

ANÁLISIS DE LA PRODUCCIÓN DE ETILENO EN BIOTIPOS DE *PAPAVER RHOEAS* L. RESISTENTES Y SENSIBLES A 2,4-D

Rey-Caballero J.^{1*}, Giné-Bordonaba J.², Edo-Tena E.¹, Torra J.¹

¹*Malherbología y Ecología Vegetal, Dpto HBJ, Agrotecnio, Universitat de Lleida, Avda. Rovira Roure 191, 25198 Lleida, España.*

²*Fisiología y Tecnología de la Postcosecha, Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Parc Científic i Tecnològic Agroalimentari de Lleida, Parc de Gardeny, Edifici Fruitcentre, 25003 Lleida, España.*

* *jordi.rey@hbj.udl.cat*

Resumen: Hasta el momento no se ha realizado ningún estudio en España a fin de indagar en los mecanismo de resistencia de *Papaver rhoeas* al 2,4-D. En otros trabajos se ha demostrado como la producción de etileno está involucrada en la respuesta resistente de ciertas malas hierbas a auxinas sintéticas. En el presente estudio se ha observado que las plantas sensibles de amapola producen más etileno que las resistentes después de la aplicación de 2,4-D. Estos resultados podrían ayudar a comprender de mejor manera como ciertos biotipos son capaces de resistir a este producto.

Palabras clave: Amapola, mecanismo de resistencia y herbicidas hormonales.

Summary: *Analysis of the production of ethylene in 2,4-D resistant and sensitive biotypes of Papaver rhoeas L.* So far there has been none study in Spain to investigate the 2,4-D resistance mechanism of *Papaver rhoeas*. Other studies have shown how ethylene production is involved in the response of certain resistant weeds when they are sprayed with synthetic auxins. In the present study it was observed that sensitive corn poppy plants produce more ethylene than resistant one after 2,4-D application. These findings could help to understanding how certain biotypes are able to resist this product.

Keywords: Corn poppy, resistance mechanism and auxinic herbicides.

INTRODUCCIÓN

En la década de los 50 se introdujo el 2,4-D (ácido 2,4- diclorofenoxi acético) en España para el control de las malas hierbas de hoja ancha en cereal. La ausencia de alternativas químicas y su alta eficacia favorecieron el sobreuso de este herbicida (Cirujeda, 2000). Los primeros casos de *Papaver rhoeas* L. resistente a 2,4-D en España se detectaron en la década de los 90 (Taberner et al., 1992). Los datos más recientes estiman que el 5% de los campos infestados con *P. rhoeas* poseen biotipos resistentes a 2,4-D mientras que el 15% de las zonas infestadas albergan biotipos con resistencia múltiple, a tribenurón-metil (inhibidores de la ALS) y 2,4-D (CPRH 2012, com. pers.).

La relativa baja incidencia de resistencia en los herbicidas auxínicos se ha atribuido a la presencia de alelos "raros" que inducen resistencia, el elevado "fitness penalties" que podría llevar asociado esta resistencia y sobre todo el complejo mecanismo de acción de los herbicidas auxínicos en dicotiledóneas. Hasta el momento no están del todo claro los mecanismos de acción de los herbicidas hormonales (Mithila et al., 2011). Algunos de los trabajos realizados en este ámbito han relacionado la resistencia a ciertos herbicidas hormonales con los niveles de etileno producidos por la planta tras la aplicación de estos herbicidas (Peniuk et al., 1993; Van Eerd et al., 2005). Se ha observado que aquellas plantas resistentes producen niveles de etileno inferiores a los producidos por las sensibles cuando ambas son tratadas con herbicidas auxínicos. Se piensa que la acumulación de etileno, ácido abscísico (ABA) y especies reactivas de oxígeno (ROS) son las principales causas de letalidad en plantas sensibles (Grossmann, 2010).

Hasta el momento, en España no se ha realizado ningún estudio con el fin de analizar la resistencia de *P. rhoeas* a 2,4-D. Por ello, los propósitos de este trabajo son: 1) diseñar un método capaz de detectar el etileno producido en planta viva de amapola y 2) estimar la producción de etileno de biotipos de amapola resistente (R) y sensible (S) a 2,4-D, después de la aplicación de este producto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Se recolectaron las semillas de dos poblaciones de amapola (F-0213 y D-0703) que sobrevivieron a la aplicación de 2,4-D en campos comerciales de cereal localizados en la provincia de Lleida. Junto a estos dos biotipos, también se empleó un estándar sensible (HR-S13). Para la germinación, en primer lugar se esterilizaron las semillas de amapola en una

solución de hipoclorito al 30%. Posteriormente estas semillas se colocaron en placas Petri con 1.4% agar complementado con 0.2% KNO_3 y 0.02% GA_3 . Las placas Petri que albergaban las semillas se colocaron en cámaras de germinación a 20/10°C día/noche y un fotoperiodo de 16/8 h día/noche. Catorce días más tarde las plántulas fueron trasplantadas a pequeños recipientes de 145 ml (Deltalab®) con tapa. Cada uno de estos recipientes contenía una mezcla de turba (40%), arena (30%) y perlita (30%).

Producción de etileno en biotipos R y S

Inicialmente se colocaron dos plántulas en cada uno de los recipientes y una semana antes de la aplicación se redujo a una planta por recipiente. Cuando las plantas alcanzaron la fenología de seis-ocho hojas (5-6 centímetros), estas se trataron con de 2,4-D (Esteron 60, DuPont, 60%) a las siguientes dosis: 600, 300, 150 y 0 g i.a./ha. Un total de seis repeticiones fueron empleadas para cada una de las dosis. Inmediatamente antes de la aplicación el sustrato de cada uno de los recipientes se cubrió con perlita para evitar la deposición del herbicida en el sustrato y así la posible emisión de etileno por parte del mismo. Después de aplicar el 2,4-D, los recipientes se cerraron y se sellaron. Tras 16 horas de incubación y con la ayuda de una jeringuilla, se extrajo una muestra de 1 mL del espacio de cabeza del recipiente. Esta muestra fue inyectada en un cromatógrafo de gases acoplado a un detector FID. La producción de etileno se expresó en $\text{nLC}_2\text{H}_4/(\text{h.g})$. Los datos de este experimento fueron sujetos a un análisis de varianza (ANOVA) y las medias de cada uno de los biotipos empleados se separaron empleando el test de Tukey ($P < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al igual que ocurrió en estudios muy similares a éste (Howatt et al., 2006), la producción de etileno respondió a la dosis de herbicida, y esto ocurrió en todos los biotipos ensayados, pero sobre todo en la población susceptible. No se observaron diferencias significativas en la producción de etileno entre los dos biotipos R y S cuando no se empleó herbicida (0 g i.a./ha). La dosis mínima de 2,4-D empleada (125 g i.a./ha) tampoco causó diferencias en la producción de etileno de biotipos R y S. Los valores medios de etileno a esta dosis fueron de $1.8 \pm 0.4 \text{ nLC}_2\text{H}_4/(\text{g.h})$ en el biotipo HR-S13 y de 0.8 ± 0.1 y $1.8 \pm 0.3 \text{ nLC}_2\text{H}_4/(\text{g.h})$ en los biotipos F-0213 y D-0703, respectivamente. Por el contrario, cuando las plantas se trataron a 300 g i.a./ha (la mitad de la dosis recomendada en campo), el biotipo S produjo el doble de etileno ($6.6 \pm 1.3 \text{ nLC}_2\text{H}_4/(\text{g.h})$) que las plantas R (2.8 ± 0.2 y $2.9 \pm 0.6 \text{ nLC}_2\text{H}_4/(\text{g.h})$). Este mismo efecto fue observado cuando el 2,4-D se aplicó a la dosis recomendada en campo. F-0213 y D-0703 produjeron 1.7 ± 0.4 y $3.7 \pm 0.9 \text{ nLC}_2\text{H}_4/(\text{g.h})$ mientras que la población susceptible produjo $10.3 \pm 2.7 \text{ nLC}_2\text{H}_4/(\text{g.h})$ (Figura

1). Las plantas de *Centaurea solstitialis* L. sensibles a picloram también produjeron más etileno que las resistentes (Valenzuela-Valenzuela et al., 2001), y el mismo fenómeno se observó en *Digitaria ischaemum* L. tras aplicar quinclorac (Abdallah et al., 2006). Por ello llegar a comprender que está pasando en la ruta de síntesis del etileno (ACC sintasa) de aquellas plantas que son resistentes podría acercarnos a conocer algo más la resistencia de *P. rhoeas* al 2,4-D.

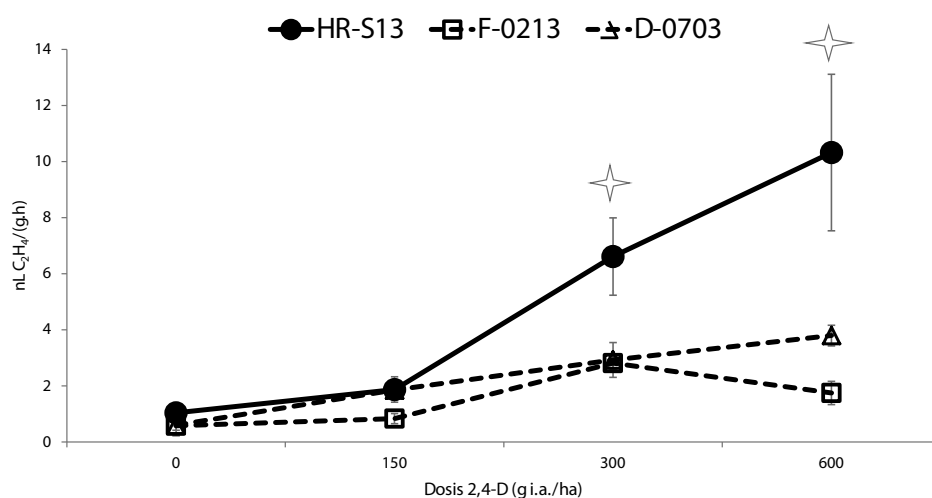


Figura 1. Producción de etileno (nL C₂H₄/(g.h)) de los biotipos de *P. rhoeas* HR-S13, F-0213 y D-0703 cuando fueron tratados con diferentes dosis de 2,4-D. * indican diferencias significativas entre el biotipo sensible y los resistentes (P < 0.05).

CONCLUSIONES

Se ha observado una menor producción de etileno (la mitad) en plantas de biotipos resistentes a 2,4-D que en plantas del biotipo sensible. Los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que el metabolismo del etileno juega un papel clave en la susceptibilidad de *P. rhoeas* a tratamientos con herbicidas hormonales.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio se ha realizado dentro del programa de becas pre-doctorales AGAUR (Generalitat de Catalunya). Además, agradezco la ayuda prestada por parte de Laia Mateu en la propagación y preparación del material vegetal empleado en estos experimentos, así como a Anabel Càmara por enseñarme a utilizar los equipos empleados para valorar los niveles de etileno.

BIBLIOGRAFÍA

- ABDALLAH I, FISCHER AJ, ELMORE CL, SALTVEIT ME & ZAKI M (2006) Mechanism of resistance to quinclorac in smooth crabgrass (*Digitaria ischaemum*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 84, 38-48.
- CIRUJEDA A (2000) Integrated management of herbicide resistant *Papaver rhoeas* L. populations. Doctoral Thesis Proposed to obtain the degree of European Dr. Universitat de Lleida. Lleida, España.
- GROSSMANN K (2010) Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action. *Pest Management Science* 66, 113-120.
- HOWATT KA, WESTRA P & NISSEN SJ (2006) Ethylene effect on kochia (*Kochia scoparia*) and emission following dicamba application. *Weed Science* 54, 31-37.
- MITHILA J, HALL JC, JOHNSON WG, KELLEY KB & RIECHERS DE (2011) Evolution of resistance to auxinic herbicides: Historical perspectives, mechanisms of resistance, and implications for broadleaf weed management in agronomic crops. *Weed Science* 59, 445-457.
- PENIUK MG, ROMANO ML & HALL JC (1993) Physiological investigations into the resistance of a wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) biotype to auxinic herbicides. *Weed Research* 33, 431-440.
- TABERNER A, ESTRUCH F & SANMARTI X (1992) Balance de 50 años de control de malas hierbas. Punto de vista del agricultor/aplicador. In: Proceedings of the 3rd Spanish Weed Science Congress. Spanish Weed Science Society. pp. 43-48. Lleida, Spain.
- VALENZUELA-VALENZUELA JM, LOWNDS NK & STERLING TM (2001) Clopyralid uptake, translocation, metabolism, and ethylene induction in Picloram-resistant yellow starthistle (*Centaurea solstitialis* L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 71, 11-19.
- VAN EERD LL, STEPHENSON GR, KWIATKOWSKI J, GROSSMANN K & HALL JC (2005) Physiological and biochemical characterization of quinclorac resistance in a false cleavers (*Galium spurium* L.) biotype. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 1144-1151.