

LA INDUCCIÓN LIMITADA DE LA SÍNTESIS DE ETILENO Y CIANURO ESTARÍAN INVOLUCRADAS EN LA RESISTENCIA A QUINCLORAC EN CAPÍN

M.Diez.Vignola¹, C.Marchesi², N. Saldain³, D.Sc P.Diaz¹

PALABRAS CLAVE: herbicida, mecanismos de resistencia, *Echinochloa crus-galli*

INTRODUCCIÓN

El capín (*Echinochloa crus-galli*) es una maleza importante asociada al cultivo de arroz. Su control es una de las principales preocupaciones del sector arrocero del país. El herbicida quinclorac, una auxina sintética, se ha usado eficientemente para controlar esta maleza durante muchos años. Sin embargo, se han reportado la ocurrencia de varios biotipos resistentes a quinclorac en la cuenca de la Laguna Merín (Saldain y Sosa, 2012) y en las zonas centro y norte (Marchesi, 2015). El factor de resistencia (FR) de los biotipos en la zona este estuvo dentro del rango de 38-52, siendo el valor más alto mostrado por el biotipo E7. En la zona centro y norte, se identificaron biotipos con FR entre 10 y >200. Aunque todavía no existe un conocimiento completo del modo y sitio de acción de quinclorac, se sabe que induce la síntesis de novo de la enzima 1-ácido aminociclopropano carboxílico (ACC) sintasa en la raíz, resultando en el incremento de ACC en especies susceptibles (Grossmann, 1998). El exceso de ACC es translocado hacia la parte aérea donde es convertido a etileno y cianuro de hidrógeno (HCN) por la enzima ACC oxidasa. Este proceso se auto-amplifica ya que ACC y HCN inducen la actividad de ACC sintasa en la parte aérea. El mecanismo principal de desintoxicación de HCN en las plantas es la actividad de la enzima β -cianoalanina sintasa (β CAS). Esta enzima, exclusivamente mitocondrial, es dependiente de piridoxal fosfato y cataliza la reacción de formación de β -cianoalanina a partir de HCN y cisteína. El objetivo de este estudio fue comparar la inducción de la biosíntesis de etileno y cianuro por quinclorac y la actividad de la enzima β -CAS en biotipos susceptibles (A33P2) y resistentes (E7). Además, se estudió la contribución del estrés oxidativo en respuesta a quinclorac.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se cultivaron plantas de *Echinochloa crus-galli* en medio hidropónico para la evaluación de etileno. Para las otras determinaciones, se utilizó sustrato de vermiculita y arena. En ambos casos, las plantas se cultivaron hasta el estadio de dos/tres hojas y se añadió quinclorac a los medios de cultivo (concentración final de 10 μ M). Cada dos días después de la aplicación de quinclorac, el material vegetal se recolectó e inmediatamente se congeló en nitrógeno líquido. La acumulación de etileno se cuantificó usando cromatografía de gases. Ensayos espectrofotométricos se utilizaron para la determinación de la acumulación de cianuro, actividad de β -CAS, peroxidación de lípidos (TBARS) y actividad de enzimas antioxidantes.

RESULTADOS

En este trabajo se observó que la producción de etileno en el biotipo sensible A33P2, aumentó a los dos días luego de la aplicación de quinclorac, obteniéndose una producción de 500% con respecto al control. En los días siguientes la producción de etileno comenzó a descender llegando a valores de 300% y 200% con respecto al control, debido a un decaimiento general de la planta (Fig.1). En cambio, en el biotipo E7 se detectó una leve acumulación, siendo los valores de producción de etileno luego de la aplicación de quinclorac, muy cercanos al control.

¹ M. Sc.FAGRO Cátedra de Bioquímica. mandu10@gmail.com

² Ph. D. INIA. Programa Nacional de Investigación en Producción de Arroz. cmarchesi@inia.org.uy

³ M. Sc. INIA. Programa Nacional de Investigación en Producción de Arroz. nsaldain@inia.org.uy

⁴ D.Sc. FAGRO Cátedra de Bioquímica

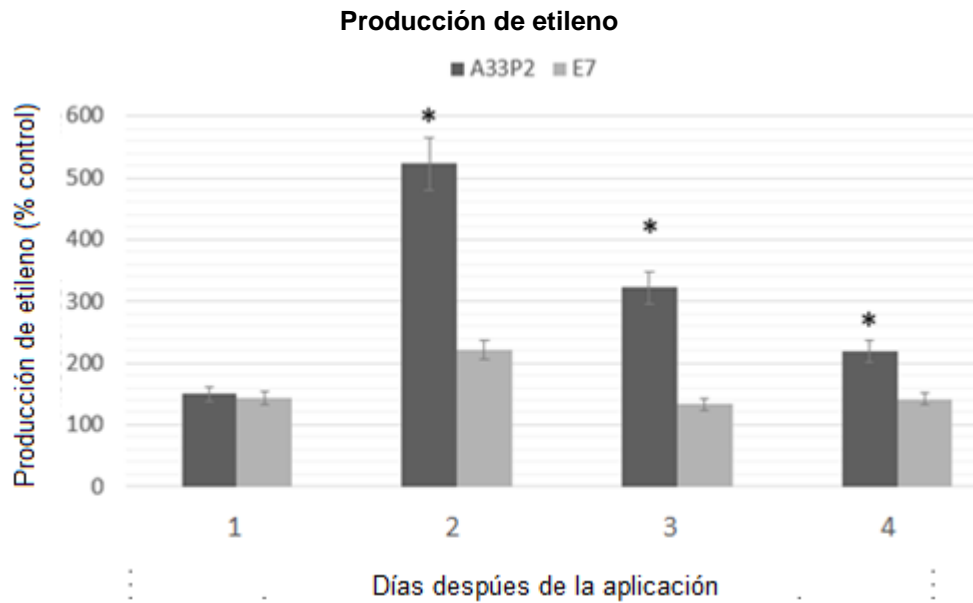


Figura 1. Producción de etileno en planta entera de biotipos A33P2 y E7 luego de la aplicación de quinclorac, concentración final 10µM. Los datos se expresaron como porcentaje con respecto al promedio de los controles. Las barras verticales representan los errores estándar del promedio de las mediciones. Los * indican diferencias significativas (p>0,01). 100% = 0,05 nmol/g Pf (Peso fresco)

En el biotipo A33P2 se detectó un aumento en el contenido de HCN en la parte aérea y radicular a partir del tercer día luego de la aplicación de quinclorac (Fig.2), siendo este contenido aproximadamente el doble del registrado en control sin herbicida; mientras que en el biotipo E7, solo se observó un leve incremento.

53

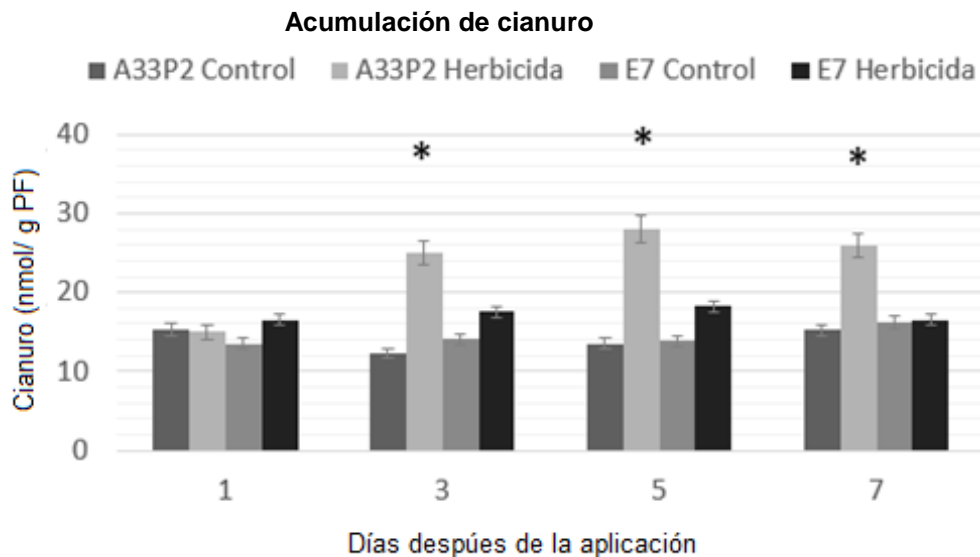


Figura 2. Acumulación de HCN en los biotipos A33P2 y E7 luego de la aplicación de quinclorac en la parte radicular. Las barras verticales representan los errores estándar del promedio de las mediciones. Los * indican diferencias significativas (p>0,01).

La actividad de la enzima β CAS en el biotipo A33P2 se vio incrementada a partir del tercer día luego de la aplicación de quinclorac 10 μ M en el tejido radicular y a partir del quinto día en la parte aérea. En cambio, en el biotipo E7, no se observó estimulación de esta enzima.

La baja producción de etileno y acumulación de cianuro por parte del biotipo E7 luego de la aplicación de quinclorac, provocan que la actividad tipo β CAS se mantenga en valores similares al control sin herbicida. A diferencia de los resultados obtenidos por otros autores (Abdalah *et al.*, 2006; Yasuor *et al.*, 2012), la actividad basal β CAS no fue significativamente diferente en ambos biotipos

Los resultados obtenidos en TBARS y enzimas antioxidantes indican que en el biotipo sensible A33P2, quinclorac indujo estrés oxidativo, mientras que no se observó respuesta significativa en el biotipo E7. El aumento en estos parámetros se observó a partir del quinto día después de la aplicación de quinclorac, siendo posterior a los aumentos de etileno y cianuro. Considerando esto, se puede proponer que el estrés oxidativo provocado por quinclorac sería una respuesta tardía del herbicida, descartando así la posibilidad de que la maquinaria antioxidante estuviera relacionada con la resistencia del biotipo E7 a quinclorac.

CONCLUSIONES

La resistencia observada en el biotipo E7 estaría provocada por una inducción limitada en la síntesis de etileno y HCN. La actividad de la enzima β CAS no estaría relacionada con la resistencia a quinclorac. El estrés oxidativo provocado por quinclorac en biotipos sensibles, es una respuesta tardía desencadenada por la citotoxicidad del cianuro. Una actividad aumentada de las enzimas antioxidantes no estaría relacionada con la resistencia del biotipo E7 a quinclorac.

BIBLIOGRAFÍA

ABDALLAH, I.; FISCHER, A.J.; ELMORE, C.L.; SALTVEIT, M.E.; ZAKI, M. 2006. Mechanism of resistance to quinclorac in smooth crabgrass (*Digitaria ischaemum*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 84(1):38–48.

GROSSMANN, K. 1998. Quinclorac belongs to a new class of highly selective auxin herbicides. *Weed Science*, 46(6):707-716

MARCHESI, C. 2015. Evaluación de susceptibilidad del capín (*Echinochloa spp.*) a distintos herbicidas, En: Presentación resultados experimentales de arroz zafra 2014-2015. Montevideo: INIA. Cap.5, pp. 61-68. (Serie Actividades de Difusión, 751)

SALDAIN, N.; SOSA, B. 2012. Susceptibilidad de los biotipos de capín colectados a los herbicidas usados en arroz en la Zona Este de Uruguay. En: Arroz: resultados experimentales 2011-2012. Montevideo: INIA. Cap.5, pp. 9-18. (Serie Actividades de Difusión, 686)

YASUOR, H.; MILAN, M.; ECKERT, J.W.; FISCHER, A.J. 2012. Quinclorac resistance: a concerted hormonal and enzymatic effort in *Echinochloa phyllopogon*. *Pest Management Science*, 68(1), 108–15.