



21 y 22 DE AGOSTO de 2024
EEA INTA MANFREDI



Uso de índices de vegetación multiespectrales para el fenotipado de alto caudal en híbridos de girasol cultivado a campo

Peirone, L.¹⁻², Mazzalay, A.¹, Heinz, N.¹, Vega, C.R.¹

¹ EEA INTA Manfredi, Córdoba, ² IAPCByA UNVM, Villa María, Córdoba.

Trabajo presentado al
20° Congreso de Agricultura de Precisión
20-21 de agosto de 2024 Manfredi, Córdoba, Argentina

Resumen. *El girasol es el quinto cultivo en producción de semillas oleaginosas a nivel mundial, y Argentina tiene un rol destacado en su producción. El mejoramiento de girasol es crucial para la seguridad alimentaria. Entre los caracteres fenotípicos deseables, la uniformidad espacial y el establecimiento temprano del cultivo son esenciales. Tradicionalmente, estos caracteres se evalúan visualmente, metodología que puede ser muy subjetiva. Los índices de vegetación multiespectrales (IVs) capturados mediante vehículos aéreos no tripulados (VANTs) pueden contribuir para un fenotipado más preciso y rápido. En este trabajo se puso a prueba la fortaleza de distintos IVs para describir variables relacionadas con la cobertura, uniformidad espacial, estado general y rendimiento del cultivo de girasol. Se evaluaron 84 híbridos de girasol con resistencia a herbicidas imidazolinonas en condiciones de secano durante la campaña 2023/2024. Todos IVs y el porcentaje de cobertura (ArPrct), mostraron correlaciones significativas con la uniformidad espacial y, en menor medida, con el rendimiento, destacando su superioridad sobre las evaluaciones visuales tradicionales. NDVI, NGRDI, PSRI y ArPrct resultaron ser índices robustos, sugiriendo que su uso puede mejorar la precisión y velocidad del fenotipado en girasol. Estos hallazgos permitirían optimizar la selección genotípica y el mejoramiento de girasol, especialmente en escenarios con alta variabilidad ambiental. Estudios futuros deberían explorar la dinámica temporal de los IVs y su relación con la productividad en cultivos de girasol.*

Palabras clave. Uniformidad espacial, VANTs, NDVI, Aspecto



21 y 22 DE AGOSTO de 2024
EEA INTA MANFREDI



Introducción

El girasol, segundo cultivo híbrido más importante y quinto en producción de semillas oleaginosas alcanzó una producción mundial de 55.143 mil toneladas. Como cuarto productor, Argentina (USDA, 2024) tiene un histórico rol relevante en la producción de girasol. El mejoramiento y la selección genotípica de esta especie son aspectos fundamentales para el logro de materiales adaptados a nuevos escenarios de cambio climático y que contribuyan a la seguridad alimentaria a través de su rendimiento y calidad.

Entre diversos caracteres fenotípicos deseables, el establecimiento temprano y la uniformidad del cultivo son especialmente objetos de selección, además del rendimiento en semilla y aceite en girasol. Aunque la uniformidad espacial del cultivo es esencial para optimizar la captación y uso eficiente de recursos como el agua y la radiación solar (Araus et al., 2008), esta variable se evalúa tradicionalmente mediante escalas visuales. La valoración visual incluye aspectos relacionados con la uniformidad en la emergencia, la cobertura, el vigor híbrido, la presencia de plantas fuera de tipo, y la salud general del cultivo (*i.e.* grado de verdor y senescencia foliar). El fenotipado manual de estas variables necesita, asimismo, la experiencia del mejorador y está limitado por la capacidad operativa y su costo en términos de tiempo y oportunidad durante el ciclo del cultivo. Asimismo, una importante limitante en la eficiencia del fenotipado es la alta heterogeneidad de los ambientes a campo, particularmente cuando la selección se realiza en secano. La variación ambiental, aún en un mismo experimento a campo, puede enmascarar la correcta evaluación de la variabilidad genotípica (Rebetzke et al., 2012).

En este contexto, índices de vegetación multiespectrales (IVs) relevados mediante vehículos aéreos no tripulados (VANTs) pueden contribuir para un fenotipado más robusto que permita el equilibrio entre precisión, velocidad y rentabilidad (Gano et al., 2024). Los IVs capturan la reflectancia de los canopeos y pueden describir cuantitativamente múltiples variables asociadas con la captura y uso de recursos, y con la salud de cultivo en respuesta a factores genotípicos y ambientales (Al-Tamimi et al., 2022). En particular, su uso puede contribuir al desafío de superar la inherente variabilidad espacial del fenotipado a campo (Araus et al., 2015).

En este trabajo se puso a prueba la fortaleza de distintos IVs para describir variables relacionadas con la cobertura, uniformidad espacial, estado general y rendimiento del cultivo de girasol.

Materiales y métodos

Se evaluaron 84 híbridos de girasol con resistencia a herbicidas imidazolinonas que incluyeron genotipos producidos a partir de líneas élite del programa de mejoramiento de la EEA INTA Manfredi, y testigos comerciales. El ensayo se llevó a cabo en Manfredi (31°49'S, 63°46'O), Córdoba, Argentina, durante la campaña 2023/2024, bajo condiciones de secano. El suelo fue un Haplustol éntico, serie Oncativo, con una capacidad de almacenamiento de agua útil de 313 mm (2 m). El experimento se sembró el 01/12/2024, siendo la unidad experimental una parcela de dos surcos de 5,10 metros de largo, distanciada a 0,70 metros. El diseño fue de bloques completos aleatorizados con tres repeticiones. El control de malezas se realizó mediante aplicaciones en pre-emergencia y en post emergencia (100 g de clearsol ha⁻¹).

A los 69 días desde la siembra (DDS), se evaluó en cada unidad experimental el parámetro denominado Aspecto (ASP PROM), mediante una escala visual (0-5, donde 0 =muy mala condición y 5 =excelente) que valora la unidad experimental en forma completa en términos de la uniformidad espacial, genética y sanidad (Figura 1).



Figura 1. Evaluación del parámetro Aspecto en cultivos de girasol a campo mediante escala visual. El parámetro valora variables como uniformidad espacial y salud general del cultivo.

La adquisición de datos multiespectrales se realizó con un vehículo aéreo no tripulado (VANT) Matrice 300 RTK (DJI Technology Co., Shenzhen, China), equipado con una cámara multiespectral MicaSense, la cual posee 5 bandas (roja, azul, verde, borde rojo e infrarroja). Se llevaron a cabo dos vuelos, a los 53 y a los 69 DDS. Los vuelos se realizaron a una altitud de 30 m, con una superposición lateral de 80% y frontal de 80%. Antes del vuelo, se realizó una calibración de reflectancia utilizando el panel con valores de reflectancia proporcionados por Micasense. Las imágenes fueron procesadas para la generación de los ortomosaicos (Figura 2). Para la extracción de los resultados de cada ortomosaico a nivel de unidad experimental, se utilizó el paquete R FIELDimager (Matias et al., 2020) Luego de la extracción de las bandas por unidad experimental se calcularon nueve índices de vegetación (IVs, Tabla 1). Se estimó, además, el porcentaje de cobertura de canopeo (ArPrcnt), estimador significativo del crecimiento de planta, a través del complemento FIELDimager (Matias et al., 2020).

Tabla 1. Fórmulas de cálculo matemático de índices de vegetación multiespectrales a partir de lecturas de reflectancia de canopeo

en el rango de longitudes de onda de bandas rojo (R), azul (B), verde (G), borde rojo (RE) e infrarrojo cercano (NIR)

Nombre del índice de vegetación	Abreviatura	Fórmula
Normalized Difference NIR/Red Normalized Difference Vegetation Index	NDVI	$(\text{NIR}-\text{R})/(\text{NIR}+\text{R})$
Green Normalized Difference Vegetation Index	GNDVI	$(\text{NIR}-\text{G})/(\text{NIR}+\text{G})$
Normalized Difference 790/720 Normalized difference red edge index	NDRE	$(\text{NIR}-\text{RE})/(\text{NIR}+\text{RE})$
Normalized green red difference index	NGRDI	$(\text{G}-\text{R})/(\text{G}+\text{R})$
Difference Vegetation Index	DVI	$(\text{NIR}-\text{RE})$
Plant senescence reflectance index	PSRI	$(\text{R}-\text{G})/(\text{RE})$
Triangular vegetation index	TVI	$0.5 \cdot (120 \cdot (\text{NIR}-\text{G}) - 200 \cdot (\text{R}-\text{G}))$ $2.5 \cdot (\text{NIR}-\text{R}) / (\text{NIR} + 6 \cdot \text{R} - 7.5 \cdot \text{B} + 1)$
Enhanced vegetation index	EVI	
Red edge chlorophyll index	RECI	$(\text{NIR}-\text{RE})-1$

Luego de la madurez fisiológica del cultivo, los capítulos de plantas se trillaron y procesaron para valorar parámetros de rendimiento y calidad (Tabla 2). La humedad del grano se determinó con un humidímetro Dickey-John Corporation GAC 500 XT y se ajustó al 14% para calcular el Rendimiento por hectárea. El contenido de aceite en base seca se determinó por bulk de granos secos con un porcentaje de humedad igual o inferior al 5% mediante espectrómetro de resonancia magnética nuclear (NMR) SLK-100 de Spinlock SRL, calibrado según especificaciones de la American Oil Chemical Society. El contenido de aceite permitió estimar el Rendimiento ajustado por aceite por hectárea, el cual considera la bonificación otorgada al momento de comercialización en aquellos que superan el 42% de aceite.

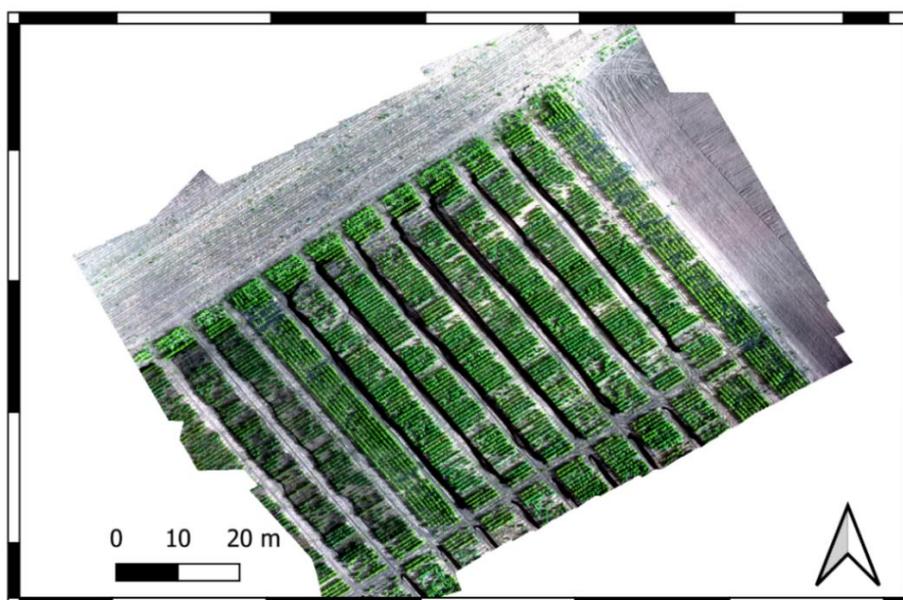


Figura 2. Ortomosaico multiespectral a los 69 días desde la siembra. Ensayo de híbridos de girasol con resistencia a herbicidas

Tabla 2. Parámetros y abreviaturas relevados en 84 híbridos de girasol cultivados en seco durante 2023-2024

Nombre del parámetro	Abreviatura
Aspecto promedio	ASP PROM
Densidad de planta por hectárea (plantas/ha)	DENSIDAD
Contenido de aceite (%)	ACEITE
Rendimiento de grano por hectárea (kg/ha)	RENSH
Rendimiento Ajustado por aceite por hectárea (kg/ha)	RENSA

Análisis estadístico

Se evaluó la correlación entre parámetros relevados a campo (Tabla 2), distintos IVs (Tabla 1) y ArPrnt. La capacidad predictiva de los IVs se valoró mediante regresiones y análisis de componentes principales (ACP).

Resultados y discusión

El alto número de unidades experimentales analizado permitió amplios rangos de variación de todas las variables evaluadas. Así, por ejemplo, la cobertura varió en un rango entre 60 y 98% en un momento inmediatamente anterior a la fecha media de floración del girasol (a los 69 DDS).

A los 53 DDS, todos los IVs y el porcentaje de cobertura (ArPrnt) mostraron correlaciones significativas con el índice ASP PROM ($0.52 > r > 0.56$, $<0,0001$), variable que fue determinada con posterioridad a los 69 DDS. Con menor fortaleza, pero significativamente, los IVs también se asociaron con el rendimiento de grano ($r = 0.3$ a 0.38 , $<0,0001$; Tabla 3). El índice PSRI mostró correlación negativa y significativa con ASP PROM y rendimiento, respectivamente ($r = -0.54$, $<0,0001$; -0.29 , $<0,0001$; Figura 3). Los índices que exhibieron una mayor correlación con ASP PROM fueron el NDVI, GNDVI y NDRE.

A los 69 DDS (Tabla 4), los IVs mostraron correlaciones más fuertes y significativas con ASP PROM ($0.58 > r > 0.69$; $p < 0.0001$) y RENSH ($0.36 > r > 0.51$; < 0.0001). En particular, ASP PROM mostró fuerte correlación con NDVI ($r = 0.69$), PRSI ($r = -0.67$) y ArPrnt ($r = 0.67$). En términos promedios, el grupo de genotipos exhibió rangos de ASP PROM entre 0.83 y 4.17, y de NDVI entre 0.25 a 0.63.

Con variaciones particulares en cada IV, todos los índices utilizados describieron aspectos relacionados con el tamaño del área foliar, el porcentaje de cobertura y el contenido de clorofila del canopeo. Se conoce que estas variables son críticas para la interceptación y uso de la radiación solar, la tasa de crecimiento del cultivo y la productividad final (Trapani et al., 2004). Estas relaciones subyacen a las fuertes asociaciones entre los IVs y los criterios utilizados en las observaciones visuales determinantes de ASP PROM.

Es de destacar también que los IVs fueron más robustos que las valoraciones visuales para describir la productividad medida como rendimiento en grano (Tablas 3 y 4).

Tabla 3. Coeficientes de correlación a los 53 días después de siembra entre los índices multiespectrales y los parámetros relevados

a campo. Color verde indican coeficientes significativos ($p < 0.05$)

	NDVI	GNDVI	NGRDI	DVI	NDRE	PSRI	TVI	EVI	RECI	ArPrct	ASP PROM	RENSH	ACEITE	RENSA
ASP PROM	0,56	0,56	0,52	0,53	0,55	-0,54	0,54	0,54	0,53	0,53				
RENSH	0,34	0,36	0,3	0,34	0,37	-0,29	3,10E-01	0,31	0,34	0,38	0,14			
ACEITE	-0,05	-0,03	-0,08	0,02	-0,01	0,08	-0,02	-1,90E-03	0,02	0,09	-0,04	0,2		
RENSA	0,26	0,28	0,22	0,27	0,3	-0,22	0,24	0,24	0,27	0,35	0,09	0,95	0,4	
DENSIDAD	0,25	0,25	0,23	0,27	0,25	-0,23	0,27	0,27	0,27	0,23	0,17	0,25	0,32	0,29

Tabla 4. Coeficientes de correlación a los 69 días después de siembra entre los índices multiespectrales y los parámetros relevados a campo. Color verde indican coeficientes significativos ($p < 0.05$)

	NDVI	GNDVI	NGRDI	DVI	NDRE	PSRI	TVI	EVI	RECI	ArPrct	ASP PROM	RENSH	ACEITE	RENSA
ASP PROM	0,69	0,64	0,67	0,58	0,6	-0,67	0,64	0,63	0,58	0,67				
RENSH	0,41	0,47	0,36	0,51	0,45	-0,3	4,70E-01	0,46	0,51	0,19	0,14			
ACEITE	-0,09	-0,02	-0,16	0,01	-0,03	0,16	-0,04	-0,03	0,01	-0,11	-0,04	0,2		
RENSA	0,26	0,32	0,21	0,37	0,31	-0,16	0,33	0,33	0,37	0,09	0,06	0,91	0,39	
DENSIDAD	0,23	0,25	0,21	0,27	0,21	-0,18	0,28	0,29	0,27	0,15	0,17	0,25	0,32	0,26

Con el objetivo de integrar gráficamente las relaciones entre las variables analizadas y su capacidad para discriminar grupos de híbridos, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) a los 53 y 69 días con las variables más representativas de la investigación (Figura 3). Los dos componentes principales explicaron más del 80% de la variabilidad total de los datos en ambos momentos.

Los índices NDVI y NGRDI estuvieron fuertemente correlacionadas con ASP PROM y, en menor medida, con variables de importancia productiva como RENSH, ACEITE, y RENSH (notar el ángulo menor a 90° entre vectores). Fueron destacables las asociaciones negativas entre ASP PROM y PSRI medidos a los 69 días.

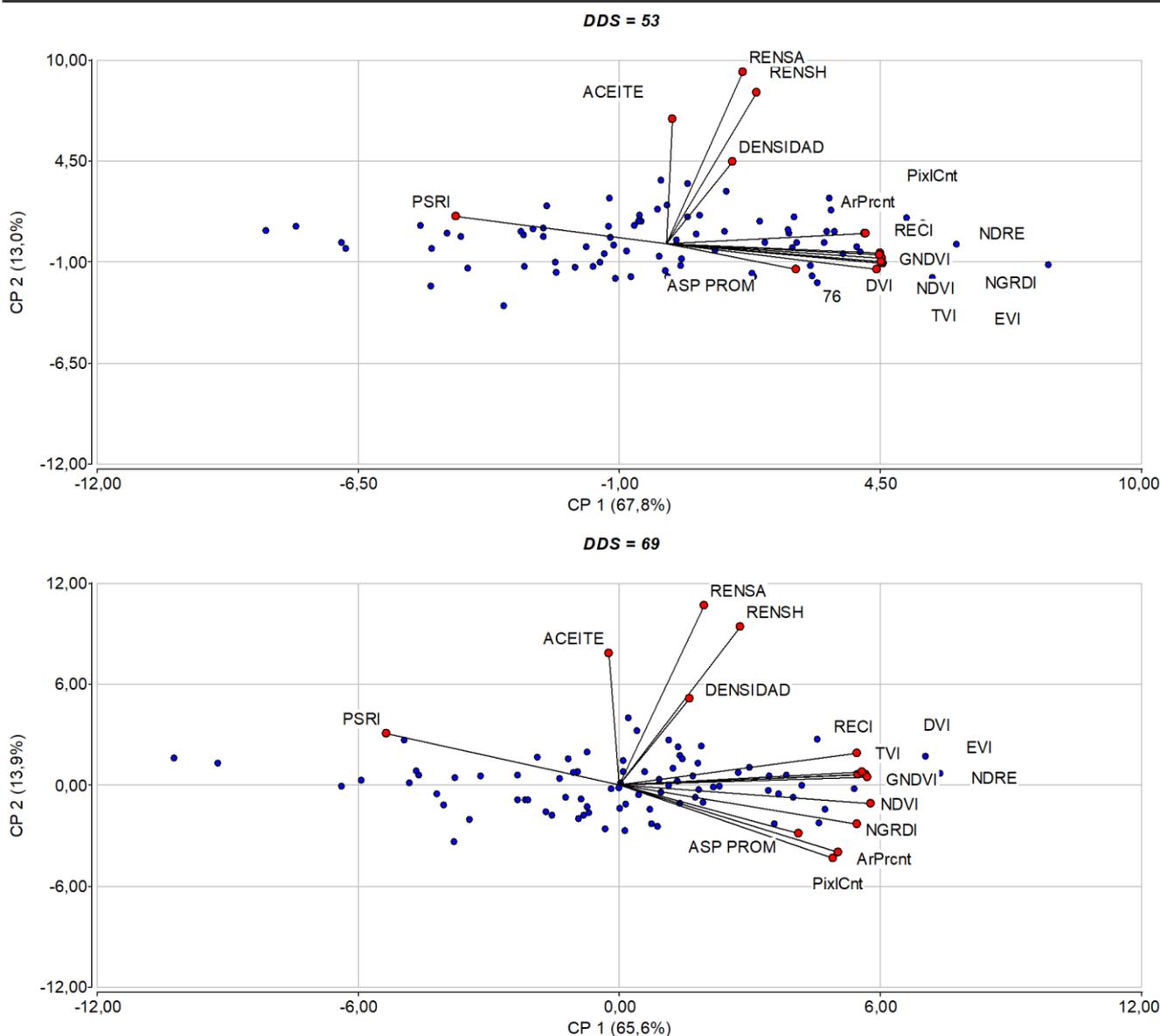


Figura 3. Análisis de componentes principales a los 53 (panel superior) y 69 (panel inferior) días después de siembra. Vectores: índices multiespectrales y parámetros relevados a campo. Casos: 84 híbridos de girasol evaluados a campo.

Los resultados de este trabajo, basados en una gran cantidad de genotipos que generaron amplios rangos de variables, destacan la contribución de los IVs relevados mediante VANT para el fenotipado de alto caudal en apoyo al mejoramiento genético vegetal. La fuerte asociación entre IVs y evaluaciones visuales que integran diversos aspectos de la salud del cultivo de girasol permitiría incrementar la velocidad y calidad de las evaluaciones a campo. Estudios complementarios para valorar la asociación entre los índices NDVI, GNDVI, NGRDI y PSRI y la acumulación de biomasa en floración o madurez fisiológica podrían mejorar la estimación del rendimiento en grano. Así como lo encontrado en este estudio, otros autores han destacado que mejores correlaciones entre IVs y rendimiento son alcanzadas cuando estos son medidos alrededor de floración (Amankulova et al., 2023). Asimismo, y como fuera demostrado en cultivos de soja (Ogando et al., 2022), el uso de dinámicas temporales de los IVs en



21 y 22 DE AGOSTO de 2024
EEA INTA MANFREDI



vez de mediciones puntuales podría contribuir a valorar el impacto de la duración del área foliar verde sobre el rendimiento en aceite.

Conclusiones

El fenotipado de cultivos es uno de los mayores desafíos en la mejora genética no solo por su costo operativo sino por la ubicua variabilidad espacial a campo. En este estudio, se evaluó la fortaleza de la asociación entre los índices de vegetación NDVI, NGRDI y PSRI y la variable "Aspecto", un proxy en escala visual de la uniformidad de plantas en términos de sincronía en la emergencia, el grado de cobertura, de crecimiento y salud en general. Las fuertes relaciones encontradas en momentos cercanos a la floración del cultivo explicaron también la variable rendimiento, aunque en menor medida. A futuro, es necesario indagar si dicha fortaleza de los IVs permite también discriminar genotipos donde son esperables menores rangos de variación, particularmente en aquellos ya adaptados y prontos a la liberación comercial.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado mediante los siguientes proyectos: 2023-PE-L01-I012 Intensificación Agrícola Sustentable, 2019-REC-E1-I026-001 Red de Ecofisiología y PE. I111 Mejoramiento genético girasol, soja, colza y lino.



21 y 22 DE AGOSTO de 2024
EEA INTA MANFREDI



Referencias

- Al-Tamimi, N., Langan, P., Bernád, V., Walsh, J., Mangina, E., Negrão, S., (2022). Capturing crop adaptation to abiotic stress using image-based technologies. *Open Biol.* 12(6), 210353. <https://doi.org/10.1098/rsob.210353>.
- Amankulova, K., Farmonov, N., Mukhtorov, U., Mucsi, L. (2023). Sunflower crop yield prediction by advanced statistical modeling using satellite-derived vegetation indices and crop phenology. *Geocarto International.* 38(1), 2197509. <https://doi.org/10.1080/10106049.2023.2197509>.
- Araus, J.L., Elazab, A., Vergara, O., Cabrera-Bosquet, L., Serret, M.D., Zaman-Allah, M., Cairns, J.E. (2015). New technologies for phenotyping, in: *Phenomics: How Next-Generation Phenotyping is Revolutionizing Plant Breeding*. pp. 1-14.
- Araus, J.L., Slafer, G.A., Royo, C., Serret, M.D. (2008). Breeding for Yield Potential and Stress Adaptation in Cereals. *Critical Reviews in Plant Sciences.* 27(6), 377-412.
- Gano, B., Bhadra, S., Vilbig, J.M., Ahmed, N., Sagan, V., Shakoor, N. (2024). Drone-based imaging sensors, techniques, and applications in plant phenotyping for crop breeding: A comprehensive review. *The Plant Phenome Journal.* 7(1), e20100. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ppj2.20100>.
- Matias, F., Caraza-Harter, M., Endelman, J. (2020). FIELDimageR: An R package to analyze orthomosaic images from agricultural field trials. *The Plant Phenome Journal.* <https://doi.org/10.1002/ppj2.20005>
- Ogando, F., Peirone, L.S., Cicconi, E., Raspa, F.A., Ovando, G., Vega, C.R.C. (2022). Utilización de índices multiespectrales relevadas mediante un UAV para la predicción de rendimiento, número y peso de granos en Soja. II Congreso Latinoamericano de Agricultura de Precisión, 30-31/03 2022, Córdoba, Ar
- Rebetzke, G.J., Chenu, K., Biddulph, B., Moeller, C., Deery, D.M., Rattey, A.R., Bennett, D., Barrett-Lennard, E.G., Mayer, J.E. (2012). A multisite managed environment facility for targeted trait and germplasm phenotyping. *Functional Plant Biology.* 40(1), 1-13. <https://doi.org/https://doi.org/10.1071/FP12180>.
- Sala, C. A. (2010) Nuevas tecnologías en tolerancia a herbicidas. asagir.org.ar Revisado 9 Agosto 2024
- Trapani, N., Lopez Pereyra, M., Sadras, V., Hall, A. (2004) Ciclo ontogénico, dinámica del desarrollo y generación del rendimiento y la calidad de girasol. En E. Satorre et al., (Ed.) *Producción de granos* (pp.204-237). FAUBA.
- USDA,(2024). Sunflowerseed2024. <https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropid=2224000> Accessed 9 August 2024