

### 3 C.51 - DOSIS-RESPUESTA DE CUATRO LEGUMINOSAS SILVESTRES A GLIFOSATO

J.A. Domínguez<sup>1</sup>, B. Espinosa<sup>1</sup>, J.L. Medina<sup>1</sup>, H.E. Cruz<sup>2</sup>, F. González<sup>2</sup> y R. De Prado<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Dpto. de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Edo. de México, México. CP 56250. E-mail: josev@correo.chapingo.mx  
<sup>2</sup>Dpto. de Química Agrícola y Edafología, Universidad de Córdoba, Córdoba, España.

**Resumen.** Se realizaron ensayos de dosis-respuesta a glifosato *in vitro* e invernadero, en las leguminosas *Crotalaria pumila*, *Medicago denticulata*, *Melilotus albus* y *M. indicus*. Concentraciones de glifosato de 0, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 y 640 ppm, se usaron para los ensayos *in vitro*, aplicadas sobre 10 semillas escarificadas y sembradas en placas petri con papel filtro, usando 5 ml de solución y midiendo la longitud de la parte aérea de las plántulas, diez días después del tratamiento. Cada tratamiento se replicó cinco veces. Para los ensayos en invernadero se usaron dosis de 0, 180, 360, 540, 720 y 900 g de glifosato ha<sup>-1</sup>, aplicadas sobre plántulas de cuatro trifolios, registrando el peso fresco por planta 21 días después de la aplicación. Los ensayos de dosis-respuesta *in vitro* indicaron que *M. albus* fue la especie más tolerante, seguida por *M. indicus*, *Medicago denticulata* y *Crotalaria pumila*; en tanto que en invernadero, *M. indicus* mostró la mayor tolerancia, seguida por *M. denticulata*, *M. albus* y *C. pumila*. Esta investigación muestra que la tolerancia a glifosato está presente en especies de leguminosas silvestres.

**Palabras clave:** Leguminosas, coberturas vivas, tolerancia, glifosato.

#### INTRODUCCIÓN

El control químico de malezas en leguminosas de cobertura, exige que los herbicidas sean selectivos, de baja residualidad y de bajo costo, aspectos difíciles de reunir en un solo producto. Se han hecho esfuerzos por lograr la selectividad de herbicidas como el glifosato, el cual reúne los requisitos de baja residualidad y bajo costo, pero adolece de selectividad en leguminosas comunes (CRUZ *et al.*, 2006), aunque existen indicios de niveles satisfactorios de tolerancia natural en algunas especies (DOMÍNGUEZ *et al.*, 2007; CRUZ *et al.*, 2008).

El glifosato es el herbicida que mejor reúne los requisitos de bajo costo, amplio espectro y mejor perfil ambiental (DUKE y POWLES, 2008), por lo que encontrar niveles adecuados de tolerancia natural en leguminosas silvestres con propósitos de cultivos de cobertura, permitiría eliminar la competencia de éstas con malezas, principalmente durante la fase de establecimiento.

Buscando especies con fines de cultivos de cobertura, estudiar las curvas de dosis-respuesta a glifosato, especialmente en leguminosas de semilla pequeña, puede conducir al desarrollo de variedades tolerantes (Cruz *et al.*, 2006), lo que sin duda facilitaría el control de malezas en este tipo de cultivos, siendo este el objetivo del presente estudio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ensayos de dosis-respuesta a glifosato *in vitro*

Lotes de 10 semillas escarificadas y desinfectadas de cada leguminosa, se sembraron sobre papel filtro estéril en cajas petri, agregando 5 ml de una solución de glifosato en diferentes concentraciones: 0, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 y 640 ppm, incubándolas a temperatura del laboratorio durante diez días, registrando la longitud de la parte aérea de las plántulas, misma que se transformó a porcentaje de reducción de la longitud con respecto al testigo sin herbicida. Cada tratamiento se replicó cinco veces.

### Ensayos de dosis-respuesta a glifosato en invernadero

Semillas pregerminadas de las leguminosas se sembraron en macetas con 500 g de la mezcla 2:1 de suelo franco arenoso:peatmoss. Se hicieron crecer 7 plantas por maceta, hasta el estado de cuatro hojas trifoliadas. Cada tratamiento se replicó cinco veces. Se aplicaron 0, 180, 360, 540, 720 y 900 g de glifosato ha<sup>-1</sup>, con una aspersora manual con boquilla Tee Jet 8002, a 40 psi y un volumen de aplicación de 206 L ha<sup>-1</sup>. A los 21 días después de la aplicación (DDA), se determinó el peso fresco de las plantas, transformándolo a porcentaje con respecto al testigo.

Ambos experimentos se realizaron con un diseño experimental completamente al azar. Los datos se sometieron a análisis de regresión no lineal mediante el programa SigmaPlot, para estimar la ED<sub>50</sub> en cada leguminosa, de acuerdo con la metodología propuesta por STREIBIG et al. (1993) y CRUZ et al. (2006).

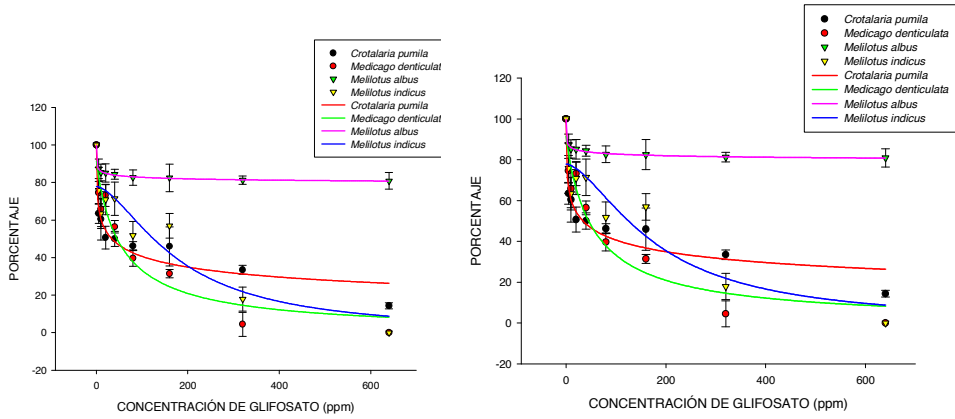
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Ensayos de dosis-respuesta a glifosato *in vitro*

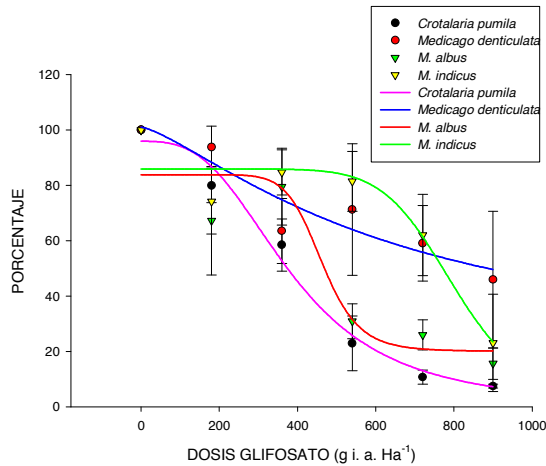
La dosis media efectiva (EC<sub>50</sub> o ED<sub>50</sub>) para cada una de las leguminosas evaluadas *in vitro* fue de 35.11, 55.13, 2.04 y 179.19 ppm, para *Crotalaria pumila*, *Medicago denticulata*, *Melilotus albus* y *M. indicus*, respectivamente, mostrando una gran variabilidad en la sensibilidad de las especies a la acción del herbicida. De acuerdo con esto, *M. albus* es la especie más tolerante, pues con las dosis probadas no fue posible estimar correctamente su ED<sub>50</sub>, sugiriendo que es superior a 600 ppm (R<sup>2</sup>=0.63). *M. indicus* también mostró alto nivel de tolerancia, en tanto que *C. pumila* y *M. denticulata*, tuvieron una respuesta similar, pero más baja que las especies de *Melilotus* (figura 1). De acuerdo con esto, *M. indicus* es 5.1 veces más tolerante que *C. pumila*, mostrando con esto que hay una respuesta diferencial de las especies al glifosato *in vitro*. Otras investigaciones de dosis-respuesta a glifosato se han hecho con plántulas en diferentes estados de crecimiento (CRUZ et al., 2006; DOMÍNGUEZ et al., 2007; CRUZ et al., 2008).

### Ensayos de dosis-respuesta en invernadero

*Crotalaria pumila* mostró la menor tolerancia al glifosato (ED<sub>50</sub> = 385.11 g i. a. ha<sup>-1</sup>), seguida por *Medicago denticulata* (657.53 g i. a. ha<sup>-1</sup>). La especie que mostró el más alto nivel de tolerancia fue *Melilotus indicus* (ED<sub>50</sub> = 802.05 g i. a. ha<sup>-1</sup>; R<sup>2</sup>= 0.75), y *M. albus* tuvo una ED<sub>50</sub> de 463.06 g i. a. ha<sup>-1</sup> y R<sup>2</sup>=0.81. Cruz et al. (2006) y Cruz et al. (2008), encontraron valores de ED<sub>50</sub> de 541, 315.05 y 40.95 g i. a. ha<sup>-1</sup>, para *Clitoria ternatea*, *Canavalia ensiformis* y *Amaranthus hybridus*, respectivamente. Asimismo, DOMÍNGUEZ et al. (2007), encontraron una ED<sub>50</sub> de 478 g i. a. ha<sup>-1</sup>, para *Phaseolus coccineus*. Muchas especies anuales de maleza pueden ser controladas con dosis de 360 g de glifosato ha<sup>-1</sup>, lo que abre la posibilidad de efectuar controles satisfactorios de malezas anuales en algunas de las leguminosas estudiadas (CRUZ et al., 2008).



**Figura 1.** Porcentajes de reducción de la longitud de parte aérea de las leguminosas evaluadas por glifosato *in vitro*. Barras verticales representan el error estándar de la media ( $\pm$ ).



**Figura 2.** Porcentaje de reducción del peso fresco por glifosato de las leguminosas evaluadas en invernadero. Barras verticales representan el error estándar de la media ( $\pm$ ).

## CONCLUSIÓN

La presente investigación mostró que las especies de leguminosas estudiadas presentan grado variable de tolerancia a glifosato, tanto *in vitro* como en invernadero, lo que abre la posibilidad de seleccionar biotipos más tolerantes de éstas u otras leguminosas.

## BIBLIOGRAFÍA

- CRUZ HIPÓLITO, H. E.; RUIZ SANTAELLA, J. P.; DOMÍNGUEZ VALENZUELA, J. A., and DE PRADO, R. (2006). Mechanism of tolerance to glyphosate in some legume species and in a biotype of *Amaranthus hybridus*. In: *Abstracts of the 46<sup>th</sup> Meeting of the Weed Science Society of America*. New York, N. Y. USA. February 13-16. 46 p.
- CRUZ-HIPOLITO, H.; DOMÍNGUEZ-VALENZUELA, J. A.; MEDINA-PITALÚA, J. L.; VIDAL, R.; OSUNA, M. D.; RUÍZ-SANTAELLA, J. P. e DE PRADO R. (2008). Mecanismos de Tolerancia a Glifosato en *Canavalia ensiformis* y *Amaranthus hybridus*. En: *Memoria del XXVI Congreso Brasileiro da Ciencia das Plantas Daninhas*. 4 a 8 de maio de 2008. Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.
- DOMÍNGUEZ VALENZUELA J. A., PINEDA FRANCISCO, L. A., MEDINA PITALÚA, J. L., CRUZ HIPÓLITO, H. E. e DE PRADO, R. (2007). Tolerancia del ayocote (*Phaseolus coccineus* L.) a glifosato. En: *Memoria del XXVIII Congreso Nacional de la Ciencia de la Maleza*, ASOMECEMA, Mazatlán, Sin., México.
- DUKE, S. O. and POWLES, S. B. 2008. Glyphosate: once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science* 64:319-325.
- STREIBIG J. C., RUDEMO, M., and JENSEN, J. E.( 1993). Dose-response curves and statistical models. In: Streibig, J. C. and Kudsk, P. *Herbicide Bioassays*. CRC Press. Pp 29-34.

Summary. Dose-response bioassays of four wild legumes to glyphosate. *In vitro* and in greenhouse conditions, glyphosate dose-response bioassays were performed on the legumes *Crotalaria pumila*, *Medicago denticulata*, *Melilotus albus*, and *Melilotus indicus*. Ten scarified seeds of each of the four legumes were placed in petri dishes using glyphosate concentrations of 0, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, and 640 ppm, five replications of each treatment were established. Seedling shoot length was measured ten days after treatment (DAT), transforming it to percentage of shoot length with respect to the control. Additionally, under greenhouse conditions, seven seedlings of the four legumes were grown in pots with 500 g of a 2:1 soil-peatmoss substrate, spraying them at the four-trifoliate stage with 0, 180, 360, 540, 720, and 900 g a. i. of glyphosate ha<sup>-1</sup>, replicating five times each treatment. Twenty one DAT, seedling fresh weight was measured and transformed to percentage of fresh weight with respect to the control. *In vitro* and dose-response bioassays showed that *M. albus* was the most tolerant species to glyphosate, followed by *M. Indicus*, *Medicago denticulata*, and *Crotalaria pumila*; while in greenhouse, the most tolerant species was *M.indicus* followed by *M. denticulata*, *M. albus*, and *C. pumila*. This research showed that some tolerance to glyphosate is present in wild legume species.

Key words: Legumes cover crops, glyphosate, tolerance.