acción directa de una peroxidasa, no se puede excluir que estén de alguna manera implicadas en el proceso". Shimokawa (30) purificó en 1983 un extracto enzimático de frutos de *Citrus unshiu* con actividad AIA-oxidasa capaz de catalizar la formación de etileno a partir de ACC en presencia de AIA, diclorofenol, fosfato de piridoxal e iones Mn^{2+} . Los trabajos de Frenkel y Mukai (31) apoyan fuertemente la participación del sistema AIA-oxidasa en el último paso de la biosíntesis del etileno. Sus resultados, en ensayos in vivo e in vitro, muestran que la formación de etileno a partir de ACC se estimula por el AIA y se restringe cuando se inhibe la actividad AIA-oxidasa.

En esta misma línea se encuentran los estudios de Billot (32), Parups (33) y Mussell (34). El primero de ellos concluye que los mono- y difenoles pueden regular la biosíntesis de etileno gracias a sus efectos contrapuestos sobre la actividad AIA-oxidasa. Parups (33) apunta también a una interdependencia de los

sistemas degradador de AIA y formador de etileno, basándose en los efectos de radicales libres y de atrapadores de los mismos. Por su parte Mussell (34) encuentra una interacción entre ACC y AIA-oxidasa en hojas de tomate. Vioque y Fernández-Maculet (35) observan inhibición de la actividad AIA-oxidasa durante la liberación de etileno en el sistema in vitro AIA-oxidasa/peroxidasa (5), sugiriendo una competencia entre AIA y ACC por el enzima.

Utilizando técnicas electroforéticas, Vioque y cols. (36) demostraron la existencia de una relación inversa entre las peroxidasas extraídas de los espacios intercelulares por isoelectroenfoco directo de tejidos y la actividad EFE en hojas de olivo. Estos mismos autores y Levinsh (37) encuentran una correlación lineal entre las actividades peroxidasa y EFE en tejidos de distinta edad.

Otros trabajos se centran en la participación de estas enzimas en la formación del etileno de estrés. Boyer y cols. (38) proponen que el incremento en la actividad EFE de los internudos de *Bryonia dioica* sometidos a estrés mecánico podría ser debido a la acción sobre el ACC de peroxidasas unidas a membranas. La vitrificación de cultivos celulares resultaría, según Kevers y cols. (39), de la producción de etileno de estrés mediada por el sistema AIA-oxidasa/peroxidasa.

En una revisión del tema, Gaspar y cols. (40) proponen un control generalizado de las repuestas de los vegetales a situaciones de estrés. Sugieren una secuencia de reacciones que relacionan auxina y etileno, siendo las peroxidasas las responsables de la regulación de los niveles de AIA y de la conversión del ACC en etileno, participando el Mn^{2+} como ion activante. Según este mecanismo, que apoya la hipótesis de Vioque y cols. (5), los cambios producidos in vivo dependerían de la disponibilidad de peróxidos y dadores de electrones, por lo que no se correlacionarían necesariamente con variaciones en la actividad peroxidasa in vitro. Finalmente, Boyer y De Jaegher (41) proponen también la intervención de las peroxidasas y del Mn^{2+} en el paso ACC \rightarrow etileno para explicar la tigmomorfogénesis en *Bryonia dioica*.

Recientemente Vioque y Fernández-Maculet (42) han demostrado que en el sistema formador de etileno descrito por Vioque y cols en 1981 (5), el ACC es sustrato de las peroxidasas, siendo transformado mayoritariamente en un compuesto identificado como 3-hidroxiopropano amida (HPA). Extracto enzimático, Mn^{2+} y oxígeno son los componentes del sistema in vitro responsables de la transformación del ACC en HPA, pudiendo ser sustituido el extracto enzimático por peroxidasa comercial con análogos resultados. La formación de HPA transcurre vía generación de peróxidos e hidroperóxidos del ACC (43).

Significado fisiológico

La identificación del EFE es una tarea difícil debido a que casi cualquier sistema enzimático que contenga o produzca oxidantes puede conducir a la liberación de etileno a partir de ACC (44).

La evidentemente compleja naturaleza del EFE, la imposibilidad de aislarlo y caracterizarlo *in vitro* y las muchas interacciones del sistema oxidante del ACC *in vivo* apuntan a la idea de que la reacción puede no ser simple, pudiendo intervenir varios enzimas, posiblemente relacionados entre sí (7). La ausencia de correlación entre actividad peroxidasa y EFE observada en algunos casos no excluye la participación de las peroxidasas en la generación de etileno. Las peroxidasas pueden ser una parte de la cadena de reacciones o bien puede darse una reacción que dependa de Mn^{2+} , pero no de la cantidad de enzima (45).

El EFE parece estar asociado a membranas (46) y trabaja generando radicales libres (47). En la reacción están implicados hidroperóxidos (48), el ión Mn^{2+} (5) (49) y quizás también el ión Ca^{2+} (50). Por su parte, el Mn^{2+} tiene un efecto estimulador sobre el sistema AIA-oxidasa (51) y está involucrado en la generación de una cadena de radicales libres (49). Todos estos hechos sugieren una amplia relación entre peroxidasas y EFE (45).

Las críticas al sistema AIA-oxidasa/peroxidasa como responsable de la conversión ACC→etileno *in vivo* están basadas fundamentalmente en tres puntos: baja afinidad hacia el ACC, ausencia de estereoespecificidad y bajo rendimiento de la reacción.

La baja afinidad hacia el ACC puede explicarse por la falta de conexión entre las diversas partes de la reacción. *In vivo* podrían estar acopladas en la membrana plasmática o vacuolar, lugares donde se ha demostrado actividad EFE (52). Así mismo, la afinidad se determina en base al etileno liberado y no al ACC consumido, no teniendo en cuenta la posibilidad de que existan otras transformaciones del mismo, como han demostrado Vioque y Fernández-Maculet (42).

La estereoespecificidad del EFE (10) ha sido utilizada para juzgar el significado fisiológico de los sistemas *in vitro* descritos (53) (54) (55). Existen, no obstante, ciertas reservas sobre la validez de este criterio por varias razones: 1) Parece poco probable que un enzima que se supone altamente específico (27) actúe sobre el ACC formando etileno y sobre el ácido 1-amino-2-etilciclopropano-1-carboxílico para liberar 1-buteno; 2) Los resultados de Amrhein y cols. (56) con el ácido 1-amino-2-metilciclopropano-1-carboxílico ponen en duda la estereoespecificidad del EFE, o al menos ésta no es tan estricta como se había supuesto anteriormente; 3) Otra cuestión es si puede

esperarse que el carácter estereoespecífico del enzima se mantenga tras su aislamiento (57) y 4) Se han descrito variaciones fisiológicas de la capacidad de estereodiscriminación del EFE con la edad del tejido (58), restando validez a dicho criterio.

El bajo rendimiento en la producción de etileno del sistema AIA-oxidasa/peroxidasa se explica por la transformación mayoritaria del ACC en HPA (42). La competencia entre AIA y ACC por el enzima y la alta afinidad del radical de ACC por el oxígeno para formar hidroperóxidos de ACC son las causas de la baja tasa de liberación de etileno en este sistema. La posibilidad de que el producto final mayoritario de la acción de las peroxidasas sobre el ACC, identificado como HPA (42), se encuentre como producto endógeno en los vegetales, mantiene abierta una puerta para que la reacción entre peroxidasas y ACC tenga un significado fisiológico, quizás próximo a la definitiva caracterización del EFE (43).

BIBLIOGRAFIA

1. Abeles, F. B.- "Ethylene in plant biology".-Academic Press, New York, 1973.
2. Adams, D. O. and Yang, S. F.-"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** (1979) 170-174.
3. Lürssen, K.; Naumann, K. and Schröder, R.-"1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid. An intermediate of the ethylene biosynthesis in higher plants".-Z. Pflanzenphysiol **92** (1979) 285-294.
4. Konze, J. R. and Kende, H.-"Ethylene formation from 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid in homogenates of etiolated pea seedlings".-Planta **146** (1979) 293-301.
5. Vioque, A.; Albi, M. A. and Vioque, B.-"Role of IAA-oxidase in the formation of ethylene from 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid".-Phytochemistry **20** (1981) 1473-1475.
6. Vinkler, C. and Apelbaum, A.-"Ethylene formation from 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid in plant mitochondria".-FEBS Lett **162** (1983) 252-256
7. Bousquet, J. F. and Thimann, K. V.-"Lipid peroxidation forms ethylene from 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid and may operate in leaf senescence".-Proc. Natl. Acad. Sci USA **81** (1984) 1724-1727.
8. Guy, M. and Kende, H.-"Ethylene formation in *Pisum sativum* and *Vicia faba* protoplasts".-Planta **160** (1984) 276-280.
9. Guy, M. and Kende, H.-"Conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene by isolated vacuoles of *Pisum sativum* L.". -Planta **160** (1984) 281-287.
10. Hoffman, N. E.; Yang, S. F.; Ichiara, A. and Sakamura, S.-"Stereospecific conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene by plant tissues".-Plant Physiol. **70** (1982) 195-199.
11. Gaspar, T.-"Integrated relationships of biochemical and physiological peroxidase activities".-"Molecular and physiological aspects of plant peroxidases", pp. 455-468.- Grepin, H.; Penel, C., and Gaspar, T. (Ed.) University of Geneva, Ginebra, 1986.

12. Kenten, R.H.—The oxidation of indolyl-3-acetic acid by waxpod bean root sap and peroxidase systems.— *Biochem. J.* **59** (1955) 110-121.
13. Acosta, M.; Arnao, M.B.; Del Río, J.A. and García-Cánovas, F.—Kinetic characterization of the inactivation of two peroxidase isoenzymes in the oxidation of indolyl-acetic acid.—*Biochim. Biophys. Acta* **996** (1989) 7-12.
14. Schwertner, E.A. and Morgan, P.W.—The role of IAA-oxidase in abscission control in cotton.—*Plant Physiol.* **41** (1966) 1513-1519.
15. Frenkel, C.—“Involvement of peroxidase and indole-3-acetic acid oxidase isozymes from pear, tomato and blueberry fruit in ripening”.— *Plant Physiol.* **49** (1972) 757-763.
16. Vioque, A. y Albi, M.A.—“Elementos trazas y abscisión de la aceituna”.—*Grasas y Aceites* **26** (1975) 73-78.
17. Burg, S. P.—“The physiology of ethylene formation”.—*Ann. Rev. Plant Physiol.* **13** (1962) 265-302.
18. Baker, J. E.; Wang, C. Y.; Lieberman, M. and Hardenburg, R.—“Delay of senescence in carnations by rhizobitoxine analogs and sodium benzoate”.—*Hort. Sci.* **12** (1977) 38-39.
19. Brennan, T. and Frenkel, C.—“Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear”.—*Plant Physiol.* **59** (1977) 411-416.
20. Ku, H. S.; Yang, S. F. and Pratt, H. K.—“Ethylene production and peroxidase activity during tomato fruit ripening”.—*Plant Cell Physiol.* **11** (1970) 241-246.
21. Mattoo, A. K. and Lieberman, M.—“Localization of the ethylene synthesizing system in apple tissue”.—*Plant Physiol.* **60** (1977) 794-799.
22. Yang, S. F.—“Biosynthesis of ethylene. Ethylene formation from methional by horseradish peroxidase”.— *Arch. Biochem. Biophys.* **122** (1967) 481-487.
23. Ku, H.S.; Yang, S.F., and Pratt, H.K.—“Ethylene formation from α -keto- γ -methylthiobutyrate by tomato fruit extracts”.—*Phytochemistry* **8** (1969) 567-573.
24. Mapson, L. W. and Wardale, D. A.—“Role of IAA in the formation of ethylene from 4-methylmercapto-2-oxo-butyric acid by peroxidase”.—*Phytochemistry* **11** (1972) 1371-1397.
25. Vioque, A.; Albi, M.A. y Vioque, B.—“Abscisión de la aceituna. II. Purificación parcial del sistema enzimático ácido indolacético oxidasa del olivo”.—*Grasas y Aceites* **29** (1978) 391-395.
26. Vioque, A.; Albi, M.A. y Vioque, B.—“Abscisión de la aceituna. III. Algunas propiedades del sistema enzimático ácido indolacético oxidasa del olivo”.—*Grasas y Aceites* **29** (1978) 397-406.
27. Lieberman, M.—“Biosynthesis and action of ethylene”.—*Ann. Rev. Plant Physiol.* **30** (1979) 533-591.
28. Machácková, I. and Zmrhár, Z.—“Is peroxidase involved in ethylene biosynthesis?”.—*Physiol. Plant.* **53** (1981) 479-482.
29. Rohwer, F. and Mäder, M.—“The role peroxidase in ethylene formation from 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid”.—*Z. Pflanzenphysiol.* **104** (1981) 363-372.
30. Shimokawa, K.—“An ethylene forming enzyme in Citrus unshiu fruits”.—*Phytochemistry* **22** (1983) 1903-1908.
31. Frenkel, C. and Mukai, M. K.—“Possible role of fruit cell wall oxidative activity in ethylene evolution”.—En “Ethylene. Biochemical, physiological and applied aspects”.- pp. 303-316.- Fuchs, Y. and Chalutz, E. (Ed). Nijhoff, M. and Junk, W. Publishers, La Haya, 1984.
32. Billot, J.—“Evolution des composés phénoliques au cours de la maduration de la poire Passe-Grassane”.- *Physiol. Vég.* **21** (1983) 527-535.
33. Parups, E.V.—“Free radical and free radical scavenger effects on indole-3-acetic acid levels and ethylene production”.—*Physiol. Plant.* **60** (1984) 149-153.
34. Mussell, H.—“Interaction between 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid and IAA-oxidase from tomato foliage”.—*Phyton* **45** (1985) 55-60.
35. Vioque, B. y Fernández-Maculet, J.C.—“El sistema formador de etileno de hojas de olivo”.- *Grasas y Aceites* **40** (1989) 264-268.
36. Vioque, B.; Fernández-Maculet, J.C.; Albi, M.A.; Castellano, J. M. y Vioque, A.—“Peroxidasas y formación de etileno en hojas de olivo”.—*Rev. Esp. Fisiol.* **45** (1989) 47-52.
37. Levinsh, G.—“Gradients of peroxidase, AIA-oxidase and lipooxygenase in rye, wheat and pea seedlings: Relationship with ethylene formation”.—Abstracts from “II International Symposium on Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidases”, p. 96.—Lublín (Polonia), 1990.
38. Boyer, N.; Desbiez, M.O.; Hofinger, M. and Gaspar, T.—“Effect of lithium on thigmomorphogenesis in *Bryonia dioica*, ethylene production and sensitivity”.—*Plant Physiol.* **72** (1983) 522-525.
39. Kevers, C.; Coumans, M.; Coumans-Gillés, M.F. and Gaspar, T.—“Physiological and biochemical events leading to vitrification of plant cultured in vitro”.—*Physiol. Plant.* **61** (1984) 69-74.
40. Gaspar, T.; Penel, C.; Castillo, F.J. and Greppin, H.—“A two-step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth development”.—*Physiol. Plant.* **64** (1985) 418-423.
41. Boyer, N. and De Jaegher, G.—“Direct or indirect role of peroxidases in ethylene biosynthesis?”.—En “Molecular and physiological aspects of plant peroxidases”, pp. 47-60. Greppin, H.; Penel, C. and Gaspar, T. (Ed).- University of Geneva, Ginebra, 1986.
42. Vioque, B. and Fernández-Maculet, J.C.—“3-Hydroxypropyl amide formation from 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid by a cell-free ethylene-forming system from olive leaves”.—*Physiol. Plant.* **79** (1990) 487-490.
43. Arnao, M.B.; Casas, J.L.; Del Río, J.A.; Acosta, M.; Vioque, B. y Fernández-Maculet, J.C.—“Oxidación del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) catalizada por peroxidasa”.—En “Metabolismo y modo de acción de fitohormonas”. Vol. 2, pp. 85-92.— Matilla, A. y Sánchez-Calle, I. (Ed.), S.E.F.V.- Universidad de Granada, Granada, 1990.
44. Yang, S.F. and Hoffman, N.E.—“Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants”.- *Ann. Rev. Plant Physiol.* **35** (1984) 155-189.
45. Penel, C.; Gaspar, T.; Crèvecoeur, M.; Kevers, C. and Greppin, H.—“The roles of calcium and manganese ions in the in vitro conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene by lentil root membranes”.—*Physiol. Plant.* **79** (1990) 250-254.
46. Mayne, R.G. and Kende, H.—“Ethylene biosynthesis in isolated vacuoles of *Vicia faba* L. Requirement for membrane integrity”.—*Planta* **167** (1986) 159-165.
47. Apelbaum, A.; Wang, S.Y.; Burgoon, A.C.; Baker, J.E. and Lieberman, M.—“Inhibition of the conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene by structural analogs, inhibitors of electron transfer, uncouplers of oxidative phosphorylation, and free radical scavengers”.- *Plant Physiol.* **67** (1981) 74-79.
48. Paulin, A.; Droillard, M.J. and Bureau, J.M.—“Effect of a free radical scavenger, 3, 4, 5-trichlorophenol, on ethylene production and on changes in lipids and membrane integrity during senescence of petal of cut carnations (*Dianthus caryophyllus*)”.—*Physiol. Plant.* **67** (1986) 465-471.

49. Gardner, H.W. and Newton, J.W.—“Lipid hydroperoxides in the conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene”.— *Phytochemistry* **26** (1987) 621-626.
50. Cheverry, J.L.; Pouliquen, J.; Le Guyader, H. and Marcelin, P.—“Calcium regulation of exogenous and endogenous 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid bioconversion to ethylene”.—*Physiol. Plant.* **74** (1988) 53-57.
51. Pilet, P.E. et Gaspar, T.— “Le catabolisme auxinique”.—Masson et Cie., Paris, 1968.
52. Bouzayen, M.; Latché, A. and Pech, J.C.—“Subcellular localization of the sites of conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid into ethylene in plant cells”.—*Planta* **180** (1990) 175-180.
53. Venis, M.A.—“Cell-free ethylene-forming systems lack stereochemical fidelity”.—*Planta* **162** (1984) 85-88.
54. Manning, K.—“The ethylene forming enzyme system in carnation flowers”.—En: “Ethylene and plant development”, pp. 83-91.— Roberts, J.A. and Tucker, G.A. (Ed.), Butterworths, Londres, 1985.
55. Wang, T.T. and Yang, S.F.—“The physiological role of lipoxygenase in ethylene formation from 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid in oat leaves”.—*Planta* **170** (1987) 190-196.
56. Amrhein, N.; Dorzok, U.; Kionka, C.; Kondziolka, U.; Skorupka, H. and Tophof, S.—“The biochemistry and physiology of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid conjugation”.—En “Ethylene. Biochemical, physiological and applied aspects”, pp. 11-20.—Fuchs, Y. and Chalutz, E. (Ed.), Nijhoff, M. and Junk, W. Publishers, La Haya, 1984.
57. Nilsen, H.G., Sagstuen, E., and Aarnes, H.— “A cell-free ethylene-forming system from barley roots”.— *J. Plant Physiol.* **133** (1988) 73-78.
58. Adam, Z. and Mayak, S.—“Age-dependent discrimination between stereoisomers of 1-amino-2-ethylcyclopropane-1-carboxylic acid in carnation petals”.—*Plant Physiol.* **80** (1986) 1045-1047.

(Recibido: Octubre 1990)