

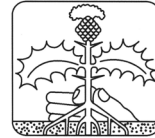
Organizadores



Escuela Técnica Superior de
Ingeniería Agronómica

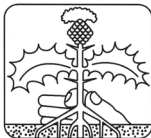


Universidad de Sevilla



SEMh
Sociedad Española
de Malherbología

Patrocinadores institucionales



SEMh
Sociedad Española
de Malherbología



Escuela Técnica Superior de
Ingeniería Agronómica



Universidad de Sevilla



JUNTA DE ANDALUCÍA
CONSEJERÍA DE AGRICULTURA, PESCA Y DESARROLLO RURAL



UNIVERSIDAD
PABLO DE OLAVIDE
SEVILLA

Patrocinadores privados

ADAMA



Dow AgroSciences

Colaboradores



Bayer
Bayer CropSciences



Agrosap





XV CONGRESO DE MALHERBOLOGÍA

SEMh 2015

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica

XV CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MALHERBOLOGÍA

“LA MALHERBOLOGÍA Y LA TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA”

Sevilla, 19 al 22 de octubre de 2015

SEVILLA, 2015



JUNTA DE ANDALUCÍA

CONSEJERÍA DE AGRICULTURA, PESCA Y MEDIO AMBIENTE

**XV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología
SEMh 2015**

"La Malherbología y la Transferencia Tecnológica"

Sevilla, 19 al 22 de octubre de 2015

Editores Científicos:

Alarcón Roldán, Ricardo
Contreras Gallardo, Juan Manuel
Dorado Gómez, José
González Redondo, Pedro
López Martínez, Nuria
Osca Lluch, José María
Pérez Ruiz, Manuel
Urbano Fuentes-Guerra, José María

Título:

XV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología SEMh 2015

© Edita:

JUNTA DE ANDALUCÍA. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural

Textos:

Autor/es
Sociedad Española de Malherbología

Publica:

Secretaría General Técnica
Servicio de Publicaciones y Divulgación

Colección:

Agricultura

Serie:

Congresos y Jornadas

I.S.B.N.: 978-84-608-2775-7

Dep. Legal: SE-

Producción editorial: Germán López Servicios Gráficos

COMITÉ ORGANIZADOR:

José María Urbano Fuentes-Guerra, Universidad de Sevilla (Coordinador)

Manuel Pérez-Ruiz, Universidad de Sevilla (Secretario)

José Dorado Gómez, CSIC-ICA (Vocal)

José María Osca Lluch, Universidad Politécnica de Valencia (Vocal)

Nuria López Martínez, Universidad de Sevilla (Vocal)

Juan Manuel Contreras Gallardo, BASF (Vocal)

Ricardo Alarcón Roldán, Junta de Andalucía (Vocal)

Pedro González Redondo, Universidad de Sevilla (Vocal)

COMITÉ CIENTÍFICO:

José Dorado, CSIC-ICA, España (Coordinador)

Manuel Pérez-Ruiz, Universidad de Sevilla, España (Secretario)

Cristina Alcántara, IFAPA, España (Vocal)

Dionisio Andújar, CSIC-CAR, España (Vocal)

Judit Barroso, Oregon State University, USA (Vocal)

Fernando Bastida, Universidad de Huelva, España (Vocal)

Isabel Calha, INIAV, Portugal (Vocal)

Alicia Cirujeda, CITA, España (Vocal)

Diego Gómez de Barreda, Universidad Politécnica de Valencia, España (Vocal)

José Luis González-Andújar, CSIC-IAS, España (Vocal)

Jordi Izquierdo, Universidad Politécnica de Cataluña, España (Vocal)

Montse Jurado Expósito, CSIC-IAS, España (Vocal)

Donato Loddo, CNR-IBAR, Italia (Vocal)

Iñigo Loureiro, INIA, España (Vocal)

José María Montull, Universidad de Lleida, España (Vocal)

Luis Navarrete, IMIDRA, España (Vocal)

María Dolores Osuna, CICYTEX, España (Vocal)

Gabriel Pardo, CITA, España (Vocal)

José Manuel Peña-Barragán, CSIC-IAS, España (Vocal)

Francisco Perea, IFAPA, España (Vocal)

João Portugal, Instituto Politécnico de Beja, Portugal (Vocal)

Aritz Royo, Universidad de Lleida, España (Vocal)

Mercedes Royuela, Universidad Pública de Navarra, España (Vocal)

Joel Torra, Universidad de Lleida, España (Vocal)

PRESENTACIÓN

El interés que origina la I+D+i en los diversos y complejos campos de la Malherbología es esencial en la búsqueda del conocimiento dentro de esta disciplina de la Protección de Cultivos, permitiéndonos diseñar programas eficaces contra las malas hierbas, tanto en aspectos relacionados con la actuación como en la prevención.

Son muchos los retos a los que los profesionales de la malherbología deben enfrentarse hoy en día. Por ejemplo, un nuevo marco legislativo dentro de la Unión Europea (Reglamento CE nº 1107/2009 y la Directiva 2009/128/CE del Parlamento Europeo y del Consejo) que reduce significativamente el número de materias activas herbicidas, la disminución del gasto público en I+D+i, los nuevos planes de estudio para la formación especializada en Sanidad Vegetal, la transferencia tecnológica e introducción de nuevas tecnologías, la aparición de especies resistentes a herbicidas, la presencia de malas hierbas invasoras, etc.

Indudablemente, todos estos temas están presentes en el ámbito laboral de los autores que han contribuido con sus trabajos al XV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología (SEMh), todos ellos de indudable interés para sectores de la Sociedad tan diferentes como la Empresa, el Docente y el Investigador, así como por la alta calidad científica de las investigaciones y experiencias presentadas en el mismo.

Con éste son ya quince los Congresos Científicos celebrados por la SEMh, Congresos bianuales cuyo *objeto es facilitar la comunicación, difusión y publicación de los resultados de los trabajos realizados por los Socios SEMh y otras personas interesadas*. El conjunto de Actas de anteriores Congresos SEMh puede consultarse en su integridad (i.e., trabajos completos) en nuestra página web www.semh.es, pretendiendo con ello poner en manos de los profesionales y el resto de la Sociedad, todos aquellos conocimientos que les permitan llevar a cabo un manejo de las malas hierbas cada vez más eficiente.

Como Presidente de la SEMh, agradezco muy sinceramente a la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica de la Universidad de Sevilla y, en particular al Departamento de Ciencias Agroforestales, no solamente la organización de este Congreso sino también su trabajo diario en la formación de profesionales de la Protección de Cultivos; una especialidad que requiere una alta cualificación fruto del aprendizaje recibido durante

la etapa universitaria, complemento necesario que faculta para ejercer la profesión atendiendo a las nuevas realidades sociales y a los retos anteriormente mencionados.

“Quien no haya experimentado la irresistible atracción de la ciencia, no podrá comprender su tiranía” (Mary Shelley en su novela Frankenstein, 1918).

José Dorado Gómez
Presidente de la SEMh

Nota del Comité Organizador: se incluyen en esta acta un total de 66 comunicaciones que se han agrupado en cinco temáticas: 1 Control no químico, 2 Control químico, 3 Nuevas tecnologías, 4 Agroecología y 5 Formación y transferencia de tecnología.

En el índice que viene a continuación se ha seguido también este criterio a la hora de ordenar las comunicaciones, de modo que están ordenadas primero las líneas temáticas tal como se desarrollan en el Congreso y dentro de cada temática las comunicaciones están ordenadas alfabéticamente por el apellido del primer autor.

ÍNDICE

Presentación	9
---------------------------	---

CONTROL NO QUÍMICO

Efectos alelopáticos de extractos acuosos de arvenses sobre la germinación de trigo duro y <i>Lolium rigidum</i> López-Sariego M.C., Urbano J.M., López-Martínez N.....	21
---	----

Manejo integrado de <i>Bromus diandrus</i>. Resultados de tres años de ensayos Montull J.M., Llenes J.M., Taberner A.	29
--	----

Reducción de la germinación de jopo del girasol por efecto de restos de <i>Sinapis alba</i> en condiciones controladas Pedraza V., González-Verdejo C.I., Perea F., Saavedra M., Alcántara C.	35
--	----

Efecto del laboreo en el banco de semillas de malas hierbas del suelo en monocultivo y rotación de trigo Santín-Montanyá M.I., Zambrana-Quesada E., Tenorio-Pasamón J.L.	43
---	----

El patosistema <i>Digitaria sanguinalis</i> - <i>Ustilago syntherismae</i>: cambios en el desarrollo reproductivo de las plantas debido a la infección causada por el hongo Verdú A.M., Mas M.T.....	51
--	----

CONTROL QUÍMICO

Búsqueda de herbicidas en leguminosas grano: herbicidas de preemergencia en habas Alcántara C., Pedraza V., Saavedra M., Castilla A., Perea F.....	59
--	----

Control de <i>Conyza</i> y <i>Lolium</i> resistente a glifosato Álvarez-Saborido A.	67
--	----

Síntesis y eficacia de formulaciones de liberación lenta del herbicida mesotriona Galán-Jiménez M.C., Undabeytia T., Morillo E., Florido M.C.	79
Evaluación de formulaciones de liberación controlada del herbicida flufenacet Gómez-Pantoja M.E., López-Fernández E., Florido M.C., Morillo E., Undabeytia T.	85
Modelización del control químico de <i>Conyza</i> y el riesgo de resistencia a glifosato González-Díaz L., Costa J., González-Andújar J.L.	93
Estudio de la resistencia de <i>Conyza</i> spp. al herbicida glifosato en Aragón Langa R., Aibar J., Cirujeda A., Marí A.I., León M., Pardo G.	99
Respuesta de poblaciones de <i>Avena sterilis</i> de Castilla y León a herbicidas utilizados para su control Loureiro I., Escorial M.C., Chueca M.C.	107
Respuesta de poblaciones de <i>Bromus diandrus</i> de Castilla y León a sulfosulfuron y glifosato Loureiro I., Escorial M.C., Chueca M.C.	113
Does <i>Lolium perenne</i> GR competition affects grape yield and wine quality of Douro region? Martins S., Calha I., Amaral A., Ramôa S., De-Prado R., Portugal J.	121
Four years validation of a decision support for optimising herbicide dose in winter cereal under Spanish conditions Montull J.M., Soenderskov M., Rydahl P., Boejer O.M., Taberner A.	127
Resistencia a Penoxsulam en <i>Cyperus difformis</i> en fincas arroceras de España. Propuesta de índices para la identificación precoz de problemas de resistencia Pericas R., Taberner A., Consola S., Osuna M.D., Urbano J.M.	135
Análisis de la producción de etileno en biotipos de <i>Papaver rhoeas</i> L. resistentes y sensibles a 2,4-D Rey-Caballero J., Giné-Bordonaba J., Edo-Tena E., Torra J.	143
Estudio de mecanismos de resistencia "Non-Target-Site" en biotipos de <i>Papaver rhoeas</i> L. con resistencia múltiple Rey-Caballero J., Menéndez J., Salas M., Torra J.	149

Estudio de sensibilidad al bromoxinil de un biotipo de <i>Papaver rhoeas</i> L.	
Rey-Caballero J., Montull J.M., Taberner A., Torra J.	157
Estudio del comportamiento de diurón en el sistema suelo-agua. Empleo de ciclodextrinas para la descontaminación de suelos	
Rubio-Bellido M., Villaverde J., Ruda L., Florido M.C., Morillo E. ...	163
Phytotoxic study of the E/Z isomers of the herbicide alloxymid in wheat	
Sevilla-Morán B., Santín-Montanyá M.I., Villarroya-Ferruz M., Cubero-Torrado N.H., Alonso-Prados J.L., Sandín-España P.	171
Opciones de manejo de <i>Papaver rhoeas</i> con resistencia múltiple a herbicidas	
Torra J., Royo-Esnal A., Rey-Caballero J., Recasens J., Salas M. ...	177
Validación de un método rápido para confirmar la resistencia de <i>Lolium perenne</i> a glifosato	
Triviño M., Calha I.M.	185
Valoración del control de malas hierbas mediante aplicación foliar de quinato	
Zulet-González A., Zulet A., Gil-Monreal M., Fernández-Escalada M., Zabalza A., Royuela M.	199

NUEVAS TECNOLOGÍAS

Reconstrucción 3D de malas hierbas utilizando cámaras de profundidad	
Andújar D., Ribeiro A., Bengoechea J.M., San-Martín C., Fernández-Quintanilla C., Dorado J.	201
Evaluación de la técnica de Resampling en imágenes UAV para la detección de malas hierbas mediante análisis OBIA	
Borra I., Peña J.M., Torres-Sánchez J., López-Granados F.	209
Optimización de algoritmos para segmentación por valor umbral aplicado a detección de malas hierbas en imágenes procedentes de vehículos aéreos no tripulados	
Caballero-Novella J.J., Peña J.M., Torres-Sánchez J., López-Granados F.	217

Determinación mediante sistemas ópticos de la distancia real entre plantas de cultivo para un control preciso de la mala hierba	
Martínez J., Pérez-Ruiz M., Garrido M., Agüera J., Slaughter D.C.	223
A weed monitoring system using UAV-imagery and the Hough transform	
Pérez-Ortiz M., Peña J.M., Gutiérrez P.A., Torres-Sánchez J., Hervás-Martínez C., López-Granados F.	233
Detección y tratamiento preciso de malas hierbas con una flota de robots autónomos aéreos y terrestres	
Ribeiro A., Fernández-Quintanilla C., Dorado J., López-Granados F., Peña J.M., Pérez-Ruiz M., Agüera J., González-De-Santos P.	241
Detección automática de vegetación en estado de plántula en imágenes procedentes de un vehículo aéreo no tripulado (UAV): aplicación para la discriminación de malas hierbas	
Torres-Sánchez J., Peña J.M., Serrano-Pérez Á., López-Granados F.	249

AGROECOLOGÍA

Efecto del sistema de laboreo sobre la diversidad funcional de comunidades arvenses: ¿Merece la pena hacer mediciones locales de rasgos funcionales?	
Alarcón R., Navarrete L., Sánchez M.J., Hernanz J.L., Sánchez-Girón V., Hernández E., Sánchez A.	259
Utilización de <i>Centaurea cyanus</i> L. para la conservación de insectos beneficiosos en el centro de España	
Barbir J., Badenes-Pérez F.R., Martín J.M., Campos D., Fernández-Quintanilla C., Dorado J.	267
Interacción mala hierba-cultivo. Influencia de la fertilización P y N	
Brenes R., Recena R., Delgado A., Urbano J.M.	273
Management of field margin aimed at benefiting natural control of thrips in strawberry plants	
Calha I.M., Gomes L., Figueiredo E., Mateus C.	283

Influencia del fósforo en la germinación de las malas hierbas Carrasco M., Recena R., Delgado A., Urbano J.M.	291
Predicción de la distribución geográfica global de <i>Lolium rigidum</i> bajo condiciones de cambio climático Castellanos-Frías E., García-De-León D., Bastida F., González-Andújar J.L.	297
El banco de semillas de malas hierbas en campos de esparceta (<i>Onobrychis viciifolia</i> Scop.) en comparación con cereal en monocultivo Cirujeda A., Marí A., Aibar J., León M., Pardo G., Murillo S.	303
La medida agroambiental "mantenimiento de rastrojo" y su efecto sobre la biodiversidad vegetal Cirujeda A., Marí A., Aibar J., Pardo G., Murillo S.	311
Tipos de márgenes de cultivos en España: propuesta de descriptores comunes Cirujeda A., Pardo G., Marí A.I., Aibar J., Pallavicini Y., González-Andújar J.L., Recasens J., Solé-Senan X.O.	317
Diversidad y abundancia de semillas de malas hierbas en la cosecha de cereal en la Baja Andalucía occidental Domínguez-Borrero M.D., García-Regal L., González-Andújar J.L., Bastida F.	325
Diferencias germinativas entre semillas de frutos apicales y basales de <i>Camelina microcarpa</i> Andr. ex DC. producidas en dos climas diferentes Edo-Tena E., Gesch R.W., Royo-Esnaol A.	333
Efecto de un enraizante comercial sobre la cespitosa <i>Lolium perenne</i> y la mala hierba <i>Poa annua</i> Gómez-De-Barreda D., Bolumar J., Rallo E., De-Luca V.	339
El papel de la vegetación espontánea en el control integrado de la pudenta del arroz, <i>Eysarcoris ventralis</i> González-Fernández M.I., Serrano-Caballeros A., Durán-Álvaro J.M.	345
Papel de la codorniz en la agroecología de malas hierbas (I). Consumo de semillas Guerrero L., López-Navarro P., González-Redondo P., Urbano J.M.	353

Papel de la codorniz en la agroecología de malas hierbas (II). Influencia de la digestión en la viabilidad de las semillas Guerrero L., López-Navarro, P., González-Redondo P., Urbano J.M.	359
Utilización del modelo de Gompertz en forma diferencial para la modelización de la emergencia de malas hierbas Izquierdo F., Prats C., López D.	367
Opciones de control de malas hierbas en maíz convencional y GM. Efecto sobre malas hierbas y artrópodos Loureiro I., Santín-Montanyá M.I., Escorial M.C., García-Ruiz E., Sánchez-Ramos I., Pascual S., Cobos G., González-Núñez M., Chueca M.C.	375
Resultado de las encuestas realizadas sobre el cultivo de esparceta (<i>Onobrychis viciifolia</i> Scop.) y su efecto sobre las malas hierbas en la zona de Teruel Marí A., Cirujeda A., Murillo S., Pardo G., Aibar J.	383
Respuesta de los cultivos y la vegetación arvense a la reducción de la fertilización y al tipo de laboreo en sistemas cerealistas de secano Navarrete L., Sánchez M.J., Alarcón R., Hernanz J.L., Sánchez-Girón V.	389
Compactación producida por las labores de preparación del lecho de siembra: su efecto sobre la emergencia de malas hierbas en un cultivo de cebada Núñez S., San-Martín C., Campos D., Martín J.M., Fernández-Quintanilla C., Dorado J.	397
El problema de <i>Leersia oryzoides</i> en los arrozales valencianos Osca J.M., Seguí J.V.	405
Efecto de la intensificación agrícola en la diversidad taxonómica y funcional de las especies arvenses del banco de semillas en cultivos cerealistas Pallavicini Y., Hernández-Plaza E., Bastida F., Izquierdo J., Pujadas-Salvá A., González-Andújar J.L.	411

Presencia de teosinte (<i>Zea spp.</i>) como mala hierba en los regadíos del valle del Ebro Pardo G., Fuertes S., Fernández-Cavada S., Betrán E., Cirujeda A., Marí A.I., Aibar J., Zaragoza C., Perdiguier A., Llenes J.M., Montull J.M., Taberner A.	417
Influencia del nitrógeno en la germinación de las malas hierbas Pino J., Recena R., Delgado A., Urbano J.M.	425
Análisis de las preferencias ecológicas de la vegetación espontánea. Caso de estudio aplicado a los cereales de invierno Ramôa S., Oliveira-e-Silva P., Vasconcelos T., Fortes P., Portugal J.	433
La fuente de nitrógeno como herramienta auxiliar en el manejo de las malas hierbas Rubio-Asensio J.S., Bardisi E., Fernández-García N., Soto A., Olmos E.	443
Identificación de especies de <i>Echinochloa spp.</i> en arrozales de Extremadura mediante citometría de flujo Salguero J., Romano Y., Álvarez-Barrientos A., Torralbo P., Alarcón M.V., Amaro-Blanco I., Osuna M.D.	451
Efecto de la rodada del tractor sobre la densidad y composición de malas hierbas en un cultivo de maíz San-Martín C., Campos D., Martín J.M., Andújar D., Fernández-Quintanilla C., Dorado J.	459
Malas hierbas acompañantes de un cultivo energético de chopo bajo diferentes estrategias de manejo San-Martín C., Martín J.M., Campos D., Andújar D., Fernández-Quintanilla C., Dorado J.	465
Estudio de la competencia causada por las malas hierbas en tres especies de <i>Brassica</i> con distinto régimen hídrico y fertilización nitrogenada Zambrana E., De-Andrés E.F., Tenorio, J.L., Santín-Montanyá M.I.	473

FORMACIÓN Y TRANSFERENCIA

Elaboración de un “malherbario” como insumo de generación de competencias para la asignatura de “Control de malezas”

Abril-Porras V.H. 481

Aplicación móvil para la pre-inspección de equipos de tratamientos fitosanitarios

Martínez J., Pérez-Ruiz M., Agüera J., Urbano J.M. 487

Malas hierbas preocupantes en España

Ortiz R., Contreras J.M., Ruiz A., Sanz M.A., Romero M., Gordillo M., Taberner A., Urbano J.M. 497

La investigación en malherbología en España alcanza sus mayores cotas de calidad científica

Recasens J., Fernández-Quintanilla C. 505

Variedades de girasol tolerantes al imazamox: un ejemplo de manejo no sostenible de malas hierbas

Rosa F.J., Urbano J.M. 513

Índice de autores 521



XV CONGRESO DE MALHERBOLOGÍA

SEMH 2015

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica

CONTROL NO QUÍMICO

EFFECTOS ALELOPÁTICOS DE EXTRACTOS ACUOSOS DE ARVENSES SOBRE LA GERMINACIÓN DE TRIGO DURO Y *LOLIUM RIGIDUM*

López-Sariego M.C., Urbano J.M., López-Martínez N.*

Departamento de Ciencias Agroforestales, Universidad de Sevilla, Ctra. de Utrera km 1, 41013 Sevilla, España.

**nlopez@us.es*

Resumen: Se han analizado los efectos alelopáticos de extractos acuosos de varias plantas sobre trigo duro (*Triticum durum* Desf.) y *Lolium rigidum* Gaud., y la germinación conjunta de las semillas de ambas especies. Los resultados han mostrado que varios extractos estimularon el desarrollo radicular y del hipocótilo, siendo el efecto proporcional a la concentración del extracto, destacando *Urtica* sp., *Chenopodium murale*, *Sinapis arvensis* y *Diplotaxis virgata*, mientras que *Matricaria chamomilla* inhibió el crecimiento. Los extractos ensayados sobre *L. rigidum* disminuyeron el desarrollo radicular en el caso de *Malva parviflora*, *Daucus carota*, *Plantago lanceolata*, *Borago* sp. y *Papaver rhoeas*. Por otra parte, la germinación conjunta de semillas del trigo duro y *L. rigidum* incrementó la germinación y el desarrollo radicular de ambas especies.

Palabras clave: Alelopatía, vallico, malas hierbas, *Triticum durum*.

Summary: Allelopathic effects of aqueous extracts of weeds on germination of durum wheat and *Lolium rigidum*. We analyzed the allelopathic effects of aqueous extracts of plants on durum wheat (*Triticum durum* Desf.) and *Lolium rigidum* Gaud., together with joint germination of both plants. Results showed that several extracts stimulated root development and hypocotyl, being proportional to the concentration of the extract, highlighting *Urtica* sp., *Chenopodium murale*, *Sinapis arvensis* and *Diplotaxis virgata* while *Matricaria chamomilla* inhibited growth. The extracts tested on *L. rigidum* decreased root development in the case of *Malva parviflora*, *Daucus carota*, *Plantago lanceolata*, *Borago* sp. and *Papaver rhoeas*. Moreover, the joint seed germination of *T. durum* and *L. rigidum* resulted in increased both germination and root development of both species.

Keywords: Allelopathy, ryegrass, weeds, *Triticum durum*.

INTRODUCCIÓN

El manejo de las malas hierbas en los cultivos va desde el control mecánico a las intervenciones fitosanitarias químicas de síntesis de forma que los restos vegetales quedan en el campo de cultivo, por lo que cada vez es mayor el interés por realizar estudios sobre la incidencia alelopática que tienen las arvenses sobre los cultivos. Los efectos sobre germinación, nacimiento de cotiledones, crecimiento radicular y desarrollo de plántulas van a depender de los compuestos extraídos de cada especie (Sosa Díaz, 2003).

La actividad fitotóxica *in vitro* depende de la composición, de la planta sobre la que actúan y las dosis empleadas. Tras revisar la bibliografía concerniente a este tema, se concluye que la longitud de raíces es una de las mejores variables para evaluar la actividad de un compuesto, por los menores valores de la desviación estándar (Zamorano & Fuentes, 2005).

Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) Determinar el efecto de extractos acuosos de varias arvenses sobre la germinación de semillas de trigo duro; 2) Estudiar la fitotoxicidad de estos extractos sobre el crecimiento radicular y del hipocótilo en el trigo y 3) Evaluar los efectos fitotóxicos sobre *Lolium rigidum* con los extractos acuosos de arvenses con menor fitotoxicidad sobre trigo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Se usaron extractos acuosos de la biomasa aérea de 32 especies de distintas arvenses típicas en cultivo de trigo en la campiña sevillana recolectadas del jardín arvense de la ETSIA Sevilla (Tabla 1).

Las plantas seleccionadas se recolectaron tomando las partes aéreas (hojas, flores y tallos). Las semillas certificadas de trigo duro (cv. Don Sebastián) habían sido sometidas a un tratamiento previo con tebuconazol 2,5%.

Método de obtención de los extractos acuosos

Se incubaron 20 g de biomasa aérea fresca con 200 ml de agua destilada a 80 °C durante 15 min, se filtró, y se repitió el proceso con 100 ml más. Los dos filtrados se homogeneizaron y se diluyeron con agua destilada a distintas concentraciones: 100%, 50% y 10% (Pérez et al., 2002).

Trigo duro versus extracto de 32 arvenses

El diseño experimental fue 32 especies x 4 dosis x 3 repeticiones. La unidad experimental fue una placa Petri con 10 semillas de trigo. Las placas fueron selladas con parafilm y contenían papel de filtro humedecido con 2,5 ml de extracto acuoso a las concentraciones de 100%, 50%, 10% y control. Se realizaron fotografías a dos días (T1) y cuatro días (T2). Las placas se mantuvieron en cámara de cultivo (14 h de luz, Tª 23/18 °C, y humedad relativa del 50-60%). En base a las fotografías, se determinó el porcentaje de germinación, la longitud radicular, longitud del hipocótilo, y número de raíces por semilla. Para la medición de las longitudes, dichas fotografías fueron procesadas con el programa "ImageJ" (Schneider et al., 2012).

***Lolium rigidum* versus extracto de 7 arvenses**

El diseño experimental fue 7 extractos acuosos no diluidos x 1 dosis x 3 repeticiones. La unidad experimental fue una placa Petri con 20 semillas de *L. rigidum*. Las placas fueron selladas con parafilm y contenían papel de filtro humedecido con 2,5 ml de extracto acuoso sin diluir. Los extractos fueron elegidos según el comportamiento que obtuvieron con el trigo (positivo o neutro): *Borago sp.*, *Daucus carota*, *Emex spinosa*, *Malva parviflora*, *Papaver rhoeas*, *Plantago lanceolata* y *Urtica sp.* Se fotografiaron a los 2, 4 y 7 días (T1, T2 y T3) como se ha descrito en el apartado precedente.

Germinación conjunta de Trigo duro y *Lolium rigidum*

El diseño experimental 1 dosis x 3 repeticiones. La unidad experimental fue una placa Petri con 20 semillas de *L. rigidum* y/o 5 semillas de trigo. Las placas fueron selladas con parafilm y contenían papel de filtro humedecido con 2,5 ml de extracto acuoso. Se diseñó una germinación conjunta de semillas de trigo duro con *L. rigidum*, usando como sustrato germinativo papel de filtro humedecido con agua, y se incubaron en cámaras de cultivo en las condiciones controladas descritas anteriormente.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos durante la fase experimental fueron analizados mediante la aplicación del Programa R (R Core Team, 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Trigo duro versus extracto de 32 arvenses

Longitud radicular y longitud del hipocótilo. Se ha determinado la longitud radicular y del hipocótilo del trigo frente a los diferentes extractos utilizados. Las mayores diferencias se encontraron en los extractos no diluidos. Los datos a menores concentraciones (50% y 10% no se muestran)

Tabla 1. Especies arvenses utilizadas para realizar los extractos acuosos y su efecto sobre la longitud radicular y longitud del hipocótilo en mm (error estándar).

Extractos	Long. radicular (SE)	Long. hipocótilo (SE)	Extractos	Long. radicular (SE)	Long. hipocótilo (SE)
<i>Control</i>	40,1 (1,4) ^a	17,4 (0,7) ^a	<i>Lolium rigidum</i>	39,9 (2,7) ^a	17,9 (1,2) ^a
<i>Alopecurus myosuroides</i>	43,9 (2,8) ^a	22,8 (1,6) ^a	<i>Malva parviflora</i>	41,5 (2,7) ^a	18,6 (1,3) ^a
<i>Anthemis praecox</i>	30,2 (2,2) ^a	15,3 (1,1) ^a	<i>Matricaria chamomilla</i>	27,0 (1,8) ^b	17,4 (1,3) ^a
<i>Anacyclus clavatus</i>	30,4 (2,0) ^a	18,5 (1,2) ^a	<i>Papaver rhoeas</i>	38,7 (2,2) ^a	20,6 (1,2) ^a
<i>Avena sterilis</i>	37,2 (2,2) ^a	17,6 (1,1) ^a	<i>Phalaris brachystachys</i>	36,2 (2,0) ^a	17,6 (1,2) ^a
<i>Borago sp.</i>	38,1 (2,2) ^a	21,1 (1,3) ^a	<i>Phalaris minor</i>	37,4 (2,4) ^a	17,6 (1,1) ^a
<i>Bromus diandrus</i>	34,6 (2,0) ^a	17,7 (1,1) ^a	<i>Phalaris paradoxa</i>	33,5 (1,9) ^a	20,1 (1,2) ^a
<i>Cardaria draba</i>	32,5 (2,2) ^a	19,4 (1,4) ^a	<i>Picris echioides</i>	36,4 (2,7) ^a	19,7 (1,4) ^a
<i>Centaurea diluta</i>	29,9 (2,0) ^a	16,2 (1,1) ^a	<i>Plantago lanceolata</i>	29,5 (1,9) ^a	16,2 (1,2) ^a
<i>Chenopodium murale</i>	46,8 (3,0) ^a	26,2 (1,9) ^b	<i>Raphanus raphanistrum</i>	37,7 (2,5) ^a	21,2 (1,4) ^a
<i>Chrysanthemum coronarium</i>	39,8 (2,2) ^a	19,3 (1,1) ^a	<i>Rumex sp.</i>	39,4 (2,2) ^a	20,9 (1,5) ^a
<i>Calendula arvensis</i>	34,6 (2,7) ^a	16,5 (1,2) ^a	<i>Sinapis alba</i>	45,6 (2,5) ^a	22,6 (1,3) ^a
<i>Daucus carota</i>	34,1 (2,2) ^a	20,4 (1,5) ^a	<i>Sinapis arvensis</i>	47,8 (2,5) ^a	24,4 (1,4) ^b
<i>Diplotaxis virgata</i>	42,7 (2,8) ^a	23,7 (1,6) ^b	<i>Silybum marianum</i>	35,5 (2,1) ^a	20,5 (1,4) ^a
<i>Emex spinosa</i>	36,3 (2,2) ^a	21,1 (1,4) ^a	<i>Stellaria media</i>	39,5 (2,9) ^a	23,1 (1,9) ^a
<i>Hirschfeldia incana</i>	32,8 (2,0) ^a	17,8 (1,2) ^a	<i>Urtica sp.</i>	49,8 (3,0) ^a	23,2 (1,5) ^b
<i>Lolium multiflorum</i>	43,9 (2,3) ^a	20,6 (1,3) ^a			

Valores de una misma columna seguidos por una misma letra no presentan diferencias significativas según Test HDS de Tukey ($p < 0,05$).

Matricaria chamomilla disminuye significativamente la longitud radicular del trigo un 32 % frente al control. Para el resto de extractos, la mayoría de ellos provocaron efectos negativos en el desarrollo radicular, excepto ocho de ellos, destacando *Urtica sp.* (Tabla 1). A concentraciones inferiores no se observaron diferencias significativas.

Respecto a la influencia de los extractos sobre el hipocótilo del trigo (Tabla 1), hay cuatro especies arvenses que estimulan su crecimiento de forma significativa frente al control. El que mayor diferencia significativa presenta es *Chenopodium murale*, con una media de hipocótilo de 26,22 mm, seguido de *Sinapis arvensis* (24,39 mm), *Diplotaxis virgata* (23,68 mm) y *Urtica sp.* (23,25 mm). Otros 18 de los extractos también estimulan el hipocótilo, y cinco de ellos están por debajo del control, siendo el que produce mayor inhibición *Anthemis praecox* (15,29 mm). A concentración de 50%, *C. murale* es la única que mantiene la estimulación de hipocótilo (datos no mostrados).

Número de raíces. No se observaron diferencias significativas para ninguno de los casos en las dosis utilizadas, siendo la media del número de raíces por semilla de 4 a 5 raíces.

Porcentaje de germinación. No se observaron diferencias significativas en ningún caso, siendo las medias del 72% al 96% de germinación.

Los resultados presentados en la Tabla 1 indican que es probable que la presencia de restos vegetales de algunas plantas consideradas arvenses sean beneficiosos para el cultivo como *Urtica sp.*, *Chenopodium*, *Sinapis* y *Diplotaxis*. De confirmarse estos resultados en campo, podría cuestionarse el concepto de mala hierba como planta no deseable, y por otro lado, su posible uso en otros sistemas como pueden ser las cubiertas vegetales por favorecer el crecimiento de determinados cultivos.

***Lolium rigidum* con extractos de siete arvenses**

Longitud radicular y longitud del hipocótilo. En varios casos se puede apreciar los efectos inhibitorios del crecimiento radicular, mientras que no existían variaciones significativas del hipocótilo respecto al control. La aplicación de extractos de arvenses produjo una inhibición del crecimiento radicular con diferencias significativas en cinco de los extractos estudiados: *Malva parviflora*, *Daucus carota*, *Plantago lanceolata*, *Borago sp.* y *Papaver rhoeas* (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto de los extractos acuosos de plantas arvenses en el crecimiento radicular y del hipocótilo (en mm). Los datos son media de 20 plantas con 3 repeticiones (error estándar).

	Longitud radicular (SE)	Longitud hipocótilo (SE)
Control	39,2 (1,3) ^a	33,5 (1,1) ^a
<i>Borago sp.</i>	19,1 (1,0) ^b	34,1 (1,2) ^a
<i>Daucus carota</i>	12,4 (0,7) ^b	30,1 (1,1) ^a
<i>Emex spinosa</i>	40,3 (1,2) ^a	36,7 (1,2) ^a
<i>Malva parviflora</i>	11,9 (0,7) ^b	32,2 (1,1) ^a
<i>Papaver rhoeas</i>	27,1 (1,2) ^b	30,5 (1,1) ^a
<i>Plantago lanceolata</i>	15,8 (0,7) ^b	30,5 (0,9) ^a
<i>Urtica sp.</i>	36,7 (1,4) ^b	33,5 (1,4) ^a

Valores de una misma columna seguidos por una misma letra no presentan diferencias significativas según Test HDS de Tukey ($p < 0,05$).

Porcentaje de germinación. No se observaron diferencias significativas en ningún caso.

Germinación conjunta de trigo duro y *Lolium rigidum*

Longitud radicular: trigo duro - L. rigidum: En ambos casos se aprecian diferencias significativas, donde se puede observar que la longitud radicular ha aumentado probablemente por estimulación del extracto de la planta competidora (Tabla 3).

Longitud de hipocótilo: trigo duro - L. rigidum: En las medias de longitud de hipocótilo del trigo no se observaron diferencias significativas con la presencia o ausencia *L. rigidum*. En el caso de *L. rigidum*, sí hubo influencia negativa debida a la presencia del trigo (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto de la germinación conjunta de trigo duro y *Lolium rigidum* sobre la longitud radicular y del hipocótilo en mm (error estándar).

	Long. radicular (SE)	Long. hipocótilo (SE)
Trigo duro	112,4 (4,3) ^a	89,7 (3,7) ^a
<i>Lolium rigidum</i>	32,8 (1,1) ^a	47,1 (1,1) ^a
Trigo duro (en presencia de <i>L. rigidum</i>)	128,0 (4,8) ^b	96,7 (3,9) ^a
<i>L. rigidum</i> (en presencia de trigo)	37,8 (1,2) ^b	43,7 (1,0) ^b

Valores de una misma columna seguidos por una misma letra no presentan diferencias significativas según Test HDS de Tukey ($p < 0,05$).

Porcentaje de germinación sistema trigo duro - L. rigidum: Se determinó el porcentaje de germinación conjunta de ambas especies de

semillas y no se hallaron diferencias significativas entre el tratamiento realizado y sus correspondientes blancos.

Se observa como el trigo aumenta significativamente su longitud respecto a su blanco, por lo que se ve estimulado en presencia del vallico. Por el contrario, el vallico aumenta el desarrollo radicular pero, a su vez, disminuye el crecimiento de su hipocótilo. La siembra del trigo potencian la germinación y brotación de las malas hierbas que le acompañan durante su ciclo. Además de la capacidad alelopática del trigo se presentan efectos inhibitorios en el hipocótilo del vallico, por lo que la incorporación de los rastrojos de trigo al suelo de cultivo podría ser una alternativa más en la lucha contra esta arvense.

CONCLUSIONES

Se han estudiado el potencial alelopático de extractos de varias arvenses. Las especies de los géneros *Urtica*, *Sinapis*, *Diplotaxis* y *Chenopodium* tuvieron efectos estimulantes sobre el desarrollo del hipocótilo del trigo duro, mientras que *Matricaria chamomilla* tuvo un significativo efecto alelopático inhibitorio sobre su desarrollo radicular. Adicionalmente, se han detectado efectos alelopáticos negativos en *Malva*, *Daucus*, *Plantago*, *Borago* sp. y *Papaver* sobre *Lolium rigidum*. Estos resultados, aunque deben ser considerados preliminares, si se confirmasen en condiciones de campo podrían tener utilidad en un programa de manejo integrado de malas hierbas en el cultivo o en cubiertas vegetales.

El control de arvenses debe ser minucioso, y es necesario un buen manejo de las malas hierbas presentes en cultivos de trigo duro para que aquéllas incidan lo menos posible en el desarrollo y ciclo de éste, ya que, al menos *in vitro*, se ha observado la relación existente entre las especies estudiadas.

BIBLIOGRAFÍA

PÉREZ JG, TORRES S, PUENTE M & AGUILAR R (2002) Efecto alelopático del extracto acuoso de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) sobre ocho cultivos económicos. <http://www.ucf.edu.cu/URBES/CD/ALELOPATIA DEL TABACO.htm>.

R CORE TEAM (2013) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible: <http://www.R-project.org/> (último acceso 10 junio 2014).

SCHNEIDER CA, RASBAND WS & ELICEIRI KW (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* 9, 671-675.

SOSA DÍAZ T (2003) *Contribución al estudio de las funciones ecológicas que pueden desempeñar los compuestos derivados del metabolismo secundario en Cistus ladanifer L.*". Ph D thesis. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias, Universidad de Extremadura.

ZAMORANO C & FUENTES CL (2005) Potencial alelopático de *Brassica campestris* subsp. *Rapa* y *Lolium temulentum* sobre la germinación de semillas de tomate. *Agronomía Colombiana* 23(2), 256-260.

MANEJO INTEGRADO DE *BROMUS DIANDRUS*. RESULTADOS DE TRES AÑOS DE ENSAYOS

Montull J.M.^{1*}, Llenes J.M.², Taberner A.^{1,2}

¹Universidad de Lleida-Agrotecnio, Rovira Roure 191, 25198 Lleida.

²Servicio de Sanidad Vegetal, Rovira Roure 191, 25198 Lleida.

* josemontull@hbj.udl.cat

Resumen: En el presente trabajo se aportan los resultados obtenidos tras tres años de ensayos sobre estrategias de control de *Bromus diandrus* en una zona en la que se cultivan principalmente cereales en siembra directa. Se han rotado, durante los tres años, tres cultivos diferentes con diversos herbicidas para cada uno, lo cual ha permitido diversificar tanto las fechas de siembra, de octubre a enero, como los herbicidas utilizados. El guisante y la cebada, por la siembra tardía, han permitido disminuir las infestaciones de bromo. Además, la eficacia de los herbicidas selectivos del guisante es significativamente superior a la de los autorizados en trigo. El rendimiento del trigo en "rotación" ha sido muy superior al del trigo en "monocultivo" considerado como estándar. El rendimiento del guisante ha sido aproximadamente del 55% del trigo en rotación, lo que garantiza su rentabilidad económica. También el rendimiento de la cebada, sembrada tras guisante, ha sido muy superior al del trigo.

Palabras clave: Cereal, herbicidas, rotación de cultivos, siembra directa.

Summary: *Integrated weed management of Bromus diandrus. Results of three years of field tests.* In this paper the results of a three year experiment for *Bromus diandrus* management strategies, carried out in a winter cereal area under no-tillage, are provided. The managements combine three different crops during three years with various herbicides for each crop. Sowing dates have been diversified from October to January, as well as the herbicides. Field pea and barley, by the fact that are sown late in the season, have reduced Brome infestations. Moreover, the efficacy of selective herbicides for field pea is significantly higher than those authorized in wheat. Wheat yield in "rotation" has been much higher than in "monocrop". Field pea yield was about 55% of wheat in rotation, ensuring its profitability. Yield for barley sown after pea, was also much higher than for wheat.

Keywords: Cereals, crop rotation, no-till drilling.

INTRODUCCIÓN

La entrada en vigor de la Directiva 2009/128/CE que establece un uso sostenible de productos fitosanitarios y que promueve el uso de técnicas de control integrado de plagas, así como el uso de métodos de control no químicos demuestra que la reducción de la dependencia de productos fitosanitarios es un tema de actualidad. Dentro de estos métodos no-químicos se incluyen técnicas agronómicas como la rotación de cultivos, el retraso de siembra o el laboreo profundo con volteo.

La eficacia de las técnicas agronómicas a veces no es suficiente para alcanzar un nivel de control de malas hierbas satisfactorio, por lo que el uso de herbicidas no debe ser descartado en un sistema de control integrado: en el caso de la cola de zorra (*Alopecurus myosuroides*), una especie con un comportamiento similar al vallico (*Lolium rigidum*), se citan eficacias de alrededor del 85% utilizando rotaciones de cultivo, de un 90% tras un barbecho (Bayer CropScience, 2009; Moss, 2011). Son necesarios varios años de demostraciones en campo (Moss, 2011) para convencer a los agricultores de la bondad de estas técnicas.

Las malas hierbas gramíneas son las especies más problemáticas en el cultivo de cereales a nivel mundial. La principal razón es que son fisiológicamente muy similares al cultivo, con un ciclo de vida similar al del cereal que puede hacer disminuir la eficacia de buenos herbicidas por falta de selectividad respecto al cultivo.

Actualmente, las especies del género *Bromus*, cuando aparecen en el cultivo de los cereales, solo pueden ser controladas de forma eficaz con herbicidas inhibidores de la ALS y solo en el cultivo del trigo. Estos dos aspectos hacen que estas especies estén aumentando su importancia a nivel global.

Las especies del género *Bromus* tienen una germinación agrupada con las primeras lluvias de otoño (Torra et al., 2009), lo cual permite diferentes opciones para realizar un buen manejo desde el punto de vista agronómico.

El objetivo de este trabajo es determinar la eficacia de una rotación de cultivos combinada con diferentes herbicidas para manejar *Bromus diandrus* en una zona en que los cereales son sembrados mayoritariamente en siembra directa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los ensayos en campo se diseñaron en forma de Split-Plot con 4 parcelas principales: Trigo de invierno en monocultivo (WM), Trigo de invierno en rotación (WR), Cebada en rotación (B) y guisante de primavera en rotación (P). Dentro de cada parcela principal, hay 3 bloques con 4 subparcelas por bloque. Dentro de estas subparcelas, de 10x9m, se llevaron a cabo diferentes tratamientos herbicidas (Tabla 1).

El trigo se sembró todos los años alrededor del 20 de octubre, la cebada el 15 de diciembre y el guisante a finales de enero, como es normal en la zona. Antes de sembrar cada cultivo, se llevó a cabo un tratamiento con 720g i a/ha de glifosato.

Los herbicidas se aplicaron con un pulverizador de precisión propulsado por nitrógeno comprimido. La barra dispone de cuatro boquillas Hardi ISO LD-110-02, se aplicaron 300 l ha⁻¹ de caldo.

Tabla 1. Herbicidas aplicados en cada cultivo, indicando composición dosis y momento de aplicación respecto del cultivo (Escala BBCH).

Cultivo	Herbicida	Composición	Dosis (kg o l pc/ha)	Momento de aplicación
Trigo	No tratado		0	
	Atlantis	Iodosulfuron (IMS) 0,6%+ mesosulfuron (MSS) 3%	0,5	13BBCH
	Broadway	Florasulam 2,28% +Pyroxulam 6,83%	0,265	13BBCH
	Caliban duo	Iodosulfurón 1%+propoxicarbazona 16,8%	0,33	13BBCH
Cebada	No tratado			
Guisante	No tratado		0	
	Mutual	Imazamox 1,67%+Pendimetalina 25%	3	09BBCH
	Challenge	Aclonifen	3	09BBCH
	Aramo 50	Tepraloxidim 5%	1	14BBCH

Antes de la siembra, a mediados de octubre, se evaluó la densidad de *B. diandrus* para comprobar el efecto del cultivo anterior en la rotación. La eficacia herbicida se evaluó 35 días después del tratamiento, mediante cuatro conteos por parcela experimental, lanzando al azar un cuadrado de 0,1 m². El rendimiento se estimó cosechando tres cuadrados de 1 m² por subparcela. Se utilizó el método Abbott (Abbott, 1925) para calcular el porcentaje de eficacia.

Antes de la cosecha se volvió a estimar la densidad de *B. diandrus* de forma similar que al inicio.

Los resultados se analizaron mediante ANOVA (de dos factores) para determinar las posibles diferencias entre los diferentes cultivos y herbicidas, tanto en el control del bromo como en los rendimientos obtenidos. En caso necesario, se utilizó el Test de Duncan para separar medias con $\alpha=0,05$. Se entiende que el efecto *cultivo* integra tanto la fecha de siembra del cultivo como la capacidad competitiva respecto las malas hierbas. Todos los estudios estadísticos se han llevado a cabo utilizando el paquete XLSTAT 2012 para Microsoft Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

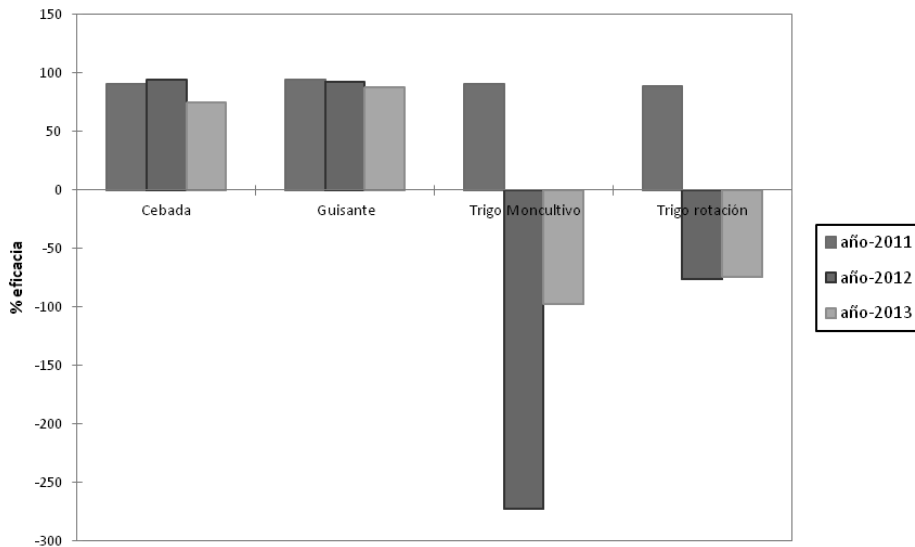


Figura 1. Eficacia de cada cultivo en el control de *B. diandrus* cada año. 0% indica que no hay cambios en la densidad entre octubre y la fecha de cosecha.

En la Figura 1 puede verse el efecto de cada cultivo en el control del bromo, que depende del propio cultivo ($p<0,0001$) y del año ($p=0,001$). Las diferencias son mayores entre los diferentes años en el trigo porque la fecha de inicio de las lluvias de otoño marca las diferencias en la germinación de la mala hierba. Lluvias precoces hacen que el *Bromus* germine antes de la siembra del trigo y que la eficacia del glifosato en presiembra sea adecuada. El caso de la cebada y el guisante es diferente debido a que, siendo la fecha de siembra mucho más tardía, las lluvias de otoño siempre han sido previas a ésta y existe una menor variabilidad interanual. Por esta razón, la siembra a partir de mediados de diciembre, en estas condiciones agroclimáticas es una buena técnica para reducir la densidad del bromo. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos

por García et al. (2013), que observaron hasta un 90% de germinaciones a mediados de diciembre.

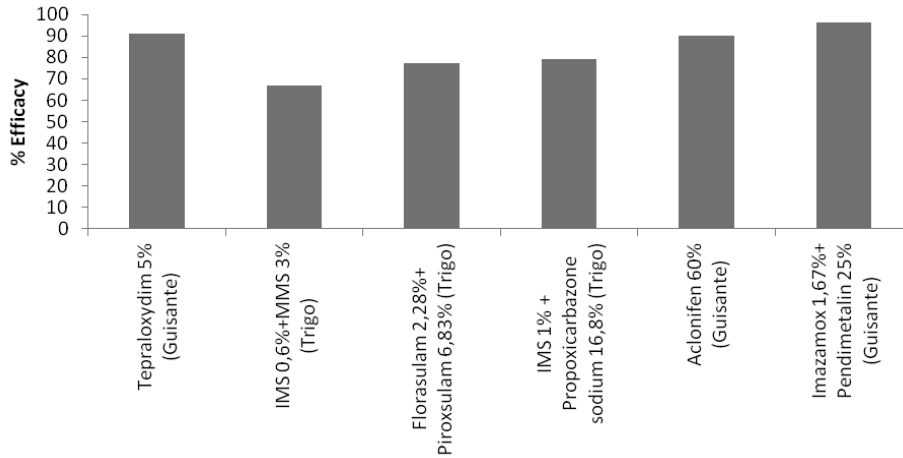


Figura 2. Eficacia promedio de tres años para todos los herbicidas estudiados.

El principal problema para controlar *B. diandrus* con herbicidas en cultivos de cereal es su similitud fisiológica. El hecho de que el guisante sea una dicotiledónea facilita el desarrollo de herbicidas con eficacia mayor sin riesgo de fitotoxicidades al cultivo. Así, se ha obtenido una eficacia significativamente mayor ($p < 0,001$) con los herbicidas selectivos de guisante (92,5%) que con los selectivos de trigo (74,4%).

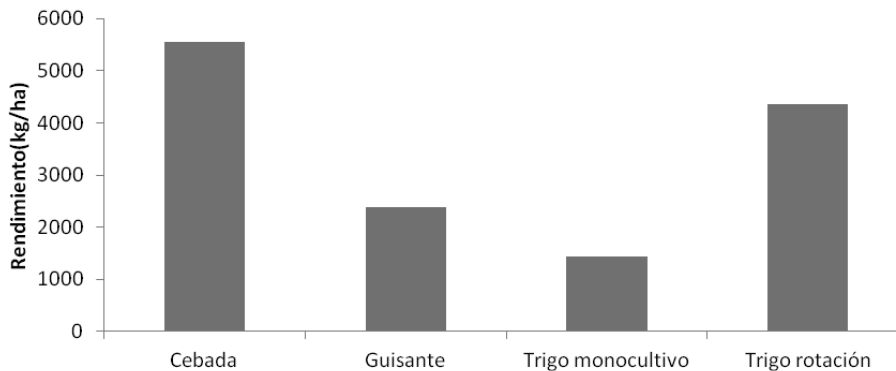


Figura 3. Rendimientos promedio de 3 años para los cultivos estudiados.

Es destacable la diferencia de rendimiento entre el trigo en rotación y en monocultivo. Esta diferencia se ha debido en parte al efecto de la infestación de bromo, que no ha sido totalmente controlada con los herbicidas aplicados. El rendimiento del guisante ha sido aproximadamente de un 55% del obtenido con trigo, lo que la convierte en una alternativa

interesante y viable como cultivo en rotación, tanto en el control del bromo a corto y medio plazo como económicamente.

Los cultivos que permiten una siembra tardía o la inclusión de materias activas más eficaces (cebada, guisante) permiten disminuir las infestaciones de bromo, al mismo tiempo que aumentan el rendimiento del trigo en rotación con estos cultivos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto de Investigación AGL2010-22084-C02-01 titulado "¿Malas hierbas o diversidad vegetal? Su papel como indicador de la eficiencia de ayudas agroambientales y de técnicas de agricultura de conservación en secanos cerealistas". Agradecer también a Albert Falip la parcela para realizar los ensayos así como su disposición para realizar todas las labores agrícolas.

BIBLIOGRAFÍA

ABBOTT W (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18, 265-267.

BAYER CROPSCIENCE. (2009) "Integrated Weed Management." [http://www.bayercropscience.com/bcsweb/cropprotection.nsf/id/EN_Integrated_Weed_Management/\\$file/Integrated%20Weed%20Management.pdf](http://www.bayercropscience.com/bcsweb/cropprotection.nsf/id/EN_Integrated_Weed_Management/$file/Integrated%20Weed%20Management.pdf) (accessed Julio 20, 2011).

GARCÍA AL, REASENS J, FORCELLA F, TORRA J & ROYO A (2013) Hydrothermal emergence model for ripgut brome (*Bromus diandrus*). *Weed Science* 61, 146-153.

MOSS S (2011) Integrated weed management: Will it reduce the herbicide use? International Symposium in Crop Protection. Ghent.

TORRA J, GARCIA AL, MAJAN C, ROYO A, CANTERO C & RECASENS J (2009) Weed emergence patterns in winter cereals under zero tillage in dryland areas. XIIIème Colloque International su la Biologie des Mauvaises Herbes. Dijon.

REDUCCIÓN DE LA GERMINACIÓN DE JOPO DEL GIRASOL POR EFECTO DE RESTOS DE *SINAPIS ALBA* EN CONDICIONES CONTROLADAS

Pedraza V.^{1*}, González-Verdejo C.I.²,
Perea F.³, Saavedra M.⁴, Alcántara C.¹

¹Producción Agraria, IFAPA Alameda del Obispo, Avda. Menéndez Pidal s/n.,
14080 Córdoba, España.

²Mejora y Biotecnología de Cultivos, IFAPA Alameda del Obispo, Avda.
Menéndez Pidal s/n., 14080 Córdoba, España.

³Producción Agraria, IFAPA Las Torres-Tomejil, Ctra. Sevilla-Cazalla km 12,
41200 Alcalá del Río, Sevilla, España.

⁴Protección de cultivos, IFAPA Alameda del Obispo, Avda. Menéndez Pidal s/n.,
14080 Córdoba, España.

*pedrazajimenez.veronica@gmail.com

Resumen: Andalucía es la comunidad autónoma con mayor superficie de girasol en España. Sin embargo, la principal limitación en su rendimiento es la susceptibilidad a jopo. El objetivo de este trabajo ha sido determinar en condiciones controladas si los restos vegetales de la crucífera *Sinapis alba* podrían ser una medida de control del jopo del girasol. Se ha realizado un bioensayo con material vegetal cultivado en dos años diferentes, 2014 y 2015. Los resultados sugieren que *S. alba* podría ser utilizada como cultivo cubierta biofumigante por su efecto inhibitor en la germinación de jopo, reduciendo esta en un 45% y un 49% respectivamente. Es necesario confirmar estos resultados con ensayos en campo y estudiar diferentes formas de aplicación de los restos vegetales para alcanzar una posible reducción de la emergencia de jopo en girasol.

Palabras clave: Cubierta vegetal, mostaza blanca, rotación de cultivos, germinación, *Orobanche cumana*.

Summary: *Effect of Sinapis alba as organic amendment on sunflower broomrape control in Southern Spain.* Southern Spain is the largest area of land devoted to sunflower in this country. However, the sunflowers major limitation is its susceptibility to broomrape. In this study, we determined the *in vitro* biofumigant effect of the cruciferous *Sinapis alba* on the control of sunflower broomrape. A bioassay was carried out with white mustard vegetal material grown in two different years, 2014 and 2015. The results suggested that *S. alba* could be used as biofumigant cover crop by its inhibitory effect of broomrape germination,

reducing it by 45% and 49% respectively. Further research is needed to confirm these results under field conditions and study different methods of green manure incorporation to achieve a possible reduction in the sunflower broomrape emergence.

Keywords: Intercropping, white mustard, crop rotation, germination, *Orobanche cumana*.

INTRODUCCIÓN

En España, el cultivo del girasol (*Helianthus annuus*) alcanzó las 749.886 ha en 2014 (MARM, 2014), de las cuales Andalucía albergó el 38 %, siendo la comunidad autónoma con mayor superficie dedicada a dicho cultivo (288.303 ha). Además, constituye la alternativa tradicional prioritaria en las explotaciones agrarias de campiña en rotación con trigo duro. Las especiales características de clima y suelo del sur de España propician una buena adaptación del girasol. Sin embargo, este cultivo es susceptible al jopo (*Orobanche cumana*) y las pérdidas que ocasiona esta planta parásita varían según la severidad de la infección, la cantidad de semillas activas que se encuentren en el suelo (Joel et al., 2011) y el nivel de susceptibilidad o resistencia genética de la variedad cultivada. A pesar de existir variedades híbridas de girasol resistentes a jopo en Andalucía (RAEA, 2013), dicha resistencia no es completa. Por ello, con el fin de limitar en lo posible el impacto negativo del jopo, se hace necesario desarrollar diferentes estrategias de control cultural.

En los últimos años se está estudiando la viabilidad de incluir la crucífera mostaza blanca (*Sinapis alba* subsp. *mairei*) como cultivo cubierta en la rotación trigo-girasol, sembrándose en la hoja de girasol en los meses en los que el suelo queda desnudo (octubre-marzo) e incorporándose al suelo justo antes de la siembra del girasol. *S. alba* es una especie bien adaptada a nuestro clima, de fácil instalación y buena formación de cobertura y biomasa (Alcantara et al., 2009). Además, es conocido el efecto biofumigante de las crucíferas contra patógenos de suelo por liberar diferentes compuestos volátiles por la descomposición de la materia orgánica, fundamentalmente glucosinolatos e isotiocianatos derivados de su hidrólisis (Angus et al., 1994). Ha sido demostrada su acción como insecticida (Fenwick et al., 1980), fungicida (Mayton et al., 1996), nematocida (Mojtahedi et al., 1991) y herbicida (Alcantara et al., 2011). Sin embargo, todavía no se ha estudiado el posible beneficio que estas cubiertas pueden tener en el control de jopo.

El objetivo de este trabajo ha sido determinar en condiciones controladas si los restos vegetales de mostaza blanca pueden tener un efecto sobre la germinación del jopo del girasol, bien por inhibición de la

germinación o por la estimulación de la misma favoreciendo una germinación suicida.

MATERIAL Y MÉTODOS

El bioensayo se realizó en condiciones controladas en el laboratorio del área de Producción Agraria del centro IFAPA-Alameda del Obispo de Córdoba en 2014 y 2015, siguiendo la metodología llevada a cabo por otros autores para probar la eficacia de fungicidas volátiles biofumigantes (Richardson & Munnecke, 1964; Zurera et al., 2007; Perniola et al., 2012).

Para ello, se obtuvieron restos vegetales de mostaza blanca a partir de ensayos de campo en la finca IFAPA Tomejil en Carmona (Sevilla). La mostaza blanca fue sembrada a una dosis fija de 15 kg/ha en octubre de 2013 y 2014 y las plantas se cosecharon a mediados de marzo, al alcanzar el estado fenológico de inicio de formación de frutos. Posteriormente, se picaron los 2/3 superiores en trozos de aproximadamente 2 cm de longitud y se desinfectaron con una solución de agua destilada y lejía en proporción 4:1. Se realizaron dos tipos de aplicación de la enmienda:

- 1.- Como restos vegetales en placas Petri de 15 cm de diámetro, aplicando 15 g/placa de mostaza blanca, cantidad previamente determinada a partir de la biomasa obtenida en campo. En el centro de cada una de las placas se colocó otra placa de 6 cm de diámetro con 1000 semillas de jopo en su interior.
- 2.- Como extracto líquido en placas de 6 cm de diámetro con 1000 semillas de jopo en su interior, vertiendo sobre ellas 1 ml del concentrado fluido obtenido a partir de la trituración de 15 g/placa de *S. alba* con 25 ml de agua destilada.

Las semillas de *O. cumana* permanecieron en presencia del estimulante artificial de la germinación GR24 (1 ml 10^{-7} M) o en agua, desinfectándose previamente y acondicionándose durante 10 días a 24°C en oscuridad. Las semillas de *O. cumana* se recogieron en junio de 2013 y 2014 respectivamente, en un campo de girasol infestado en la finca Tomejil. El diseño experimental fue factorial, siendo los factores el modo de aplicación de la enmienda (como resto vegetal o extracto) frente a un control sin enmienda, y la aplicación de GR24 (con o sin estimulador artificial). Las placas se sellaron con parafilm y se incubaron a 24 °C en oscuridad durante 7 días. Los porcentajes de germinación se estimaron a partir de la división de cada placa en 4 sectores y efectuando en cada uno de ellos el conteo de 100 semillas de *O. cumana*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los primeros resultados observados indicaron que el porcentaje de germinación de las semillas de *O. cumana* en presencia de GR24 fue de un 76,5 % en 2014 y un 38 % en 2015. También se observó en este bioensayo un porcentaje de germinación espontánea del 12 % y 16,5 % en 2014 y 2015 respectivamente, germinando las semillas en las placas control que solo contenían agua, sin estimulante químico artificial (Figura 2). Estudios similares han obtenido porcentajes de germinación espontánea en otras especies de *Orobanchae* que oscilan entre el 0,1 y el 10 % (Goldwasser & Yoder, 2001; Fernández-Aparicio et al., 2009; Plakhine et al., 2012). La germinación de las semillas se muestra en la Figura 1.

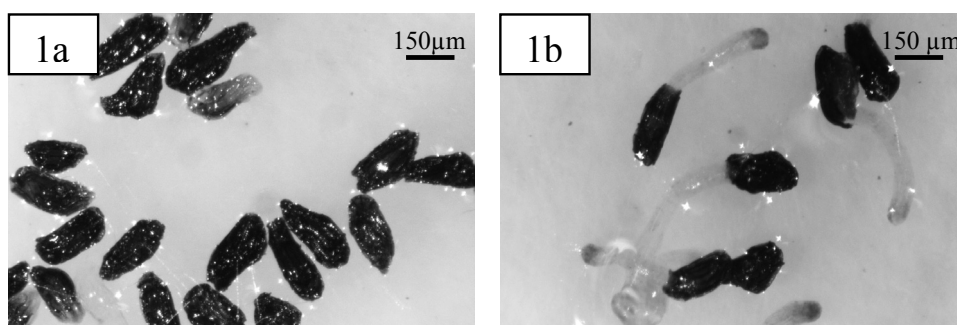


Figura 1. Semillas de *O. cumana* sin germinar (1a) y germinadas con radícula visible (1b).

El efecto de la enmienda de *S. alba* en la germinación de semillas de *O. cumana* se muestra en la Figura 2. Independientemente de la forma de aplicación del material vegetal (restos o extracto vegetal), *S. alba* inhibió la germinación de *O. cumana*, existiendo diferencias significativas con el tratamiento testigo en todos los casos estudiados. Los resultados señalan que la enmienda inhibió incluso el porcentaje de germinación espontánea, ya que las aplicaciones de *S. alba* realizadas en torno a semillas de jopo sin estimulador dieron un porcentaje de germinación prácticamente nulo ambos años. Además, el porcentaje de semillas estimuladas con GR24 que germinaron disminuyó cuando dichas semillas tuvieron algún tipo de contacto con la enmienda de mostaza blanca, experimentando una reducción del 45 % en 2014 y del 49 % en 2015 con respecto al testigo. Existe un gran número de investigaciones que demuestran el control de malas hierbas realizado por cubiertas de especies brasicáceas (Brown & Morra, 1996; Masiunas & Eastman, 2012) y en concreto con *S. alba* (Ascard & Jonasson, 1991; Oleszek et al., 1996; Hoagland et al., 2008; Alcántara et al., 2011), sin embargo, no se han encontrado en la bibliografía referencias previas sobre el control de *Orobanchae* spp. con mostaza blanca ni con otras crucíferas, por lo que estos resultados abren

una vía de estudio para el control de jopo mediante el empleo de enmiendas de especies crucíferas.

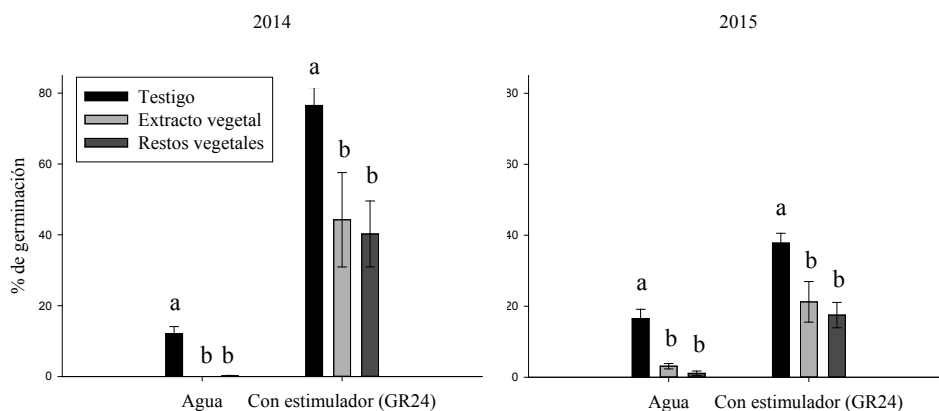


Figura 2. Porcentaje de germinación obtenido en 2014 y 2015 para las semillas de *O. cumana* con y sin estimulante artificial (GR24), según el modo de aplicación de *S. alba* (extracto o restos vegetales) frente a un testigo sin cubierta vegetal.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo ponen de manifiesto que *S. alba* tiene un efecto inhibitor de la germinación de las semillas de *O. cumana* en condiciones controladas. Sin embargo, es necesario realizar ensayos en campo para observar si se consigue el mismo efecto sin el estimulante de la germinación y con todos los factores bióticos que puedan interactuar. Hasta el momento, los resultados obtenidos con *S. alba* en condiciones controladas abren la posibilidad de conseguir un efecto inhibitor de la germinación de jopo del girasol en campo.

AGRADECIMIENTOS

Al subprograma FPI-INIA y al Programa Operativo FSE 2007-2013 por la beca y el contrato de V. Pedraza y C. Alcántara respectivamente, al proyecto INIA-RTA2011-00031 que ha financiado la investigación y al personal que ha colaborado en su realización, así como al INIA-CCAA (Subprograma DOC-INIA) y FSE por el contrato de C.I. González.

BIBLIOGRAFÍA

ALCANTARA C, SANCHEZ S, PUJADAS A & SAAVEDRA M (2009) *Brassica* species as winter cover crops in sustainable agricultural systems in southern Spain. *Journal of Sustainable Agriculture* 33, 619-635.

- ALCANTARA C, PUJADAS A & SAAVEDRA M (2011) Management of *Sinapis alba* subsp. *mairei* winter cover crop residues for summer weed control in southern Spain. *Crop Protection* 30, 1239-1244.
- ANGUS JF, GARDNER PA, KIRKEGAARD JA & DESMARCHELIER JM (1994) Biofumigation: Isothiocyanates released from brassica roots inhibit growth of the take-all fungus. *Plant Soil* 162, 107-112.
- ASCARD J & JONASSON T (1991) White mustard meal interesting for weed control. En: *32nd Swedish Crop Protection Conference. Weeds and Weed Control* (Swedish University of Agricultural Sciences) (30-31 enero, Uppsala, Suecia) 139-155.
- BROWN PD & MORRA MJ (1996) Hydrolysis products of glucosinolates in *Brassica napus* tissues as inhibitors of seed germination. *Plant Soil* 181, 307-316.
- FENWICK G, EAGLES J, GMELIN R & RAKOW D (1980) The mass-spectra of glucosinolates and desulfoglucosinolates. *Biomedical Mass Spectrometry* 7, 410-412.
- FERNÁNDEZ-APARICIO M, FLORES F & RUBIALES D (2009) Recognition of root exudates by seeds of broomrape (*Orobanche* and *Phelipanche*) species. *Annals of Botany* 103, 423-431.
- GOLDWASSER Y & YODER JI (2001) Differential induction of *Orobanche* seed germination by *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science* 160, 951-959.
- HOAGLAND L, CARPENTER-BOGGS L, REGANOLD JP & MAZZOLA M (2008) Role of native soil biology in Brassicaceae seed meal-induced weed suppression. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 1689-1697.
- JOEL DM, CHAUDHURI SK, PLAKHINE D, ZIADNA H & STEFFENS JC (2011) Dehydrocostus lactone is exuded from sunflower roots and stimulates germination of the root parasite *Orobanche cumana*. *Phytochemistry* 72, 624-634.
- MARM (2014) Encuesta sobre Superficies y Rendimientos Cultivos. Disponible: <http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/esyrce/> (último acceso 11/05/15).
- MASIUNAS J & EASTMAN C (2012) Glucosinolates in Brassicas: Biological control agents that are good for our health and bad for pests? Disponible: www.entomology.wisc.edu/mbcn/weed604.html. (último acceso 25/04/15).

- MAYTON HS, OLIVIER C, VAUGHN SF & LORIA R (1996) Correlation of fungicidal activity of *Brassica* species with allyl isothiocyanate production in macerated leaf tissue. *Phytopathology* 86, 267-271.
- MOJTAHEDI H, SANTO GS, HANG AN & WILSON JH (1991) Suppression of root-knot nematode populations with selected rapeseed cultivars as green manure. *Journal of Nematology* 23, 170-174.
- OLESZEK W, ASCARD J, JOHANSSON H (1996) Cruciferae as alternative plants for weed control in sustainable agriculture. En: *Allelopathy in pests management for sustainable agriculture* (Eds. SS NARWAL & P TAURO) 3-22. Scientific Publishers, Nueva Delhi, India.
- PERNIOLA OS, STALTARI S, CHORZEMPA SE & MOLINA MC (2012) Biofumigación con Brassicáceas: actividad supresora sobre *Fusarium graminearum*. *Revista de la Facultad de Agronomía* 111, 48-53.
- PLAKHINE D, TADMOR Y, ZIADNE H & JOEL DM (2012) Maternal tissue is involved in stimulant reception by seeds of the parasitic plant Orobanche. *Annals of Botany* 109, 979-986.
- RAEA (2013) Resultados de los ensayos de girasol en Andalucía. Campaña 2013. Disponible: <http://web5.ifapa.junta-andalucia.es/agriculturaypesca/ifapa/servifapa/noticias/1748aa6d-5cb9-11e3-a540-c63f1f0008d4> (último acceso 11/05/2015).
- RICHARDSON LT & MUNNECKE DE (1964) A bioassay for volatile toxicants from fungicides in soil. *Phytopathology* 54, 836-839.
- ZURERA C, ROMERO M, PORRAS M, BARRAU C & ROMERO F (2007) Efecto biofumigante de especies de *Brassica* en el crecimiento de *Phytophthora* spp *in vitro*. En: *Actas de Horticultura* 48, 306-309. XI Congreso SECH (Albacete, España).

EFECTO DEL LABOREO EN EL BANCO DE SEMILLAS DE MALAS HIERBAS DEL SUELO EN MONOCULTIVO Y ROTACIÓN DE TRIGO

Santín-Montanyá M.I.^{1*}, Zambrana-Quesada E.²,
Tenorio-Pasamón J.L.²

¹Dpto. de Protección Vegetal, INIA, Ctra. de La Coruña, km 7,5,
28040 Madrid.

²Dpto. de Medio Ambiente, INIA, Ctra. de La Coruña, km 7,5,
28040 Madrid.

*isantin@inia.es

Resumen: El banco de semillas de malas hierbas presente en el suelo es una demostración de la existencia de una comunidad de malas hierbas y está vinculado a las fases de crecimiento de un ecosistema. Las prácticas agronómicas pueden ocasionar cambios en el banco de semillas de los suelos agrícolas. Nuestro objetivo fue comparar la influencia del laboreo de conservación (mínimo laboreo y siembra directa) frente al laboreo convencional, sobre la densidad y riqueza específica del banco de semillas persistente de un suelo agrícola, en parcelas con dos sistemas de cultivo: monocultivo y rotación de trigo de invierno. Se tomaron muestras de suelo en parcelas con los tres sistemas de laboreo, a 3 profundidades: 0-7 cm, 7-15 cm y 15-30 cm. Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que el efecto acumulativo del laboreo en parcelas con trigo en monocultivo no tuvo efectos en la densidad de semillas, aunque sí en su distribución, cuantificadas mayoritariamente a mayor profundidad (P3). Por otro lado, se observó una clara influencia del laboreo y la profundidad en la densidad y riqueza específica del banco de semillas de tipo persistente del suelo, en las parcelas con rotación de trigo. Nuestros resultados confirman que una variedad de cultivos puede ir asociada a una mayor variedad de especies de malas hierbas presentes en el banco de semillas del suelo.

Palabras clave: Biodiversidad, laboreo de conservación, cereal, sistemas de cultivo.

Summary: *Tillage effects on weed seed bank with wheat monoculture and rotational.* The weed seedbank into the soil is a demonstration of the existence of a weed community and it is linked to ecosystem growth phases. Agronomic practices can cause changes in the seed bank of agricultural soils. Our objective was to compare the

influence of conservation tillage (minimum tillage and direct seeding) with conventional tillage on weed seed density and species richness of persistent seedbank, with two cropping systems: wheat monoculture and wheat rotation. Soil samples were taken in plots with three tillage systems, at 3 depths: P1 (0-7 cm), P2 (7-15cm) and P3 (15-30 cm). The results of this study showed that cumulative effects of tillage systems, in wheat monoculture plots, had no effect on seed density, and the seed species were concentrated in deepest section of soil (P3). On the other hand, we observed a clear influence of tillage and depth on weed density and species richness of the persistent weed seed bank in wheat rotation plots. Our results confirm that a variety of crops could be associated to a variety of weed species present into soil seedbank.

Keywords: Biodiversity, cereal, conservation tillage, crop systems.

INTRODUCCIÓN

En los suelos agrícolas existe un continuo movimiento de aportes y pérdidas de semillas de malas hierbas, y la conformación de un banco de semillas persistente es una de sus estrategias regenerativas (Haghighi et al., 2013). Se trata entonces, de un concepto dinámico que nos proporciona información ecológica y evolucionista de la dinámica poblacional de las malas hierbas (Mulugeta & Stoltenberg, 1997).

El laboreo es una de las prácticas agronómicas más antiguas, y sus objetivos han variado desde preparar una buena "cama de siembra" para el cultivo, hasta la eliminación de malas hierbas emergidas. En general, el laboreo actúa sobre el banco de semillas de malas hierbas del suelo favoreciendo su germinación en unos casos y su enterramiento en otros. Por lo tanto, el estudio de la reserva de semillas en el suelo constituye una parte importante en el recambio de las poblaciones y la dinámica de las comunidades de malas hierbas de un agro-sistema.

La investigación de los bancos de semillas de malas hierbas de los suelos agrícolas, tiene gran importancia para la conservación de la biodiversidad agrícola y la estabilidad del agro ecosistema.

El objetivo de este estudio es determinar la densidad y el número de especies del banco de semillas de malas hierbas presentes en un monocultivo de trigo comparado con un cultivo de trigo en rotación (con barbecho, cebada y veza), sometido a dos sistemas de laboreos de conservación: mínimo laboreo (chisel, ML) y no laboreo (siembra directa, SD), frente al laboreo convencional (vertedera, LC). Analizamos el banco de semillas persistente realizando la extracción física por lavado, para determinar la cantidad total de semillas y el número de especies presentes

que se encuentran en las parcelas de trigo monocultivo y trigo en rotación en cada sistema y en tres profundidades distintas.

MATERIAL Y MÉTODOS

En la finca "La Canaleja" situada en Alcalá de Henares (Madrid), con una pluviometría media de 470 mm al año y una altitud de 610 m sobre el nivel del mar, se inició un experimento en otoño de 1994, en parcelas con monocultivo de trigo, con tres sistemas de laboreo: laboreo convencional (LC), mínimo laboreo (ML) y siembra directa (SD). El muestreo del suelo se realizó en la campaña 2010-2011, en otoño, después de labrar y antes de la siembra. Se tomaron muestras en 12 parcelas de trigo en monocultivo y 12 parcelas de trigo en rotación (20 x 12,5m). Se delimitó un área de 8,5 x 16m en el centro de cada parcela, donde se realizaron 4 extracciones con un cilindro de 5 cm de diámetro a 3 profundidades distintas: P1 (0-7cm), P2 (7-15cm) y P3 (15-30cm).

Se obtuvo una muestra compuesta del suelo por cada parcela, donde se determinó la densidad y riqueza del banco de semillas, realizando la extracción física de las semillas por lavado según la técnica de Malone (1967). Del volumen de suelo extraído en cada parcela, se empleó una alícuota de 100g de suelo, para cada una de las profundidades correspondientes del perfil del suelo, en la cual se realizó la dispersión química de las arcillas y la extracción de residuos orgánicos del suelo, para posteriormente contabilizar el contenido de semillas. El cálculo de la densidad de semilla se halló teniendo en cuenta además la densidad aparente del suelo para cada profundidad. La densidad total de semillas de malas hierbas se refirió a la unidad de área (1m²). Se calculó también la densidad relativa de las especies más representativas del banco de semillas del suelo.

El experimento consistió en un diseño split-plot, con el sistema de laboreo como factor principal y la profundidad como factor secundario. En total se analizaron 72 muestras, en los dos sistemas de cultivo: trigo monocultivo y trigo en rotación (3 sistemas de laboreo x 3 profundidades x 4 repeticiones).

Los resultados obtenidos se analizaron mediante un Análisis de varianza multifactorial (ANOVA) de la densidad y riqueza específica de las semillas de malas hierbas, para los tres sistemas de laboreo y en las tres profundidades. Con el fin de homogeneizar la varianza, el n^o de semillas sufrió una transformación (LOG [X+1]) previa al ANOVA. Las diferencias entre tratamientos se detectaron mediante el test de comparación de medias de la Mínima Diferencia Significativa (LSD), con un nivel de significación del 5%. Todos los test estadísticos se realizaron con el paquete informático STATGRAPHICS® (Statgraphics Plus for Windows, 1998).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio del banco de semillas llevado a cabo en ambos sistemas de cultivo, indica que los efectos de los sistemas de laboreo y la profundidad variaron tanto para la densidad de semillas de malas hierbas, como para el número de especies observado en el suelo. Los efectos de la interacción entre los sistemas de laboreo y la profundidad no fueron significativos (Tabla 1).

Tabla 1. Análisis de varianza (p-valor) del efecto del sistema de laboreo y profundidad sobre la densidad y riqueza del banco de semillas del suelo, en Trigo monocultivo y rotación.

Tratamientos	Trigo en monocultivo		Trigo en rotación	
	Densidad	Riqueza	Densidad	Riqueza
	(nº semillas/m ²)	(nº especies)	(nº semillas/m ²)	(nº especies)
Sist. de Laboreo (SL)	0,136 n.s.	0,003**	0,033*	0,0413*
Profundidad (P)	0,000***	0,082 n.s.	0,000***	0,004**
SL x P	0,839 n.s.	0,281 n.s.	0,540 n.s.	0,291 n.s.

Los posibles efectos acumulativos del laboreo convencional y de conservación, en el banco de semillas de malas hierbas, de un sistema de monocultivo de cereal, no mostraron ningún efecto sobre la densidad de semillas de malas hierbas. Sin embargo, una parte significativa de la variación de semillas de malas hierbas del suelo, presente en un sistema de rotación de cereales, podría atribuirse al sistema de gestión del suelo. Las parcelas de trigo en rotación, con laboreo de conservación (en especial el mínimo laboreo), mostraron una mayor densidad de semillas que el sistema de laboreo tradicional. La distribución vertical de las semillas se vio afectada por la profundidad en ambos sistemas de cultivo (monocultivo y rotación). La sección más profunda del suelo (P3: 15-30 cm) presentó una mayor densidad de semillas que el resto de las profundidades estudiadas, lo que explicaría en parte la influencia de la profundidad en la dormancia y germinación de diferentes especies de malas hierbas que conforman un banco de semillas de tipo persistente en el suelo (Figura 1).

El cultivo de cereales de invierno constante (cereal en monocultivo) durante años y en rotación, causó diferencias en el número de especies observadas en el banco de semillas del suelo, en nuestras condiciones de secano. En ambos casos, el laboreo de conservación (ML y SD) destacó como el sistema que más especies presentó. Sin embargo, la distribución vertical de las especies fue diferente en las parcelas de monocultivo y rotación de trigo. No encontramos diferencias significativas entre especies en las parcelas de monocultivo de trigo, mientras que en parcelas con rotación de trigo, la profundidad afectaba de manera significativa a la riqueza

específica del banco de semillas. La sección más superficial del banco de semillas, P1 (0-7 cm), mostró mayor riqueza específica, esto es debido posiblemente a que germinaran más especies, pues una variedad de cultivos puede ir asociada a su vez a una variedad de especies de malas hierbas.

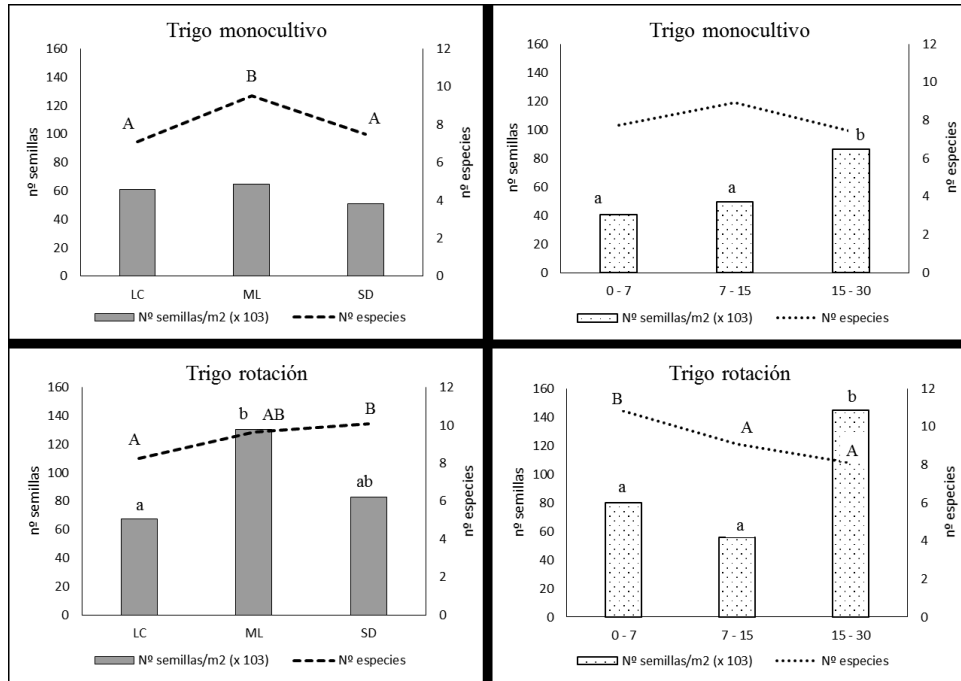


Figura 1. Densidad de semillas y número de especies del banco de semillas en Trigo monocultivo y rotación. Diferencias entre letras minúsculas muestran diferencias significativas en el nº de semillas/m² y mayúsculas en el número de especies, dentro de los sistemas de laboreo y la profundidad según el Test LSD ($p < 0,05$).

Una de las estrategias regenerativas de las plantas es la conformación de un banco de semillas persistente (Sonoskie et al., 2006; Haghghi et al., 2013). La composición florística del banco es una muestra de las diferentes estrategias utilizadas por las especies en la producción, dispersión y supervivencia de sus semillas (Mulugeta & Stoltenberg, 1997). La mayoría son especies pioneras, que presentan latencia y una amplia diseminación, y dominan en el banco de semillas persistente en el suelo. En estos casos, para cada especie siempre hay semillas representantes de varias generaciones que se van sumando. Se trata de especies que prácticamente incorporan al suelo la totalidad de las semillas producidas como única estrategia. Son típicas de este grupo las especies arvenses de semilla muy pequeña. Se muestra en la Tabla 2 la densidad relativa, expresada como porcentaje, de tres especies de malas hierbas

representativas del banco de semillas de tipo persistente, contabilizadas en cada sistema de laboreo, sistema de cultivo y su distribución vertical en el suelo.

Tabla 2. Porcentaje de las especies más representativas en cada sistema de laboreo, sistema de cultivo y distribución en el suelo, en el banco de semillas de tipo persistente.

		<i>Amaranthus sp.</i>	<i>Papaver sp.</i>	<i>P. oleracea</i>
Sist. Laboreo	LC	28,79	32,07	16,61
	ML	36,47	34,78	71,03
	SD	34,73	33,15	12,36
Sist. Cultivo	Monocultivo	51,61	15,22	6,42
	Rotación	48,39	84,78	93,58
Profundidad	P1 (0-7 cm)	33,51	44,29	27,76
	P2 (7-15 cm)	35,73	26,36	16,85
	P3 (15-30 cm)	30,76	29,35	55,39

LC: Laboreo convencional. ML: Mínimo laboreo. SD: Siembra directa.

En líneas generales, observamos que el mínimo laboreo (ML) favoreció la densidad relativa de estas especies, especialmente de *P. oleracea*. La densidad relativa de semillas contabilizada en trigo monocultivo y en rotación también varió. La presencia de semillas de *Papaver sp.* y *P. oleracea*. fue superior en las parcelas con trigo en rotación. Por otro lado, la distribución vertical de las semillas de dichas especies en el suelo fue diferente: *Papaver sp.* se encontró mayoritariamente en los primeros 7 cm del suelo, mientras que las semillas de *P. oleracea* se encontraron en la sección más profunda del suelo (15-30 cm) y las semillas de *Amaranthus sp.* se encontraron más uniformemente distribuidas.

CONCLUSIONES

Actualmente, existe escasa información acerca de las prácticas agronómicas que pueden estar asociadas con los cambios en el banco de semillas de malas hierbas de los suelos agrícolas, y tal información es crucial en el manejo de las malas hierbas. Aunque a primera vista, los estudios sobre bancos de semillas de las malas hierbas, no ayudan a resolver los problemas inmediatos de malas hierbas; en el largo plazo está justificado, científica y económicamente, determinar el grado en que las prácticas agronómicas afectan a la composición del banco de semillas de malas hierbas. En este contexto, un mejor conocimiento de los factores que pueden influir en la emergencia de las especies presentes en un

campo, nos permitirá mejorar la eficacia de los sistemas de control de las malas hierbas, suponiendo un avance cualitativo importante en el control de las poblaciones de malas hierbas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto de investigación AGRI-SOST II. P2013-ABI-2717 (Comunidad de Madrid). Los autores agradecen a José Silveria Blanco y F^{co} Javier Ruiz Rodríguez, personal de la finca "La Canaleja", su profesional apoyo y dedicación en el trabajo de campo realizado.

BIBLIOGRAFÍA

HAGHIGHI RS, CRITCHLEY N, LEIFERT C, EYRE M & COOPER J (2013) Individual and interactive effects of crop type and management on weed and seed bank composition in an organic rotation. *International Journal of Plant Production* 7, 243-268.

MALONE CR (1967) A rapid method for enumeration of viable seeds in soil. *Weed Science* 15, 381-382.

MULUGETA D & STOLTENGERG DE (1997) Weed and weed seedbank management with integrated methods as influenced by tillage. *Weed Science* 45, 706-715.

SONOSKIE LM, HERMS CP & CARDINA J (2006) Weed seed bank community composition in a 35-yr-old tillage and rotation experiment. *Weed Science* 54, 263-273.

EL PATOSISTEMA *DIGITARIA SANGUINALIS* - *USTILAGO SYNTHERISMAE*: CAMBIOS EN EL DESARROLLO REPRODUCTIVO DE LAS PLANTAS DEBIDO A LA INFECCIÓN CAUSADA POR EL HONGO

Verdú A.M.*, Mas M.T.

*Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia (DEAB),
Escola Superior d'Agricultura de Barcelona (ESAB), Universitat
Politècnica de Catalunya (UPC), c/ Esteve Terradas 8, 08860
Castelldefels, Barcelona.
* amc.verdu@upc.edu*

Resumen: El objetivo del estudio fue conocer cómo la infección por carbón causado por *Ustilago syntherismae* afecta al número de ápices reproductivos (NAR) que forman las plantas de garranchuelo (*Digitaria sanguinalis*) en una generación. Se marcaron 24 cuadrados de 0,25m², se escardaron manualmente para dejar únicamente plantas de garranchuelo, y se registraron la densidad y NAR de cada planta. El NAR se sometió a un análisis de la covarianza que contempló el efecto principal tipo de individuo (con carbón o sin carbón), la densidad, y su interacción. El tipo de ápice reproductivo y la interacción fueron muy significativos en el rango de densidades registrado (de 12 a 156 pl m⁻²). A densidades elevadas, la media del NAR de las plantas con carbón casi dobló la de las plantas aparentemente sanas, es decir las plantas enfermas desarrollaron más soros que inflorescencias se hubieran formado en plantas sanas.

Palabras clave: Micoherbicida, Poaceae, telióspora, semilla, competencia.

Summary: ***Digitaria sanguinalis - Ustilago syntherismae pathosystem: changes in the reproductive development of plants due to fungal infection.*** The main objective of our study was to evaluate how the infection by *Ustilago syntherismae* (loose smut) can affect the number of apical reproductive buds (NAR) formed in *Digitaria sanguinalis* plants during one generation. The study was performed using 24 quadrats of 0.25m² in which seedlings of other species were removed. The large crabgrass densities and the NAR of each plant were obtained. The NAR was subjected to an analysis of covariance considering the type of plant (smutted or non-smutted) as a principal effect, the plant density, and their interaction. The type of reproductive bud and the interaction were highly significant sources of variance at the observed densities (ranging from 12 to 156 pl m⁻²). At high plant densities, NAR of smutted

plants was, on average, near to the double of that non-smutted plants. The number of sori registered in smutted plants was much higher than the expected number of inflorescences if they would not have been infected.

Keywords: Micoherbicide, Poaceae, teliospore, seed, competition.

INTRODUCCIÓN

Las plantas de garranchuelo (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) infectadas por *Ustilago syntherismae* (Schwein.) Peck pueden desarrollar una enfermedad cuyo signo más evidente es la substitución de las inflorescencias digitadas portadoras de semillas por soros de teliósporas del hongo (Vánky, 1994). En *D. sanguinalis*, las inflorescencias (o masas de esporas si es el caso) siempre ocupan la posición apical de un tallo (Perreta et al., 2011), de forma que en una planta el número de inflorescencias que lleguen a madurar, en definitiva su capacidad reproductiva, depende, entre otras cosas, del número de ápices terminales de tallos que tenga. A su vez, la forma que una determinada planta vaya tomando durante su desarrollo depende de su interacción con el entorno, de factores intrínsecos, y de la posible interacción entre ellos (Crawley, 1997).

El objetivo principal del presente trabajo fue conocer si la presencia interna del hongo endófito se relaciona o no con el número de ápices de tallo reproductivos que se forman, tomando en consideración que este parámetro puede también verse afectado por la competencia (intraespecífica y/o interespecífica).

MATERIAL Y MÉTODOS

El 27 de agosto de 2009 se marcaron 24 cuadrados de 0,25 m² distribuidos regularmente a lo largo de cuatro transectos paralelos separados por 2m en una parcela de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Barcelona). Se trata de una parcela en la que desde 2004 se ha ido registrando la presencia de plantas de *D. sanguinalis* con carbón y sin carbón (Mas et al., 2006; Gallart et al., 2009).

La emergencia del garranchuelo ocurrió como una única cohorte tardía. Los cuadrados se mantuvieron únicamente con plantas de la especie estudiada mediante escarda manual. En noviembre se levantó el experimento, se hizo un recuento del número de individuos sanos y enfermos en cada cuadrado y se obtuvo el número de ápices de tallo con estructuras reproductivas de cada planta (NAR): número de inflorescencias en caso de plantas aparentemente sanas y número de masas de esporas

en plantas enfermas, puesto que cada ápice puede finalizar su desarrollo formando o bien una inflorescencia digitada en el caso de ápices portadores de semillas, o bien un soro en el caso de ápices portadores de teliósporas.

Se realizó un análisis de la covarianza del NAR por individuo, contemplando el factor fijo "tipo de individuo" con dos niveles, con carbón y sin carbón (enferma o aparentemente sana), la covariable densidad de plantas, y la interacción entre ambas fuentes de variación. El NAR se transformó mediante la raíz cuadrada del valor más 3/8, y el valor de densidad mediante logaritmo decimal. Las medias de los niveles del factor fijo se compararon mediante el test de Tukey-Kramer. Tanto para el análisis de la covarianza como para la separación de medias se utilizó el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tipo individuo, así como la interacción tipo de individuo \times densidad fueron fuentes de variación muy significativas (Tabla 1); las densidades oscilaron entre 12 pl m⁻² y 156 pl m⁻², fueron bajas en comparación a las que se dieron en campañas anteriores (Gallart et al., 2009). A una densidad promedio (77,8 pl m⁻²) no hubo diferencias entre los valores promedio del número de estructuras reproductivas por planta, pero a densidades bajas (25 pl m⁻²) las plantas sanas presentaron, en promedio, 19 inflorescencias, y las enfermas seis masas de esporas, mientras que a densidades altas (125 pl m⁻²) las plantas sanas desarrollaron ocho inflorescencias y las enfermas 15 masas de esporas (Figura 1).

Tabla 1. Análisis de la covarianza del número de ápices reproductivos por individuo de *D. sanguinalis* (raíz cuadrada de NAR+3/8), considerando el efecto principal "tipo de individuo" (aparentemente sano o con carbón), la covariable logaritmo decimal de la densidad de plantas y la interacción entre ambas fuentes de variación.

Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Tipo de ápice reproductivo	1	27,29	12,59	0,0004
Densidad	1	0,03	0,01	0,9057
Tipo de ápice reproductivo x Densidad	1	28,86	13,32	0,0003
Error	320	2,17		

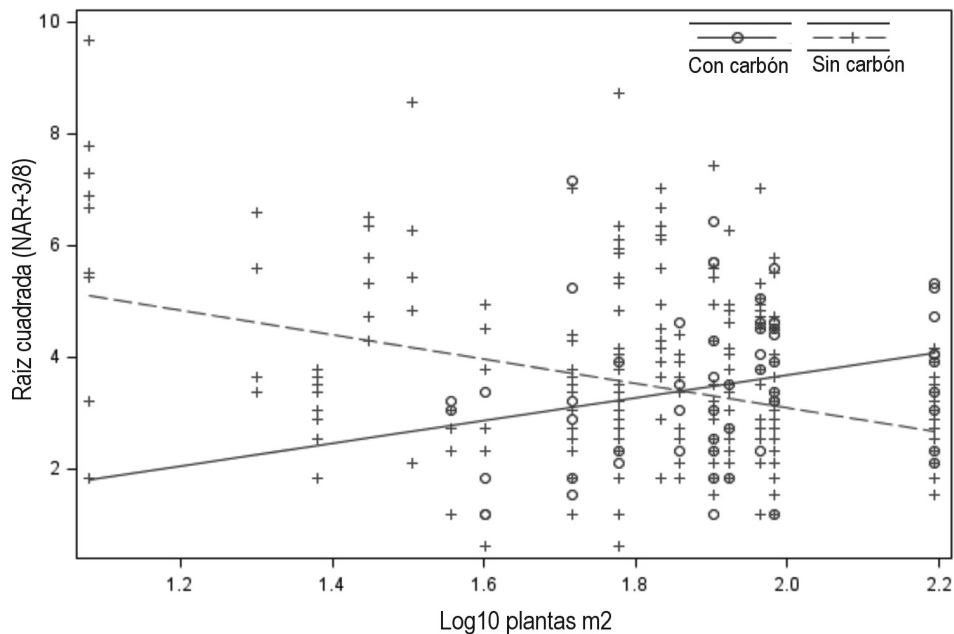


Figura 1. Variación del NAR por planta en función de la densidad y del tipo de individuo (aparentemente sano o con carbón). La línea continua y los círculos vacíos corresponden a los valores de las plantas con carbón, mientras que la línea discontinua y las cruces representan los valores de las plantas aparentemente sanas, formadoras de inflorescencias con semillas. El número de ápices reproductivos por planta (NAR) se transformó (raíz cuadrada +3/8) y la densidad también (logaritmo decimal del número de plantas por m²).

Los resultados indican que existen diferencias importantes en el desarrollo de las plantas de *D. sanguinalis* en función de si tienen carbón o no, y confirman los resultados de otros trabajos dedicados al estudio de la interacción *D. sanguinalis-U. syntherismae* (Gallart et al., 2009; Verdú & Mas, 2015). Las plantas con carbón, a densidades elevadas, desarrollan casi el doble de masas de teliósporas que las inflorescencias que forman las plantas sanas a esas mismas densidades. Ello podría deberse a que el hongo modifique de alguna manera el desarrollo de las plantas, o a que infecte plantas con más capacidad intrínseca de formar estructuras reproductivas (Burdon, 1987).

Los resultados obtenidos son relevantes para definir una estrategia de control biológico de garranchuelo, puesto que el número de masas de esporas que se forman es un parámetro directamente relacionado con la dispersión del patógeno.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha contado con la asistencia técnica de Maria Julià y Sheila Alcalá (DEAB, UPC). Nuestro agradecimiento al Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) por facilitarnos el trabajo en la finca de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Barcelona).

BIBLIOGRAFÍA

BURDON JJ (1987) *Diseases and plant population biology*. Cambridge University Press, Cambridge.

CRAWLEY MJ (1997) *Plant ecology*. Blackwell Science.

GALLART M, MAS MT & VERDÚ AMC (2009) Effects of loose smut on *Digitaria sanguinalis* population depending on seeding emergence period. *Acta Oecologica* 35, 409-414.

MAS MT, VERDU AMC & GIRBAL J (2006) New report of loose smut (*Ustilago syntherismae*) on *Digitaria sanguinalis* in Spain. *Plant Pathology* 55, 298.

PERRETA M, RAMOS J, TIVANO JC & VEGETTI A (2011) Descriptive characters of growth form in Poaceae - An overview. *Flora* 206, 283-293.

SAS (2002) *Statistical Analysis Systems, Software Version 9.2*. SAS Institute Inc., Cary, NC.

VÁNKY K (1994) *European smut fungi*. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart.

VERDÚ AMC & MAS MT (2015) Density-related effects on the infectivity and aggressiveness of a sterilising smut in a wild population of *Digitaria sanguinalis*. *Plant Biology* 17, 281-287.



XV CONGRESO DE MALHERBOLOGÍA

SEMH 2015

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica

CONTROL QUÍMICO

BÚSQUEDA DE HERBICIDAS EN LEGUMINOSAS GRANO: HERBICIDAS DE PREEMERGENCIA EN HABAS

Alcántara C.^{1*}, Pedraza V.¹, Saavedra M.¹, Castilla A.², Perea F.³

Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Junta de Andalucía. Áreas de Producción Agraria y Protección de Cultivos

¹*Centro Alameda del Obispo, Apdo. 3092, 14080 Córdoba, España.*

²*Rancho de la Merced.*

³*Las Torres Tomejil.*

* *mariac.alcantara@juntadeandalucia.es*

Resumen: Ante la escasez de herbicidas autorizados en leguminosas, se realizaron dos ensayos en habas con 10 herbicidas elegidos por estar autorizados en otras leguminosas o en otros países. Ninguno de los productos resultó totalmente eficaz y selectivo. Algunos de los herbicidas de preemergencia autorizados en España en habas para grano resultaron menos eficaces contra las malas hierbas y produjeron mayor fitotoxicidad que otros no autorizados. Así mismo, productos autorizados en Francia resultaron fitotóxicos en nuestras condiciones. Los mejores resultados se obtuvieron con metribuzina por su buen control y baja fitotoxicidad, seguido de ixosaben y aclonifen. Sin embargo será necesario ajustar dosis y buscar otras alternativas, como combinaciones de productos o estrategias de control para mejorar las eficacias y la selectividad, y sobre todo elegir los productos en función de las especies de malas hierbas dominantes en cada finca.

Palabras clave: Leguminosas grano, habas, eficacia, preemergencia, selectividad.

Summary: Screening of herbicides in grain legumes: pre-emergence herbicides in faba beans. Faced with a shortage of herbicides in legumes, two trials were conducted in faba beans to evaluate 10 herbicides elected by being authorized in other legumes or in other countries. None of the product was completely effective and selective. Some of the pre-emergence herbicides authorized in Spain for grain faba beans were less effective against weeds and produced more phytotoxicity than others not authorized. Likewise, products authorized in France turned out quite phytotoxic in our conditions. The best results were obtained with metribuzin by its effective weed control and low phytotoxicity, followed by ixosaben and aclonifen. However it will be necessary to adjust dose, to look for other alternatives, such as combinations of products or control

strategies to improve effectiveness and selectivity, and above all choose the products depending on the species of dominant weeds in each farm.

Keywords: Grain legumes, faba beans, efficacy, pre-emergence, selectivity.

INTRODUCCIÓN

Las leguminosas para grano han sido cultivadas tradicionalmente en los secanos andaluces. Su capacidad de fijar el N atmosférico hace además que sean cultivos muy apreciados en la rotación con el trigo. Sin embargo, la superficie de cultivo ha disminuido en los últimos años de 131.835 ha en el año 1996 a menos de 40.000 ha a partir del año 2008, debido a: la falta de buenas variedades comerciales (a pesar de que los organismos de investigación cuentan con líneas y variedades productivas y resistentes a enfermedades), los problemas para controlar algunas enfermedades y la especie parásita *Orobanche crenata*, los bajos precios y sobre todo las dificultades para controlar la hierba.

La diversidad y abundancia de hierbas en estas tierras, más de 250 especies catalogadas solo en Córdoba (Hidalgo, 1988), y entre ellas la presencia de especies de gran porte muy competitivas, junto a la falta de herbicidas autorizados eficaces, hacen que sea este uno de los principales escollos para cultivar leguminosas. En particular, la falta de herbicidas autorizados para control de dicotiledóneas en estos cultivos ha llevado al planteamiento de una serie de ensayos en habas, guisantes y garbanzos, que son las más cultivadas.

El objetivo de este trabajo ha sido la evaluación de eficacia y fitotoxicidad de herbicidas de preemergencia en habas, seleccionados entre los autorizados en España, en países del sur de Europa, o en otros cultivos de leguminosas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron 2 ensayos en sendas fincas del IFAPA: Alameda del Obispo (Córdoba) y Tomejil (Carmona, Sevilla), en zonas muy infestadas y sin cultivo el año anterior. Se sembró el 20 y 27 de noviembre respectivamente, la variedad Amcor, a dosis de 160 kg/ha, con sembradora convencional, en líneas separadas 17 cm. Se evaluaron 10 herbicidas (Tabla 1) y un testigo sin tratar ni escardar. Las dosis elegidas fueron las dosis máximas autorizadas en el cultivo y/o país correspondiente. El diseño experimental fue bloques al azar con cuatro repeticiones y parcelas elementales de 30 m². Los tratamientos se realizaron el 28/11/2013 en Alameda y el 17/12/2013 en Tomejil en pre-emergencia del cultivo, a baja

presión y 400 l/ha de caldo, con boquillas antideriva de abanico plano y velocidad de 6 km/h. El ancho de tratamiento fue de 4 m, dejando a ambos lados de cada parcela 0,5 m sin tratar. Las temperaturas medias los días de aplicación fueron 8,7 y 11,4 °C y la velocidad del viento de 2,3 y 2,1 m/s en Alameda y Tomejil respectivamente.

Tabla 1. Materias activas, productos comerciales y dosis evaluadas en habas en las localidades de Alameda y Tomejil.

Nº	Tratamientos			Autorización en habas para grano
	Materia activa	Producto comercial	Dosis	
			Nombre l/ha o kg/ha	
1	Imazamox 1,67% + pendimetalina 25%	Mutual	4	NO (sí en guisante)
2	Pendimetalina 33%	Órdago	6	Sí
3	Clomazona 36%	Command CS	0,25	NO (sí en guisante para verde)
4	Prosulfocarb 80 %	Auros-A. 80 EC	6	NO (sí en guisante)
5	Linurón 45%	Medelinon Flow	1	NO (sí en haba verde y guisante)
6	Fluorocloridona 25%	Racer 25 CS-ES	1,5	NO (sí en Francia)
7	Metribuzina 70%	Krone WG	0,75	NO (sí en alfalfa)
8	Propizamida 40%	Kerb Flo	1,875	NO (sí en Francia)
9	Isoxabén 50%	Rokenyl 50	0,2	NO (sí en Francia)
10	Aclonifén 60%	Challenge	4,5	Sí

La emergencia del cultivo en nº medio de plantas/m² se obtuvo en cada parcela en 10 marcos de 0,1 m².

La fitotoxicidad sobre el cultivo se estimó visualmente el 23 de enero de 2014 y 25 de febrero en Alameda y el 26 de febrero 2014 en Tomejil estando las habas en los estadios de crecimiento longitudinal del tallo principal (35), inicio de floración (59) y aparición del órgano floral según la escala BBCH (51) respectivamente. La escala de % de daño empleada fue: 0 sin daño-100 planta muerta y se describió el tipo de daño: clorosis, necrosis, deformación y/o enanismo.

El porcentaje de control de cada mala hierba respecto al testigo se estimó según la escala de 0 a 100 siendo 0 (sin control)-100 (control total), el 27/3/2014 (Alameda) y 10/4/2014 (Tomejil) en floración del cultivo (estadio 65 según la escala BBCH). La biomasa de malas hierbas y del cultivo se determinó un mes más tarde, cuando el cultivo cubre el suelo, en 2 bloques, tomando en 2 muestras de 1 m² el peso fresco del cultivo y de las malas hierbas separándolas por familias.

La producción se estimó solo en Alameda de forma indirecta, a partir del número de plantas/m² y la producción obtenida de 10 plantas tomadas al azar en cada parcela.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La densidad de plantas instaladas fue ligeramente mayor en Alameda que en Tomejil. No hubo diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada finca.

Los daños por fitotoxicidad se muestran en la Figura 1. En Alameda fueron superiores al 20% en los tratamientos 1, 2, 6 y 9, mientras que en Tomejil solo superaron el 20% de fitotoxicidad los tratamientos 6 y 9. En Alameda en conjunto los daños fueron más acusados, si bien remitieron considerablemente un mes después. Los tratamientos 1 y 2 produjeron deformaciones en las plantas, el 6 provocó claros daños de clorosis y el 9 retraso en el crecimiento y ligera decoloración. El tratamiento 7 destacó por el buen aspecto del cultivo.

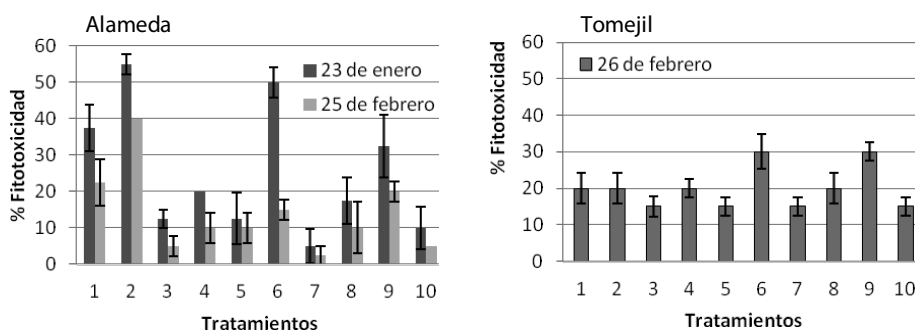


Figura 1. Fitotoxicidad en habas por diferentes tratamientos herbicidas en las dos localidades. Tratamientos: 1. Imazamox 1,67% + Pendimetalina 25%, 2. Pendimetalina 33%, 3. Clomazona 36%, 4. Prosulfocarb 80%, 5. Linuron 45%, 6. Fluorcloridona 25%, 7. Metribuzina 70%, 8. Propizamida 40%, 9. Isoxaben 50%, 10. Aclonifen 60%, 11. Testigo. Las barras en cada tratamiento representan el error estándar de las medias.

La flora en ambas localidades fue diferente. La presión de malas hierbas fue mayor en Tomejil, tanto por la cobertura y biomasa de malas hierbas alcanzada, como por la diversidad de especies catalogadas. En Alameda dominaron: *Chrysanthemum coronarium*, *Medicago polymorpha* y *Raphanus raphanistrum*, y en Tomejil: *Sinapis arvensis*, *Picris echioides*, *Ridolfia segetum* y *Galium tricornutum*.

Las eficacias en Alameda fueron en general bajas (Tabla 2), pero se observó buen control de crucíferas con los tratamientos 10, 6 y 5, así como de fumariáceas con los tratamientos 2, 6 y 1, que se mostraron muy eficaces o eficaces. Sólo la materia activa 9 mostró un control eficaz

sobre las compuestas. Como cabría esperar ninguna materia activa tuvo una eficacia alta sobre las leguminosas espontáneas, aunque el tratamiento 3 se mostró medianamente eficaz. Destacaron en el control de gramíneas los tratamientos 8 y 4, siendo poco o nada eficaces el resto de tratamientos. Las eficacias en Tomejil también fueron bajas aunque hubo buen control de crucíferas con la mayoría de los tratamientos. En el control de compuestas destacó el tratamiento 10 y los tratamientos 2 y 9 alcanzaron eficacias medias. Ninguna materia activa fue altamente eficaz contra *R. segetum* y *G. tricornutum* pero para ambas se alcanzaron eficacias medias con el tratamiento 9, así como con el tratamiento 8 para nerdos. De nuevo en el control de gramíneas destacó el tratamiento 8. Cabe destacar que el tratamiento 7 a pesar de que no presentó eficacias elevadas contra ninguna mala hierba en concreto, consiguió frenar el desarrollo de la mala hierba en general, disminuyendo la competencia entre ellas haciendo un control equilibrado de la misma, excepto de *Gallium* en Tomejil donde no se observó control.

Tabla 2. Porcentaje de eficacia respecto al testigo de cada una de las materias activas sobre las principales malas hierbas presentes.

Tratamiento Nº	Alameda (27/3/2014)					Tomejil (10/4/2014)				
	CRUCÍFERAS <i>R. raphanistrum</i>	COMPUESTAS <i>C. coronarium,</i> <i>C. pullata</i>	LEGUMINOSAS <i>M. polymorpha</i>	FUMARIÁCEAS <i>F. parviflora</i>	GRAMÍNEAS <i>L. rigidum,</i> <i>A. sterilis</i>	CRUCÍFERAS <i>S. arvensis</i>	COMPUESTAS <i>P.</i> <i>echioides</i>	UMBELÍFERAS <i>R. segetum</i>	RUBIÁCEAS <i>G. tricornutum</i>	GRAMÍNEAS <i>P. brachystachys</i>
1	17	46	10	80	15	45	25	16	0	25
2	70	54	30	100	31	47	75	0	0	14
3	63	13	73	13	10	0	50	38	15	0
4	33	28	10	60	87	81	25	16	20	7
5	90	54	5	0	41	64	0	0	20	0
6	97	51	0	93	15	98	40	0	0	4
7	53	31	28	33	23	91	40	49	0	64
8	37	15	10	47	95	96	0	51	0	100
9	70	77	33	60	-	98	65	59	60	-
10	100	56	18	0	-	100	95	0	50	-

En la Figura 2 se representan las biomásas, en peso fresco, obtenidas de cultivo y mala hierba en cada tratamiento y localidad.

En Alameda el cultivo superó en biomasa a la hierba en todos los tratamientos ya que las malas hierbas presentes en esta localidad no fueron muy abundantes ni excesivamente competitivas. Además, excepto el

tratamiento 8, todas las biomases de cultivo fueron superiores al testigo (tratamiento 11), aunque no hubo diferencias significativas. Destacó por la elevada producción de biomasa de cultivo y poca biomasa de hierba el tratamiento 7, seguido del tratamiento 5.

En Tomejil las malas hierbas fueron mucho más abundantes y competitivas y produjeron más biomasa que el propio cultivo en los tratamientos 2, 3, 4, 5, 6, 8 y en el testigo (tratamiento 11). Por el contrario la biomasa del cultivo superó a la de las malas hierbas en los tratamientos 1, 7, 9 y 10. El mayor valor de peso fresco de habas se obtuvo en el tratamiento 10, seguido del 7.

En Alameda, localidad en la que fue posible estimar la producción, los tratamientos 5, 7 y 9 proporcionaron cosechas muy superiores a la del testigo ($\geq 50\%$), y los tratamientos 1, 6 y 10 los incrementaron entre el 20% y 30%. En cambio las cosechas en los tratamientos 2, 3, 4 y 8 fueron similares a la del testigo. Estos datos vienen a corroborar lo ya visto al analizar el control sobre las malas hierbas y la fitotoxicidad sobre el cultivo.

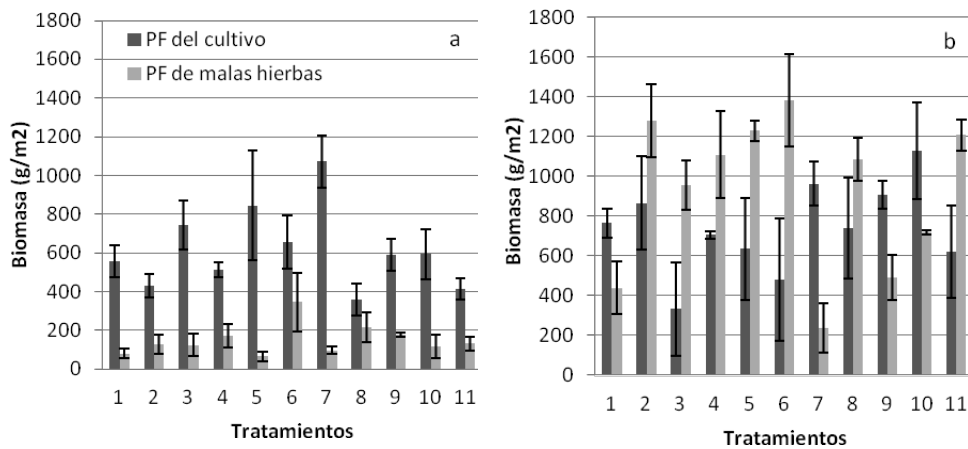


Figura 2. Biomasa en peso fresco de malas hierbas en cada tratamiento en Alameda (a), 25 abril y Tomejil (b), 9 mayo. Tratamientos: 1. Imazamox 1,67% + Pendimetalina 25%, 2. Pendimetalina 33%, 3. Clomazona 36%, 4. Prosulfocarb 80%, 5. Linuron 45%, 6. Fluorcloridona 25%, 7. Metribuzina 70%, 8. Propizamida 40%, 9. Isoxaben 50%, 10. Aclonifen 60%, 11. Testigo. Las barras representan el error estándar de las medias.

CONCLUSIONES

Ninguno de los productos fue totalmente eficaz y selectivo. Alguno de los tratamientos herbicidas autorizados en España en habas para grano resultaron menos eficaces y produjeron mayor fitotoxicidad que otros

no autorizados. Así mismo, productos autorizados en Francia resultaron bastante fitotóxicos en nuestras condiciones. Destacaron por su eficacia contra las principales especies la metribuzina y el ixosaben, sin embargo sólo en el caso de la metribuzina no se produjeron daños apreciables de fitotoxicidad. Para conseguir un control eficaz de malas hierbas y selectivo para habas será necesario ajustar dosis y establecer estrategias que incluyan el uso de herbicidas de post-emergencia o combinaciones de productos que permitan cubrir el control sobre un amplio espectro de malas hierbas además de elegir los productos en función de las especies de malas hierbas dominantes en cada finca.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Social Europeo (FSE) dentro del Programa Operativo de Andalucía 2007-2013 "Andalucía se mueve con Europa" por el contrato de C. Alcántara. Al proyecto Transforma TRT201300.1 "Innovación en Cultivos Herbáceos Extensivos" a través del cual se ha financiado la investigación. A todo el personal de campo y laboratorio que ha participado en la realización de los ensayos. A los técnicos de casas comerciales Dow Agroscience, Nufarm, BASF y Adama (Makhteshin Agan) por facilitarnos algunos de los herbicidas evaluados. A Asaja Córdoba y agricultores particulares por su colaboración.

BIBLIOGRAFÍA

HIDALGO B (1988) *Estudio Cuantitativo de las Comunidades Arvenses en los Cultivos de Secano de la Campiña de Córdoba*. Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba, España, 221 pp.

CONTROL DE *CONYZA* Y *LOLIUM* RESISTENTE A GLIFOSATO

Álvarez-Saborido A.*

Monsanto Agricultura España S.L., Avda. de Burgos 17 10^a. 28036 Madrid.

* *antonio.a.saborido@monsanto.com*

Resumen: Con el fin de frenar y aportar soluciones a los problemas de resistencias a glifosato, aparecidos en los últimos años en algunas poblaciones de *Conyza* y *Lolium* en campos de olivar y cítricos, se establecieron 8 ensayos en *Conyza* y 7 en *Lolium* durante los años 2012 y 2013. En estos ensayos se evaluaron distintas materias activas que podrían emplearse en la rotación de herbicidas en estos cultivos. El control químico se realizó en el estadio de roseta para la *Conyza* y en el de 3-6 hojas para el *Lolium*. Las materias activas que mejor se comportaron fueron MCPA, fluroxipir, iodosulfuron, flazasulfuron y glufosinato para *Conyza*, y flazasulfuron, Iodosulfuron, y quizalofop para *Lolium*.

Palabras clave: Resistencia, herbicidas, control integrado, olivar, cítricos.

Summary: Control of *Conyza* and *Lolium* resistant to glyphosate. In order to slow down and provide solutions to the problems of resistance to glyphosate that have appeared during last years in some populations of *Conyza* and *Lolium* in olive and citrus fields, 8 trials in *Conyza* and 7 in *Lolium* were performed during the years 2012 and 2013. In these trials different active ingredients that could be used in the herbicides rotation in these crops were evaluated. Chemical control was performed at the rosette stage for *Conyza* and the 3-6 leaves for *Lolium*. The active substances that performed better were MCPA, fluroxypyr, iodosulfuron, flazasulfuron and glufosinate for *Conyza*, and flazasulfuron, iodosulfuron, and quizalofop for *Lolium*.

Keywords: Resistance, herbicides, integrated control, olive, citrus.

INTRODUCCIÓN

Dentro de una estrategia efectiva en la prevención y control de casos de resistencias a herbicidas, junto con actuaciones culturales como la rotación de cultivos, uso de cubiertas vegetales, etc. y el uso de medios mecánicos, también se debe considerar el control químico mediante

materias activas con un modo de acción distinto al cual se ha generado la resistencia (González-Torrvalva et al., 2009). Durante los últimos años, los problemas de control en cultivos de cítricos y olivar de poblaciones de *Conyza* (Urbano et al., 2007) y *Lolium* (De Prado, 2007) resistente a glifosato han ido en aumento, así como la dificultad de los agricultores para encontrar una solución química efectiva en el control de estas poblaciones. En el siguiente trabajo se resumen los trabajos realizados durante los años 2012 y 2013 con el fin de identificar las materias activas, autorizadas en cultivos de olivar y cítricos, que podrían usarse dentro de la rotación de herbicidas que se aconsejaría en un sistema de Gestión Integrada de Malas hierbas en poblaciones de *Conyza* y *Lolium* resistentes a glifosato.

MATERIAL Y MÉTODOS

Aunque ante poblaciones de malas hierbas resistente a glifosato es recomendable utilizar otros métodos de manejo de malas hierbas (químicos o no) que no incluyan glifosato en su programación, debido a lo común que es encontrarse otras especies no resistente conviviendo en el campo, se ha querido evaluar el comportamiento del glifosato con estos herbicidas alternativos para el control de resistencias a glifosato.

Ensayos en *conyza*

Durante los años 2012 y 2013 se realizaron 8 ensayos en *Conyza* en diversas localidades, en cultivos de olivar y cítricos. La relación de ensayos y localidades, así como las fechas de aplicación se encuentran resumidas en la Tabla 1.

Tabla 1. Localidades y fechas de aplicación. Ensayos *Conyza*.

Año	Protocolo	Ensayo	Localidad	Aplic. A	Aplic. B	Aplic. C
2012	2011-10-09-13	2012A83A03	Córdoba	23-ene	29-feb	09-may
2012	2011-10-09-13	2012A83A04	Orihuela	30-dic	28-mar	30-abr
2012	2011-10-09-13	2012A83A05	Serpa	30-ene	15-mar	11-may
2013	2012-10-09-03	2013A83A02	Guadalcazar	01-mar	18-mar	16-may
2013	2012-10-09-03	2013A83A03	Villafranca	06-abr	03-may	14-may
2013	2012-10-09-03	2013A83A04	Almodóvar	06-abr	03-may	15-may
2013	2012-10-09-03	2013A83A09	Utrera	04-feb	25-abr	01-jun
2013	2012-10-09-03	2013A83A30	Llombay	28-ene	09-may	08-jul

Aplic. A, B y C corresponden a 3 momentos de aplicación distintos.

Se establecieron 2 protocolos distintos. Protocolo "2011-10-09-13" (Tabla 2) en el año 2012 y el protocolo "2012-10-09-03" (Tabla 3) en el año 2013. Debido a la diferencia de susceptibilidad a los tratamientos herbicidas que presenta la *Conyza* en función de su estado de desarrollo (González-Torralva et al., 2010), se establecieron 3 momentos de aplicación (Aplic. A, B y C).

Tabla 2. Protocolo *Conyza* "2011-10-09-13". Año 2012. Lista de tratamientos.

Trt	Producto	Dosis
1	Testigo	0
2	Glifosato (B)	720
3	Glifosato (B)	2160
4	Isoxaben (A) + Glifosato (B)	1000 + 2160
5	Pendimetalina (A) + Glifosato (B)	1980 + 2160
6	Flumioxazina (A) + Glifosato (B)	600 + 2160
7	Oxifluorfen (A) + Glifosato (B)	960 + 2160
8	Amitrol (B) + Glifosato (B)	1440 + 2160
9	Flazasulfuron (B) + Glifosato (B)	50 + 2160
10	Glifosato (B) + Glufosinato (C)	2160 + 750
11	Pendimetalina (A) + Diquat (B)	1980 + 800
12	Fluometuron + Terbutilazina (A) + Glifosato (B)	990 + 990 + 2160
13	Diflufenican (A) + Glifosato (B)	320 + 2160
14	Iodosulfuron (B) + Glifosato (B)	50 + 720
15	MCPA + Glifosato (B)	1080 + 1080
16	MCPA + Glifosato (B) + MCPA + Glifosato (C)	1080 + 1080 + 1080 + 1080
17	Glifosato (B) + Fluroxipir (C)	2160 + 300
18	Glifosato (B) + Clopiralida (C)	2160 + 128

(A): Pre-emergencia, (B): Roseta, (C): Tallo < 25cm.

El diseño elegido en todos los ensayos fue el de bloques al azar con 3 repeticiones, y un tamaño de parcela de 2 m de ancho x 10 m de largo.

Todos los ensayos fueron aplicados usando un equipo pulverizador de aire comprimido provisto de cuatro boquillas de abanico plano y distribución homogénea Albus amarilla (API 110). Las aplicaciones se realizaron a presión constante de 2 bares (200 kPa), a una altura de 50 cm del suelo y con un volumen de caldo de 200 l/ha, excepto los herbicidas residuales que fueron aplicados con un volumen de caldo de 400 l/ha.

La eficacia de los distintos tratamientos se evaluó de forma visual a los 30 y 60 días después de cada aplicación en comparación con el testigo sin tratar. Se usó una escala de 0 a 100, donde el 0 representa la aparente ausencia de efecto herbicida y 100 la muerte de la planta.

Los resultados de los ensayos se han presentado mediante gráficas de caja y bigotes y el análisis estadístico de los resultados se realizó con el paquete estadístico Minitab, con un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor y una separación de medias con el test de Fisher, utilizando un nivel de significación $\alpha = 0,05$.

El protocolo realizado en 2012 se estableció con el fin de identificar las materias activas más eficaces en el control de *Conyza*.

En el protocolo del 2013 se volvieron a evaluar los herbicidas que tuvieron mejores eficacias en 2012, comparándose la mezcla con glifosato en tanque (1 aplicación) con la aplicación en secuencia de los 2 herbicidas (2 aplicaciones). También se evaluó el efecto del desbrozado (Apl. C), antes de la floración, en la producción de semillas.

Tabla 3. Protocolo *Conyza* "2012-10-09-03". Año 2013. Lista de tratamientos.

Trt	Producto	Dosis
1	Testigo + Desbrozado (C)	0
2	Glifosato (A) + Desbrozado (C)	720
3	Glifosato (A)	2160
4	Glifosato (A) + Desbrozado (C)	2160
5	Glifosato (A) + Amitrol (B)	2160 + 1440
6	Glifosato (B) + Amitrol (B)	2160 + 1440
7	Glifosato (A) + Flazasulfuron (B)	2160 + 50
8	Glifosato (B) + Flazasulfuron (B)	2160 + 50
9	MCPA + Glifosato (A) + MCPA + Glifosato (B)	1080 + 1080 + 1080 + 1080
10	Glifosato (A) + Fluroxipir (B)	2160 + 300
11	Glifosato (B) + Fluroxipir (B)	2160 + 300
12	Glifosato (B) + Clopiralida (B)	2160 + 128
13	Glifosato (A) + Glufosinato (B)	2160 + 750

(A): Roseta precoz, (B): Final roseta - Inicio tallo, (C): Inicio floración.

Ensayos en *Lolium*

Durante los años 2012 y 2013 se realizaron 7 ensayos en *Lolium* en diversas localidades, en cultivos de olivar y cítricos con poblaciones de *Lolium* resistente a glifosato. La relación de ensayos y localidades, así como las fechas de aplicación se encuentran resumidas en la Tabla 4.

Al igual que en los ensayos de *Conyza*, se establecieron 2 protocolos distintos con el fin de identificar las materias activas con mejor control de las poblaciones de *Lolium* resistente a glifosato y las posibles diferencias a la hora de hacer mezclas en tanque con glifosato o secuencia de aplicación de los 2 herbicidas. También se evaluó el efecto del desbrozado

(Aplic. C), antes de la floración, en la producción de semillas. Las Tablas 5 y 6 corresponden a los 2 protocolos utilizados.

Tabla 4. Localidades y fechas de aplicación. Ensayos *Lolium*.

Año	Protocolo	Ensayo	Localidad	Aplic. A	Aplic. B	Aplic. C
2012	2011-10-09-14	2012A83A06	Pinhão		08-dic	
2012	2011-10-09-14	2012A83A07	Villarreal	09-ene	06-feb	
2013	2012-10-09-04	2013A83A05	Pinhão	29-ene	14-mar	09-may
2013	2012-10-09-04	2013A83A06	Pinhão	30-ene	14-mar	09-may
2013	2012-10-09-04	2013A83A07	Villan. Arzo.	18-dic	21-mar	24-abr
2013	2012-10-09-04	2013A83A08	Villan. Arzo.	11-dic	21-mar	24-abr
2013	2012-10-09-04	2013A83A27	Onda	25-ene	28-mar	01-jun

Aplic. A, B y C corresponden a 3 momentos de aplicación distintos.

Tanto el diseño de los ensayos como la metodología de aplicación y el tratamiento estadístico de los datos fueron los mismos que los utilizados en los ensayos de *Conyza*.

Tabla 5. Protocolo *Lolium* "2011-10-09-14". Año 2012. Lista de tratamientos.

Trt	Producto	Dosis
1	Testigo	0
2	Glifosato (B)	720
3	Glifosato (B)	1800
4	Oxifluorfen (A) + Glifosato (C)	960 + 1800
5	Amitrol (B) + Glifosato (B)	1440 + 1800
6	Cicloxdim (B) + Glifosato (C)	250 + 1800
7	Fluazifop (B) + Glifosato (C)	250 + 1800
8	Flazasulfuron (B) + Glifosato (C)	50 + 1800
9	Pendimetalina (A) + Glifosato (C)	1980 + 1800
10	Flumioxazina (A) + Glifosato (C)	600 + 1800
11	Cletodim (B) + Glifosato (C)	100 + 1800
12	Iodosulfuron (B) + Glifosato (C)	50 + 1800
13	Quizalofop (B) + Glifosato (C)	125 + 1800
14	Fluometuron + Terbutilazina (A) + Glifosato (C)	990 + 990 + 1800
15	Pendimetalina (A) + Diquat (C)	1980 + 800

(A): Pre-emergencia – 1 hoja, (B): 3 – 6 hojas, (C): Ahijado.

**Tabla 6. Protocolo *Lolium* "2012-10-09-04".
Año 2013. Lista de tratamientos.**

Trt	Producto	Dosis
1	Testigo + Desbrozado (C)	0
2	Glifosato (A) + Desbrozado (C)	720
3	Glifosato (A)	1800
4	Glifosato (A) + Desbrozado (C)	1800
5	Glifosato (A) + Cletodim (B)	1800+100
6	Glifosato (B) + Cletodim (B)	1800+100
7	Glifosato (A) + Cicloxidim (B)	1800+250
8	Glifosato (B) + Cicloxidim (B)	1800+250
9	Glifosato (A) + Flazasulfuron (B)	1800+50
10	Glifosato (B) + Flazasulfuron (B)	1800+50
11	Glifosato (A) + Quizalofop (B)	1800+125
12	Glifosato (B) + Quizalofop (B)	1800+125
13	Glifosato (A) + Fluazifop (B)	1800+250
14	Glifosato (B) + Fluazifop (B)	1800+250
15	Glifosato (A) + Diquat (B)	1800+800

(A): 3-8 hojas, (B): Ahijado, (C): Inicio floración.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayos en *Conyza*

Como se aprecia en la Figura 1, los resultados obtenidos en los ensayos de 2012 nos permitió identificar las materias activas que podrían ser interesantes en el control de poblaciones de *Conyza* resistente a glifosato. Estas materias activas fueron: iodosulfuron, MCPA (en 2 aplicaciones), fluroxipir, clopiralida, glufosinato, amitrol y flazasulfuron como herbicidas de post-emergencia y el herbicida fluometuron + terbutilazina como herbicida pre-emergente.

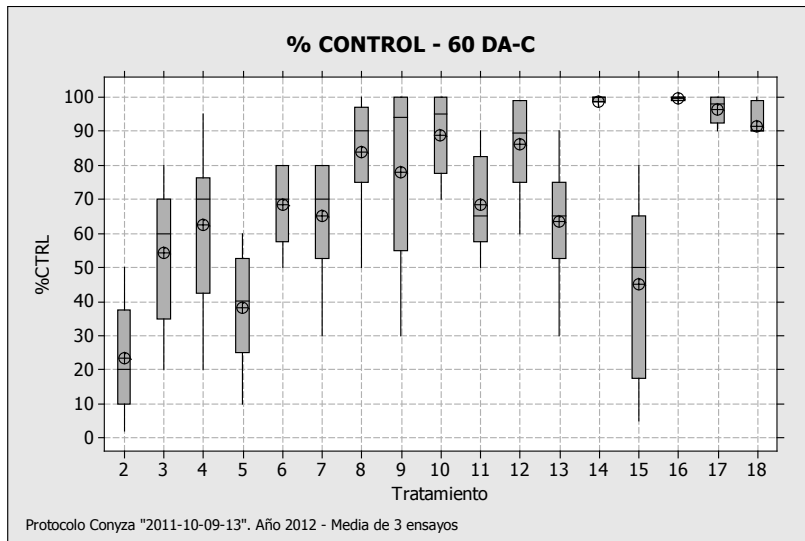


Figura 1. Diagrama de Caja y Bigotes. Ensayos *Conyza* 2012. El símbolo de la diana corresponde a la media de los resultados obtenidos para cada tratamiento.

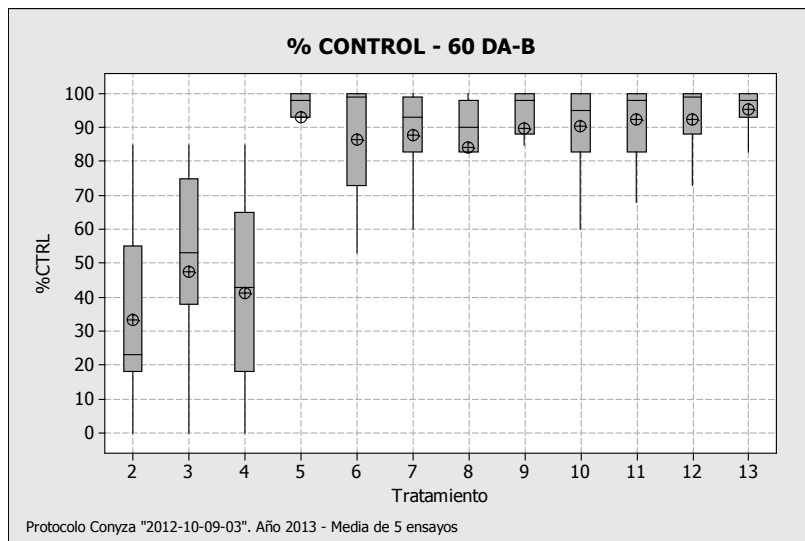


Figura 2. Diagrama de Caja y Bigotes. Ensayos *Conyza* 2013. El símbolo de la diana corresponde a la media de los resultados obtenidos para cada tratamiento. Los tratamientos del 5 al 13 no presentaron diferencias significativas entre ellos.

Durante los ensayos de 2013 se volvieron a evaluar los herbicidas de post-emergencia en mezcla con glifosato, y en algunos casos se comparó la aplicación secuencial de los mismos tras una aplicación previa de glifosato en roseta precoz y el herbicida alternativo al final del estado de roseta. En la Figura 2 se encuentran los resultados obtenidos y se confirma la eficacia de las materias activas glufosinato, clopiralida, fluroxipir, MCPA (en 2 aplicaciones), amitrol y flazasulfuron.

En cuanto a la comparación de estas materias activas en mezcla con glifosato o después de una aplicación previa de glifosato, los resultados muestran una ligera mejora en eficacia tras la aplicación previa de glifosato en estado de roseta precoz, excepto en el caso del fluroxipir que es al contrario, pero sin llegar a ser estadísticamente significativas. Esto nos permite prescindir del uso de glifosato en los casos donde la única especie presente en el campo sea *Conyza*.

En el ensayo 2013A83A30 se cuantificó la producción de semillas en todos los tratamientos, 22 días después de haberse realizado un desbrozado en los tratamientos 1, 2 y 4. Los resultados fueron de 32,7 g semilla/m² para el tratamiento 1 (testigo), 25,7 g para el tratamiento 2, 42,7 g para el tratamiento 3, 13,7 g para el tratamiento 4, 6,7 g para el tratamiento 9 y 1,7 g para el tratamiento 10. La producción de semillas en el resto de los tratamientos fue de 0.

Ensayos en *Lolium*

Como se aprecia en la Figura 3, los resultados obtenidos en los ensayos de 2012 nos permitió identificar las materias activas que podrían ser interesantes en el control de poblaciones de *Lolium* resistente a glifosato. Estas materias activas fueron: oxifluorfen y fluometuron+terbutilazina como herbicidas residuales y iodosulfuron, flazasulfuron, cicloxidim, quizalofop, cletodim y fluazifop como herbicidas de post-emergencia. La secuencia de un herbicida residual como la pendimetalina y un aplicación, en post-emergencia, del herbicida de contacto diquat, antes de ahijado, también obtuvo muy buenos resultados a los 30 después de la aplicación, pero como se aprecia en los ensayos de 2013 el riesgo de rebrote es muy alto.

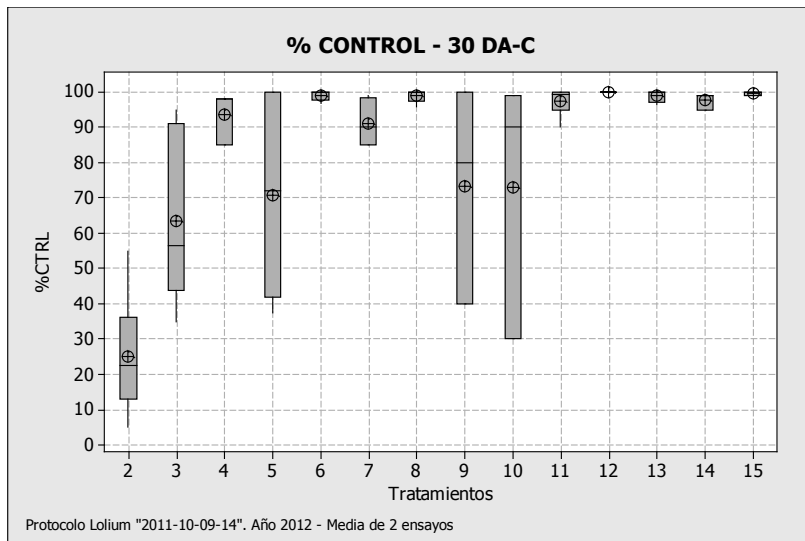


Figura 3. Diagrama de Caja y Bigotes. Ensayos *Lolium* 2012. El símbolo de la diana corresponde a la media de los resultados obtenidos para cada tratamiento.

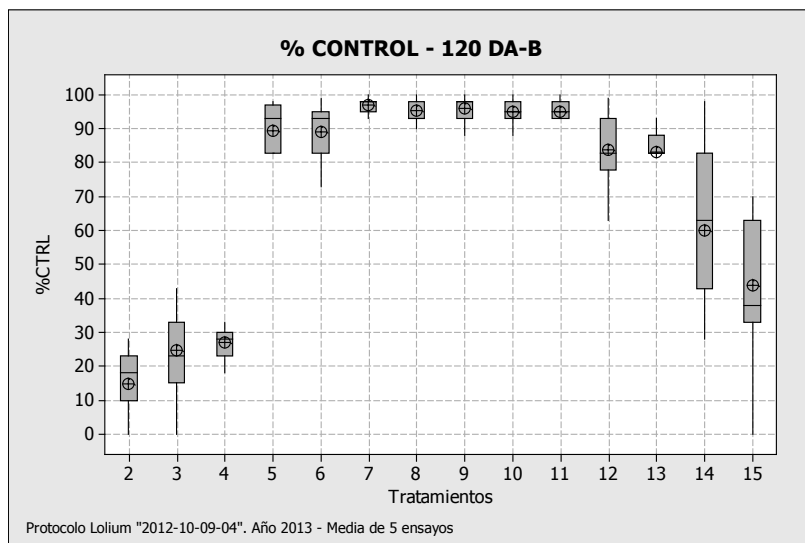


Figura 4. Diagrama de Caja y Bigotes. Ensayos *Lolium* 2013. El símbolo de la diana corresponde a la media de lo resultados obtenidos para cada tratamiento.

Durante los ensayos de 2013 se volvieron a evaluar los herbicidas de post-emergencia en mezcla con glifosato, y la aplicación secuencial de los mismos tras una aplicación previa de glifosato antes de ahijado. En la Figura 4 se encuentran los resultados obtenidos y se confirma la eficacia

de las materias activas flazasulfuron, cicloxidim, quizalofop y cletodim con valores de eficacia iguales o superiores al 90% 120 días después de su aplicación. La materia activa fluazifop obtuvo eficacias por debajo del 90% y diquat resultó tener un fuerte rebrote de las plantas controladas previamente.

En cuanto a la comparación de estas materias activas en mezcla con glifosato o después de una aplicación previa de glifosato, los resultados del test de separación de medias no muestra diferencias significativas en eficacia para flazasulfuron, cicloxidim y cletodim, pero en el caso de quizalofop y fluazifop, la mezcla en tanque con glifosato fue significativamente menos eficaz que la aplicación en 2 veces. Esto nos permite prescindir del uso de glifosato en los casos donde la única especie presente en el campo sea *Lolium*.

En el ensayo 2013A83A27 se cuantificó la producción de semillas en todos los tratamientos, 20 días después de haberse realizado un desbrozado en los tratamientos 1, 2 y 4. Los resultados representados en la Figura 5 muestran los g semilla/m² producidos en cada uno de los tratamientos y cómo sólo las materias activas flazasulfuron y cicloxidim mantuvieron a 0 la producción de semillas.

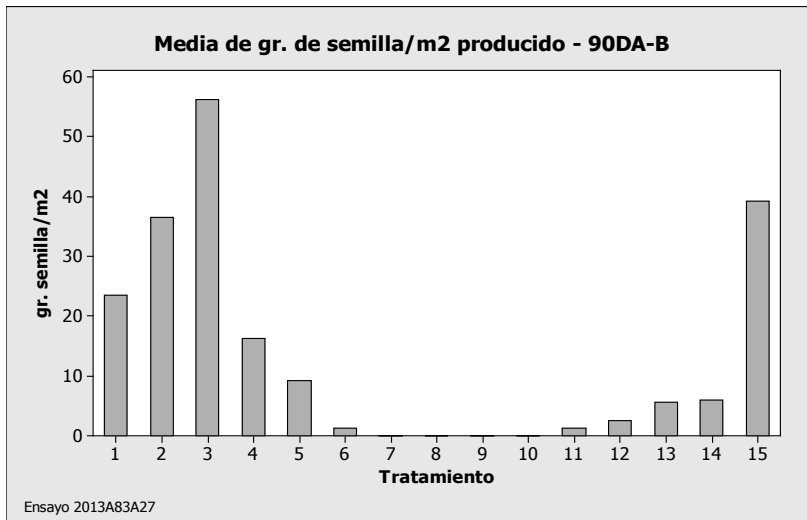


Figura 5. Producción de semillas.

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos, y teniendo en cuenta los herbicidas que actualmente se encuentran registrados en los cultivos de olivar y cítricos,

podemos concluir que las materias activas que podemos alternar en un control químico para poblaciones de *Conyza* resistente a glifosato son: fluroxipir, flazasulfuron, amitrol, MCPA, y glufosinato. Recientemente se ha registrado iodosulfuron para olivar, el cual también podría ser utilizado.

Para las poblaciones de *Lolium* resistente a glifosato, actualmente, las únicas materias activas que se encuentran registradas para olivar y cítricos son flazasulfuron y quizalofop. Recientemente se ha registrado iodosulfuron para olivar, el cual también podría ser utilizado. Oxifluorfen en pre-emergencia, también ayuda a reducir la población de plantas de *Lolium*.

Aunque el desbrozado de las plantas antes de la floración no impide el rebrote de las mismas ni la producción de semillas, se puede considerar para reducir la producción de semillas en aquellas plantas que hayan escapado a los tratamientos herbicidas.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rafael De Prado y su equipo de campo de la Universidad de Córdoba, al Dr. João De Portugal de la Universidad de Beja y a la Dra. Isabel Calha del Instituto Nacional de Recursos Biológicos de Portugal por su contribución en estos proyectos.

BIBLIOGRAFÍA

- DE PRADO R (2007) Agronomic, biological and molecular bases of *Lolium* spp. and *Conyza* spp. biotype resistant to glyphosate in Spain. Project collaboration between University of Córdoba and Monsanto.
- GONZÁLEZ-TORRALVA F et al. (2010) Differential susceptibility to glyphosate among the *Conyza* weed species in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 4361-4366.
- GONZÁLEZ-TORRALVA F et al. (2009) Resistance of *Conyza canadensis* to glyphosate in Spain. In: *XIIIème Colloque International Sur La Biologie Des Mauvaises Herbes, Dijon, France, 8-10 Septembre 2009*. Association Française de Protection des Plantes (AFPP), pp. 381-386.
- URBANO JM et al. (2007) Glyphosate-resistant Hairy Fleabane (*Conyza bonariensis*) in Spain. *Weed Technology* 21, 396-401.

SÍNTESIS Y EFICACIA DE FORMULACIONES DE LIBERACIÓN LENTA DEL HERBICIDA MESOTRIONA

Galán-Jiménez M.C.^{1*}, Undabeytia T.¹, Morillo E.¹, Florido M.C.²

¹*Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología (IRNAS-CSIC),
Apartado 1052, 41080 Sevilla, España.*

²*Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica (ETSIA),
Universidad de Sevilla.*

* mccgalan@irnase.csic.es

Resumen: Se ha comprobado la eficacia de formulaciones desarrolladas mediante complejos surfactante-sepiolita en la reducción de la lixiviación del herbicida mesotriona. Entre las formulaciones desarrolladas se ha escogido aquella que presentaba un perfil de liberación más lento en ensayos *in vitro*. Al aplicarse en columnas de suelo se observó una lixiviación del herbicida y acumulación con la formulación comercial en los segmentos inferiores a diferencia de la formulación desarrollada, que se correlacionaba con un incremento de la bioeficacia en los segmentos superiores. En experimentos en parcelas de campo, a diferencia de la formulación comercial, no se observó un rebrote de las malas hierbas al usar la formulación desarrollada.

Palabras clave: Formulación de Liberación controlada, plaguicidas, sepiolita, bioactividad, lixiviación.

Summary: *Synthesis and efficiency of slow release formulations of the herbicide mesotrione.* The bioefficacy of developed formulations based on surfactant-sepiolite complexes for reduced leaching of the herbicide mesotrione was tested. The formulation with a slower release pattern in in-vitro experiments was chosen for soil column and field experiments. In soil columns, the commercial formulation was leached and accumulated in the lower segments unlike the synthesized formulation, with a higher amount retained in the upper segments which was also correlated with a higher bioefficacy. In field experiments, a regrowth of weeds with the clay-based formulation was not observed, unlike the commercial formulation.

Keywords: Slow release formulation, pesticides, sepiolite, bioactivity, lixiviation.

INTRODUCCIÓN

La contaminación de acuíferos y aguas superficiales por agroquímicos es un hecho creciente debido al gran consumo de productos fitosanitarios. Una aproximación para reducir su impacto consiste en el desarrollo de formulaciones que provean una liberación lenta del ingrediente activo (*i.a.*), de forma que esté durante un mayor tiempo en la capa superior del suelo, que es la de interés fitosanitario, y a unas concentraciones que permitan el control de la plaga. En este trabajo se ha estudiado la eficacia de dos formulaciones de liberación lenta (FLLs) del herbicida mesotriona desarrolladas mediante la encapsulación de dicho herbicida (como producto técnico 99,9% *i.a.*) en micelas formadas por dos surfactantes comerciales (B048, ET15), y la posterior adsorción de las micelas cargadas en un mineral de arcilla (sepiolita) (Galán-Jiménez et al., 2013). Se han estudiado las propiedades de liberación del *i.a.* de las formulaciones preparadas, así como la reducción en la lixiviación y bioactividad de las FLLs en comparación con la formulación comercial (FC).

El objetivo de este trabajo es comprobar la eficacia de formulaciones desarrolladas del herbicida mesotriona que sean medioambientalmente más aceptables que la formulación comercial, mediante ensayos de laboratorio y de campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

La mesotriona, *i.a.* utilizado en las formulaciones sintetizadas, tiene una actividad herbicida pre-emergente y post-emergente que actúa sobre malezas de hoja ancha (dicotiledóneas). Resulta selectiva en maíz en cuyo cultivo controla hierbas de hoja ancha anuales en post-emergencia de las mismas, y alguna monocotiledónea (ciperáceas, gramíneas).

Las dos formulaciones sintetizadas presentaban contenidos del ingrediente activo diferentes: la denominada FLL-1, basada en el surfactante ET15, poseía un contenido de *i.a.* del 16% mientras que la FLL-2, basada en B048, tenía un menor contenido (6%). La FC presentaba un contenido de *i.a.* del 10 %.

Los estudios de liberación en agua se realizaron usando un aparato de solución con paletas rotatorias. La concentración de *i.a.* del herbicida utilizado en la liberación de las formulaciones fue 10 mg L⁻¹. Se adicionaron primero 490 mL de agua desionizada en cada vaso de liberación y a continuación se sumergió una bolsa de diálisis que contenía en 10 mL de agua con 5 mg de *i.a.* Se tomaron muestras del herbicida liberado a intervalos de tiempo de 0 a 96 horas, se filtraron a través de membranas 0,2 µm PTFE y se analizaron los datos por HPCL-UV. Para obtener las

curvas de liberación de *i.a.* de cada formulación se representaron los datos en forma de porcentaje acumulado de *i.a.* frente al tiempo (h).

La eficacia de la reducción en la lixiviación de las formulaciones se determinó mediante experimentos de movilidad en columnas de suelo que se podían separar fácilmente en segmentos de 3 cm. Se esparcieron uniformemente en la superficie 3 mL de suspensión de cada formulación a una dosis de 0,1 kg *i.a.* ha⁻¹ de mesotriona. Los experimentos en columnas de suelo se realizaron por triplicado. Se añadió agua destilada equivalente a 70 mm de lluvia desde la parte superior de la columna en dos porciones, dejando al suelo equilibrar durante 24 h entre cada adición. Se analizó el herbicida por HPLC-MS.

Además se estudió la bioactividad de las formulaciones en cada segmento de las columnas, se utilizó el suelo contenido en las mismas tras el estudio de lixiviación. Se transfirieron 40 g de suelo de cada segmento a pequeñas macetas de plástico. Posteriormente, en ambos casos, se trasplantaron 10 plántulas de girasol (*Helianthus annuus*) después de aparecer la primera hoja verdadera, sembradas previamente en condiciones hidropónicas. Se mantuvieron en una cámara climática a 25±1°C durante 10-15 días, regando periódicamente para mantener la humedad. Se evaluó la medida del efecto blanqueante sobre las plantas de girasol después de 10-15 días. La intensidad del blanqueo se determinó midiendo el contenido de clorofila de las plantas, y se calculó el porcentaje de inhibición comparándolo con el contenido en clorofila de la muestra control.

Por último, se realizaron experimentos de campo en un cultivo de maíz. Se realizó en la campaña 2011- 2012 en una finca que se ubica en el Término Municipal de Lebrija (Sevilla, España) (36° 55' N, 6° 04' O). El maíz fue sembrado el 6 de marzo 2012 con una sembradora *John Deere serie 1700*, a 4 cm de profundidad, 75 cm de distancia entre líneas, y 14 cm de distancia entre plantas. El abonado de fondo se efectuó en el momento de la siembra, a 300 kg ha⁻¹ de fórmula completa NPK (8-24-8). Posteriormente, a los 30 y 42 días después de la siembra, se realizó un reabono con urea (46%) (100 kg ha⁻¹) y nitrato amónico (33,5%) (100 kg ha⁻¹). A determinados tiempos tras la aplicación de las formulaciones (10, 30 y 180 días), se tomaron muestras de suelo de cada parcela a diferentes profundidades (0-10, 10-20 y 20-30 cm). La cantidad de agua acumulada aportada al suelo, por las precipitaciones y por el riego, a los 10, 30 y 180 días después del tratamiento herbicida fue de 2,6 mm, 33,8 mm y 709,8 mm, respectivamente. El diseño establecido fue de bloques al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos bajo estudio se aplicaron el 12 de abril de 2012. También se reservaron 4 parcelas como control en las que no se aplicó ningún tratamiento con mesotriona.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estas dos formulaciones de mesotriona (FLL-1 y FLL-2) presentaron una liberación más lenta en comparación con el producto técnico (Figura 1). Únicamente se estudió la formulación de mesotriona de la que se obtuvo el mayor porcentaje de *i.a.*, un $15,8 \pm 0,8$ (FLL-1) y de liberación más lenta, denominada FLL-1.

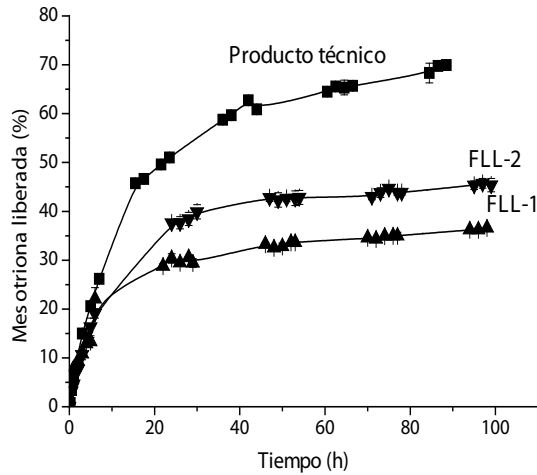


Figura 1. Liberación *in vitro* de las formulaciones de mesotriona.

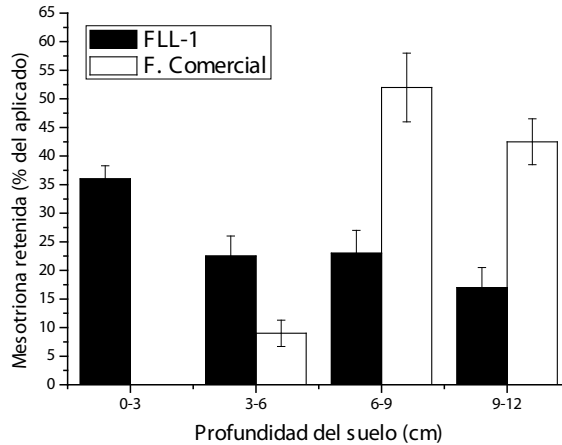


Figura 2. Porcentajes de mesotriona retenidos tras 70 mm de lluvia en columnas de suelos en función de la profundidad en experimentos de lixiviación.

En los estudios de lixiviación en columnas (Figura 2) se observó un mayor porcentaje de mesotriona retenida en los segmentos superiores cuando se usó la FLL-1, lo que indicó una reducción importante en la lixiviación con respecto a la formulación comercial (FC), ya que de ésta se lixivió la mayor parte a los anillos inferiores de la columna. Además, los resultados de los estudios de bioactividad (Figura 3) indican que se obtuvo mayor porcentaje de inhibición de la clorofila con la FLL-1 en los segmentos superiores mientras que se observó la tendencia opuesta en los anillos más profundos. Por tanto, ambos estudios, de lixiviación y bioeficacia se corresponden (Figura 2 y Figura 3).

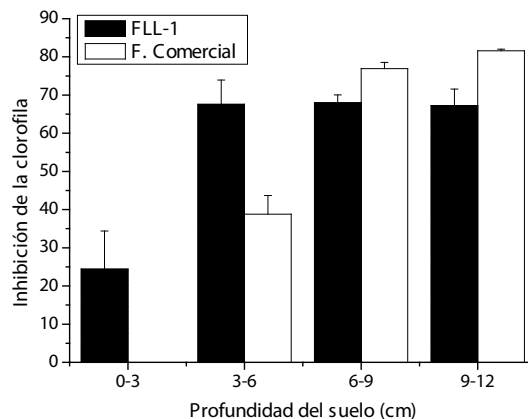


Figura 3. Porcentajes de inhibición de la clorofila en plantas de girasol tras 70 mm de lluvia en columnas de suelos en función de la profundidad en experimentos de lixiviación.

En el muestreo realizado después de 10 días del tratamiento con el herbicida (Tabla 1) la distribución de mesotriona proveniente de las distintas formulaciones en el perfil del suelo no fue igual en todas las profundidades estudiadas. Se observó una cantidad del 41,6% de la mesotriona aportada por la FLL-1 en la primera capa (0-10 cm), que era significativamente mayor si la comparamos con el 6,4% de la comercial a dosis de campo. En la siguiente capa (10-20 cm), la acumulación de herbicida fue mayor cuando se empleó la FLL-1 (28,5%) que para la FC (9,2%). Pero las cantidades retenidas en la capa más profunda analizada (20-30 cm) mostraron que la mayor parte de producto de la FC se había lixivado, encontrando un porcentaje del 21% a esta profundidad. Esto marcó una gran diferencia con la FLL-1, ya que su mayor porcentaje se encontraba en la primera capa (0-10 cm) analizada (Galán Jiménez, 2015).

También es de destacar la pérdida del 63,4% de mesotriona en los 30 cm del suelo en profundidad tan solo después de 10 días de su aplicación al emplear la FC en comparación con una pérdida de solo 13,5% al

emplear la FLL-1. La mayor parte de la mesotriona ha debido perderse por lixiviación hasta profundidades del suelo mayores de 30 cm, en donde ya no puede ejercer su efecto herbicida contra las malas hierbas, con la posibilidad añadida de la posible contaminación de aguas subterráneas poco profundas.

Tabla 1. Distribución de mesotriona a lo largo del perfil del suelo, tras 10, 30 y 180 días de tratamiento, expresada como porcentaje de la cantidad total aplicada.

Días		Profundidad del suelo			Total extraído
		0-10 cm	10-20 cm	20-30 cm	
10	FC	6,4 ± 4,8	9,2 ± 4,2	21,0 ± 3,7	36,6 ± 12,7
	FLL-1	41,6 ± 9,2	28,5 ± 1,8	16,0 ± 6,2	86,5 ± 17,2
30	FC	1,2 ± 1,0	4,7 ± 1,0	20,4 ± 4,8	26,3 ± 6,8
	FLL-1	1,9 ± 0,3	8,7 ± 2,9	5,7 ± 2,8	16,3 ± 6,0
180	FC	0,6 ± 0,4	0,5 ± 0,03	0,7 ± 0,03	1,8 ± 0,46
	FLL-1	0,6 ± 0,3	0,4 ± 0,07	0,3 ± 0,07	1,3 ± 0,44

FC = Formulaci3n Comercial.

FLL= Formulaci3n de liberaci3n lenta.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigaci3n ha recibido financiaci3n a trav3s de los proyectos CMT2009-07425 (MEC) cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) y el Proyecto Bilateral Hispano-Argentino PRI-PIBAR-2011-1393 (MINECO-MINCYT). Carmen Gal3n agradece la beca Predoctoral disfrutada y asociada al Proyecto de Excelencia P09-RNM-4581.

BIBLIOGRAFÍA

GAL3N-JIM3NEZ MC, MISHAEL YG, NIR S, MORILLO E & UNDABEYTIA T (2013) Factors affecting the design of slow release formulations of herbicides based on clay surfactant systems. A methodological approach. *Plos one* 8, e59060.

GAL3N JIM3NEZ MC (2015) *Uso de complejos de sepiolita con agentes solubilizantes de herbicidas en el dise1o de formulaciones de liberaci3n controlada*. PhD tesis, Universidad de Sevilla, Sevilla, Espa1a.

EVALUACIÓN DE FORMULACIONES DE LIBERACIÓN CONTROLADA DEL HERBICIDA FLUFENACET

Gómez-Pantoja M.E.^{1*}, López-Fernández E.²,
Florida M.C.², Morillo E.¹, Undabeytia T.¹

¹*Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC).*

²*Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica (ETSIA),
Universidad de Sevilla.*

* *egomez@irnase.csic.es*

Resumen: El objetivo del presente trabajo fue comprobar la efectividad de las formulaciones de liberación controlada (FLCs) del herbicida Flufenacet (FLF) previamente elaboradas. Para ello se usaron las formulaciones FLF/ET15 y FLF/B048 que contenían 7,98% y 17,7% de ingrediente activo (i.a.) respectivamente. La liberación *in vitro* confirmó un perfil de liberación controlada para ambas formulaciones frente a la formulación comercial (FC) Tiara 60[®]. El herbicida FLF presentó alta adsorción en suelos ácidos con alta cantidad en materia orgánica y óxidos amorfos y baja adsorción en suelos básicos con baja proporción en materia orgánica. En experimentos con columnas de suelos, las FLCs presentaron menor lixiviación que Tiara 60[®] en todos los suelos bajo estudio, y los datos de bioactividad confirmaron los datos obtenidos en las columnas de suelo a las distintas profundidades, así como los resultados de biodisponibilidad obtenidos en las isotermas de adsorción-desorción.

Palabras clave: Montmorillonita, plaguicidas, suelos, bioactividad, lixiviación.

Summary: *Development of controlled release formulation of herbicide flufenacet.* This study was aimed at testing the efficacy of the previously designed controlled release formulations (FLCs) of the herbicide flufenacet (FLF). The formulations FLF/ET15 and FLF/B048 with a.i. contents of 7.98 and 17.7%, respectively, were used. Release *in vitro* experiments indicated a slow release pattern with respect to the commercial formulation (FC) Tiara 60[®]. The herbicide FLF was greatly adsorbed in acid soils posing a high amount of organic matter and amorphous oxides; whereas lower sorption was obtained on basic soils with low organic matter content. In soil column experiments, FLCs showed reduced leaching relative to Tiara 60[®] which paralleled the bioactivity at different depths, and in agreement with the bioavailable amount as inferred from the sorption-desorption experiments.

Keywords: Montmorillonite, pesticide, soils, bioactivity, leaching.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se han desarrollado Formulaciones de Liberación Controlada (FLCs) de herbicidas para evitar pérdidas excesivas de los mismos y que mantengan una buena bioactividad. Los minerales de la arcilla son buenos candidatos para la preparación de FLCs debido a sus buenas propiedades adsorbentes, su abundancia y bajo coste. El herbicida no iónico Flufenacet (FLF) presenta problemas de movilidad en suelos, por lo que interesa preparar formulaciones que ralenticen su liberación empleando minerales de la arcilla sobre los que realizar la adsorción del herbicida proporcionando una matriz de liberación controlada. Por otra parte, para aumentar la carga de ingrediente activo (i.a.) se pueden usar surfactantes que actúan como agentes solubilizantes del herbicida, los cuales se adsorberán sobre los minerales permitiendo aumentar la cantidad de ingrediente activo en las formulaciones. El objetivo de este trabajo es la evaluación del comportamiento de las formulaciones de herbicida preparadas previamente basadas en complejos minerales de arcilla-surfactante frente a formulaciones comerciales en suelos: estudios de liberación *in vitro*, lixiviación, biodisponibilidad y bioactividad sobre *Setaria viridis*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Materiales

Flufenacet técnico (99,9%) suministrado por Sigma y su formulación comercial (F.C.) Tiara 60® (60% p/p) suministrada por Bayer; montmorillonita estándar (SWy-2) procedente de Wyoming suministrada por The Clay Repository; dos surfactantes con diferente estructura química: uno no iónico Berol 048 (B048) y otro catiónico Ethomeen T/15 (ET15) suministrados por Compi y Jove SA. Los suelos usados en el presente trabajo poseen distintas características físico-químicas: Alájar (AL) (franco limoso), Coria (CR) (franco arcillo arenoso), y Las Torres (LT) (franco).

Métodos

Experimentos cinéticos de liberación In Vitro en agua de Flufenacet: se añadieron 5 mg de i.a. de herbicida en 500 mL de agua ultrapura (T=25° C y 50 rpm) en un aparato de disolución automática con paletas rotatorias (Sotax). Se recogieron muestras a diferentes intervalos de tiempo hasta 172 h, y se analizaron mediante HPLC-UV. Se empleó un cromatógrafo HPLC compacto Shimadzu (LC-2010A HT), con una columna Kromasil C15 de fase reversa (15 x 0,40 cm) suministrada por Teknokroma S.A. (Barcelona, España), a una temperatura de horno de 30°C, fase móvil: Acetonitrilo:Agua (50:50) a una longitud de onda de

256 nm y tiempo de retención 4´02 min. Para la adquisición y manejo de los datos se empleó el software Shimadzu LC solution Chromatography Data System.

Estudios de adsorción-desorción de Flufenacet en suelos: las isotermas se realizaron poniendo en contacto 10 g de suelo con soluciones del herbicida (10 ml) durante 24h a 20°C. Una vez alcanzado el equilibrio, se centrifugó (10000 rpm, 10 min), y el herbicida en sobrenadante se analizó mediante HPLC-UV. Las desorciones se realizaron mediante la retirada de la mitad del sobrenadante que fue reemplazado por agua destilada, se mantuvieron en agitación hasta alcanzar el equilibrio 24h a 20°C, y nuevamente se analizó el sobrenadante. Este proceso se repitió 3 veces. Los datos de adsorción se modelizaron ajustándose a la ecuación de Freundlich.

Estudios de lixiviación de Flufenacet en columnas de suelo: se realizó en los suelos: AL, LT y CR. Se aplicaron uniformemente las tres formulaciones (Tiara 60®, FLF/B048 y FLF/ET15), a un régimen de lluvia de 168 mm (120 mL de agua destilada en fracciones de 20 mL, añadidas cada 2 h). Se dejó el suelo equilibrar durante 24 h. Cada columna se separó a distintas profundidades y se tomaron 5 g de suelo de cada una de ellas para extracción de FLF con 10 mL de acetonitrilo durante 24 h, analizándose mediante HPLC-UV.

Estudios de bioactividad de Flufenacet en suelos: se plantaron por sextuplicado semillas de *Setaria viridis* en vasos que contenían 15 g de suelo de cada segmento de la columna de suelo (0-4, 4-8, 8-12, 12-16 cm) para cada formulación, irrigándose diariamente durante 2 semanas. Se midió la longitud del brote emergido respecto a un control.

Caracterización de los suelos: El suelo AL es un suelo ácido (pH: 6,2) que presenta un bajo contenido en carbonatos (1,6%) y altas concentraciones de óxidos amorfos (Fe_2O_3 5,2; Al_2O_3 3,7 y MnO 10,1 g kg^{-1}) y materia orgánica (3,4%), mientras que los suelos CR, y LT son suelos básicos (pH: 8,7 y 7,6 respectivamente), con bajo contenido en materia orgánica (1,0 y 1,3 % respectivamente).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudios de liberación *in vitro* de las formulaciones

La liberación de FLF desde las FLCs fue progresiva a lo largo del tiempo, obteniéndose en los dos casos, un porcentaje final de FLF liberado menor que el obtenido en la formulación comercial. La Figura 1 presenta los perfiles de liberación de las FLCs frente a la formulación comercial.

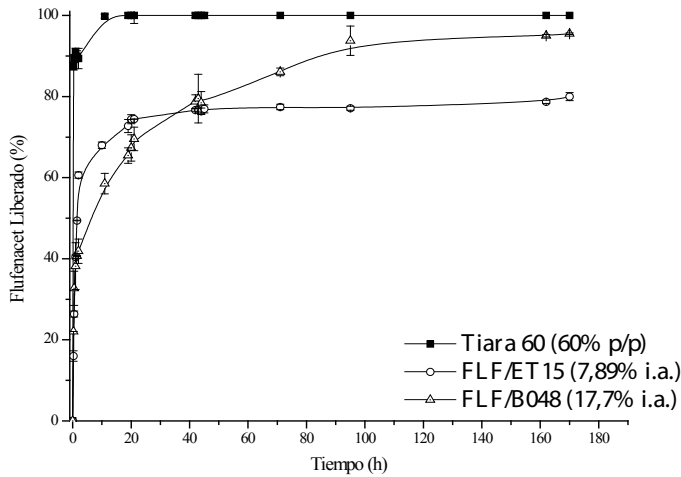


Figura 1. Porcentajes de Flufenacet liberado en agua desde las diferentes formulaciones tanto comercial como FLCs (% acumulado).

Adsorción de Flufenacet en suelos

Las isotermas de adsorción de Flufenacet en suelos, muestran una alta adsorción en el suelo AL, seguido de LT y finalmente de CR.

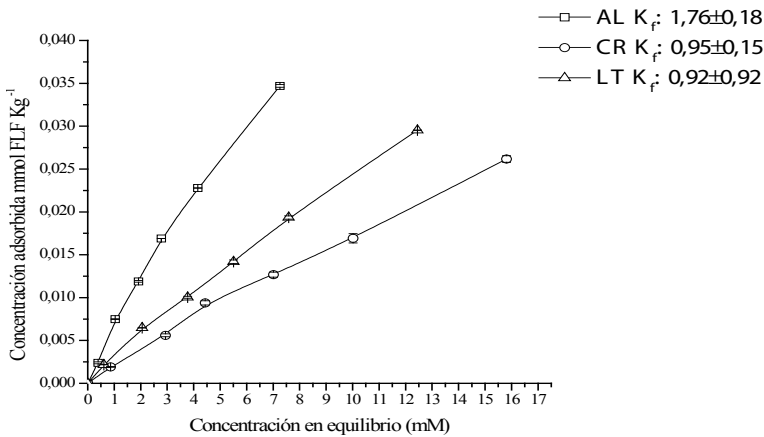


Figura 2. Isotermas de adsorción de FLF en los suelos AL, CR, y LT.

La adsorción de Flufenacet en los diferentes suelos depende de sus propiedades físico-químicas. Debido a que es una molécula de gran tamaño con una baja polaridad ($\log K_{OW} = 3,2$, 24°C), la adsorción en suelos ocurre principalmente en dominios hidrofóbicos. En este estudio, el suelo AL presenta la mayor adsorción (Figura 2), que puede estar

relacionada con su alto contenido en materia orgánica, tal como se ha descrito para otros herbicidas hidrofóbicos (Morillo et al., 2004). También la alta proporción de óxidos amorfos juega un papel importante.

Desorción de Flufenacet en suelos

Los estudios de desorción siguen la secuencia: CR>LT>AL, indicando que Flufenacet presenta una mayor desorción en suelos con menor cantidad de materia orgánica y mayor contenido en fracción arenosa como el suelo CR, por tanto, mayor vulnerabilidad a lixiviar a capas más profundas del suelo, y ser menos efectiva su acción en la superficie, donde es deseable una mayor acción herbicida.

Experimentos de lixiviación de Flufenacet y sus formulaciones en columnas de suelo y bioactividad del herbicida Flufenacet en diferentes suelos

Los resultados más significativos de los estudios en columnas se observaron en los suelos AL (Figura 3a) y CR (Figura 3b). El suelo AL presentó lixiviación de FLF a lo largo de la columna (Figura 3a). La formulación comercial queda distribuida en todos los anillos, pero mayormente en el segundo. Por el contrario, se observa una concentración mayor en el primer anillo para las formulaciones surfactante-arcilla. Estos datos demuestran que si el régimen de lluvia o riego fuera superior, la mayor parte de la formulación comercial lixiviaría a profundidades donde no podría ejercer su efecto herbicida. Los ensayos de bioactividad (Figura 3d) confirman los resultados de los experimentos de lixiviación observándose una mayor inhibición del crecimiento de *Setaria viridis* en el primer anillo para las FLCs.

En el suelo CR se produce una mayor lixiviación (Figura 3b), confirmando los resultados obtenidos en los experimentos de adsorción-desorción donde el Flufenacet no queda tan retenido en los suelos de textura más arenosa. En la Figura 3e, los resultados obtenidos de los bioensayos presentan, en comparación con la Figura 3d, resultados de inhibición mayores ya que FLF está más biodisponible (menos retenido) en este tipo de suelos. Los resultados obtenidos para el suelo LT (Figuras 3c y 3f) fueron similares a los obtenidos en el suelo CR, donde las formulaciones lixiviaron a más profundidad, destacando la concentración de la formulación comercial en el tercer anillo que es 10 veces superior a la concentración de las FLCs en ese anillo. Los resultados del bioensayo, Figura 3f, confirmaron los resultados obtenidos en el experimento de lixiviación. Los resultados de actividad en la parte inferior de la columna se correlacionan con las cantidades de herbicida remanente extraídas (Figura 3c), ya que estas mostraban el mismo orden de variación, observándose de

igual manera diferencias significativas en los anillos inferiores de la columna entre la cantidad de herbicida extraído de las FLCs y del producto comercial.

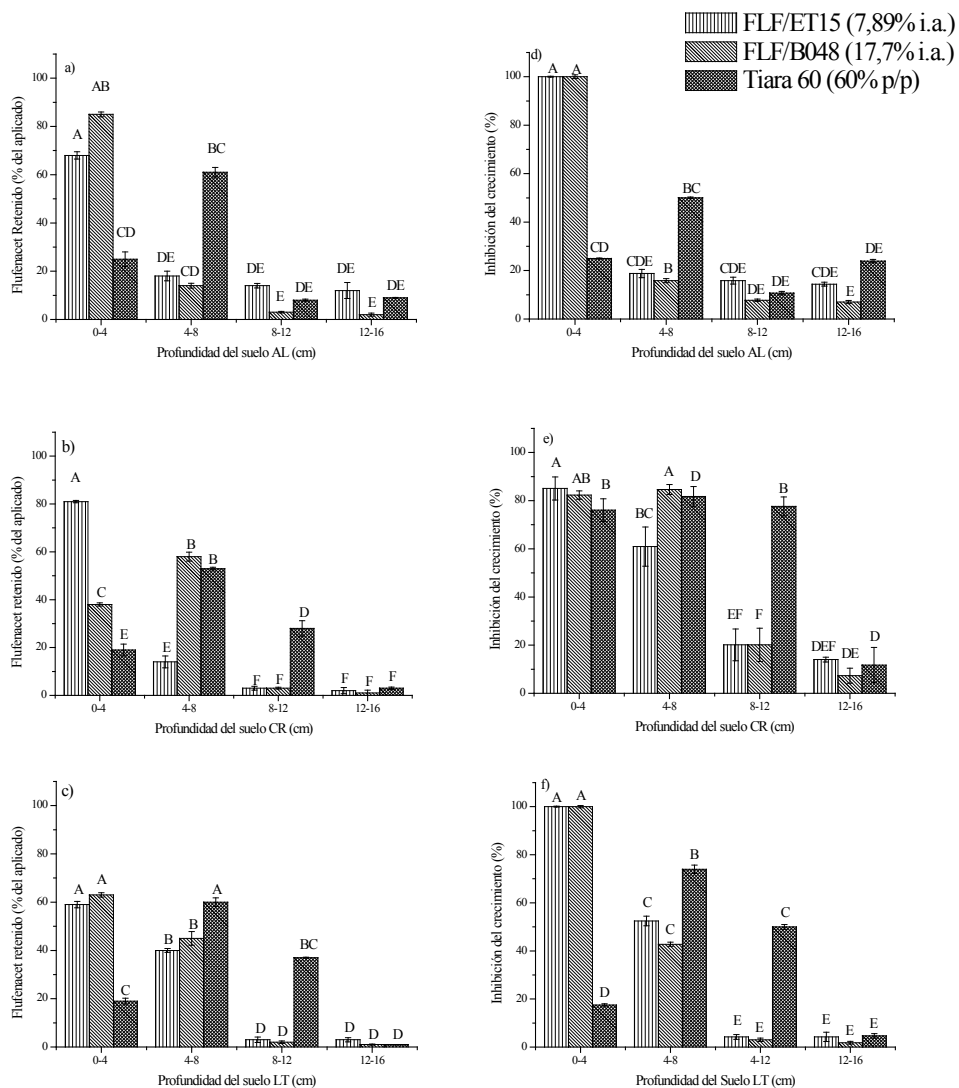


Figura 3. a, b, c) Porcentajes de FLF retenido en columnas del suelo AL, CR y LT en función de la profundidad; d, e, f) Inhibición del crecimiento de FLF a distintas profundidades de las columnas de suelo AL, CR y LT. Las barras verticales son errores estándares. Las letras corresponden al análisis estadístico ANOVA.

CONCLUSIONES

En este trabajo se demuestra claramente que las FLCs reducen la lixiviación del herbicida a lo largo del perfil del suelo respecto a la formulación comercial, presentando una mejor actividad biológica en la capa superior del suelo.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha recibido financiación a través de los proyectos CMT2009-07425 (MEC) cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) y el Proyecto Bilateral Hispano-Argentino PRI-PI-BAR-2011-1393 (MINECO- MINCYT). María Eulalia Gómez-Pantoja Cabezas agradece su contratación a cargo del proyecto CMT2009-07425 (MEC).

BIBLIOGRAFÍA

MORILLO E, UNDABEYTIA T, CABRERA A, VILLAVERDE J & MAQUEDA C (2004) Effect of soil type on, adsorption-desorption mobility, and activity of the herbicide norflurazon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 884-890.

MODELIZACIÓN DEL CONTROL QUÍMICO DE *CONYZA* Y EL RIESGO DE RESISTENCIA A GLIFOSATO

González-Díaz L.^{1*}, Costa J.², González-Andújar J.L.¹

¹*Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC),
Avda. Menéndez Pidal s/n, Apdo. 4084, 14004 Córdoba, España.*

²*Monsanto Agricultura España S.L.,
Avda. de Burgos 17, 28036 Madrid, España.*

**g92godil@ias.csic.es*

Resumen: Se ha desarrollado un modelo de genética de poblaciones para estudiar el efecto de diferentes estrategias de manejo químicas en el control de poblaciones de *Conyza* y el desarrollo de resistencia a glifosato en poblaciones inicialmente susceptibles. Las estrategias de manejo se basaron en la aplicación de dos herbicidas en diferentes fechas, aislados o en mezcla, donde uno de ellos era glifosato. Las simulaciones mostraron que la aplicación de glifosato con herbicidas postemergentes controlaron más eficazmente las poblaciones de *Conyza* que las aplicaciones de glifosato con herbicidas preemergentes. Las aplicaciones tardías (principalmente en marzo) del herbicida postemergente consiguieron los mejores controles de las poblaciones y un riesgo bajo de desarrollar resistencia en poblaciones de *Conyza* inicialmente susceptibles.

Palabras clave: Genética de poblaciones, modelos de simulación, postemergencia, preemergencia.

Summary: Modelling of chemical control of *Conyza* and the risk of glyphosate resistance. We developed a model of population genetics to study the effect of different chemical management strategies on the control of *Conyza* populations and the resistance evolution to glyphosate in initially susceptible populations. The management strategies were based on herbicides; glyphosate and another post- or pre-emergent herbicide applied alone or in mixtures at different timing. The simulations showed that glyphosate and post-emergent herbicides controlled better *Conyza* populations than glyphosate and pre-emergent herbicides. Later post-emergent herbicide applications (in March principally) reached the best control of *Conyza* populations and a low resistance risk in initially susceptible populations.

Keywords: Population genetics, pre- and post-emergence, simulation models.

INTRODUCCIÓN

Conyza es un género que presenta un gran número de especies arvenses que son abundantes y problemáticas en los cultivos perennes de la cuenca mediterránea. Su control se basa principalmente en el uso de glifosato, lo que ha llevado a la aparición y expansión de la resistencia a este herbicida (Urbano et al., 2007). Sin embargo, el uso de glifosato sigue estando muy extendido en los cultivos perennes por lo que se llegan a tratar con este herbicida poblaciones resistentes y susceptibles de estas especies. Llegados a este punto, resulta interesante estudiar el comportamiento de las poblaciones resistentes y susceptibles de *Conyza* a aplicaciones de glifosato junto con otros herbicidas, con el fin de encontrar las combinaciones de herbicidas que consigan una mayor eficacia en el control de las especies, y retrasen la aparición de la resistencia. Los modelos de dinámica de poblaciones nos ayudan a entender el desarrollo de la resistencia y nos pueden orientar en la elección de las estrategias de control más efectivas (Neve, 2008).

Los objetivos de este trabajo son: 1) encontrar las estrategias de control químico basadas en la aplicación de dos herbicidas (uno de ellos glifosato) que controlen más eficazmente las poblaciones de *Conyza* susceptibles y resistentes a glifosato, y 2) determinar aquellas estrategias que retrasen y reduzcan el riesgo de desarrollo de resistencia a glifosato en las poblaciones de *Conyza* susceptibles.

MATERIAL Y MÉTODOS

Metodología

Se ha desarrollado un modelo de simulación de la dinámica poblacional de *Conyza* con una germinación escalonada en el tiempo. El modelo se basa en el ciclo de vida de *Conyza* y considera diferentes estados funcionales (banco de semillas, plántulas, plantas adultas y lluvia de semillas) y procesos de transición entre ellos (germinación, supervivencia de plántulas y adultos, fecundidad y mortalidad de semillas) (Zambrano-Navea, 2013). El modelo fue complementado con un modelo de genética de poblaciones que simuló la resistencia a glifosato. Para parametrizar el modelo se utilizaron datos existentes en la literatura de *C. bonariensis* y *C. canadensis*, principalmente.

El modelo fue usado para evaluar el control ejercido por diferentes estrategias de manejo basadas en el uso de herbicidas, en poblaciones de *Conyza* resistentes y susceptibles al glifosato en cultivos perennes. También se evaluó el riesgo de aparición y la evolución de la resistencia a glifosato en las poblaciones de *Conyza* inicialmente susceptibles.

Condiciones iniciales y estrategias de manejo

Se hicieron dos simulaciones (1000 repeticiones cada una) para cada estrategia de manejo, bajo diferentes densidades iniciales de plantas resistentes: una infestación baja (1 ó 2 plantas resistentes, LR) y una infestación moderada (el 20% del banco de semilla inicial era resistente, MR). Por tanto, en cada simulación se consideró una población de *Conyza* con un nivel inicial de resistencia a glifosato según las densidades iniciales detalladas.

Las estrategias de manejo consideradas (S01-S15) (ver Figura 1) se basaron en la aplicación de dos herbicidas por campaña de cultivo: un herbicida preemergente (pre) o postemergente (post) y glifosato (gly) aislados o combinados en diferentes fechas: noviembre (Nov), febrero (Feb) y/o marzo (Mar). Los valores utilizados para parametrizar los datos de control considerados en las simulaciones para los dos tipos de herbicidas especificados corresponden con diferentes herbicidas de los que se disponen valores en la literatura para *Conyza* a la dosis comercial recomendada; flazasulfuron para herbicidas preemergentes y fluroxipir, glufosinato y amitrol+tiocianato amónico para herbicidas postemergentes.

Resultados evaluados

El control ejercido por las estrategias de manejo se evaluó mediante la densidad de plantas adultas simuladas de las poblaciones (adultos m⁻²) susceptibles y resistentes de *Conyza* tras la adopción de la estrategia de control correspondiente. El riesgo de resistencia a glifosato se evaluó como la probabilidad de que una población inicialmente susceptible desarrolle un nivel de resistencia moderado a glifosato tras la aplicación reiterada de la estrategia de control adoptada. Se considera que una población es moderadamente resistente a glifosato cuando al menos el 20% de sus individuos son resistentes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados muestran que, a largo plazo, las aplicaciones reiteradas de dos herbicidas (uno de ellos glifosato) no fueron suficiente para reducir a niveles aceptables las poblaciones de *Conyza* simuladas (Figura 1b, 1d y 1f) que en ausencia de medidas de control alcanzaron valores en torno a los 1100 adultos m⁻² (resultado no mostrado). Sin embargo, los herbicidas postemergentes controlaron mejor las poblaciones de *Conyza* que los herbicidas preemergentes (Figura 1b, 1d y 1f).

Las mezclas de herbicidas preemergentes (S01 y S02) o postemergentes (S03 y S04) con glifosato aplicadas en una determinada fecha

controlaron peor las poblaciones de *Conyza* que estos mismos herbicidas aplicados de forma aislada en diferentes fechas (Figura 1d y 1f), con la excepción de la aplicación tardía de la mezcla de glifosato y un herbicida postemergente (S05).

En general, las aplicaciones tardías (febrero y marzo) de herbicidas postemergentes (S4, S05, S10, S11, S14 y S15; Figura 1b y 1f) controlaron más eficazmente las poblaciones de *Conyza*, especialmente las poblaciones resistentes, que las aplicaciones más tempranas (S03, S12 y S13; Figura 1b y 1f). Los mayores niveles de control se consiguieron con una mezcla de herbicida postemergente con glifosato aplicado en marzo (S05) o estos herbicidas aplicados de forma aislada en febrero y marzo (S14). Estas estrategias también presentaron un riesgo bajo de desarrollar resistencia en poblaciones inicialmente susceptibles de *Conyza* con valores en torno al 10% (Figura 1a y 1e).

Las aplicaciones de herbicidas preemergentes y glifosato presentaron, en general, un mayor riesgo de desarrollar resistencia que las aplicaciones de herbicidas postemergentes y glifosato, con niveles próximos o superiores al 40% en todos los casos (Figura 1a y 1c). Dentro de las estrategias que consideraron aplicaciones de herbicidas postemergentes y glifosato, las aplicaciones tempranas de glifosato (noviembre y febrero) mostraron los menores riesgos de resistencia (S03, S04 y S10; Figura 1a y 1e), mientras que las aplicaciones tempranas del herbicida postemergente aplicado de forma aislada, mostraron los mayores riesgos de resistencia (S12 y S13; Figura 1e). Sin embargo, las estrategias con el menor riesgo de resistencia obtuvieron bajos niveles de control de las poblaciones de *Conyza* (S03, S04 y S10; Figura 1b y 1f).

En las simulaciones realizadas no se ha considerado la penalización en el fitness que puede llevar asociada la presencia de resistencia a glifosato en las poblaciones de *Conyza*. Esta penalización puede modificar la dinámica de las poblaciones resistentes y susceptibles y por tanto, resulta de gran interés su inclusión en los modelos de simulación. Sin embargo, la falta de datos experimentales hace difícil su incorporación. De igual modo, en este trabajo no se han considerado prácticas de manejo culturales que podrían reducir las poblaciones de *Conyza* de manera sustancial. La inclusión de estrategias de manejo químico y no químico en el control de poblaciones de *Conyza* es especialmente interesante desde el punto de vista del control integrado y además, podría alargar la vida útil del glifosato a través de la reducción del desarrollo de la resistencia a este herbicida.

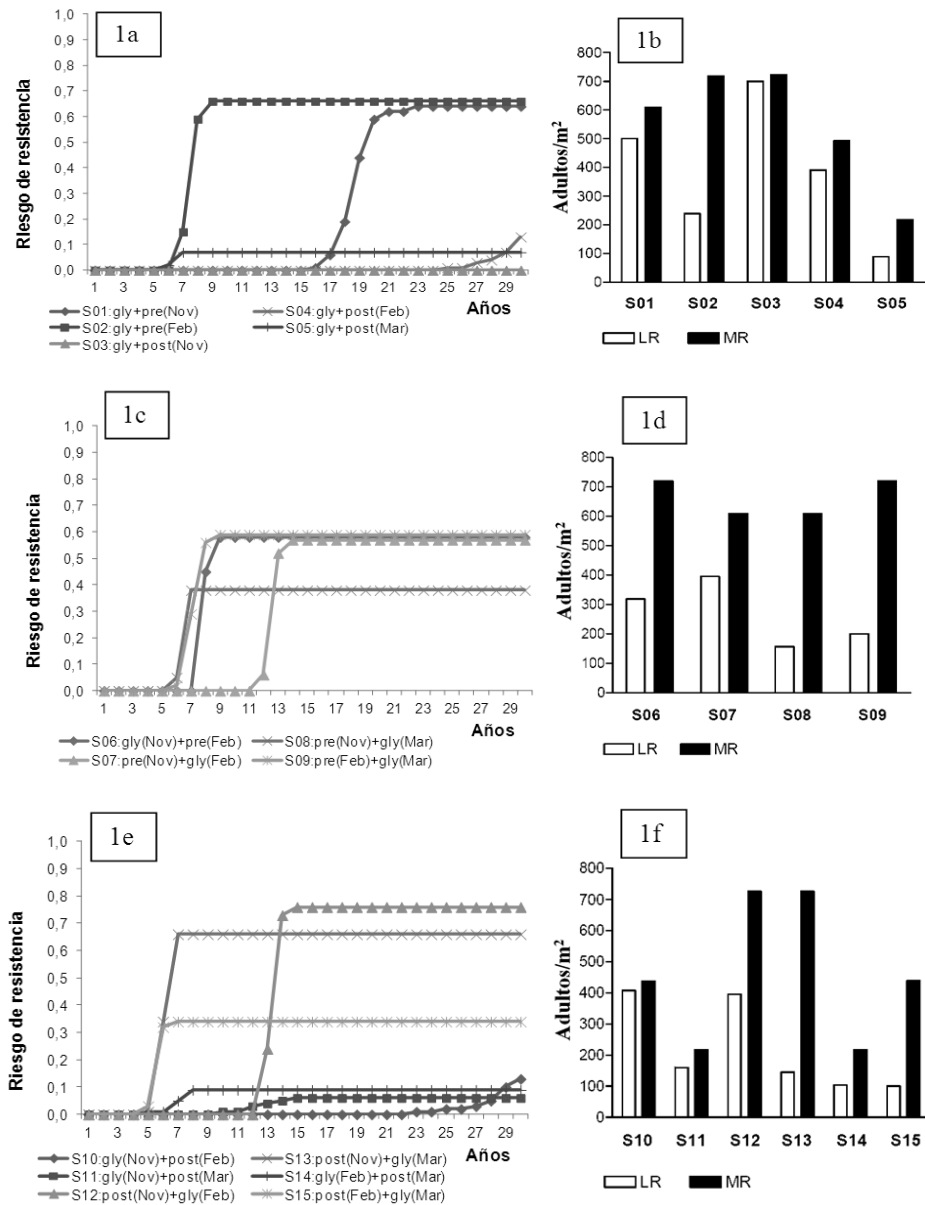


Figura 1. Evolución del riesgo de resistencia a glifosato en *Conyza* y de la población de adultos (adultos m⁻²) tras 30 años de simulación para las estrategias de manejo estudiadas (S01-S15). 1a) y 1b) S01-S05, son estrategias basadas en mezclas de glifosato y otro herbicida pre o postemergente aplicados en una sola fecha; 1c) y 1d) S06-S09, son estrategias basadas en la aplicación aislada de glifosato y un herbicida preemergente en diferentes fechas; 1e) y 1f) S09-S15, son estrategias basadas en la aplicación aislada de glifosato y un herbicida postemergente en diferentes fechas. LR y MR: niveles de resistencia inicial baja y moderada, respectivamente.

CONCLUSIONES

Aplicaciones tardías de un herbicida postemergente (especialmente en marzo) y glifosato fueron las estrategias de manejo químico simuladas que mejores controles alcanzaron en las poblaciones adultas de *Conyza*. Además, la mayoría de estas estrategias presentaron un riesgo bajo de desarrollar resistencia a glifosato en las poblaciones susceptibles de *Conyza*. Las estrategias con menor riesgo de resistencia fueron aquellas que consideraron aplicaciones tempranas de glifosato, aunque en estos casos el control ejercido en las poblaciones susceptibles de *Conyza* se redujo en comparación con estrategias similares que consideraron una aplicación más tardía. En general, el nivel de control alcanzado en las poblaciones adultas de *Conyza* con las estrategias simuladas no fue lo suficientemente alto para estabilizar las poblaciones a un nivel bajo. Para lograr una mayor reducción de las poblaciones de *Conyza* en los cultivos perennes, otras estrategias de manejo químico y/o cultural habría que aplicar para aumentar el control ejercido con las estrategias estudiadas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Monsanto S.L. la financiación del proyecto y a los agricultores y al personal técnico su colaboración en este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- NEVE P (2008) Simulation modelling to understand the evolution and management of glyphosate resistance in weeds. *Pest Management Science* 64, 392-401.
- URBANO JM, BORREGO A, TORRES V et al. (2007) Glyphosate-resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) in Spain. *Weed Technology* 21, 396-401.
- ZAMBRANO NAVEA CL (2013) *Demografía y dinámica poblacional de Conyza bonariensis (L.) Cronq.* PhD tesis, Universidad de Córdoba, Córdoba, España.

ESTUDIO DE LA RESISTENCIA DE *CONYZA* SPP. AL HERBICIDA GLIFOSATO EN ARAGÓN

Langa R.¹, Aibar J.², Cirujeda A.¹, Marí A.I.¹, León M.¹, Pardo G.^{1*}

¹CITA-ARAGÓN, Av. Montañana 930, 50059 Zaragoza.

²EPS, Universidad de Zaragoza, Ctra. de Cuarte km 67, 22071 Huesca.

*gpardos@aragon.es

Resumen: El objetivo del trabajo fue confirmar la resistencia a glifosato de poblaciones aragonesas de *Conyza canadensis* y *C. sumatrensis*. Para ello, se contó con 7 poblaciones de *C. canadensis*: 6 de ellas con problemas de control en campo (R) y 1 considerada sensible (S) y 4 de *C. sumatrensis*: 3R y 1S. Con ellas se realizaron ensayos dosis-respuesta utilizando un modelo de regresión (log-logistic con 4 parámetros) y se calcularon los factores de resistencia (FR). Se confirmó la resistencia de 5 de las 6 poblaciones problemáticas *C. canadensis*, con FR para parámetros de supervivencia y biomasa mucho mayores de 10. En el caso de *C. sumatrensis*, en 2 de las 3 poblaciones consideradas R se encontraron resistencia con unos FR que oscilaron entre 9,4 y 3,5 para los mismos parámetros.

Palabras clave: Dosis-respuesta, *Erigeron*, coniza, factor de resistencia.

Summary: Study of resistance of *Conyza* spp. to herbicide glyphosate in Aragón (Spain). The aim of this paper was to confirm resistance to glyphosate of *Conyza canadensis* and *C. sumatrensis* populations from Aragón. Hence, we had 7 populations of *C. canadensis*: 6 of them with field control problems (R) and 1 considered susceptible (S) and 4 populations of *C. sumatrensis*: 3R and 1S. Doses-response essays were performed and the resistance factors (RF) were calculated using a log-logistic regression model with 4 parameters. Results confirmed resistance in 5 of 6 *C. canadensis* populations, with RF for survival and biomass parameters much higher than 10. In the case of *C. sumatrensis*, 2 of 3 populations expected to be R had RF with values between 9.4 and 3.5 for the same parameters.

Keywords: Doses-response, *Erigeron*, horseweed, fleabane, resistance factor.

INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Conyza* spp. son cada vez más difíciles de controlar en cultivos en no laboreo, sobre todo en leñosos, donde el control de malas hierbas se basa en la aplicación de herbicidas. Del total de los casi 5 millones de ha de cultivos leñosos que hay en España, se estima que más de la mitad de esta superficie se maneja con técnicas de mínimo laboreo (42%) o no laboreo (8,5%), siendo éstos principalmente olivos, frutales y viñedos (Magrama, 2014). En este sentido, el glifosato suele ser el herbicida que más frecuentemente se usa para controlar las arvenses en estas situaciones. El uso masivo de este herbicida y el hecho de que *Conyza* spp. sea propensa a desarrollar resistencias a herbicidas (Torres et al., 2005) han hecho aparecer biotipos resistentes, a pesar de que el glifosato sea una materia activa con poca tendencia a generar resistencias (Heap, 2015). Así, en el sur de España ya se ha confirmado la resistencia a glifosato para *C. bonariensis* (Urbano et al., 2007), *C. canadensis* (Martínez & Urbano, 2007) y *C. sumatrensis* en 2009 (Heap, 2015) y a nivel mundial hay reconocidos 13, 39 y 6 casos, respectivamente (Heap, 2015).

En Aragón, en los dos últimos años se vienen recibiendo quejas de falta de control de *Conyza* con glifosato en zonas frutícolas. En este sentido, el primer objetivo del trabajo fue confirmar que la supervivencia en campo de estas poblaciones de *Conyza* se debió a la aparición un fenómeno de resistencia y no a fallos de control en campo. Una vez confirmada la resistencia, un objetivo adicional fue cuantificar su magnitud.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se realizó con 7 poblaciones aragonesas de *Conyza canadensis* y 4 de *Conyza sumatrensis*. En ambas especies todas las poblaciones proceden de plantas que han sobrevivido en campo a tratamientos de glifosato (R), salvo una, cuya semilla se obtuvo de plantas sin historial de tratamiento herbicida y que se usó como testigo sensible (S), Tabla 1.

Tabla 1. Poblaciones de *Conyza* spp. utilizadas en el ensayo.

<i>Conyza canadensis</i>			<i>Conyza sumatrensis</i>		
Población	Localidad	Cultivo	Población	Localidad	Cultivo
14-Dellalrio	Maella (Z)	Nectarina	71-La Hoya	Peñaflor (Z)	Almendro
23-Cataluñas	Maella (Z)	Melocotón	75-Peñaflor	Peñaflor (Z)	Almendro
37-Masatrigo	Maella (Z)	Almendro	183-Ponciano*	Valmadrid (Z)	Sin cultivo
41-Valdelpuente	Maella (Z)	Melocotón	193-Los Cerrados	La Puebla (Z)	Cuneta
62-Invernadero*	Montañana (Z)	Espárrago			
111-La Litera	Fraga (Hu)	Melocotón			
126-Laporchina	Fraga (Hu)	Nectarina			

*Sin historial de tratamientos herbicidas. Z: Zaragoza, Hu: Huesca.

Las semillas de todas estas poblaciones se pusieron a germinar para posteriormente trasplantar las plántulas en estado de 2-4 hojas. Para las dos operaciones se utilizó sustrato de hortícolas (90% materia orgánica, 10% cenizas y 0,2% nitrógeno y 0,1% fósforo). Cuando las plantas tuvieron entre 10-12 hojas se les aplicó el herbicida. Se hicieron 8 tratamientos con las dosis 0, 180, 360, 720, 1440, 2880, 5760 y 11520 g i.a./ha con el formulado comercial Roundup® (glifosato 36% p/v) en un experimento en bloques al azar, de 6 repeticiones. Las repeticiones, antes del tratamiento, fueron ordenadas en base al tamaño de las plantas. Es decir, plantas de la misma repetición tuvieron, además de similar estado fenológico en todas las poblaciones, similar tamaño, con el objetivo de descartar en las poblaciones resistentes cualquier duda debido a un mayor desarrollo de la planta. La parcela elemental fue una maceta de plástico de 7 x 7 x 8 cm en la que había 1 planta de *Conyza*. Todo el experimento se repitió 2 veces a lo largo del tiempo.

Todo el proceso se desarrolló en un invernadero del CITA equipado con un sistema de refrigeración para no superar temperaturas mayores de 30°C ni bajar de 15°C, e iluminación artificial para mantener 16/14h de luz y 8/10h de noche. Las aplicaciones se realizaron con un equipo de pulverización experimental que permite realizar aplicaciones con poco volumen de caldo, en este caso 210 l/ha, a presión, altura de barra y velocidad de avance constantes. Los parámetros evaluados semanalmente fueron: fitotoxicidad, altura, supervivencia y biomasa seca al final del ensayo, aunque en esta comunicación solo se hace referencia a los dos últimos, evaluados a los 28 días después del tratamiento (DDT). Los resultados de estos parámetros se sometieron a un modelo de regresión dosis-respuesta. Como el resultado de las dos repeticiones del experimento siguió la misma tendencia, se decidió agrupar los resultados como si fuera uno único, pero con 12 repeticiones por tratamiento. El modelo elegido, de entre los diez propuestos por Ritz & Streibig (2005) fue el Log-logístico con cuatro parámetros, ya que fue el que mejores ajustes presentó:

$$f(x, (b, c, d, e)) = c + \frac{d - c}{1 + \exp \{b(\log(x) - \log(e))\}}$$

donde c es el límite inferior de la curva, d es el límite superior, e es la EC_{50} o lo que es lo mismo, la concentración efectiva que produce una respuesta a la mitad valor total del parámetro estudiado (o también LD_{50} si se refiere supervivencia o GR_{50} si se refiere a biomasa) b es la pendiente de la curva en su punto de inflexión. El ajuste ha sido realizado con el programa de software libre R, Versión 2.14.2 (R Development Core Team, 2014). Finalmente se calculó el factor de resistencia (FR). Se

considera que se trata de un caso de resistencia si la respuesta diferencial es heredable y el FR es superior a 10 (Heap, 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En *C. canadensis*, respecto al parámetro supervivencia, cabe resaltar la magnitud del problema en la mayoría de poblaciones, sobre todo en "Cataluñas", "Dellalrio", y "Valdelpuente" que presentaron una supervivencia del 100%, 83%, y 67% respectivamente cuando se les aplicó la dosis máxima (32 l/ha de producto comercial). Como todas estas cifras superan el 50% de supervivencia, no se ha podido realizar el ajuste en esas poblaciones (Figura 1 A). A pesar de esto se puede deducir que la LD_{50} es mayor de 11.520 g m.a./ha por lo que, como mínimo, el factor de resistencia sería de 38 (Tabla 2). Siguiendo por orden de dificultad de control, y ya representadas en la Figura 1A, quedarían Laporchina, Masatrigo y La Litera, con FR mayores de 10 en todos los casos, a excepción de esta última (Tabla 2). Los FR encontrados, salvo para la población La Litera, son mayores que los de otros estudios en el sur de España (Martínez & Urbano, 2007).

El parámetro de biomasa (Figura 1B) presenta el mismo orden de dificultad para controlar las poblaciones, pero con FR mucho mayores (Tabla 2) debido, por un lado, a que las poblaciones muestran GR_{50} mucho mayores que los hallados por otros autores (Koger et al., 2004). A esto se añade la elevada sensibilidad del testigo sensible que presenta un valor de GR_{50} de 11 g i.a/ha, valor muy inferior al de las poblaciones sensibles utilizadas en otros estudios (Koger et al., 2004), explicando porqué se obtienen esos FR tan elevados.

En *C. sumatrensis*, dos de las tres poblaciones potencialmente problemáticas, "La Hoya" y "Peñaflor", tuvieron un comportamiento diferencial respecto al testigo "Ponciano" en los parámetros supervivencia (Figura 1C) y biomasa (Figura 1D). La población "Los Cerrados" se comportó como el testigo sensible. En este caso los FR fueron más pequeños que en *C. canadensis*, siempre inferiores a 10 (Tabla 2), por lo que no se podría hablar propiamente de resistencia. No obstante, hay que tener en cuenta que la DL_{50} de la población considerada sensible, 307 g m.a./ha, es un 35-45% más elevada que el de otros estudios (Santos et al., 2014).

Lo mismo ocurre en el caso del GR_{50} , en nuestro caso es de 167 g m.a./ha mientras que en estudios de González-Torralva et al. (2013) fue de 23,8 g m.a./ha. Estos datos sugieren que los FR podrían ser algo más elevados en el caso de haber dispuesto de una población testigo más susceptible y ello parece posible de acuerdo a esta bibliografía.

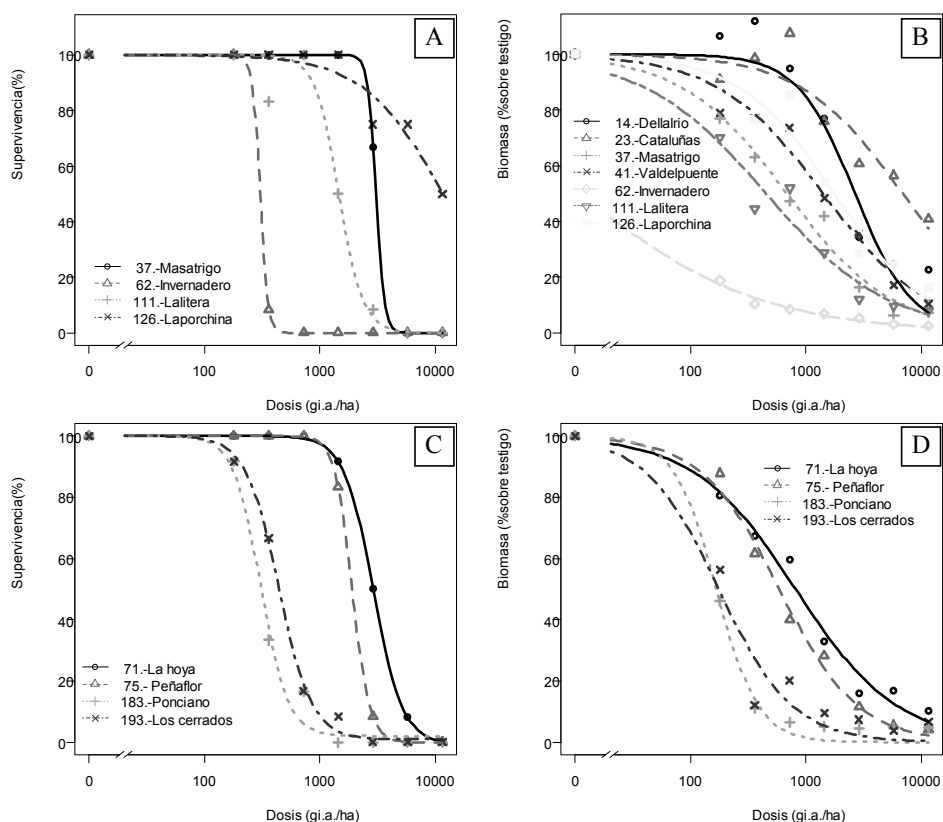


Figura 1. Curvas dosis-respuesta para los parámetros supervivencia (%) y biomasa seca (%) en *C. canadensis* (A y B) y en *C. sumatrensis* (C y D) a los 28 días después del tratamiento. La supervivencia en poblaciones de *C. canadensis* de Dellalrio, Cataluñas y Valdelpuente fue mayor del 50% a la máxima dosis aplicada, impidiendo el ajuste del modelo log-logístico (A).

Tabla 2. Dosis de glifosato, en gi.a./ha, que reduce un 50% la supervivencia (LD₅₀) y que reduce un 50% la biomasa (GR₅₀) de cada población de *Conyza*. Factor de resistencia (FR) para los dos parámetros los 28 DDT en base a la población sensible.

<i>Conyza canadensis</i>					<i>Conyza sumatrensis</i>				
Parámetro	Supervivencia		Biomasa		Parámetro	Supervivencia		Biomasa	
Población	LD ₅₀	FR	GR ₅₀	FR	Población	LD ₅₀	FR	GR ₅₀	FR
14-Dellalrio	>11520*	>38*	2652	241	71-La Hoya	2895	9,4	809	4,8
23-Cataluñas	>11520*	>38*	6847	622	75-Peñaflor	1904	6,2	587	3,5
37-Masatrigo	3051	10,1	680	62	183-Ponciano	307	1	167	1
41-Valdelpuente	>11520*	>38*	1405	128	193-Los Cerrados	440	1,43	175	1,1
62-Invernadero	302	1	11	1					
111-La Litera	1459	4,8	450	41					
126-Laporchina	11677	38,6	1751	159					

*Más de la mitad de los individuos sobreviven a la máxima dosis aplicada (11520 gi.a./ha).

Para hablar con propiedad de resistencia, hay que comprobar que la respuesta diferencial entre poblaciones R y S se mantiene en la descendencia. En nuestro caso no se ha comprobado pero consideramos que probablemente será así, teniendo en cuenta que las plantas empleadas en el ensayo ya son la descendencia de supervivientes en campo a tratamientos con glifosato y teniendo en cuenta los antecedentes de la bibliografía consultada. Por tanto, se puede concluir que en el caso de *C. canadensis* se confirma que existen poblaciones con un patrón claramente resistente, con FR mucho mayores de 10. En *C. sumatrensis*, aunque los FR sean menores de 10, parece claro que hay un problema incipiente.

AGRADECIMIENTOS

A Carlos Lozano, Carles Agustí y Pilar Vicente por ponernos en contacto con los agricultores José Antonio Espiau, Manuel Rausa y José María Vilar, que facilitaron la semilla.

BIBLIOGRAFÍA

- GONZÁLEZ-TORRALVA F, GIL-HUMANES J., BARRO F, DOMÍNGUEZ-VALENZUELA JA, DE PRADO, R (2013) First evidence for a target site mutation in the EPSPS2 gene in glyphosate-resistant Sumatran fleabane from citrus orchards. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 553-560.
- HEAP I (2015) The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Disponible www.weedscience.com. Visitada el 4 marzo de 2015.
- KOGER CH, POSTON DH, HAYES RM, et al. (2004) Glyphosate resistant horseweed (*Conyza canadensis*) in Mississippi. *Weed Technology* 18, 820-825.
- MAGRAMA (2014) *Encuesta sobre superficies y rendimientos de cultivos. Análisis de las técnicas de mantenimiento de los suelos y de los métodos de siembra en España*. Secretaría General Técnica. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid, pp. 46.
- MARTÍNEZ JM & URBANO JM (2007) Nivel de resistencia a glifosato en poblaciones de *Conyza canadensis* de Andalucía. *XI Congreso SEMh*. Albacete, 349-353.
- R CORE TEAM (2014) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible: <http://www.R-project.org/>. Visitada el 20 agosto de 2014.

- RITZ C, & STREIBIG, JC (2005) Bioassay Analysis using R. *Journal of Statistical Software*. 12(5). Disponible en Internet: <http://bioassay.dk/>. visitada el 20 diciembre 2014.
- SANTOS G, OLIVEIRA JR, CONSTANTIN J et al. (2014) *Conyza sumatrensis*: A new weed species resistant to glyphosate in the Americas. *Weed Biology and Management* 14, 106-114.
- TORRES V, CALDERON S, BARNES J, & URBANO JM (2005) Determinación de la GR50 en cinco poblaciones de *Conyza bonariensis* L. recolectadas en Andalucía occidental. *Actas del X Congreso de la SEMh*, Huelva, 399-405.
- URBANO JM, BORREGO A. TORRES, V et al. (2007) Glyphosate-resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) in Spain. *Weed Technology* 21, 396-401.

RESPUESTA DE POBLACIONES DE AVENA *STERILIS* DE CASTILLA Y LEÓN A HERBICIDAS UTILIZADOS PARA SU CONTROL

Loureiro I., Escorial M.C., Chueca M.C.*

Departamento de Protección Vegetal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Ctra. La Coruña km 7,5, 28040 Madrid, España.

**chueca@inia.es*

Resumen: Se ha evaluado la respuesta en invernadero de 25 poblaciones de *Avena sterilis* L. recogidas en Castilla y León a los herbicidas inhibidores del enzima ACCasa (Acetil Coenzima A carboxilasa) clodinafop-propargil, diclofop-metil y tralkoxidim. Se han utilizado 2 dosis (la dosis recomendada en campo y la dosis doble) además de un control no tratado, con 3 repeticiones por dosis y 25 semillas por repetición. La dosis recomendada fue de 40,8 g. m.a. ha⁻¹ para clodinafop, 900 g. m.a. ha⁻¹ para diclofop y de 400 g. m.a. ha⁻¹ para tralkoxidim. Todas las poblaciones muestreadas fueron susceptibles al herbicida tralkoxidim cuando se empleaba a la dosis recomendada. A pesar de que la mayoría de las poblaciones se clasificaron como sensibles en su respuesta a los herbicidas "fop" utilizados, se detectaron poblaciones que muestran cierto grado de resistencia a ambos herbicidas, en mayor medida al diclofop-metil.

Palabras clave: Avena, inhibidores de ACCasa, resistencia a herbicidas.

Summary: Response of populations of *Avena sterilis* from Castilla-León to herbicides used for its control. The response of 25 populations of *Avena sterilis* L. collected in Castilla-León to the ACCase (acetyl coenzyme A carboxylase) inhibiting herbicides clodinafop-propargyl, diclofop-methyl and tralkoxydim has been evaluated in the greenhouse. Two herbicide doses were used (the recommended field rate and the double rate) plus a non-treated control, with 3 replications per dose and 25 seeds per replication. The field rate was 40.8 g a.i. ha⁻¹ for clodinafop, 900 g a.i. ha⁻¹ for diclofop and 400 g a.i. ha⁻¹ for tralkoxydim. All sampled populations were sensitive to tralkoxydim herbicide when used at the recommended field rate. Although most of the populations were classified as sensitive in the response to the used "fop" herbicides, populations showed some degree of resistance to both herbicides but in a greater extent to diclofop-methyl.

Keywords: Wild oat, ACC-ase inhibitors, herbicide resistance.

INTRODUCCIÓN

Avena sterilis L., junto con *Avena fatua* L., conocidas en genérico como avenas locas o balluecas, son las especies silvestres del género *Avena* con mayor incidencia sobre los cultivos de cereal en la región Mediterránea. Esa especie ocasiona importantes reducciones en el rendimiento como resultado de la elevada competencia que establecen con el cultivo (Fernandez-Quintanilla et al., 1997). Aunque en el mercado existen herbicidas disponibles para el control de estas especies, el uso de éstos depende en gran medida de la rentabilidad del cultivo, lo que hace que no siempre sea posible su utilización. Si bien en la actualidad el uso intensivo de los herbicidas inhibidores de la ACC-asa para el control de malas hierbas gramíneas ha llevado a la aparición de numerosas resistencias a escala global (Heap, 2015), la resistencia a herbicidas en poblaciones de *Avena* en España no se considera un problema grave aunque sí existen campos donde se han localizado problemas de control con avenicidas específicos (Taberner et al., 2005; CPRH, 2011).

En el año 2013 se realizaron una serie de muestreos al azar de poblaciones de *Avena sterilis* L. en campos de cereal de diferentes provincias de Castilla y León con el fin de determinar la frecuencia con la que aparecen en la actualidad poblaciones resistentes a algunos de los herbicidas que han sido utilizados durante años para su control en cereal. El objetivo de este trabajo es evaluar la respuesta estas poblaciones a los herbicidas inhibidores del enzima ACC-asa (Acetil Coenzima A carboxilasa) clodinafop-propargil, diclofop-metil y tralkoxidim.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre los años 2013-2014 se recogió semilla madura de 25 poblaciones de *A. sterilis* en muestreos de malas hierbas realizados al azar en campos de cereal de diferentes provincias de Castilla y León de los que no se conoce el historial previo. Para realizar los ensayos de respuesta a herbicidas, esta semilla se sembró en bandejas de plástico de 25 L con una mezcla de mantillo:tierra:arena (1:1:1) con 25 semillas por bandeja y 3 bandejas por dosis de tratamiento y herbicida. Se realizaron ensayos de respuesta a los herbicidas clodinafop-propargil, diclofop-metil y tralkoxidim en invernadero. Las dosis de clodinafop-propargil (Topik, clodinafop-propargil 24% p/v, Syngenta + CanPlus 0,5%, Zeneca Agro) empleadas fueron de 0; 40,8 y 81,6 g m.a ha⁻¹, las de diclofop-metil (Colt, diclofop-metil 36% p/v, Dupont) de 0; 900 y 1800 g m.a ha⁻¹ y las de tralkoxidim (Splendor, tralkoxidim 25% p/v, Syngenta + CanPlus 0,3%, Zeneca Agro) de 0; 400 y 800 g m.a ha⁻¹. Las dosis utilizadas con el fin de detectar poblaciones resistentes corresponden al control no tratado, a la dosis recomendada en campo (1x) y a la dosis doble (2x). Los tratamientos herbicidas se aplicaron cuando

las plantas estaban en 3-4 hojas con un pulverizador estacionario equipado con una cinta transportadora y una boquilla plana Teejet 8002-E y calibrado para pulverizar 225 L ha⁻¹ a 200 kPa. Los ensayos se llevaron a cabo en los meses de invierno en un invernadero cuyas temperaturas oscilaron entre 16 y 26°C y sin iluminación adicional ni control de humedad. Treinta días después de cada tratamiento, se cortó y pesó la parte aérea de las plantas de cada bandeja para obtener el parámetro del peso fresco. Las poblaciones se clasificaron en relación con su respuesta a cada uno de los herbicidas como resistentes (R) si mostraban una reducción del peso fresco menor del 15%, con resistencia moderada o intermedia (I) si esta reducción era de entre el 15 y el 85% y sensibles (S) cuando era superior al 85%, en línea con la escala utilizada por Escorial et al. (2011) para *Bromus diandrus*. Se realizó el conteo de plantas no dañadas (ND), considerando ND las plantas similares en aspecto y tamaño a las del testigo no tratado, sin daño por el herbicida.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los ensayos de las poblaciones recogidas al azar de *A. sterilis* con los herbicidas inhibidores de la ACCasa no se han detectado poblaciones clasificadas como resistentes a ninguno de los tres herbicidas empleados (Tabla 1). Para el herbicida tralkoxidim, todas las poblaciones fueron sensibles, con valores en la reducción del peso fresco en relación a las poblaciones no tratadas superiores al 93% en todas las poblaciones y no se encontraron plantas no dañadas. Aunque tampoco se encontraron plantas no dañadas en el tratamiento con clodinafop, el 8% de las poblaciones se clasificaron con resistencia intermedia a la dosis normal empleada en campo, valor que se redujo al 4% a la dosis doble. El porcentaje de poblaciones con resistencia intermedia a diclofop-metil fue mucho mayor que para los otros dos herbicidas, con un 52% de las poblaciones incluidas en este grupo a la dosis normal de 900 g m.a ha⁻¹. Para esta dosis, los pesos frescos variaron entre el 2 y el 63% y se encontraron plantas ND en aproximadamente la mitad de las poblaciones analizadas (44%) en porcentajes que variaron entre el 3 y el 16% (Figura 1).

Tabla 1. Clasificación de las poblaciones de *A. sterilis* (en %) en función de su respuesta a los herbicidas a utilizados para su control en cereal. La dosis 1x empleada para el control de *A. sterilis* fue de 900 g m.a ha⁻¹ para diclofop-metil, 40,8 g m.a ha⁻¹ para clodinafop y 400 g m.a ha⁻¹ de tralkoxidim. R= Resistentes, I= Resistencia Intermedia, S= Sensibles.

Herbicida	Poblaciones (%)					
	Dosis 1x			Dosis 2x		
	R	I	S	R	I	S
Diclofop-metil	0	52	48	0	4	96
Clodinafop-propargil	0	8	92	0	4	96
Tralkoxidim	0	0	100	0	0	100

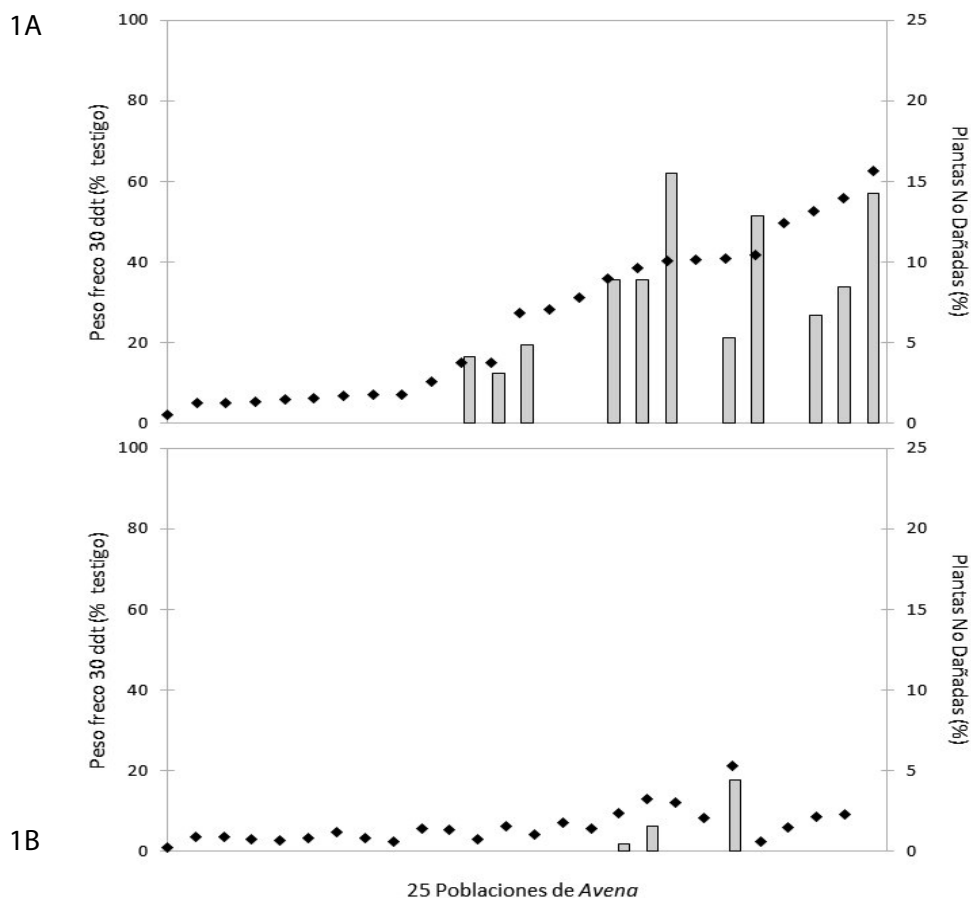


Figura 1. Respuesta de 25 poblaciones de *A. sterilis* procedentes de Castilla y León a diclofop-metil. 1A) Dosis recomendada en campo (900 g m.a ha⁻¹); 1B) Dosis doble. Los rombos negros representan el peso fresco en porcentaje de testigo y las barras el porcentaje de plantas no dañadas, ambos parámetros obtenidos 30 días después del tratamiento. Las poblaciones se encuentran ordenadas en función de su respuesta a la dosis 1x de herbicida.

Cuando la dosis empleada era la doble de la normal, un 4% de las poblaciones siguieron clasificándose como I, y en este caso los porcentajes de plantas ND variaron entre 0,5 y 4,5% (Tabla 1).

Estos resultados, con mayor proporción de resistencia a diclofop-metil que a clodinafop y tralkoxidim, están en concordancia con los publicados por Owen y Powles (2009), que en el screening poblaciones de *Avena* spp. muestreadas al azar en Australia encontraron que el porcentaje de poblaciones con resistencia a diclofop era del 71% frente a tasas mucho

menores de resistencia a otros inhibidores de ACCasa como clodinafop (3%) y tralkoxidim (5%). Hay que tener en cuenta que las dosis de herbicida empleadas en sus circunstancias son mucho menores (563 g m.a ha⁻¹ para diclofop-metil, 18 para clodinafop y 200 para tralkoxidim) que las empleadas en nuestro trabajo. En nuestra opinión, este hecho es probable que esté ligado al mayor uso histórico del diclofop-metil que se introdujo en los años setenta en relación a los otros dos herbicidas que se introdujeron en los noventa: el clodinafop y mucho más recientemente el tralkoxidim. El diclofop ha sido más ampliamente utilizado durante años, sobre todo para el control de vallico (*Lolium rigidum* Gaud.) en cereal, además de haber sido una opción más económica que clodinafop (sólo aplicable en trigo) y tralkoxidim.

Este muestreo revela por tanto que pese a no haber encontrado poblaciones de avena resistentes a inhibidores de ACCasa, hay un elevado porcentaje de ellas con resistencia intermedia a diclofop-metil que acabarán siendo resistentes si no se toman las medidas oportunas. Se ha descrito en la literatura que la resistencia a diclofop-metil puede tener lugar tanto por mutaciones en los genes que codifican la ACCasa como por otros mecanismos de resistencia de tipo metabólico y que ambos tipos pueden estar presentes en una misma planta de Avena (Maneechote et al., 1997; Yu et al., 2013). Es posible que ambos tipos de resistencia estén presentes en las poblaciones ensayadas, puesto que al aumentar la dosis de herbicida disminuye el número de plantas no dañadas, aunque éstas siguen apareciendo en alguna de las poblaciones. A pesar de que se trata de una especie autógena, y por tanto la resistencia se desarrolla de forma más lenta que en especies alógamas como *L. rigidum*, las tasas de polinización cruzada pueden alcanzar hasta el 12% (Murray et al., 2002), tasas suficientemente elevadas como para permitir la acumulación de varias mutaciones en un mismo individuo (Yu et al., 2013).

Estas poblaciones con cierta resistencia a diclofop-metil pueden ser de momento controladas por otros herbicidas inhibidores de ACCasa como clodinafop o tralkoxidim que son eficaces siempre que la rentabilidad del cultivo lo permita, y diversificando con otros mecanismos de acción disponibles para el conjunto de una rotación con diversos cultivos y otros tipos de control a fin de prevenir y/o manejar la aparición de resistencias.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad dentro del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica 2008-2011 en el marco del proyecto AGL 2011-23542. Los autores agradecen a Z. Hornos y A. Mateo su valiosa

colaboración técnica en el manejo del material y en la realización de los ensayos.

BIBLIOGRAFÍA

- CPRH (2011) ¿Cómo manejar una población de avena loca (*Avena* spp.) resistente al cereal de invierno? http://www.semh.net/resistencia_herbicidas.html. Disponible: (01-06-2015).
- ESCORIAL C, LOUREIRO I, RODRIGUEZ-GARCÍA E & CHUECA C (2011) Population variability in the response of ripgut brome (*Bromus diandrus*) to sulfosulfuron and glyphosate herbicides. *Weed Science* 59, 107-112.
- FERNÁNDEZ-QUINTANILLA C, NAVARRETE L, TORNER C & SÁNCHEZ DEL ARCO MJ (1997) *Avena sterilis* L. en cultivos de cereales. En: *Biología de las Malas Hierbas de España* (eds X SANS & C FERNÁNDEZ-QUINTANILLA), pp. 11-23, Phytoma, Valencia, España.
- HEAP I (2015) The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. www.weedscience.org. Disponible: (01-06-2015).
- MANEECHOTE C, PRESTON C & POWLES SB (1997) A diclofop-methyl-resistant *Avena sterilis* biotype with a herbicide-resistance acetyl-coenzyme A carboxylase and enhanced metabolism of diclofop-methyl. *Pesticide Science* 49, 105-114.
- MURRAY BG, MORRISON IN & FRIESES LF (2002) Pollen-mediated gene flow in wild oat. *Weed Science* 50, 321-325.
- OWEN MJ & POWLES SB (2009) Distribution and frequency of herbicide-resistant wild oat (*Avena* spp.) across the Western Australian grain belt. *Crop Pasture Science* 60, 25-31.
- TABERNER A, CIRUJEDA A & ANGUERA R (2005) Descripción de las poblaciones de avena loca (*Avena sterilis* ssp. *ludoviciana* y *Avena fatua*) resistentes a herbicidas localizadas en España". *Phytoma España* 174, 10-12.
- YU Q, AHMAD-HAMDANI MS, HAN H, CHRISTOFFERS MJ & POWLES SB (2013) Herbicide resistance-endowing ACCase gene mutations in hexaploid wild oat (*Avena fatua*): insights into resistance evolution in a hexaploid species. *Heredity* 110, 220-231.

RESPUESTA DE POBLACIONES DE *BROMUS DIANDRUS* DE CASTILLA Y LEÓN A SULFOSULFURON Y GLIFOSATO

Loureiro I., Escorial M.C., Chueca M.C.*

Departamento de Protección Vegetal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Ctra. La Coruña km 7,5, 28040 Madrid, España.

**chueca@inia.es*

Resumen: Se ha evaluado la respuesta de un total de 87 poblaciones de *Bromus diandrus* (bromo) recogidas en muestreos al azar realizados en campos de cereal de Castilla y León y de una población recogida en el INIA, a los herbicidas glifosato y sulfosulfuron, utilizados durante años para el control de bromo en trigo. Los ensayos se han realizado en invernadero con 3 dosis: control, la dosis de herbicida recomendada en la etiqueta del producto (20 g. m.a. ha⁻¹ para sulfosulfuron y de 800 g. m.a. ha⁻¹ para glifosato) y la mitad de la dosis recomendada, con 5 repeticiones por dosis y 100 semillas por repetición y población. No se encontraron poblaciones resistentes a las dosis recomendadas de ambos herbicidas, pero el 55% de las poblaciones mostraron cierta resistencia a sulfosulfuron y el 14% a glifosato.

Palabras clave: Bromo, BRODI, control químico, resistencia a herbicidas.

Summary: Response of *Bromus diandrus* populations from Castilla-León to sulfosulfuron and glyphosate. The response of 87 *B. diandrus* (ripgut brome) populations collected in cereal fields of Castilla-León and of one population collected in INIA (Madrid), to the herbicides glyphosate and sulfosulfuron, used for brome control in wheat during years, has been evaluated. The bioassays were conducted under greenhouse conditions with three doses: control, the recommended label herbicide dose (20 g m.a. ha⁻¹ for sulfosulfuron and 800 g m.a. ha⁻¹ for glyphosate) and half dose, with 5 replications per dose and 100 seeds per replication and population. Resistant populations were not found when the herbicide label dose was applied, but 55% of the populations showed certain resistance to sulfosulfuron and 14% to glyphosate.

Keywords: Ripgut brome, BRODI, chemical control, herbicide resistance.

INTRODUCCIÓN

Desde hace unos años el nivel de infestación de bromo está aumentando año tras año, detectándose su presencia en un mayor número de campos de cereal y a densidades cada vez más elevadas. El bromo es por tanto una mala hierba problemática, que puede causar pérdidas en los rendimientos de los cultivos de trigo de hasta el 50% (Gill et al., 1987). Este cambio en su importancia aparece fundamentalmente con la adopción de técnicas culturales de mínimo laboreo y siembra directa que favorecen la proliferación de esta especie. Además también pueden influir el frecuente monocultivo de cereal, la reducción en la competencia con el bromo de otras malas hierbas como avenas (*Avena* sp.) o vallicos (*Lolium rigidum* L.) que sí son controladas eficazmente por herbicidas anti-gramíneos selectivos, y el hecho de que es una especie de difícil control con herbicidas, sobre todo en cebada, cultivo que no tiene herbicidas selectivos disponibles.

Al aplicar un herbicida se crean artificialmente condiciones negativas extremas para determinadas comunidades de plantas. Esta selección actúa sobre la variabilidad existente en las poblaciones, que es la que confiere a éstas la capacidad de adaptación necesaria para superar condiciones adversas. Los datos sobre los niveles de variación para la resistencia a herbicidas son necesarios para la predicción del futuro comportamiento de las poblaciones. Es sabido que el desarrollo de una resistencia es un proceso evolutivo y el nivel de variación indica la situación de cada población en relación a la resistencia. En este trabajo se ha estudiado la respuesta a los herbicidas sulfosulfuron y glifosato de 87 poblaciones de *B. diandrus* recogidas en campos de cereal de Castilla y León.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre los años 2012-2014 se recogió semilla madura de 87 poblaciones de *B. diandrus* en muestreos de malas hierbas realizados en campos de cereal de diferentes provincias de Castilla y León. Los muestreos se realizaron recorriendo los campos de las zonas cerealistas de cada provincia y muestreando cada 5 kilómetros las poblaciones de *B. diandrus* presentes. La semilla recogida se sembró en vasos de plástico de 1 L con una mezcla de mantillo:tierra:arena (1:1:1) con 100 semillas por vaso y 5 vasos por dosis de tratamiento y herbicida. La germinación de las poblaciones fue superior al 95%. Se realizaron ensayos de respuesta a los herbicidas sulfosulfuron (Leader Plus®, sulfosulfuron 80% p/v, Monsanto) y glifosato (Roundup®, glifosato 36% p/v, Monsanto) en invernadero. Las dosis de sulfosulfuron empleadas fueron de 0; 10 y 20 g m.a ha⁻¹ (se añadió activador de Leader Plus 0,2%) y las de glifosato de 0; 400 y 800 g m.a ha⁻¹. Las dosis utilizadas corresponden al control, a la mitad de la

dosis recomendada en la etiqueta (0,5X), con el fin de detectar variabilidad en la respuesta a herbicidas, y a la dosis recomendada en la etiqueta (1X). En ambos tratamientos se incluyó una población recogida en el INIA (Madrid) que no ha sido previamente expuesta a ningún herbicida (mortalidad 100%). Los tratamientos herbicidas se aplicaron cuando las plantas estaban en 2-3 hojas con un pulverizador estacionario equipado con una cinta transportadora y una boquilla plana Teejet 8002-E y calibrado para pulverizar 225 L ha⁻¹ at 200 kPa. Los ensayos se llevaron a cabo en los meses de invierno en un invernadero cuyas temperaturas oscilaron entre 16 y 26° C y sin iluminación adicional.

Treinta días después de cada tratamiento, se cortó y pesó la parte aérea de las plantas de cada vaso para obtener el parámetro del peso fresco. Las poblaciones se clasificaron en relación con su respuesta a cada uno de los herbicidas como resistentes (R) si mostraban una reducción del peso fresco menor del 15%, con resistencia moderada o intermedia (I) si esta reducción era de entre el 15 y el 85% y sensibles (S) cuando era superior al 85%. Se realizó en cada vaso el conteo de plantas no dañadas (plantas similares al control no tratado)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra los resultados de la respuesta obtenida para cada población al herbicida sulfosulfuron a las dos dosis empleadas. El peso fresco (en % control) varió entre 5 y 30% a estas dosis y no se encontraron poblaciones resistentes. Sin embargo, a mitad de dosis el 85% de las poblaciones mostraron resistencia intermedia (I). A la dosis normal, este porcentaje fue del 55% de las poblaciones y el 45% se clasificaron como sensibles (S). Para ambas dosis se encontraron en algunas poblaciones plantas no dañadas en porcentajes bajos (0,2-1%), lo que puede indicar la presencia de genes mayores de resistencia (Escorial et al., 2011).

Por provincias (Tabla 1), los porcentajes más elevados de poblaciones con resistencia intermedia se encontraron en Zamora y Valladolid (>70% de poblaciones I).

En muestreos realizados hace más de una década en Castilla y León (2000-2002), se encontró un 57% de poblaciones con resistencia intermedia a 0,5X de sulfosulfuron, mientras que a la dosis total (1X) este valor fue del 43% (Escorial et al., 2011). En la actualidad, estas tasas se han incrementado hasta el 85% en el caso de la dosis media y al 55% a dosis total. Es posible que este aumento en los niveles de resistencia sea debido a la selección que se realiza con otros herbicidas de tipo sulfonilurea, como clorsulfuron, que sigue siendo utilizado para control de gramíneas en cereal, así como iodosulfuron-mesosulfuron o

florasulam-piroxulam utilizados para control de bromo en trigo y que tienen el mismo modo de acción. Esta posibilidad a una resistencia cruzada ya ha sido citada en un biotipo de *B. tectorum*, resistente a sulfosulfuron y que había sido seleccionado con primisulfuron (Mallory-Smith et al., 1999). Esta selección mantenida de forma continua, ha podido enriquecer de diferentes alelos de resistencia a las poblaciones incrementando su nivel general de resistencia, tal y como se ha descrito en Australia (Owen et al., 2012) para poblaciones de *B. rigidus* con resistencia metabólica a inhibidores de ALS.

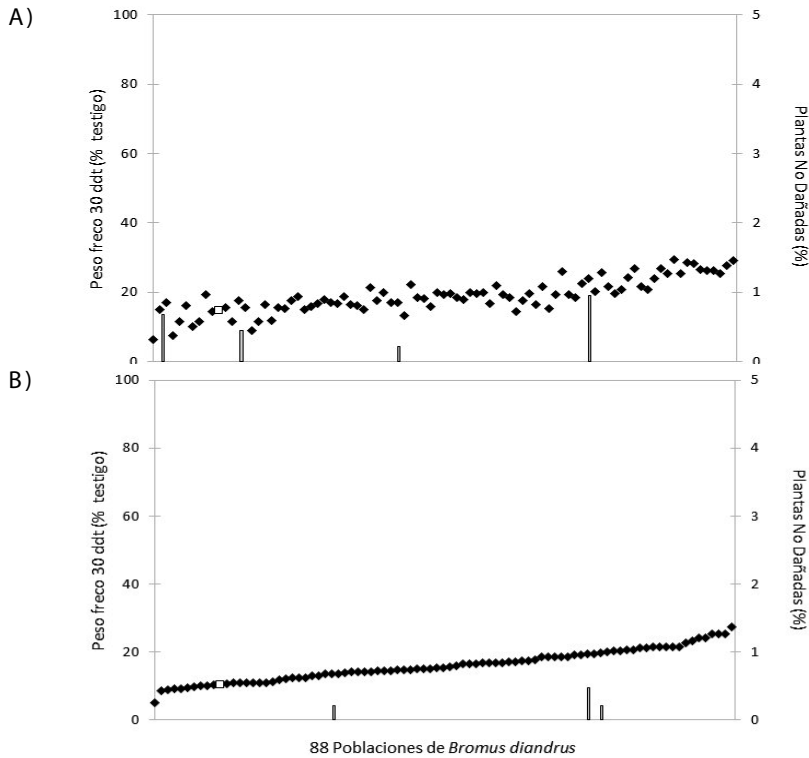


Figura 1. Respuesta de 87 poblaciones de *B. diandrus* de Castilla y León y de una población recogida en el INIA a sulfosulfuron. 1A) Dosis 0,5X; 1B) Dosis 1X (20 g m.a. ha⁻¹). Los rombos negros representan el peso fresco obtenido 30 días después del tratamiento en porcentaje de testigo y las barras, el porcentaje de plantas no dañadas. El cuadrado blanco representa la población INIA, no expuesta a herbicidas. Las poblaciones están ordenadas en función de su respuesta a la dosis 1X.

En el caso del glifosato (Figura 2), los porcentajes de peso fresco variaron entre 4% y 51% a mitad de dosis y de 3% a 23% a la dosis normal. No se detectaron poblaciones resistentes a glifosato. A la mitad de

la dosis normal, el 57% de las poblaciones se clasificaron como I, siendo este valor del 14% a 800 g ha⁻¹. En los tratamientos con glifosato a mitad de dosis se encontraron plantas no dañadas en el 40% de las poblaciones, con porcentajes que variaron entre el 0,5 y el 23%. Cuando se aplicó la dosis completa, se encontraron plantas no dañadas en el 8% de las poblaciones, siendo este valor de hasta 5% en una de las poblaciones. Zamora, Valladolid, León y Palencia fueron las provincias con los porcentajes más elevados de poblaciones con resistencia intermedia a glifosato (19-25% a dosis normal) (Tabla 1).

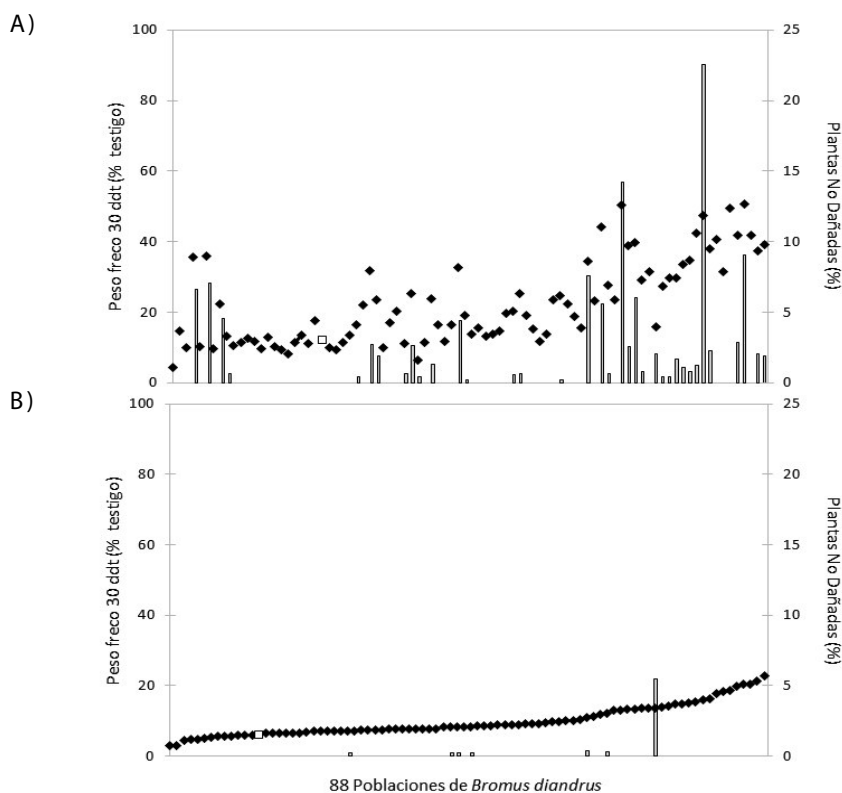


Figura 2. Respuesta de 87 poblaciones de *B. diandrus* de Castilla y León y de una población recogida en el INIA a glifosato. 2A) Dosis 0,5X; 2B) Dosis 1X (800 g m.a ha⁻¹). Los rombos negros representan el peso fresco obtenido 30 días después del tratamiento en porcentaje de testigo y las barras, el porcentaje de plantas no dañadas. El cuadrado blanco representa la población INIA, no expuesta a herbicidas. Las poblaciones están ordenadas en función de su respuesta a la dosis 1X.

Para glifosato no se han incrementado los porcentajes de poblaciones con resistencia intermedia, que permanecen similares a los obtenidos

en los muestreos realizados anteriormente, lo que puede ser debido a su menor utilización para el control de malas hierbas en los cultivos. Sin embargo, debido a su cada vez mayor utilización en siembra directa y mínimo laboreo, es de gran importancia seguir monitoreando para detectar posibles cambios en la susceptibilidad de las poblaciones a este herbicida.

Tabla 1. Clasificación de las poblaciones de *B. diandrus* por su procedencia y en función de su respuesta (% de poblaciones R, I o S) a los herbicidas sulfosulfuron y glifosato aplicados a mitad de dosis (0,5X) y a dosis completa (20 g m.a ha⁻¹ sulfosulfuron y 800 g m.a ha⁻¹ glifosato (1X)). R= Resistentes, I= Resistencia Intermedia, S= Sensibles.

Provincia	Nº	Sulfosulfuron						Glifosato					
		0,5x			1x			0,5x			1x		
		R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
Zamora	12	0	92	8	0	75	25	0	58	42	0	25	75
Valladolid	21	0	100	0	0	71	29	0	71	29	0	19	81
Burgos	8	0	100	0	0	63	37	0	38	62	0	0	100
Palencia	9	0	89	11	0	55	45	0	44	56	0	22	78
Soria	7	0	86	14	0	43	57	0	43	57	0	0	100
Ávila	10	0	40	60	0	40	60	0	40	60	0	0	100
Salamanca	11	0	82	18	0	36	64	0	55	45	0	9	91
León	9	0	78	22	0	33	67	0	89	11	0	22	78
Total	87	0	85	15	0	55	45	0	57	43	0	14	86

Es necesario realizar todas las acciones posibles como alternar herbicidas con diferente modo de acción e incluir en el manejo de malas hierbas métodos de control no químicos que contribuyan a garantizar la sostenibilidad de los herbicidas empleados para el control de bromo, siendo estos tan necesarios como escasos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad dentro del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica 2008-2011 en el marco del proyecto AGL 2011-23542. Los autores agradecen a Z. Hornos y A. Mateo su valiosa colaboración técnica en el manejo del material y en la realización de los ensayos.

BIBLIOGRAFÍA

- ESCORIAL C, LOUREIRO I, RODRIGUEZ E & CHUECA C (2011) Population variability in the response of riggut brome (*Bromus diandrus*) to sulfosulfuron and glyphosate herbicides. *Weed Science* 59, 107-112.
- GILL GS, POOLE ML & HOLMES JE (1987) Competition between wheat and brome grass in Western Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 27, 291-294.
- MALLORY-SMITH C, HENDRICKSON P & MUELLER-WARRANT G (1999) Cross-resistance of primisulfuron resistant *Bromus tectorum* L. (downy brome) to sulfosulfuron. *Weed Science* 47, 256-257.
- OWEN MJ, GOGGIN DE & POWLES SB (2012) Non-target-site-based resistance to ALS-inhibiting herbicides in six *Bromus rigidus* populations from Western Australian cropping fields. *Pest Management Science* 68, 1077-1082.

DOES *LOLIUM PERENNE* GR COMPETITION AFFECTS GRAPE YIELD AND WINE QUALITY OF DOURO REGION?

Martins S.¹, Calha I.², Amaral A.¹, Ramôa S.¹,
De-Prado R.³, Portugal J.^{1*}

¹Instituto Politécnico de Beja,
Rua Pedro Soares, 7800-908 Beja, Portugal.

²Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária,
2784-505 Oeiras, Portugal.

³Universidad de Córdoba, Departamento de Química Agrícola,
Campus de Rabanales, E-14071, Córdoba, España.

* jportugal@ipbeja.pt

Summary: To assess the efficacy of post-emergence herbicide programs in *Lolium perenne* L. populations glyphosate resistant (GR), a field experiment was carried out in a Douro vineyard (North Portugal) in 2014. A random block design (RBD) experiment with 11 treatments and three replicates was implemented. Fruit size, cluster number and grape weight were determined. Quality parameters (pH, total polyphenols anthocyanin content and color intensity) were also analysed. Analyses of variance (ANOVAs) were used to test the effects of weed cover on grape yield and quality. Tukey test was used to determine the differences among group means. The results show that weed cover affects crop productivity but it does not affect fruit composition, and therefore to wine quality.

Keywords: Vineyards, cluster weight, color intensity, total polyphenols, pH.

Resumen: *La competencia de Lolium perenne RG afecta el rendimiento de uva y la calidad del vino de la región del Duero.* En 2014 se llevó a cabo un ensayo en un viñedo del Douro (Norte de Portugal) para evaluar la eficacia de diferentes herbicidas en post-emergencia sobre *L. perenne* GR. Se evaluó los efectos de la infestación en la productividad y calidad de la uva. La productividad se determinó midiendo el tamaño, peso y número de frutos y racimos. Los parámetros de calidad analizados fueron: pH, contenido de antocianinas, polifenoles totales e intensidad de color. El ensayo se dispuso en un diseño de bloques al azar con 11 tratamientos y 3 repeticiones. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey para observar las diferencias significativas

entre la media de la eficacia, la productividad y la calidad. Los resultados obtenidos mostraron que la producción se vio afectada por la cobertura de *L. perenne*. Sin embargo, la composición del fruto, y por lo tanto la calidad del vino no se vio alterada.

Palabras clave: Viñedo, racimo, intensidad de color, polifenoles totales, pH.

INTRODUCTION

Vineyards are the most important crop in Portugal, both in area and economically (IVV, 2015). Demarcated in 1756, Douro is the world's oldest regulated wine region where one of the world's best wines is produced. In Douro region, glyphosate-resistant populations of *Lolium perenne* were confirmed in 2012.

It is important to have in mind that vineyard cover-cropping with weeds is a soil management practice widely used between the rows. However, if the weeds are improperly managed, they may induce a strong competition with vines for water as it was shown in Portugal and in the United States (Centinari et al., 2011; Lopes et al., 2011). In order to achieve the best weed control strategy it is necessary to know the weed biology and ecology.

The additional water consumption caused by the weed can have positive or negative effects in the vineyards depending on soil, weather conditions of the year and the age and vigour of the vine. Moderate water stress in spring can be beneficial for varieties with high vegetative development potential, since it reduces vine vigour that benefits grape quality and the health of clusters (Frazão & Moreira, 1990; Pacheco et al., 1991; Maigre & Aerny, 2001; Lopes et al., 2008).

In Douro wine region, where most of the vineyards are not irrigated, summers are dry and soils have low water storage capacity. In these environmental conditions, water stress can easily occur with negative effects on physiology, growth, production of the vine and on grape quality (Monteiro et al., 2012). Having these in mind and also that GR *Lolium perenne* is present in 30% of Douro vineyards (*circa* 10 000ha), a field experiment was carried out to assess the efficacy of post-emergence herbicide programs in GR populations.

MATERIAL AND METHODS

A field trial was carried out in 2014 in a Douro vineyard (North Portugal) with a *random block design* (RBD) experiment with 11 treatments

and three replicates, each plot with 10m² (2x10m). Trials included herbicide treatments with early POST-only (glyphosate); 1 -pass Post (mixed herbicides with glyphosate) and 2-pass - POST (sequence of application with glyphosate followed by ACCase- or ALS-inhibiting herbicides) – Table 1.

Table 1. Efficacy of herbicide strategies on *Lolium perenne*, expressed as percentage of control in Douro vineyard, Peso da Régua, Portugal - 2014.

Treatment (Nº)	Early postemergence-early tillering of <i>Lolium</i> (BBCH 13-18)	Tillering stage of <i>Lolium</i> (late February-early March)	Efficacy (%) 60 DAT	Interval
1	untreated		0	0
2	glyphosate 1800 g/ha		24.5	20-30
3	glyphosate 1800 g/ha	cletodim 100 g/ha	49.2	40-50
4		cletodim 100 g/ha + glyphosate 1800 g/ha	62.5	60-70
5	glyphosate 1800 g/ha	cycloxdim 250 g/ha	70	60-70
6		cycloxdim 250 g/ha + glyphosate 1800 g/ha	74.2	
7	flazasulfuron 50 g/ha + glyphosate 1800 g/ha		95.2	90-100
8	glyphosate 1800 g/ha	flazasulfuron 50 g/ha	70.8	
9		flazasulfuron 50 g/ha + glyphosate 1800 g/ha	65.7	60-70
10	glyphosate 1800 g/ha	quizalofop-ethyl 125 g/ha	62.3	60-70
11		quizalofop-ethyl 125 g/ha + glyphosate 1800 g/ha	75	

Yield assessment

Results of visual estimation at 60 days after treatment (DAT), were classified into five categories of herbicide efficacy: 0% (control); 20-30%; 40-50%; 60-70% and 90-100% (Table 1). Grape weight and cluster number were determined by individual harvest of 5 vines per subplot (25 clusters per treatment).

Grape quality

Prior to harvest a 100-grapes sample was collected from each subplot for berry weight and fruit composition. The quality parameters analysed were: pH, total acidity, total polyphenols, anthocyanin content, and color intensity. They were measured according to the International Organization of Vine and Wine (OIV) in 2014.

Statistical analysis

Data were analysed with an ANOVA using R (R Development Team, 2014). Differences among the treatment means were determined by Tukey's test at a significant level of 0.05.

RESULTS AND DISCUSSION

Yield assessment

There are significant differences in the weight of clusters that is correlated with herbicide efficacy – Table 2. The grape weight increased with herbicide efficacy. A difference of 99.7 g on mean values, between class 1 and class 5 (90 and 100% efficacy), correspond to a loss of about 19% of production between untreated and acceptable efficacy plots.

Table 2. Effect of *Lolium perenne* coverage on vineyard yield.

Class	Herbicide efficacy (%)	Bunches weight (g)	Bunches length (cm)	Weight of 100 grapes (g)
1	0	307.2 a	15.77 a	229 a
2	20-30	314.4 a	15.3 a	225.2 a
3	40-50	323.4 a	15.2 a	236.9 a
4	60-70	364.2 ab	16.4ab	244.8 a
5	90-100	406.87 b	16.7 b	241.5 a

The values are percentages and those in parenthesis are SE.

Values in a column with different letters are significantly different from each other ($\alpha < 0.05$) (Tukey's test).

Reduction of vine yield could be attributed to lower grape weight of bunches (Table 2).

Grape quality

Table 3 shows that the five quality parameters are not statistically different among herbicide efficacy classes. The effects of vineyards cover cropping on grape quality are usually indirect; the reduction of vine vigour affects positively grape health and maturity. However, these results are not in accordance with those of Lopes et al. (2011) which showed a decline in total acidity or Agulhon (1998) and Lopes et al. (2008) who found that the presence of natural groundcover vegetation lead to increase anthocyanins and color intensity.

Table 3. Effect of *Lolium perenne* coverage on grape quality.

Class	Herbicide efficacy (%)	pH	Total acidity	Anthocyanin content	Total Polyphenols	Color intensity
1	0	3.2a	3.9a	554.2a	31.9a	16.9a
2	20-30	3.2a	3.4a	550.4a	36.8a	17.4a
3	40-50	3.2a	4.0a	584.5a	35.8a	17.5a
4	60-70	3.2a	4.1a	468.7a	32.3a	15.9a
5	90-100	3.2a	3.9a	538.4a	38.4a	18.6a

Values in a column with different letters are significantly different from each other ($\alpha < 0.05$) (Tukey's test).

REFERENCES

- AGULHON R (1998) Enherbement permanent, ENM et mulch, comparés à la non culture. *Phytoma* 511, 46-48.
- CENTINARI M, PONI S, INTRIGLIOLO DS, DRAGONI D & LAKSO AN (2011) Cover crop evapotranspiration in northeastern US Concord (*Vitis labruscana*) vineyard. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 18(1), 73-79.
- FRAZÃO A & MOREIRA I (1990) Influence des techniques de desherbage sur l'évolution de la flore adventice et l'incidence des maladies de la vigne au Ribatejo. Portugal. *IOBC/WPRS Bulletin* 13, 28-31.
- IVV-Instituto da Vinha e do Vinho (2015) *Estatística*. URL:<http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/36/> accessed: 31 may 2015.
- LOPES CM, SANTOS TP, MONTEIRO A, RODRIGUEZ ML, COSTA JM & CHAVES MM (2011) Combining cover cropping with deficit irrigation in a Mediterranean low vigor vineyard. *Scientia Horticulturae* 129, 603-612.
- LOPES CM, MONTEIRO A, MACHADO JP, FERNANDES N & ARAUJO A (2008) Cover cropping in slopping non irrigated vineyard: II - Effects on vegetative growth, yield, berry and wine quality of "Cabernet Sauvignon" grapevines. *Ciência e Tecnologia Vitivinícola* 23, 37-43.
- MAIGRE D & AERNY J (2001) Enherbement permanent et fumure azotée e sur cv. "Gamay" dans le Valais Central. *Revue Suisse Viticulture Arboriculture Horticulture* 33, 343-349.
- MONTEIRO A, LOPES, CM & FRANCO JC (2012) *Enrelvamento da vinha*. In: Monteiro A, Gomes da Silva F, Jorge R (Eds.) 2012. *Gestão e*

conservação da flora e da vegetação de Portugal e da África Lusófona. "in Honorium" do Professor Catedrático Emérito Ilídio Rosário dos Santos Moreira. ISAPress, Lisboa. 345-366.

OIV- International Organisation of Vine and Wine (2014) *Compendium of International Methods of Analysis of Wines and Musts* Vol. 1 and 2, Paris.

PACHECO CMA, LAUREANO O & TOMÉ JA (1991) Culture et non culture de la vigne: résultats de production, vigueur et composition des moûts, sur huit années d'essais. *Annales ANPP Association Nationale de Protection des Plantes* **3**, 249-255.

R DEVELOPMENT CORE TEAM (2014) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, URL: <http://www.R-project.org/>; accessed: 17 out.2013.

FOUR YEARS VALIDATION OF A DECISION SUPPORT FOR OPTIMISING HERBICIDE DOSE IN WINTER CEREAL UNDER SPANISH CONDITIONS

Montull J.M.^{1*}, Soenderskov M.³, Rydahl P.³,
Boejer O.M.³, Taberner A.^{1,2}

¹Research Group of Weed Science and Plant Ecology,
UdL, Av. Rovira Roure 191, 25198 Lleida, Spain.

²Plant Health Service, Generalitat de Catalunya,
Av. Rovira Roure 191, 25198 Lleida, Spain.

³Dept. of Agroecology, Aarhus University,
Forsoegsvej 1, 4200 Slagelse, Denmark.

*josemontull@hbj.udl.cat

Summary: CPOWeeds is a version of Danish Crop Protection online adjusted to conditions in North-eastern Spain. The predicted efficacies and the yield obtained with CPOWeeds were validated in winter cereal field trials from 2010 to 2013. The predictions from CPOWeeds were compared to the actually achieved efficacies in the field trials for the nine weed species at different developmental stages and for 84.2% of the comparisons the obtained efficacies were equal to or higher than predicted. It was concluded that the use of CPOWeeds allowed optimisation of the herbicide application with a very high robustness. The recommendations were satisfactorily for the conditions of the Northeast of Spain and have the potential to decrease the amount of applied herbicides by at least 30%. Therefore, it can be an important tool in Integrated Weed Management.

Keywords: Optimization, herbicide, Decision Support Systems (DSS).

Resumen: *Validación durante cuatro años de un sistema experto para optimizar el uso de herbicidas en cereales de invierno en condiciones agronómicas españolas.* El CPOWeeds es una versión del Crop Protection Online danés puesto a punto para las condiciones del noreste (NE) de España. Las eficacias predichas por el programa se han validado en ensayos en cereal de invierno desde 2010 a 2013. Las predicciones dadas por el CPOWeeds se han comprobado para nueve especies de malas hierbas en diferentes estadios fenológicos y en el 84,2% de los casos las eficacias han sido iguales o superiores a las predichas. Se concluye que el uso del CPOWeeds permite optimizar la aplicación de herbicidas con una gran robustez. Las recomendaciones son satisfactorias para el NE de España y se puede disminuir la cantidad de herbicidas

aplicados hasta en un 30%. Por tanto, se trata de una herramienta muy importante en el Manejo Integrado de Malas Hierbas.

Palabras clave: Optimización, herbicida, Sistema de Apoyo a la Decisión.

INTRODUCTION

Decision Support Systems (DSS) play an important role in the selection of optimal plant protection products PPP's and dosages. Such systems can specify the relevant herbicides and dosages to reflect the actual weed infestation in a field under actual spraying conditions and thus ensure proper weed control. Even though, these DSS's have good potentials for reducing herbicide use, there are relatively few farmers and advisors using them on Europe. Moreover, farmers prefer high control every year, especially in a crop preceding another in which weed control is more expensive or difficult. Integrated pest management (IPM) is, however, gaining interest and the annex of 2009/128/EU Directive explicitly demands the member states to implement IPM, which imply a decreased reliance on PPPs.

Crop Protection Online (CPO) is a DSS developed and managed by Aarhus University, which was commercialised in 1991 (Rydahl, 2003). CPOWeeds optimises herbicide combinations and dosages in relation to the actual crop and weed infestation either by lowest dose or lowest price. As one herbicide rarely controls all weeds in a field, the model also includes calculation of herbicide mixtures by use of the additive dose model (ADM) (Streibig, 1981). For example, in the current Danish version, it is estimated that herbicides inputs in cereal crops can be reduced by over 40% without enriching soil seedbank for the succeeding crops.

The objectives of this study were to validate the concept of CPO under climatic conditions different from northern Europe with a version of CPO developed for the North-east of Spain. The ability to preserve yield and the robustness of the obtained efficacies were validated. The aim of this work was to examine locally generated parameters and adjustments for the dose-response function described in (Rydahl, 2003) with regard to herbicides and weeds present in winter cereal fields in the North-east of Spain. The prototype was developed under the name CPOWeeds.

MATERIALS AND METHODS

Model description and adjustments made for conditions in the North-east of Spain

CPOWeeds is dependent upon parameterisations of dose-response curves for all relevant combinations of herbicides and weed species. Given

the amount of existing herbicides and diversity of weed species it is a huge task to provide data for this amount of dose-response curves. Therefore, different approaches were used to collect the data. Dose-response curves were preferentially estimated based on field experiments.

Target efficacies were established by local expert evaluation. Although, at a practical level, only efficacies between 75 and 95% are recommended, lower efficacies were established for research purposes. CPOWeeds listed all possible solutions for a given weed composition in specific fields sorted by Treatment Frequency Index (TFI). TFI is a measure of the dose reductions, where TFI of 1 equals label rate and lower TFI indicates dose reductions.

Field trials

Two trial setups were conducted from 2010 to 2013. Under the climatic conditions in the region no differences were expected between the weed species composition. The target efficacies required in the different crop types were considered equal.

Field trials were carried out in 2 x 10 or 4 x 5 m plots for efficacy and yield experiments, respectively, with four replicates at each location. For each efficacy trial a number of recommendations from the prototype were tested (Table 1).

The fields were surveyed at 10-11 BBCH of the weeds and a weed report was made to supply data for CPOWeeds. A solution for the early stage was calculated by CPOWeeds and applied at this stage as one treatment. The fields were surveyed again at the 12-14 and at 16 BBCH and again solutions were calculated and applied for each growth stage. A standard treatment was chosen by local advisors for all fields to have a reference for the CPOWeeds solutions.

Herbicides were applied with a precision sprayer propelled by compressed nitrogen. The boom had four Hardi ISO LD-110-02 flat fan 110 degrees opening nozzles operating at a forward speed of 0.9 m s⁻¹, and 300 l ha⁻¹ of spray solution. The boom was 50 cm above the target.

Treatment efficacy was assessed 35 days after treatment by four random counts per experimental plot, throwing a square of 0.1 m². Yield was estimated harvesting three randomly squares of 0.1 m² in each plot.

Table 1. Efficacy and yield trials. TFI for CPO treatment was calculated as an average of the different solutions applied in the fields. Standard TFI was the TFI of the reference treatments selected by local advisors. The reduction in TFI is the difference between the two TFI measures.

Trial purpose	Year	Location	Crop	Weeds found in field	Number of CPOweeds treatments	Standard TFI	Average CPO TFI	% reduction on TFI
Efficacy	2010	Ballobar	Barley	<i>Avena sterilis</i> , <i>Lolium rigidum</i> , <i>Diploptaxis erucoides</i>	10	2	1.41	29.5
Efficacy	2010	Ballobar	Barley	LOLRI, <i>Anthemis arvensis</i>	10	1.8	1.11	38.3
Efficacy	2011	Verdú	Barley	LOLRI, <i>Veronica hederifolia</i>	6	2	1.52	24
Efficacy	2011	Verdú	Barley	<i>Papaver rhoeas</i> , LOLRI	6	1	0.71	29
Efficacy	2011	Verdú	Barley	VERHE, PAPRH	6	1.3	1.01	22.3
Efficacy	2011	Verdú	Triticale	VERHE, PAPRH, AVEST	6	2	1.33	33.5
Efficacy	2012	Algerrí	Barley	PAPRH, LOLRI, <i>Malcomia africana</i>	6	1.7	1.33	21.7
Efficacy	2012	Algerrí	Barley	PAPRH, LOLRI, MAMAF	6	1.7	1.33	21.7
Efficacy	2012	Verdú	Triticale	LOLRI, AVEST, PAPRH	6	1.66	1.33	19.8
Efficacy	2012	Penelles	Barley	ANTAR	8	1	0.34	66
Efficacy	2012	Penelles	Barley	LOLRI, AVEST, PAPRH	8	1.66	0.85	48.8
Efficacy/Yield	2013	Vimbodí 1	Wheat	ANTAR, AVEST, LOLRI	5	2	0.95	52
Efficacy/Yield	2013	Vimbodí 2	Wheat	<i>Galium aparine</i> , LOLRI, VERHE	6	2	1.09	45.5
Efficacy/yield	2013	Termens	Wheat	<i>Alopecurus myosuroides</i>	7	1	0.68	32

Statistical analyses

Abbott method (Abbott, 1925) was used to calculate the efficacy observed in the field trial. In each treatment the efficacies predicted by the prototypes were compared to the efficacies obtained in the field on a species level. Differences between predicted and observed efficacies were analysed using linear mixed models (fixed effects: species, growth stage at application and year; random effects: field and replicate) using R (R Development Core Team, 2013). Model fits were assessed by visual inspection of residual and normal probability plots. Pairwise differences between variables were evaluated using post hoc T-tests with adjustment for multiplicity (Hothorn, 2008).

Analysis of variance (ANOVA) was performed to determine significant differences between the different obtained yields. The Duncan's Multiple

Range Test was used if necessary for separation of means with $\alpha=0.05$. The analysis was performed for each field.

RESULTS

TFI of the trials ranged between 1 and 2 for the standard treatments and between 0.34 and 1.52 for the average CPOWeeds treatment. This equals herbicide use reductions between 19.8 and 66 % with a weighted average of 36%.

The accuracy of the CPOWeeds predictions was estimated based upon weed counting 35 days after spraying in the efficacy trials. The observed values were equal to or higher than predicted for 84.2% of the samplings. The efficacy values observed in the field are higher than predicted by the model, with a mean difference of 2.35%.

Nine different species were used in the analyses and there were some differences in the accuracy among the species (Figure 1). The average difference between predicted and observed efficacies for *Avena sterilis*, *Lolium rigidum* and *Papaver rhoeas*, which are key species in this region, showed a difference just above 2%. The largest differences between predicted and observed efficacies were found for *Lolium rigidum* and *Papaver rhoeas* in 2011, but the differences were not consistently positive or negative. Generally, the negative differences for *L. rigidum* were found for plants sprayed at the earliest stage (BBCH 10-13), whereas there was no tendency for *P. rhoeas* for dependence on growth stage.

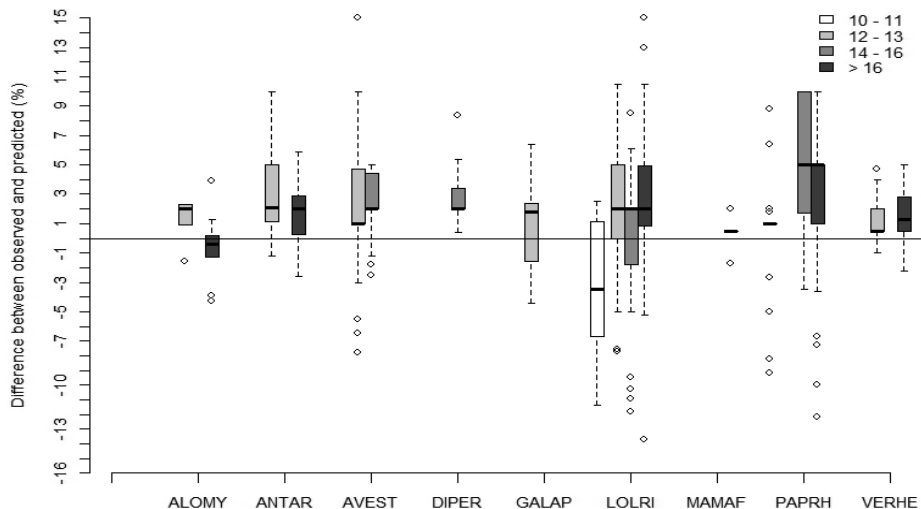


Figure 1. Difference between observed and predicted values for the different species and growth stages (legend indicate growth stages in BBCH scale).

The growth stage of the weed plants at the time of application did not influence the robustness of the model recommendations, as the difference between predicted and observed efficacies did not differ among growth stage ($p = 0.4151$, $n = 4$). The model was designed to account for the developmental stage at the time of application and CPOWeeds was observed to adequately adjust the doses. There was some variation in the magnitude of the difference between predicted and observed efficacies among years ($p = 0.0116$, $n = 4$). The observed efficacies were less consistent with the predicted efficacies in 2011 than in the other three years ($0.0001 < p < 0.0288$ for pairwise comparisons). During that year, the rainfall was only 33.7mm in compared to an average rainfall slightly above 110mm in the period when the field tests were carried out (December 2010 to February 2011).

The yield trials support the results obtained in the efficacy trials, which shows that CPOWeeds provide robust advice that sufficiently control the weeds present in the validation trials (Table 2). The yield of CPOWeeds treatment was equal to or even higher than the standard treatments. At "Termens" there were two CPOWeeds treatments that did not provide the same yield as the standard treatment. This was due to the presence of a resistant *A. myosuroides* population, which was unidentified at the establishment of the trial.

Table 2. Yield trials. Yields of CPOWeeds treatments are given as an interval as 4-6 different solutions were tested in each field. Lower case letters indicate differences between standard treatment and CPOWeeds treatments.

Location	Treatment	Yield (kg ha ⁻¹)
Termens	Standard	10450 ^a
	CPOWeeds	6403 ^b - 11006 ^a
Vimbodí 1	Standard	4082 ^a
	CPOWeeds	4168 ^a - 4793 ^a
Vimbodí 2	Standard	4763 ^a
	CPOWeeds	6286 ^b - 7103 ^b

DISCUSSION

In 9 of 17 trials the herbicide reduction obtained was above 30% when the standard treatment was compared to the average TFI of the CPOWeeds treatment. The yield trials supported the general impression from the efficacy trials that no yield loss was induced by following

CPOWeeds recommendations. In some instances there was an increase in yield compared to standard advice.

The obtained results were accurate, with most of the values in the range 0-5% regardless of conditions, weed composition and phenological stages. There were, however, small differences between the growth stages indicating that the model performance was best between stage 12 and 16. Moreover, the herbicides with the highest root activity, is often applied before the actual weed composition can be determined and the application in stage 10-11 might be later than optimal for those herbicides. The standard treatments, decided by the local advisors, in early stages also had lower effect than expected, the data is, however, not shown. Species like *Avena sterilis*, *Papaver rhoeas* and *Lolium rigidum* are important species in winter cereals in the North-east of Spain and CPOWeeds recommendations provided sufficiently control of these species.

The validation trials showed that CPOWeeds gave robust advice, which sufficiently controlled the present weed species and maintained yields. There were a few fields with inadequate weed control, which were attributed to the lack of identification of a resistant *A. myosuroides* biotype. CPOWeeds are able to handle the identified resistant biotypes. Currently, a resistance prevention initiative is being developed in CPOWeeds, which aims at limiting the development of more resistant weed species by altering the mode of action of herbicides between weed generations.

In the future feedback from users will be important to adjust the target efficacies to levels that will provide sufficient control in all situations. The present target efficacies were estimated by experts, but experiences from Denmark has shown that adjustments are necessary through the initial implementation period as it is difficult to account for all factors. The final conclusion is that the use of this tool allowed an optimising of the application of herbicides, adjusting the applied herbicide rates with a very high robustness, its recommendations were very satisfactory for the conditions of the North-east of Spain and has a potential to decrease the amount of applied herbicides with more than 30%. This, potentially, makes CPOWeeds an important tool in Integrated Weed Management which is faced with the Directive 2009/128/EC in 2014.

REFERENCES

- ABBOTT W (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18, 265-267.
- HOTHORN T, BRETZ F & WESTFALL P (2008) Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal* 50, 346-363.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM (2013) R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria, s.n.
- RYDAHL P (2003) A web-based decision support system for integrated management of weeds in cereals and sugarbeet. *EPPO Bulletin* 33, 455-460.
- STREIBIG J (1981) A method for determining the biological effect of herbicide mixtures. *Weed Science* 29, 469-473.

RESISTENCIA A PENOX SULAM EN *CYPERUS DIFFORMIS* EN FINCAS ARROCERAS DE ESPAÑA. PROPUESTA DE ÍNDICES PARA LA IDENTIFICACIÓN PRECOZ DE PROBLEMAS DE RESISTENCIA

Pericas R.^{1*}, Taberner A.², Consola S.², Osuna M.D.³, Urbano J.M.⁴

¹Dow AgroSciences Ibérica.

²Servicio de Sanidad Vegetal, DAR Generalitat de Cataluña.

³Centro de Investigación Finca La Orden-Valdesequera,
Junta de Extremadura.

⁴ETSIA, Universidad de Sevilla.

*rpericas@dow.com

Resumen: Penoxsulam es un herbicida del grupo B (ALS) introducido por Dow AgroSciences en España en 2007 para el control de *Echinochloa* en arroz, también eficaz contra *Cyperus difformis*. Recientemente se ha descrito la existencia de *C. difformis* resistentes a penoxsulam. El objetivo de este trabajo es obtener herramientas que permitan la detección precoz del riesgo de aparición de resistencias. Antes de la siembra del cultivo en la campaña 2014 se recogieron muestras de suelo en 67 parcelas de Sevilla, Badajoz, Delta del Ebro y Valencia. A partir de las muestras de suelo se han obtenido 1340 plantas de *C. difformis*, que fueron tratadas con 120 g m.a.ha⁻¹/ha de penoxsulam. Los datos obtenidos en cámara han permitido elaborar 6 índices de utilidad para la detección precoz de resistencias.

Palabras clave: Screening, eficacia, dosis, momento.

Summary: *Penoxsulam resistance of Cyperus difformis in rice farms in Spain. Proposal of indexes for the early identification of resistance problems.* Penoxsulam is a group B herbicide (ALS) introduced by Dow AgroSciences in Spain in 2007 for the control of *Echinochloa* in rice, but also it is effective against *Cyperus difformis*. Recently, resistance to penoxsulam has been reported in biotypes of *C. difformis*. The objective of this study was to obtain tools to facilitate an early detection of resistance risks. In 2014, before rice sowing, soil samples were collected in 67 farms of Sevilla, Badajoz, Delta del Ebro and Valencia. From the soil samples, 1340 *C. difformis* plants were grown and treated with 120 g m.a.ha⁻¹ of penoxsulam. Obtained data led us to develop 6

indexes (I1 to I6) that may be useful for early detection of resistance under controlled conditions.

Keywords: Screening, efficacy, rate, timing.

INTRODUCCIÓN

En España se cultivan unas 121.000 ha de arroz (*Oryza sativa* L.) con rendimientos medios regionales comprendidos entre 5,8 y 9,2 t ha⁻¹ (MAGRAMA, 2014).

Cyperus difformis L es una ciperácea anual que está considerada como una de las principales malas hierbas de arroz, a nivel nacional (Aguilar, 2010) y mundial (Rao et al., 2007).

Penoxsulam es un herbicida del grupo B (inhibidores de la ALS ó AHAS), que fue introducido por Dow AgroSciences en España en 2007, para el control de *Echinochloa* en el cultivo del arroz (Sorribas et al., 2006), pero que también es eficaz contra *C. difformis* (Kogan et al., 2011). Las sustancias activas del grupo B están consideradas particularmente vulnerables a la aparición de resistencias (Yu & Powles, 2014).

Investigaciones conjuntas entre Dow AgroSciences y la Universidad de Sevilla permitieron demostrar la existencia de biotipos de *C. difformis* resistentes a penoxsulam (Pardo et al., 2013) y probablemente también resistentes a otros ALS (Urbano et al., 2013).

El objetivo de este trabajo es obtener herramientas que permitan la detección precoz del riesgo de aparición de resistencias.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han realizado dos tipos de ensayos: a) ensayos de cámara y b) ensayos de campo.

Durante los meses de febrero y marzo de 2014 se recogieron muestras de suelo de 67 parcelas que iban a ser posteriormente sembradas de arroz. En cada parcela se tomaron 7-10 muestras de 100 g, elegidas al azar, de los primeros 5 cm de suelo. Todas las muestras fueron secadas en condiciones de laboratorio y fueron mezcladas para obtener una muestra por parcela. En Andalucía (Sevilla), Extremadura (Badajoz), Valencia y Cataluña (Delta del Ebro) las parcelas (15 por cada zona, y 22 en el Delta del Ebro) fueron seleccionadas por tener referencias de infestaciones problemáticas en campañas pasadas.

Ensayos de cámara

Los ensayos de cámara se han realizado en condiciones controladas, con 26 °C, 59% de humedad relativa y fotoperiodo de 14 horas de luz. En estas condiciones se incubaron muestras de suelo manteniéndolas continuamente en condiciones de saturación de agua. Las plantas de *C. difformis* fueron trasplantadas a macetas individuales (6,5 x 6,5 x 8 cm) conforme alcanzaban el estado de 2 hojas (BBCH = 12). Las macetas habían sido previamente llenadas con sustrato hortícola (Compost Sana Universal). Por lo tanto la unidad experimental fue de 1 maceta con una planta de *C. difformis*, y el diseño experimental fue: 67 parcelas x 20 macetas x 1 repetición. Las macetas estaban ordenadas al azar dentro de la cámara. Además se introdujeron en los ensayos de cámara, 6 poblaciones testigos de respuesta conocida a penoxsulam (4 poblaciones resistentes y 2 poblaciones sensibles) procedentes de un ensayo previo (Pardo et al., 2013).

Todas las plantas fueron pulverizadas con 120 g m.a.ha⁻¹ de penoxsulam. Para ello se usó el producto Viper OD (19,97 g m.a. L⁻¹ de penoxsulam). El tratamiento se realizó con un pulverizador de precisión (PULVEXPER), con una barra de 3 metros equipada con 6 boquillas 11002VP (TEEJET). El equipo fue calibrado para aplicar una dosis de caldo de 200 L.ha⁻¹ a una presión de 350 kPa.

Para cada planta se tomó el dato de altura y BBCH a los 0, 15 y 30 días desde el tratamiento (DDT ó DAT).

Todos los análisis estadísticos y gráficos fueron realizados con el programa R (R Development Core Team, 2011), usando el paquete ggplot2 (Wickham, 2009).

Ensayos de campo

Con los resultados de los ensayos de cámara se seleccionaron 7 parcelas en las que se establecieron ensayos de campo (6 de ellas presentaban varios de los índices estudiados altos y 1 parcela resultaba en cámara ser bastante controlada por el herbicida). Se utilizó un diseño de bloques al azar con 7 localidades x 5 tratamientos x 2 repeticiones. La unidad experimental fue una parcela de 6 x 3 m.

De los 5 tratamientos, sólo se incluyen 2 en este trabajo, que consistieron en dos dosis de penoxsulam (40 y 120 g m.a.ha⁻¹). Los tratamientos fueron realizados con el mismo equipo y calibración que el ensayo de cámara. Las fechas de aplicación, densidad de *C. difformis* y BBCH se pueden ver en la Tabla 1. Para seguir las mismas prácticas del agricultor, las parcelas fueron reinundadas a las 24 horas del tratamiento.

Los datos tomados fueron densidad de malas hierbas el día del tratamiento (0 DAT) y eficacia (en porcentaje a los 30 días (30 DAT)).

Tabla 1. Datos de los ensayos de campo el día del tratamiento.

Parcela*	Fecha del tratamiento	BBCH	Densidad de <i>C. difformis</i> (Plantas/m ²)
SEAG	10-Jun-14	13-14	95
SECA	23-Jun-14	12-14	40
BAVA	30-May-14	13-14	123
BATO	3-Jun-14	13-14	120
BAPE	10-Jun-14	13-15	280
BAVP	30-May-14	12-13	240
VA13	30-May-14	11-12	20

*Las dos primeras letras de la parcela hacen referencia a la zona (Sevilla, Badajoz, Delta y Valencia)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayos de cámara: índices de resistencia

Los resultados en cámara se expondrán y analizarán en seis índices, del I1 al I6 según se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Índices generados a partir de parámetros obtenidos de la cámara de cultivo. Los índices I1, I2 y I5 aportan información a nivel de campo, mientras que los índices I3, I4 y I6 aportan información a nivel de planta.

Índice	Concepto
I1	% de supervivientes (30 DDT) a la aplicación de 120 g a.i./ha de penoxsulam
I2	% de supervivientes, con altura > 10 cm (30 DDT)
I3	Altura 15 DDT - Altura 0 DDT
I4	Desviación respecto de la regresión (Altura 15DDT = a + b* Altura 0DDT)
I5	Desviación respecto de la regresión, para cada parcela
I6	Desviación estándar de I5

1.- *Índice I1*. El primer índice obtenido (I1) es el porcentaje de plantas que sobreviven al tratamiento con 120 g. g m.a.ha⁻¹ de penoxsulam. Los resultados demuestran que se puede conseguir información valiosa a partir del banco de semillas presente en muestras de suelo recolectadas en invierno. De esta forma es posible tener resultados antes de la siembra del cultivo. Este índice presenta el inconveniente de que proporciona datos por parcela y no por individuo. El valor de I1 fue 0 en el 51% de las poblaciones, lo cual confirma la eficacia de este herbicida descrita por otros autores (Sorribas et al., 2006; Kogan et al., 2011). Sin embargo el 49% de los bancos de semillas estudiados tenían al menos un 5% (1 de 20) de individuos que sobrevivían al penoxsulam. Los testigos resistentes

presentaron valores de I1 superiores al 50%, confirmándose el resultado obtenido por Pardo et al. (2013).

Un segundo inconveniente que presenta el índice I1 es que la distinción dicotómica entre planta viva y planta muerta no tiene en cuenta el grado de fitotoxicidad, de modo que una planta puede sobrevivir sin efectos fitotóxicos y ser competitiva en el cultivo, o puede sobrevivir a pesar de estar seriamente dañada.

2.- *Índice I2.* Se propone un segundo índice (I2) que se obtiene calculando el porcentaje de supervivientes con altura superior a los 10 cm a los 30 DAT. De esta forma se diferencia entre tres tipos de respuesta a nivel de planta: a) planta que no sobrevive al tratamiento (S); b) planta que sobrevive pero los 30 DAT la altura no supera los 10cm, debido al efecto fitotóxico (r); y c) planta que sobrevive sin presentar importantes fitotoxicidades (R). El valor I2 de cada parcela o población es por lo tanto el porcentaje de individuos R.

El índice I2 además de ser un parámetro de la población (no de la planta) presenta el inconveniente de que depende de la altura de la planta el día del tratamiento.

3.- *Índice I3.* Se sugiere el índice I3 que es la diferencia de alturas en los primeros 15 días después del tratamiento (15 DAT). Este índice I3 permite identificar tres tipos de respuestas: a) Plantas que continúan creciendo después del tratamiento ($I3 > 0$); b) Plantas que no crecen como consecuencia del tratamiento ($I3 = 0$); c) Plantas que a los 15 DAT presentan una altura menor que a 0 DAT ($I3 < 0$).

Pero el índice I3 presenta el inconveniente de que depende del estado fenológico de la planta el día del tratamiento (González-Blanco et al., 2013).

4.- *Índice I4.* Se plantea utilizar un cuarto índice (I4) que consistiría en las desviaciones respecto de la regresión lineal conjunta (Figura 1): $Altura_{15DAT} - 0 = a + b * Altura_{0DAT}$ de modo que plantas con valores de I4 positivos son plantas que a los 15 días presentaban una altura superior a la esperada (posiblemente resistentes), mientras que plantas con valores de I4 negativos corresponden a plantas con altura inferior a la esperada (sensibles). Sin embargo dado que la pendiente de la recta de regresión (b) es 1,02, los resultados de los índices I3 e I4 son prácticamente idénticos, y los inconvenientes también.

5.- *Índice I5.* El índice I5 es semejante al I4 en el sentido de que se trata de las desviaciones respecto de la regresión lineal, pero en este caso la regresión se realiza población por población, tal como se puede apreciar en la Figura 1. En la citada figura se puede observar que las rectas de regresión son diferentes entre las distintas poblaciones de C.

difformis. Las regresiones con poca pendiente corresponden a poblaciones en las que la altura de la planta a los 0 DDA influye poco en la respuesta al tratamiento, mientras que las poblaciones con mucha pendiente se refieren a poblaciones en las que la altura de la planta (0 DDA) condiciona la eficacia del tratamiento. Y además de la pendiente, se puede ver que hay poblaciones con mayores desviaciones respecto de la recta de regresión. Mayores desviaciones indican que hay otros factores, distintos de la altura a los 0 DDA que condicionan el resultado, y entre esos factores se encuentra la resistencia genética.

6.- *Índice I6*. Finalmente se propone el índice I6, que consiste en las desviaciones estándar del I5. De esta forma, el índice I5 permite identificar individuos potencialmente resistentes, mientras que el I6 permite identificar poblaciones particularmente problemáticas por la diversidad de respuestas frente al herbicida.

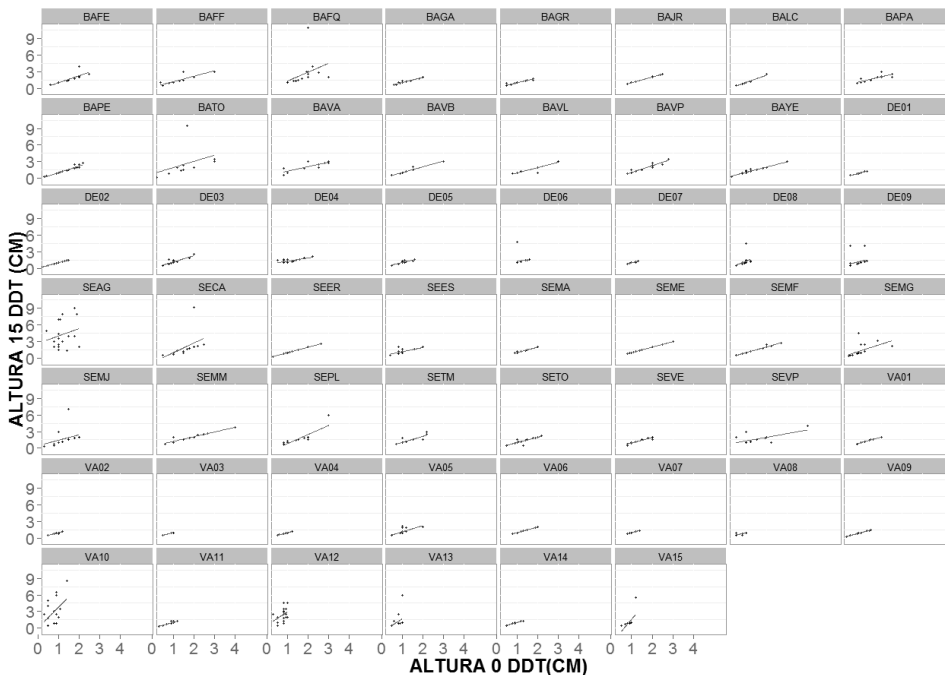


Figura 1. Relación entre altura el día del tratamiento (0 DDA) y 15 días después (15 DDA) por poblaciones. Las primeras 2 letras de la población hacen referencia a la zona (Badajoz, Sevilla, Delta, Valencia). Los puntos indican la respuesta de la planta y las líneas la regresión.

Resultados de los ensayos de campo

En la Tabla 3 se presentan los resultados de eficacia (con dos dosis de penoxsulam), en 7 parcelas, y se puede observar que el aumento de la

dosis de herbicida mejora los resultados de eficacia. También se puede ver que los resultados de campo confirman el valor de los índices obtenidos en cámara, en el sentido de que las poblaciones con mayores valores de I2 presentaron las menores eficacias en campo. Sin embargo, es importante indicar que los ensayos de campo proporcionaron información sobre el nivel de eficacia actual, pero no sobre el riesgo de problemas futuros. Merece la pena señalar el caso de la población VA13, que es aparentemente sensible en campo, lo cual coincide con el valor del índice I2, pero se trata de una población en la cual el elevado valor de I6 está avisando de que aplicaciones continuadas del herbicida presentan un elevado riesgo de resistencias.

Tabla 3. Tabla resumen de eficacias conseguidas en campo e índices de screening para 7 parcelas.

Parcela	EF40	EF120	I1	I2	I3	I4	I6
SEAG	10	60	61,11	50	3,08	3,21	2,40
BATO	55	71	40,00	30	1,00	0,85	2,41
BAVP	5	78	21,43	21	0,19	-0,06	0,26
BAVA	20	60	40,00	20	0,10	-0,16	0,48
SECA	75	85	23,53	18	0,36	0,13	1,72
VA13	93	98	11,76	6	0,41	0,00	1,22
BAPE	43	90	16,67	0	0,10	-0,15	0,21

EF40: Eficacia del penoxsulam observada en campo a 40 g. m.a.ha⁻¹.

EF120: Eficacia del penoxsulam observada en campo a 120 g. m.a.ha⁻¹.

I1: % Supervivencia.

I2: % Supervivientes con una altura superior a 10 cm.

I3: Crecimiento a los 15 días. Altura 15DDT Altura 0DDT.

I4: Desviación respecto a la regresión en conjunto.

I6: Desviación estándar de I5.

CONCLUSIONES

Los datos obtenidos en cámara han permitido elaborar 6 índices (I1 a I6) que pueden ser de utilidad para la detección precoz de resistencias. Particularmente interesantes son los índices I2 para identificar las parcelas con mayores probabilidades de fallos de control, el I5 para identificar los individuos con mayor probabilidad de ser resistentes, y el I6 para identificar las parcelas con mayor riesgo futuro de aparición de resistencias. Adicionalmente se realizaron ensayos de campo en 7 parcelas, los cuales confirmaron la utilidad del índice I2, pero no llegaron a suministrar datos equivalentes a los proporcionados por I5 e I6.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración de los 67 agricultores que han puesto sus fincas a nuestra disposición para que podamos estudiar el problema de *C. difformis*.

BIBLIOGRAFÍA

- AGUILAR M (2010) Producción integrada del arroz en el sur de España. Consejería de Agricultura y Pesca, Servicio de Publicaciones y Divulgación.
- GONZÁLEZ-BLANCO J, SENERO E, ROMANO Y, OSUNA MD & PALMERÍN JA (2013) Control químico de *Cyperus difformis* en diferentes estadios de desarrollo. *Phytoma España* 250, 95-99.
- KOGAN M, GOMEZ P, FISCHER & ALISTER C (2011) Using penoxsulam ALS inhibitor as a broad-spectrum herbicide in Chilean rice. *Ciencia e Investigación Agraria* 38(1), 83-93.
- MAGRAMA (2014) Encuesta de superficies y producciones cultivos herbáceos y extensivos. www.magrama.gob.es. Visitada el 10 octubre de 2014.
- PARDO G, HENS R, ESPEJO R, PANIAGUA L & URBANO J (2013) *Cyperus difformis* resistente a penoxsulam. Dosis respuesta. In: Osca et al. (eds) XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología. Valencia, España.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM (2011) R: A Language and Environment for Statistical Computing R. D. C. Team, ed. R Foundation for Statistical Computing 1(2.11.1), 409. Disponible: www.r-project.org.
- RAO AN, JOHNSON DE, SILVAPRASAD B, LADHA J & MORTIMER M (2007) Weed management in direct-seeded rice. *Advances in Agronomy* 93(Suppl.), 153-255.
- SORRIBAS AM, ROMERO M, BERNES R & LARELLE D (2006) Penoxsulam, el nuevo herbicida para el cultivo del arroz. *Phytoma España* 182, 106-109.
- URBANO J, ESPEJO R, HENS R & PANIAGUA L (2013) *Cyperus difformis* resistente a penoxsulam. Materias alternativas. En XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología. Valencia, Spain.
- WICKHAM H (2009) ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer, New York.
- YU Q & POWLES SB (2014) Resistance to AHAS inhibitor herbicides: Current understanding. *Pest Management Science* 70, 1340-1350.

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

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

²Fisiología 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.

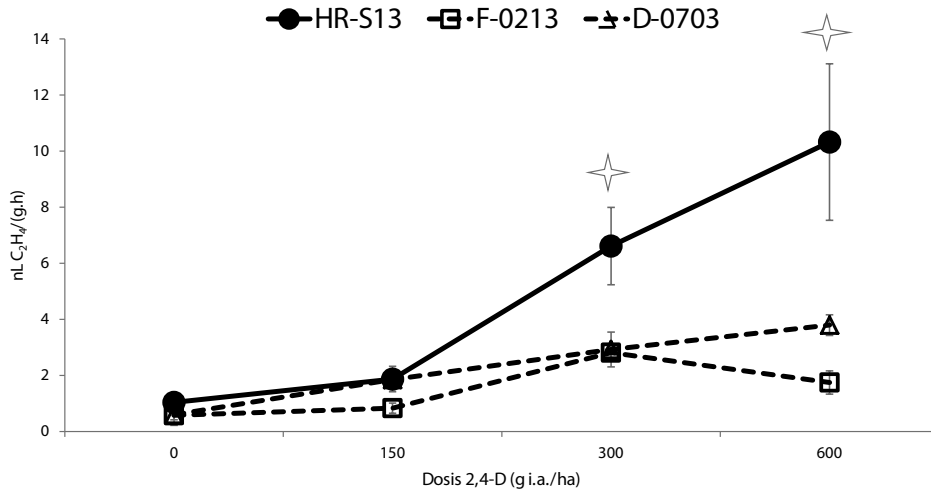


Figura 1. Producción de etileno (nL C₂H₄/(g.h)) de los biotipos de *P. rhoeas* HR-S13, F-0213 y D-0703 cuando fueron tratados con diferentes dosis de 2,4-D. * indican diferencias significativas entre el biotipo sensible y los resistentes (P < 0.05).

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 Càmarra 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.

ESTUDIO DE MECANISMOS DE RESISTENCIA "NON-TARGET-SITE" EN BIOTIPOS DE *PAPAVER RHOEAS* L. CON RESISTENCIA MÚLTIPLE

Rey-Caballero J.^{1*}, Menéndez J.², Salas M.³, Torra J.¹

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

²Dpto. de Ciencias Agroforestales, Escuela Politécnica Superior Campus de la Rábida. Ctra. Huelva-Palos de la Frontera s/n, 21071 Palos de La Frontera, Huelva, España.

³DuPont de Nemours France SAS, 24 rue de Moulin, 68740 Nambenheim, France.

* jordi.rey@hbj.udl.cat

Resumen: Hasta el momento en España no se han desarrollado estudios a fin de evaluar los mecanismos de resistencia "Non-Target-Site" en *Papaver rhoeas*. Tras constatar la resistencia múltiple de los biotipos empleados en este ensayo, los resultados de absorción y translocación obtenidos para 2,4-D y tribenuron-metil parecen arrojar conclusiones interesantes. Sobre todo, en el caso de la auxina sintética, donde una destacada menor translocación detectada en biotipos resistentes respecto a los sensibles está en sintonía con las más recientes teorías de mecanismos de resistencia a herbicidas hormonales.

Palabras clave: Amapola, 2,4-D, tribenuron-metil, absorción y translocación.

Summary: *Non-Target-Site resistance mechanisms of Papaver rhoeas L. biotypes with multiple resistance.* So far in Spain studies to evaluate the mechanisms of resistance "Non-Target-Site" on *Papaver rhoeas* have not been done. After finding multiple resistance in the biotypes used in this trial, absorption and translocation results obtained for 2,4-D and tribenuron-methyl seem to throw interesting findings. Mainly in the case of the synthetic auxin, where a lack of translocation was detected in resistant biotypes compared to the sensitive one. This could be related with the latest theories of mechanisms of resistance to synthetic auxin.

Keywords: Corn poppy, 2,4-D, tribenuron-methyl, absorption and translocation.

INTRODUCCIÓN

Como consecuencia del monocultivo de cereal y de una sistemática aplicación de herbicidas para el control de amapola (*Papaver rhoeas*), se han terminado seleccionando biotipos de esta especie resistentes a herbicidas. En España, en 1992 se detectaron los primeros problemas de control de *P. rhoeas* con 2,4-D, una auxina sintética (Taberner et al., 1992), y en 1998 la presencia de biotipos con resistencia múltiple a 2,4-D y tribenurón-metil, inhibidor de la acetolactato sintasa (ALS) (Claude et al., 1998). Pero esta especie no es solo un problema en nuestro país. Biotipos con resistencia a inhibidores de la ALS también han sido citados en Francia, Reino Unido, Alemania, Grecia, Bélgica y Polonia, mientras que poblaciones de *P. rhoeas* con resistencia múltiple (2,4-D y tribenuron-metil) también han sido detectadas en Italia (Heap, 2015). La resistencia de esta mala hierba a tribenuron-metil ha sido estudiada profundamente y son diversos los trabajos que han encontrado diferentes tipos de mutaciones en la posición Pro₁₉₇ de la enzima ALS (Kaloumenos et al., 2009; Délye et al., 2011). Las diversas substituciones que se producen en esta posición del gen que codifica dicha proteína (Arg₁₉₇, His₁₉₇, Leu₁₉₇, Ser₁₉₇ y Thr₁₉₇) otorgan una resistencia fuerte a las sulfonilureas y resistencias intermedias a imidazolinonas y triazolopirimidinas (Délye et al., 2011). Por el contrario, hasta el momento, no están del todo claros los mecanismos que confieren resistencia al 2,4-D en esta especie.

En el presente trabajo (1) se caracteriza la resistencia a tribenuron-metil y 2,4-D de algunos biotipos de *P. rhoeas* donde se sospecha dicha resistencia, así como (2) se estudian los mecanismos de resistencia "Non-Target-Site" (NTS) de absorción y translocación a tribenuron-metil y 2,4-D en estos mismos biotipos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Se recolectaron las semillas de tres poblaciones de amapola (F-0213, B-0313 y S-0114) que sobrevivieron a la aplicación de diferentes inhibidores de la ALS o mezclas de estos con auxinas sintéticas (2,4-D + florasulam). Todos estos biotipos proceden de fincas comerciales de cereal localizados en Noreste de España. Junto a estos biotipos, también se empleó un estándar sensible de Herbiseed (HR-S13). Las semillas de estos biotipos se colocaron en placas Petri (1.4% agar complementado con 0.2% KNO₃ y 0.02% GA₃) y éstas a su vez en cámaras de germinación (20/10°C y fotoperiodo 16/8 h). Catorce días más tarde las plántulas fueron trasplantadas a macetas de 7x7x7 cm que contenían una mezcla de turba (40%), arena (30%) y perlita

(30%). Dichas macetas se colocaron en un invernadero en Lleida (41° 37'N, 0° 38'O) y se regaron periódicamente.

Caracterización de la resistencia

Inicialmente se trasplantaron cinco plántulas en cada una de las macetas y posteriormente se redujo a un total de tres plantas por maceta. Cuando alcanzaron la fenología de seis-ocho hojas (5-6 centímetros) se aplicaron con tribenuron-metil y 2,4-D. En los biotipos donde se sospechaba la resistencia el tribenuron-metil (Granstar 50 SX, DuPont, 50%) se aplicó a: 1200, 600, 150, 75, 37.5, 18.7, 9.3, 4.6 y 0 g i.a.·ha⁻¹ y el 2,4-D (Esteron 60, Dow AgroSciences, 60%) a: 4800, 1200, 600, 300, 150, 75 y 0 g i.a.·ha⁻¹. En el estándar sensible sin embargo, el Granstar 50 SX se aplicó a: 18.7, 9.3, 4.6, 2.3, 1.1, 0.5, 0.25 y 0 g i.a.·ha⁻¹ y el Esteron 60 a: 600, 300, 150, 75, 37.5, 18.7, 9.3 y 0 g i.a.·ha⁻¹. Se emplearon un total de cuatro repeticiones para cada una de las dosis. Cuatro semanas después de la aplicación se evaluó el peso fresco y seco (48 h a 65°C) de cada una de las macetas. Los datos de este experimento fueron analizados con modelos de regresiones no lineales. La dosis de herbicida que causa el 50% de la reducción del peso seco (RD₅₀) se calculó gracias a la curva Log-logistic de cuatro parámetros. A partir de la RD₅₀ se calcularon los factores de resistencia (FR) para cada uno de los biotipos y productos.

Absorción y translocación

Para los experimentos de absorción-translocación se empleó 2,4-D y tribenurón-metil marcados con ¹⁴C. Cada uno de estos productos se mezcló con su correspondiente homólogo comercial a la dosis de registro. Se desarrollaron dos experimentos independientes (uno para cada producto). Cada una de las repeticiones recibió cuatro gotas (2μL) de la mezcla de herbicida marcado y herbicida comercial a la dosis de registro (18.7 y 600 g i.a.·ha⁻¹ para el tribenuron-metil y 2,4-D respectivamente). En caso del 2,4-D cada una de las muestra recibió una radioactividad de 500 Bq mientras que en el tribenurion-metil cada planta recibió 166,5 Bq. La absorción y translocación de estos productos fue evaluada en cinco tiempos diferentes 0, 12, 24, 48 y 96 horas después de la aplicación. Para cada tiempo y biotipo se emplearon 5 repeticiones (una planta por repetición). Posteriormente se calculó el porcentaje de radioactividad absorbida respecto al total de radioactividad aplicada y la partición de la radiactividad translocada en: hoja tratada (HT), resto de la parte aérea de la planta (PA) y en la raíz (R). Para cada tiempo y producto los datos se sometieron 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

Los tres biotipos de *P. rhoeas* ensayados resultaron ser resistentes a tribenuron-metil y 2,4-D. Los FR para tribenuron-metil fueron de 778, 393 y 320 (biotipos B-0313, S-0313 y F-0213, respectivamente) (Tabla 1). Algunas de las plantas empleadas en este ensayo toleraron 64 veces la dosis de tribenuron-metil empleada en campo. Los FR obtenidos por Kaloumenos et al. (2009) en amapola resistente a tribenuron-metil oscilaron entre 137 y 2400. La población más resistente a 2,4-D obtuvo un FR de 18 (B-0313) mientras que los otros dos biotipos (S-0313 y F-0213) alcanzaron FR de 13 y 12 (Tabla 1). En todos estos biotipos la dosis de 2,4-D que causó en 100% de mortalidad fue 4800 g i.a.ha⁻¹.

Tabla 1. Factores de resistencia para tribenuron-metil y 2,4-D de los biotipos de *P. rhoeas* F-0213, B-0313 y S-0114.

Biotipo	Factor de resistencia ($RD_{50}R / RD_{50}HR-S13$)	
	Tribenuron-metil	2,4-D
F-0213	320	12
B-0313	778	18
S-0114	393	13

No se detectaron diferencias significativas en la absorción del tribenuron-metil marcado entre las plantas R y S. Los valores de penetración de este producto fueron inferiores a los detectados para el 2,4-D, alcanzándose valores que oscilaron entre el 21 y el 40%. La translocación de este producto hasta las raíces fue mínima en todos los biotipos ensayados. Las diferencias en la translocación, únicamente se detectaron 96 horas después de la aplicación en la parte aérea. Los biotipos resistentes translocaron más tribenuron-metil a la parte aérea respecto al biotipo sensible (Tabla 2). En los ensayos con 2,4-D marcado tampoco se detectaron diferencias en el patrón de absorción entre plantas R y S. Toda la absorción parece producirse en las 12 primeras horas después de la aplicación, ya que los valores establecidos entre el primer y el último tiempo de valoración (12 y 96 h.) son muy parecidos (oscilando del 62 al 78%). Las diferencias en este producto aparecieron cuando se estudió la translocación. El biotipo sensible translocó mucho más [¹⁴C]-2,4-D a la parte aérea y raíces. A las 12, 24, 48 y 96 h. los biotipos resistentes en promedio

translocaron un 76, 72, 80 y 85% menos de 2,4-D marcado a la parte aérea que el biotipo sensible (Tabla 3). Otros trabajos parecidos también detectaron resultados de la misma naturaleza en *Lactuca serriola* L. para el 2,4-D (Riar et al., 2011).

Tabla 2. Absorción (% radioactividad recuperada) y translocación (% de la radioactividad absorbida) del ¹⁴C-tribenuron-metil en los biotipos de *P. rhoeas* HR-S13, F-0213, B-0313 y S-0114.

Biotipo	12 h	24 h	48 h	96 h
Absorción				
HR-S13	34.1 ± 5.7 †ab	36.1 ± 3.7 ab	36.12 ± 5.7 a	30.59 ± 6.7 a
F-0213	43.7 ± 6.2 a	25.3 ± 3.5 b	29.47 ± 3.6 a	32.77 ± 5.6 a
B-0313	24.3 ± 3.1 ab	31.0 ± 3.1 ab	28.34 ± 3.4 a	31.31 ± 3.6 a
S-0114	21.4 ± 3.0 b	40.0 ± 1.2 a	32.37 ± 4.4 a	32.77 ± 5.3 a
Radioactividad medida en hoja tratada (HT)				
HR-S13	83.3 ± 2.5 a	69.8 ± 7.1 a	72.2 ± 6.6 a	70.9 ± 5.2 a
F-0213	80.7 ± 7.9 a	71.7 ± 6.7 a	54.0 ± 3.2 a	49.3 ± 1.1 b
B-0313	64.5 ± 7.9 a	68.6 ± 10.1 a	60.1 ± 3.5 a	27.6 ± 1.9 c
S-0114	78.1 ± 2.5 a	65.7 ± 1.1 a	56.4 ± 1.8 a	47.4 ± 6.5 b
Radioactividad medida en el resto de la parte aérea (PA)				
HR-S13	13.6 ± 2.5 a	28.9 ± 7.8 a	25.2 ± 6.4 a	25.6 ± 4.4 c
F-0213	16.1 ± 1.5 a	24.8 ± 6.3 a	42.7 ± 3.2 a	46.8 ± 0.9 b
B-0313	31.2 ± 7.2 a	28.6 ± 10.2 a	36.1 ± 3.9 a	68.9 ± 2.1 a
S-0114	17.4 ± 3.4 a	30.4 ± 1.3 a	40.1 ± 2.3 a	49.1 ± 6.8 b
Radioactividad medida en raíz (R)				
HR-S13	3.1 ± 0.4 a	2.44 ± 0.5 a	2.4 ± 0.3 a	3,4 ± 0.7 a
F-0213	3.2 ± 0.4 a	3.37 ± 0.6 a	3.2 ± 0.2 a	3,7 ± 0.3 a
B-0313	4.2 ± 0.8 a	2.71 ± 0.2 a	3.8 ± 0.4 a	3,4 ± 0.4 a
S-0114	4.3 ± 1.2 a	3.82 ± 0.6 a	3.4 ± 0.5 a	3,4 ± 0.7 a

* Error estándar de la media.

† Letras diferentes establecen diferencias significativas entre biotipos en la el porcentaje de radioactividad absorbida y translocada para cada uno de los tiempos evaluados mediante el Test de Tukey (P < 0.05).

Tabla 3. Absorción (% radioactividad recuperada) y translocación (% de la radioactividad absorbida) del ¹⁴C-2,4-D en los biotipos de *P. rhoeas* HR-S13, F-0213, B-0313 y S-0114.

Biotipo	12 h	24 h	48 h	96 h
Absorción				
<i>HR-S13</i>	70.9 ± 3.3 †a	78.1 ± 5.7 a	62.7 ± 5.6	65.8 ± 5.5 a
<i>F-0213</i>	65.8 ± 9.1 a	78.2 ± 8.7 a	70.5 ± 7.4	76.9 ± 7.8 a
<i>B-0313</i>	68.4 ± 3.3 a	67.1 ± 2.9 a	76.5 ± 5.7	62.5 ± 5.6 a
<i>S-0114</i>	75.7 ± 6.1 a	77.4 ± 6.1 a	75.2 ± 4.6	78.2 ± 4.5 a
Radioactividad medida en hoja tratada (HT)				
<i>HR-S13</i>	93.7 ± 1.2 a	83.6 ± 3.1 a	78.3 ± 3.8 a	70.1 ± 6.5 a
<i>F-0213</i>	99.1 ± 0.1 b	96.2 ± 1.5 ab	98.2 ± 0.4 b	97.4 ± 0.2 b
<i>B-0313</i>	98.9 ± 0.2 b	98.4 ± 0.5 b	95.6 ± 1.7 b	95.4 ± 1.2 b
<i>S-0114</i>	97.7 ± 0.5 b	88.2 ± 6.1 ab	94.3 ± 1.2 b	93.4 ± 1.6 b
Radioactividad medida en el resto de la parte aérea (PA)				
<i>HR-S13</i>	4.2 ± 0.9 a	12.7 ± 2.5 a	15.1 ± 3.3 a	22.2 ± 6.1 a
<i>F-0213</i>	0.3 ± 0.04 b	2.6 ± 1.2 b	0.5 ± 0.1 b	1.1 ± 0.2 b
<i>B-0313</i>	0.7 ± 0.2 b	1.1 ± 0.5 b	3.8 ± 1.6 b	3.1 ± 1.1 b
<i>S-0114</i>	1.9 ± 0.5 ab	6.3 ± 2.7 ab	4.5 ± 1.3 b	6.1 ± 1.5 b
Radioactividad medida en raíz (R)				
<i>HR-S13</i>	1.9 ± 0.4 a	3.6 ± 0.5 a	6.5 ± 0.5 a	7.7 ± 1.1 a
<i>F-0213</i>	0.5 ± 0.1 b	1.1 ± 0.3 a	1.1 ± 0.3 b	1.4 ± 0.1 b
<i>B-0313</i>	0.2 ± 0.01 b	0.3 ± 0.06 a	0.5 ± 0.1 b	1.4 ± 0.2 b
<i>S-0114</i>	0.3 ± 0.06 b	5.4 ± 3.7 a	1.1 ± 0.4 b	0.4 ± 0.1 c

* Error estándar de la media.

† Letras diferentes establecen diferencias significativas entre biotipos en la el porcentaje de radioactividad absorbida y translocada para cada uno de los tiempos evaluados mediante el Test de Tukey (P < 0.05).

CONCLUSIONES

Se han observado diferencias significativas en la translocación de ambos productos entre biotipos resistentes y sensibles. El hecho de que el biotipo HR-S13 transloque menos tribenuron-metil que el resto de poblaciones puede ser debido al propio efecto fitotóxico de este producto. Por el contrario, la menor translocación de 2,4-D observada en biotipos resistentes respecto a los sensibles es una evidencia indirecta de la presencia de un mecanismo de resistencia de estas plantas al herbicida hormonal.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio se ha realizado gracias a la financiación y colaboración de la empresa Du Pont de Nemours S.A.S y dentro del programa de becas predoctorales AGAUR (Generalitat de Cataluña). Además agradezco la

ayuda prestada por parte de Eva Edo, Laia Mateu y Daniel Camacho en la propagación y preparación del material vegetal empleado en estos experimentos.

BIBLIOGRAFÍA

- CLAUDE JP, GABARD J, DE PRADO R & TABERNER A (1998) An ALS-resistant population of *Papaver rhoeas* in Spain. *Compte Rendu XVII Conference COLUMA, Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, ANPP*, pp. 141-147. Montpellier, France.
- DÉLYE C, PERNIN F & SCARABEL L (2011) Evolution and diversity of the mechanisms endowing resistance to herbicides inhibiting acetolactate-synthase (ALS) in corn poppy (*Papaver rhoeas* L.). *Plant Science* 180, 333-342.
- HEAP I (2015) International Survey of Herbicide Resistant Weeds. <http://www.weedscience.org/in.asp>. Accessed April 01, 2015.
- KALOUMENOS NS, DORDAS CA, DIAMANTIDIS GC & ELEFTHEROHORINOS IG (2009) Multiple Pro 197 substitutions in the acetolactate synthase of corn poppy (*Papaver rhoeas*) confer resistance to tribenuron. *Weed Science* 57, 362-368.
- RIAR DS, BURKE IC, YENISH JP, BELL J & GILL K (2011) Inheritance and physiological basis for 2,4-D resistance in prickly lettuce (*Lactuca serriola* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 9417-9423.
- 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.

ESTUDIO DE SENSIBILIDAD AL BROMOXINIL DE UN BIOTIPO DE *PAPAVER RHOEAS* L.

Rey-Caballero J.*, Montull J.M., Taberner A., Torra J.

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

*jordi.rey@hbj.udl.cat

Resumen: *Papaver rhoeas* es la única mala hierba dicotiledónea que presenta resistencia múltiple en España. Se han detectado biotipos resistentes a tribenuron-metil (inhibidor de la acetolactato sintasa) y 2,4-D (auxina sintética). En la zona cerealista del norte de España ha habido problemas en el control de esta mala hierba con mezclas que contenían bromoxinil. En el presente trabajo se ha ensayado, con curvas dosis-respuesta, el efecto de este producto en dos lotes de semillas de un biotipo que no fue controlado en campo por mezclas con bromoxinil en dos años consecutivos. Los lotes B-0313 y B-0314 fueron controlados cuando el bromoxinil se aplicó a la fenología recomendada. Se observó cierto desplazamiento de la curva cuando las plantas de amapola se aplicaron a fenologías más avanzadas.

Palabras clave: Amapola, resistencia, fenología, tribenuron-metil y 2,4-D.

Summary: *Bromoxynil sensitivity study of a Papaver rhoeas L. biotype.* *Papaver rhoeas* is the unique dicot weed that has multiple resistance in Spain. Resistant biotypes have been detected to tribenuron-methyl (acetolactate synthase inhibitor) and 2,4-D (synthetic auxin). In the cereal area of northern Spain there have been problems to control this weed with mixtures containing bromoxynil. In the present work we have tested the effect of this product in one biotype that was not controlled in the field by herbicide mixtures with bromoxynil. The lots B-0313 and B-0314 were controlled with bromoxynil applied at the recommended phenology. A shift in the curve was observed when corn poppy plants were applied in more advanced phenologies.

Keywords: Corn poppy, resistance, phenologies, tribenuron-methyl and 2,4-D.

INTRODUCCIÓN

Papaver rhoeas (amapola) es la dicotiledónea más común en los cereales de invierno del sur de Europa (Délye et al., 2011). Su naturaleza competitiva (puede producir unas pérdidas del rendimiento en trigo de hasta un 32%) la hace especialmente nociva en los sistemas cerealistas de NE de España (Torra et al., 2010). Como consecuencia de la sistemática aplicación de herbicidas para su control (2,4-D y Sulfonilureas) se han seleccionado biotipos resistentes. En 1992 se detectaron los primeros problemas de control de *P. rhoeas* con 2,4-D, una auxina sintética (Taberner et al., 1992), y en 1998 la presencia de biotipos con resistencia múltiple a 2,4-D y tribenurón-metil, inhibidor de la ALS (Claude et al., 1998). Recientemente, en el norte de España se ha detectado algunos fallos en control de amapola con mezclas que contienen bromoxinil. Los objetivos del presente trabajo fueron 1) estudiar el efecto del bromoxinil en diferentes fenologías de aquellos biotipos problemáticos 2) caracterizar la resistencia a tribenuron-metil y a 2,4-D.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se recolectaron semillas de una finca comercial localizada en Burgos, donde durante dos años consecutivos una mezcla que contenía bromoxinil había fallado en el control de amapola en post-emergencia. En los experimentos de dosis respuesta, junto a las semillas del primer y segundo año (lotes B-0313 y B-0314 receptivamente), se emplearon dos estándares sensibles, BR-S13 (Burgos) y HR-S13 (Herbiseed). Inicialmente se trasplantaron un total de cinco plántulas por maceta (8 x 8 x 8 cm), y cuando las plantas alcanzaron la fenología apropiada se redujo a tres plantas por maceta. Las aplicaciones de bromoxinil se realizaron en dos fenologías diferentes, 5-6 cm, momento de aplicación recomendado en campo, (1-F) y 10 cm de roseta (2-F) (Figura 1). El tribenuron-metil y el 2,4-D únicamente se aplicaron en la 1-F.

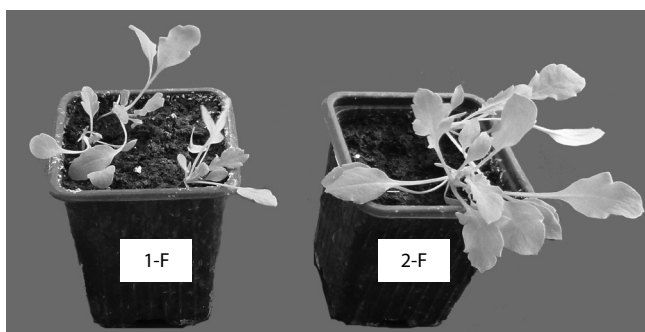


Figura 1. Primera fenología, recomendado en campo (1-F) y segunda fenología (2-F) de intervención.

El bromoxinil, tribenuron-metil y 2,4-D se aplicaron a las dosis indicadas en la Tabla 1.

Tabla 1. Herbicida, producto comercial (dosis de campo recomendada) y dosis empleadas para los biotipos resistentes (R) y sensibles (S) de amapola.

Herbicida	Producto	Dosis empleadas (g i.a ha ⁻¹)	
bromoxinil	Buctril (1.65 L ha ⁻¹)	R	792, 396, 198, 99, 49.5 y 0
		S	396, 198, 99, 49.5, 24.7 y 0
tribenuron-metil	Granstar 50 SX (37.5 g ha ⁻¹)	R	1200, 600, 150, 75, 37.5, 18.7, 9.3, 4.6 y 0
		S	18.7, 9.3, 4.6, 2.3, 1.1, 0.5, 0.25 y 0
2,4-D	Esteron 60 (1 L ha ⁻¹)	R	4800, 1200, 600, 300, 150, 75 y 0
		S	600, 300, 150, 75, 37.5, 18.7, 9.3 y 0

Un total de ocho repeticiones fueron empleadas para cada una de estas dosis. Cuatro semanas después de las aplicaciones se evaluó el peso seco (48 h a 65°C) de cada una de las macetas. Los datos de este experimento fueron analizados con modelos de regresiones no lineales (Knezevic et al., 2007). La dosis de herbicida que causa el 50% de la reducción del peso seco (RD₅₀) se calculó gracias a la curva Log-logistic de cuatro parámetros (1). A partir de la RD₅₀ se calcularon los factores de resistencia para cada uno de los biotipos y productos.

$$y = c + \frac{(d - c)}{1 + \text{EXP}[b(\log(x) - \log(\text{RC}_{50}))]} \quad (1)$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El lote B-0313 mostró una fuerte resistencia a tribenuron-metil obteniendo una RD₅₀ de 61.27 ± 12 g i.a ha⁻¹ y un factor de resistencia (FR)

de 778. Kaloumenos et al. (2009) también detectó FR semejantes en biotipos griegos de *P. rhoeas* resistentes a tribenuron-metil. Además, este mismo autor identificó diferentes sustituciones de la Pro¹⁹⁷ responsables de esta resistencia. Los resultados obtenidos para el 2,4-D confirmaron la resistencia múltiple. La RD₅₀ obtenida para este producto fue de 1238.4 ± 436.2 g i.a ha⁻¹ y el FR de 18. La resistencia múltiple de amapola también ha sido descrita en Italia (Heap, 2015). Puesto que las semillas del lote B-0314 se recolectaron en la misma finca el año siguiente, es de esperar que la respuesta a estos herbicidas sea de la misma naturaleza que la observada en el caso de B-0313.

La curvas establecidas para los lotes B-0313 y B0314, cuando fueron tratados con bromoxinil en la primera fenología, no detectaron ninguna respuesta diferencial entre estos y los estándares sensibles (Figura 2). Los FR fueron de 1 y de 1.3 para B-0313 y B0314 respectivamente (Tabla 2). Sin embargo, resulta interesante destacar que mientras la supervivencia a 198 g i.a ha⁻¹ fue del 0% en los biotipos sensibles, en los lotes B-0313 y B0314 se detectaron supervivencias del 11 y del 6%, respectivamente. Cuando se analizaron los datos de la segunda fenología, se observó cierto desplazamiento de la curva en ambos biotipos. Este desplazamiento fue más acusado en el caso del lote del segundo año, B0314 (Figura 2). Algunos de los individuos recolectados en Burgos fueron capaces de sobrevivir a la dosis máxima de registro (396 g i.a ha⁻¹), y la supervivencia a 198 g i.a ha⁻¹ fue del 14 y del 23% para los lotes B-0313 y B0314, respectivamente. La RD₅₀ obtenida por los estándares sensibles no varió de forma importante entre fenologías. Si analizamos la RD₅₀ calculada en la curva que resulta de fusionar ambos biotipos sensibles (S), corroboramos esta idea. La RD₅₀ en la primera fenología fue de 58.2 ± 2.7 g i.a ha⁻¹ mientras que en la segunda fenología se registró un valor de 51.5 ± 4.7 g i.a ha⁻¹. No ocurrió lo mismo en el caso de los lotes del biotipo recolectado en Burgos. Para el lote B-0313 la RD₅₀ pasó de 59.3 ± 3.1 a 97.2 ± 11.1 g i.a ha⁻¹ mientras que para B-0314 se pasó de 76.5 ± 3.9 a 113.8 ± 9.5 g i.a ha⁻¹ (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto del bromoxinil en diferentes biotipos de *Papaver rhoeas* tratados en dos fenologías diferentes (media ± ET).

Biotipo	RD ₅₀ (g i.a ha ⁻¹)		Pendiente		Factor de resistencia	
	1-F	2-F	1-F	2-F	1-F	2-F
B-0313	59.3 (±3.1)	97.2 (±11.1)	-4.65 (±0.9)	-2.03 (±0.4)	1	1.8
B-0314	76.5 (±3.9)	113.8 (±9.5)	-3.10 (±0.4)	-2.90 (±0.9)	1.3	2.2
HR-S13	56.7 (±2.7)	46.5 (±6.3)	-4.42 (±1.1)	-1.73 (±0.3)	--	--
BR-S13	59.4 (±5.1)	55.9 (±8.3)	-2.22 (±0.3)	-1.65 (±0.3)	--	--
S*	58.2 (±2.7)	51.5 (±4.7)	-2.58 (±0.2)	-1.70 (±0.2)	1	1

*Los valores de S se obtienen de ajustar una única curva para los dos biotipos sensibles (HR-S13 y BR-S13).

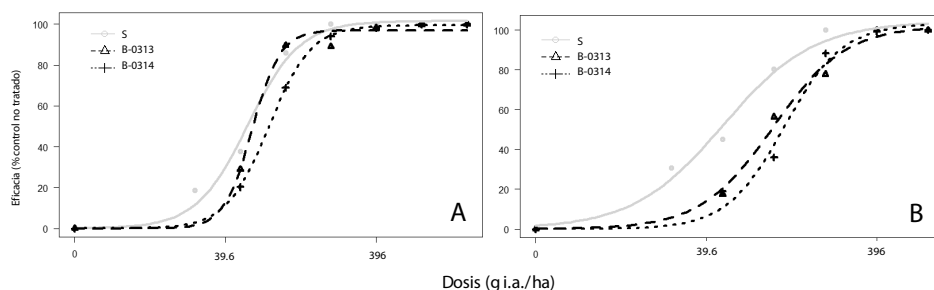


Figura 2. Curvas dosis-respuesta ajustadas para los lotes B-0313 y B-0314 de un biotipo de Burgos y S (datos de BR-S13 y HR-S13) tratados con bromoxinil en la primera fenología (A) y segunda fenología (B).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente trabajo no nos permiten afirmar que la falta de control en campo del bromoxinil es consecuencia de la aparición de una resistencia. La dosis máxima de registro del bromoxinil controla los lotes B-0313 y B-0314, cuando este se aplica a la fenología adecuada. Se ha observado que la sensibilidad de estos mismos lotes decrece cuando la fenología avanza, mientras que este fenómeno no ocurre en los dos estándares sensibles ensayados. Por lo tanto, se recomienda tratar en estadios precoces de la amapola y no retrasar las aplicaciones cuando se usan mezclas herbicidas que contengan bromoxinil. Puesto que la resistencia debe de ser un carácter heredable, resulta necesario obtener una F1 originaria de aquellas plantas que sobrevivieron a la aplicación de bromoxinil y realizar posteriormente experimentos de dosis-respuesta de esta F1. Actualmente se están cruzando los parentales a fin de poder realizar estos experimentos a lo largo del próximo otoño para confirmar si estamos ante un nuevo caso de evolución de resistencia.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio se ha realizado dentro del programa de becas predoctorales AGAUR (Generalitat de Catalunya). Además, agradezco la ayuda prestada por parte de Eva Edo y Laia Mateu en la propagación y preparación del material vegetal empleado en estos experimentos.

BIBLIOGRAFÍA

CLAUDE JP, GABARD J, DE PRADO R & TABERNER A (1998) An ALS-resistant population of *Papaver rhoeas* in Spain. *Compte Rendu XVII*

Conference COLUMA, Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, ANPP, pp. 141-147. Montpellier, France.

DÉLYE C, PERNIN F & SCARABEL L (2011) Evolution and diversity of the mechanisms endowing resistance to herbicides inhibiting acetolactate-synthase (ALS) in corn poppy (*Papaver rhoeas* L.). *Plant Science* 180, 333-342.

HEAP I (2015) International Survey of Herbicide Resistant Weeds. <http://www.weedscience.org/in.asp>. Accessed April 01, 2015.

KALOUMENOS NS, DORDAS CA, DIAMANTIDIS GC & ELEFTHEROHORINOS IG (2009) Multiple Pro 197 substitutions in the acetolactate synthase of corn poppy (*Papaver rhoeas*) confer resistance to tribenuron. *Weed Science* 57, 362-368.

KNEZEVIC SZ, STREIBIG JC & RITZ C (2007) Utilizing R software package for dose-response studies: The concept and data analysis. *Weed Technology* 21, 840-848.

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.

TORRA J, CIRUJEDA A, TABERNER A & RECASENS J (2010) Evaluation of herbicides to manage herbicide-resistant corn poppy (*Papaver rhoeas*) in winter cereals. *Crop Protection* 29, 731-736.

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO DE DIURÓN EN EL SISTEMA SUELO-AGUA. EMPLEO DE CICLODEXTRINAS PARA LA DESCONTAMINACIÓN DE SUELOS

Rubio-Bellido M.^{1*}, Villaverde J.¹, Ruda L.², Florido M.C.², Morillo E.¹

¹*Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, I
RNAS-C.S.I.C., Apartado 1052, 41080 Sevilla, España.*

²*Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola, Universidad de Sevilla,
Ctra. Utrera km 1, 41013 Sevilla, España.*

**mrubio@irnase.csic.es*

Resumen: Con el objetivo de estudiar el comportamiento del herbicida Diurón en el sistema suelo-agua, se realizaron ensayos de adsorción-desorción y de lixiviación en columnas de suelos. Para la adsorción del herbicida diurón en los suelos con propiedades físico-químicas diferentes, las variables significativas fueron la materia orgánica (MO), óxidos amorfos totales y la fracción arcilla. La desorción de los suelos presentó histéresis en todos los casos, aunque una histéresis positiva cuando se extrajo con $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ y una histéresis negativa cuando se utilizó ciclodextrina (HPBCD). El porcentaje de diurón eluido en las columnas de suelos seleccionados alcanzó casi el 83,1% en un suelo arenoso con contenido con MO <1%, por el contrario, en el suelo con mayor contenido en MO, la cantidad eluida del herbicida fue sólo del 6,65%.

Palabras clave: Herbicida, HPBCD, adsorción-desorción, lixiviación, suelo.

Summary: Studying the behavior of diuron in soil-water system. Use of cyclodextrins for soil remediation. In order to study the behavior of the herbicide Diuron in the soil-water system, adsorption-desorption tests and leaching in soil columns were performed. For the adsorption of diuron in soils with different physicochemical properties, significant variables were the organic matter (OM), total amorphous oxides and clay fraction. Soil desorption hysteresis was observed in all cases a positive hysteresis when extracted with $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ and a negative hysteresis when cyclodextrin (HPBCD) was used. The percentage of diuron eluted from soil columns reached almost 83.1% in a sandy soil with OM <1%; on the contrary, in a soil with higher OM content, the amount of the herbicide eluted was 6.65%.

Keywords: Herbicide, HPBCD, adsorption-desorption, lixiviation, soil.

INTRODUCCIÓN

El herbicida diurón es considerado como una de las sustancias más peligrosas descrita por la Comisión Europea (Malato et al., 2003), siendo un compuesto altamente tóxico que se acumula en el suelo y agua (Sorensen et al., 2008). Por consiguiente, Diurón ha sido incluido en la lista de sustancias tóxicas prioritarias de la Comisión Europea de Recursos de Agua Dulce y se encuentra en la tercera lista de contaminantes prioritarios de aguas para consumo humano elaborada por la Agencia de Protección Medioambiental de los Estados Unidos.

Con el objetivo de acelerar la biodegradación en el sistema suelo-agua ciertos disolventes orgánicos y surfactantes han sido considerados para mejorar la solubilidad de contaminantes organoclorados, como es el caso de Diurón, pero ambos presentan desventajas desde un punto de vista medioambiental. Como alternativa, las ciclodextrinas pueden tener uso potencial como agentes que aumenten su solubilidad en agua y por lo tanto su biodisponibilidad en el suelo, con la ventaja de que son oligosacáridos cíclicos constituidos por un número variable de unidades de glucosa unidas por enlaces α -(1,4). Estas moléculas son capaces de formar complejos de inclusión con numerosos compuestos hidrofóbicos debido a su conformación toroidal, que delimita una cavidad relativamente apolar, mientras que el exterior presenta una naturaleza hidrofílica (Badr et al., 2004).

La *biodisponibilidad* de agentes contaminantes orgánicos gobierna su toxicología y degradación en suelos contaminados. Este componente coloidal del suelo es el principal responsable de la adsorción del herbicida Diurón y de su biodisponibilidad, tanto para su lixiviación en el suelo como para ser biodegradado, siendo estos dos procesos los más importantes respecto a las pérdidas que frecuentemente se dan en los herbicidas aplicados sobre suelos agrícolas.

Los objetivos de este trabajo son: 1) Llevar a cabo estudios de solubilidad de Diurón para evaluar el efecto de varias ciclodextrinas (CDs) seleccionadas (agentes complejantes). 2) Estimar la potencial capacidad de Diurón para ser retenido en el suelo, a través de la realización de isotermas de adsorción-desorción. 3) Estudiar la movilidad de Diurón en columnas de suelos en presencia y ausencia de ciclodextrinas, mediante la obtención de curvas de lixiviación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Materiales

Diurón en polvo (pureza > 98%). Se han empleado dos ciclodextrinas (CDs) de origen natural, β -ciclodextrina (BCD) y γ -ciclodextrina (GCD),

y otras dos de origen sintético; 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (HPBCD) y 2-hidroxiopropil- γ -ciclodextrina (HPGCD). Se usaron 7 suelos con diferentes características fisicoquímicas reflejadas en la Tabla 1. Estos suelos proceden de diferentes zonas de Andalucía, España.

Tabla 1. Propiedades físico-químicas de los suelos empleados.

Suelos	pH	CO ₃ ⁻² (%)	MO (%)	Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)	Clasificación Textural
FH	6,23	1,60	3,37	24,2	59,4	16,4	Franco limoso
AL	6,97	2,00	2,13	31,6	53,6	14,8	Franco limoso
TM	8,00	24,1	1,76	2,70	31,5	65,9	Arcilloso
VG	8,73	27,5	1,75	59,4	15,9	24,6	Franco arenoso
P44	5,50	0,00	1,56	49,8	34,5	15,7	Franco
LM	6,00	0,00	1,41	16,7	58,6	24,7	Franco limoso
CR	8,58	11,0	0,20	95,3	4,10	0,60	Arenoso

Métodos

Estudios de solubilidad de Diurón en presencia de 4 ciclodextrinas. Los estudios de solubilidad se llevaron a cabo de acuerdo con el método descrito por Higuchi & Connors (1965). El Diurón se añadió en cantidades que excedían de su solubilidad teórica a 25 °C, a distintas concentraciones crecientes de CDs a 25 °C agitando durante una semana.

Estudios de adsorción-desorción de Diurón en suelos. Para medir la adsorción se pesaron 10 g de cada uno de los suelos, y se pusieron en contacto con 10 mL de solución de Diurón a 5 concentraciones diferentes en un medio 0,01 M en Ca(NO₃)₂. Los tubos se mantuvieron en agitación durante 72 horas. Posteriormente las suspensiones fueron centrifugadas y se midieron por HPLC. Las isotermas de desorción se llevaron a cabo reemplazando la mitad del sobrenadante de los tubos de centrifuga, una vez que el equilibrio de adsorción se había alcanzado, por Ca(NO₃)₂ o por 5 mL de una solución de HPBCD de 10 mg L⁻¹. Para las correlaciones de estos estudios se empleó el paquete estadístico IBM SPSS V. 21.

Estudios de movilidad de Diurón en columnas de suelo. Se emplearon columnas de metacrilato de 20 cm de altura y 3 cm de diámetro interno. Sólo se realizó en los suelos FH y CR. La cantidad añadida de Diurón fue de 5 kg ha⁻¹. Se realizan 4 replicados de columnas por cada suelo, a dos de los cuales, se les añadió HPBCD. Las curvas de elución se obtuvieron por la aplicación sucesiva de 10 mL de agua hasta que el herbicida no fue detectado en los lixiviados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diagramas de solubilidad de fases de Diurón con las diferentes CDs

Los diagramas de solubilidad obtenidos para Diurón con las CDs naturales empleadas (BCD y GCD) y con las CDs sintéticas (HPBCD y HPGCD) se representan en la Figura 1.

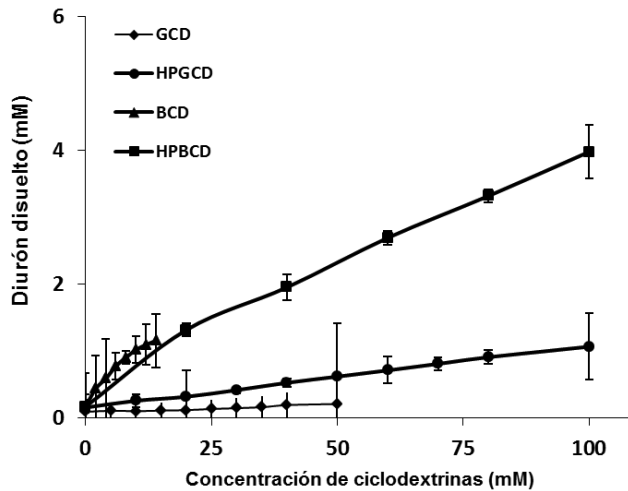


Figura 1. Diagramas de solubilidad de Diurón en presencia de las CDs estudiadas.

Los estudios de interacción en medio acuoso Diurón-ciclodextrinas han mostrado que las ciclodextrinas empleadas, conducen a diagramas de solubilidad de tipo A_L de Higuchi y Connors. Los complejos formados entre el plaguicida y estas CDs no poseen un límite de solubilidad definido, siendo el aumento de solubilidad consecuencia de la formación de un complejo de inclusión entre Diurón y las CDs empleadas. El hecho de que los diagramas sean líneas rectas con pendientes menores a 1 indica que los complejos formados presentan una estequiometría 1:1. Existen publicaciones que indican la menor capacidad de HPBCD por adsorberse sobre el suelo (Badr et al., 2004), por lo que hace más disponible para los microorganismos del suelo los contaminantes orgánicos (Allan et al., 2006). Teniendo en cuenta los resultados HPBCD fue seleccionada para los demás ensayos.

Adsorción-desorción de Diurón en suelos

En la Figura 2 se presentan las isotermas de adsorción del herbicida Diurón sobre los suelos empleados.

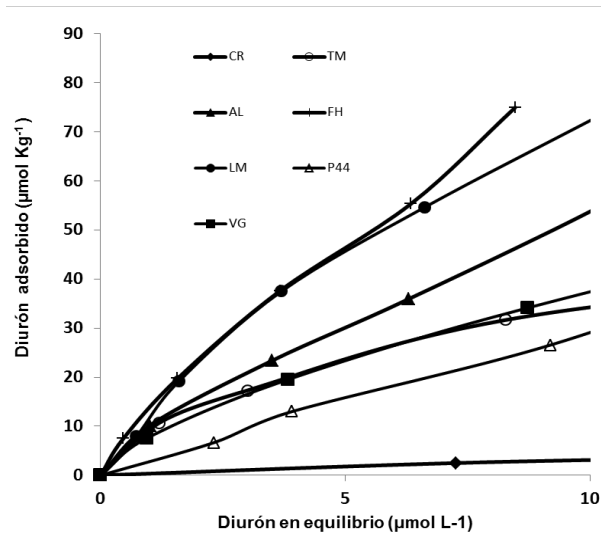


Figura 2. Isotermas de adsorción de Diurón en los suelos estudiados.

Tabla 2. Constante de Freundlich (K_f), coeficientes de correlación (R^2), K_f normalizada con el contenido de carbono orgánico (K_{foc}) y porcentajes de desorción con $Ca(NO_3)_2$ y HPBCD.

Suelos	K_f	R^2	K_{foc}	%D $Ca(NO_3)_2$	%D HPBCD
FH	13,0	0,93	664	15,9	31,3
AL	13,8	0,91	1112	20,1	45,8
TM	13,2	0,99	877	11,2	21,8
VG	6,49	0,91	638	29,5	93,3
P44	2,90	0,97	320	43,3	81,8
LM	14,3	0,95	1738	10,7	25,1
CR	0,60	0,95	516	73,7	81,4

Las isotermas de adsorción de Diurón en suelos con diferentes propiedades físico-químicas se ajustaron a la ecuación de Freundlich (Tabla 2). El estudio estadístico de correlaciones bivariadas indicó que la adsorción del herbicida Diurón no solo dependió del contenido en materia orgánica de los suelos, sino también del contenido en óxidos de aluminio (Ecuación 1).

$$K_f = 0,654 + 0,880 Al_2O_3 (\%) + 0,156 \text{ Fracción arcilla } (\%) \quad (1)$$

Las desorciones del herbicida Diurón resultaron ser siempre más efectivas en presencia de HPBCD. Las desorciones de Diurón con solución de $Ca(NO_3)_2$ 0,01 M y con solución de HPBCD se correlacionaron negativamente con la constante de adsorción de Freundlich, K_f , es decir, cuando el suelo presentó una alta capacidad de adsorción por el herbicida éste

mostró una mayor resistencia a ser desorbido. Así mismo, ambas desorciones se correlacionan negativamente con el contenido en MO, y sólo la desorción con $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ fue afectada negativamente por la presencia de óxidos amorfos (Ecuaciones 2 y 3).

$$\%D \text{ Ca}(\text{NO}_3)_2 = -0,94 K_f - 0,66 \text{ MO} - 0,87 \text{ OAT} \quad (2)$$

$$\% D \text{ HPBCD} = -0,77 K_f - 0,32 \text{ MO} \quad (3)$$

Lixiviación de Diurón en suelos

En la curva de elución del herbicida a través de un suelo franco limoso con un contenido en MO mayor del 3% se determinó un porcentaje de elución muy bajo (6,65%). Sin embargo, para un suelo arenoso con un contenido en MO menor del 1% se observó una importante lixiviación (83,1%), debido al bajo contenido en MO y a su alta porosidad (Figura 3, Tabla 3). Al emplear HPBCD x10 no se observaron diferencias significativas en comparación con la lixiviación en ausencia de HPBCD (Tabla 3).

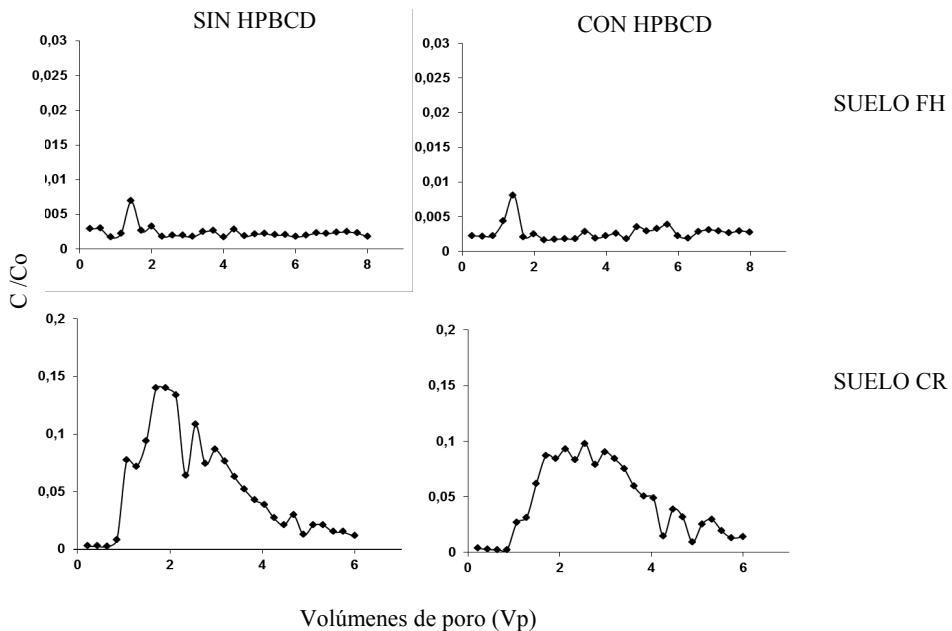


Figura 3. Curvas de elución de Diurón en los suelos FH y CR con y sin HPBCD.

Los residuos de Diurón extraídos con metanol de las columnas en el suelo arenoso presentaron una distribución homogénea del herbicida a lo largo de toda la columna. En cambio, para el suelo franco limoso con un alto contenido en MO la mayor parte de Diurón quedó retenida especialmente en el primer anillo de la columna.

Tabla 3. Porcentaje de Diurón eluido y extraído de las columnas de suelo.

Profundidad (cm)	FH		CR	
	Sin HPBCD	Con HPBCD	Sin HPBCD	Con HPBCD
0-4	86,4 (± 0,6)	81,4 (± 0,8)	2,75 (± 0,01)	2,73 (± 0,05)
4-8	9,14 (± 1,84)	8,73 (± 0,01)	1,99 (± 0,04)	2,55 (± 0,02)
8-12	0,46 (± 0,01)	0,49 (± 0,02)	2,08 (± 0,06)	3,52 (± 0,01)
12-16	0,49 (± 0,02)	0,33 (± 0,01)	2,91 (± 0,03)	4,08 (± 0,03)
Total extraído (%)	96,5 (± 0,6)	90,9 (± 0,2)	9,73 (± 0,04)	12,9 (± 0,1)
Total eluido (%)	6,65 (± 1,20)	7,71 (± 0,64)	83,1 (± 1,2)	73,2 (± 2,0)
Total recuperado (%)	103,2 (± 0,9)	98,7 (± 0,4)	92,8 (± 0,6)	86,1 (± 1,0)

Como conclusión se puede decir que la concentración de HPBCD aplicada ha mostrado una capacidad tanto de aumentar la solubilidad de Diurón como de provocar la desorción del mismo, sin embargo, resultó no provocar un incremento en la capacidad de lixiviación de Diurón, resultando un agente favorable para la descontaminación de las aguas subterráneas.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto del Ministerio de Ciencia e Innovación cofinanciado por el fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). Beca predoctoral JAE-CSIC de M. Rubio-Bellido. L. Ruda colaboró como personal de laboratorio en la ejecución de los experimentos.

BIBLIOGRAFÍA

- ALLAN IJ, SEMPLE KT, HARE R & REID BJ (2006) Prediction of mono- and polycyclic aromatic hydrocarbon degradation in spiked soils using cyclodextrin extraction. *Environmental Pollution* 44, 562-571.
- BADR T, HANNA K & BRAUER C (2004) Enhanced solubilization and removal of naphthalene and phenanthrene by cyclodextrins from two contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*, 112, 215-223.
- HIGUCHI T & CONNORS KA (1965) Phase-solubility techniques. *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation* 4, 117-212.
- MALATO S, CÁCERES J, FERNÁNDEZ-ALBA AR, PIEDRA L, HERNANDO MD, AGÜERA A & VIAL L (2003) Photocatalytic treatment of diuron by solar photocatalysis: evaluation of main intermediates and toxicity. *Environmental Science and Technology* 37, 2516-2524.
- SORENSEN SR, ALBERS CN & AAMAND J (2008) Rapid mineralization of the phenylurea herbicide diuron by *Variovorax* sp. strain SRS16 in pure culture and within a two-member consortium. *Applied and Environmental Microbiology* 74, 2332-2340.

PHYTOTOXIC STUDY OF THE *E/Z* ISOMERS OF THE HERBICIDE ALLOXYDIM IN WHEAT

Sevilla-Morán B.¹, Santín-Montanyá M.I.², Villarroya-Ferruz M.¹,
Cubero-Torrado N.H.¹, Alonso-Prados J.L.¹, Sandín-España P.^{1*}

¹DTEVPF - Unit of Plant Protection Product, Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria (INIA), 28040 Madrid, Spain.

²Department of Plant Protection, Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria (INIA), 28040 Madrid, Spain.

* sandin@inia.es

Summary: Alloxydim is an herbicide marketed as the *E*-isomer applied at early stages of grass weeds. In the field, sunlight and temperature can induce the isomerization reaction of *E*-alloxydim to form the mixture of *E* and *Z* isomers. A bioassay has been performed to compare the herbicidal activity of *E*-alloxydim and its corresponding *E/Z* isomeric mixture in wheat plants. The IC₅₀ values calculated from the root lengths of wheat for *E*-alloxydim and alloxydim mixture were 0.37 and 0.70 mg L⁻¹, respectively. The *Z* isomer of alloxydim in the isomeric mixture has no phytotoxic effect on the wheat germination whereas *E*-alloxydim inhibited the seed germination at low concentrations (from 0.0 to 4.0 mg L⁻¹).

Keywords: Degradation, cyclohexanodione oxime, isomerization, germination bioassay.

Resumen: Estudio fitotóxico de los isómeros *E/Z* del herbicida alloxidim en trigo. Aloxidim es un herbicida comercializado como el isómero *E* que se aplica en los estadios tempranos de las malas hierbas. En el campo, la luz solar y la temperatura pueden inducir la reacción de isomerización de *E*-aloxidim para formar la mezcla de los isómeros *E* y *Z*. Se ha llevado a cabo un bioensayo para comparar la actividad herbicida de *E*-aloxidim y su correspondiente mezcla de isómeros *E/Z* en trigo. Los valores de IC₅₀ calculados a partir de la longitud de raíz de trigo de *E*-aloxidim y la mezcla 0,37 y 0,70 mg L⁻¹, respectivamente. El isómero *Z*-aloxidim en la mezcla isomérica no tiene efecto fitotóxico sobre la germinación de trigo, mientras que *E*-aloxidim inhibe la germinación de semillas a bajas concentraciones (de 0,0 a 4,0 mg L⁻¹).

Palabras clave: Degradación, ciclohexanodiona oxima, isomerización, bioensayo de germinación.

INTRODUCTION

The herbicide alloxydim is marketed in Japan as the *E* isomer for the post-emergence control of gramineous weeds in sugar beet, vegetables and other broadleaf crops. Once applied, this herbicide degrades to different by-products under various environmental conditions. One of the main reactions is a rapid isomerization to the *Z* isomer (Figure 1). In our group, different studies have shown that *E*-isomer suffers isomerization under different irradiation intensities and temperatures in environmental waters in few minutes (Sevilla-Morán et al., 2008; Sandín-España et al. 2013). The identification of the *Z*-isomer was performed by HPLC-QToF-MS spectrometry (Sevilla-Morán et al., 2008). Nowadays, one of the major challenges in environmental analytical chemistry is the identification of unknown by-products of pesticides generated in different degradation processes in the environment. This task is highly interesting since some of the degradation products present different properties to the parent compound. In fact, some of them have more persistence and/or toxicity/phytotoxicity (Osano et al., 2002; Boxall, 2009). In the case of alloxydim, to the best of our knowledge, there are no previous studies in the scientific literature on the phytotoxic activity of the different isomers of alloxydim.

In the present work we compare the phytotoxic effects of the herbicide alloxydim (*E* isomer) and its corresponding isomeric *E/Z* mixture in wheat by means of seed germination bioassays. These studies are also interesting in order increase knowledge on the efficacy and phytotoxicity of different isomer of pesticides.



Figure 1. Chemical structure of E-alloxydim and Z-alloxydim.

MATERIAL AND METHODS

Chemical reagents

The analytical standard of *E*-alloxydim was acquired from Dr. Ehrentorfer GmbH (Augsburg, Germany) (98% purity). As the *Z*-isomer was not commercially available, it was obtained as a mixture of *E/Z* isomers from *E*-alloxydim (see next section).

Ultrapure water was obtained from a Millipore system (Milli-Q-50 18 m Ω) and MeOH (HPLC grade) were supplied by Labscan (Stillorgan, Co., Dublin, Ireland).

Obtaining of isomeric mixture of alloxydim

To obtain the mixture of *E/Z*, a thermic isomerization reaction of *E*-alloxydim was performed as follows; a methanolic solution of *E*-alloxydim (20 mg L⁻¹) was exposed to 80 °C for 40 min in a thermostatic bath. Thereafter, the solvent was removed with the use of a vacuum centrifuge (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) and the residue was dissolved in the appropriate ultrapure water volume to obtain a final concentration of 20 mg L⁻¹.

This procedure allows obtaining an *E/Z* alloxydim mixture with a ratio of 42/58.

Seed germination bioassays

The study was conducted with a wheat species (*Triticum aestivum* L. cv Castan) in a growth chamber with a cycle of 16 h of light (illumination 100 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) at 22 \pm 1 °C and 8 h of darkness at 16 \pm 1 °C.

Twenty-five seeds wheat were distributed in a Petri dish (13 cm diameter) on double-layered Whatman No. 1 filter paper. The seeds were then treated with 15 mL of either *E*-alloxydim or with *E/Z* alloxydim mixture at ten different concentrations (0.0; 0.2; 0.4; 0.6; 0.8; 1.0; 1.2; 1.6; 2.0; 4.0 mg L⁻¹).

The experimental work followed a completely randomized design by to replicates and appropriate control systems containing no herbicide (with ultrapure water) were included in each experiment.

The effects of *E*-alloxydim and *E/Z* alloxydim mixture were measured by the main germination parameters of the seeds (root length and coleoptile length) recorded 3 days after seeding. The ratio of *E/Z* alloxydim was stable during the whole experiment.

Statistical analysis

The IC₅₀ values (herbicide concentration required to cause a 50% inhibition of root growth) for alloxydim and *E/Z* alloxydim mixture were determined by means of direct plots of root length vs. the concentration of these compounds (Figure 2) assuming a non-linear regression given by the log-logistic equation (Seefeldt et al., 1995). The equation of these curves is:

$$Y = C + \frac{D - C}{1 + e^{b \cdot [\log(X) - \log(IC_{50})]}} \quad (1)$$

where Y is the root length (cm), X is the herbicide concentration (mg L⁻¹), D is the upper asymptote (maximum root growth of plants), C is the lower asymptote (minimum root growth of plants), b is the slope of the curve around the IC₅₀, and IC₅₀ is the concentration giving 50% root length inhibition.

RESULTS AND DISCUSSION

Root and coleoptile lengths were measured to evaluate the effects of *E*-alloxydim and *E/Z* alloxydim mixture in the germination bioassays. The root length of wheat was significantly affected at low concentrations of *E*-alloxydim regarding the concentrations assayed (Figure 2a) and *E/Z* alloxydim mixture (Figure 2b). Coleoptile was less sensitive to both compounds, therefore only the effects on root lengths were considered.

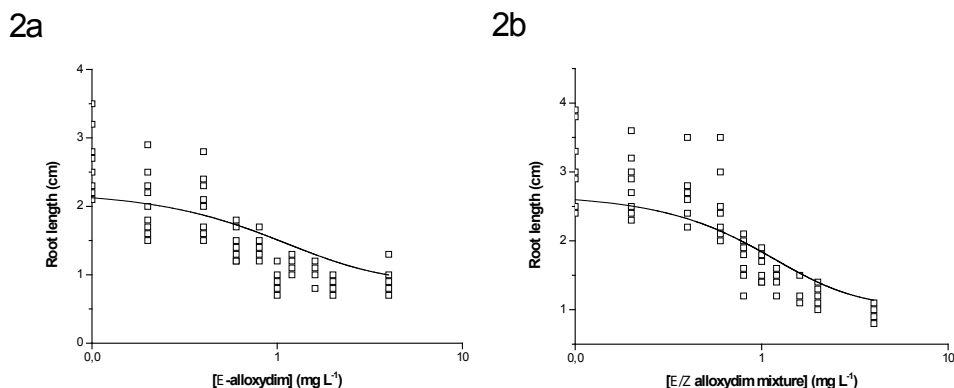


Figure 2. Dose-response curves for *E*-alloxydim (a) and *E/Z* alloxydim mixture (b) from seed germination bioassays for the root length of wheat.

The IC₅₀ values calculated from the coleoptile length were higher than those obtained from the root length, indicating that the roots of the wheat specie *Triticum aestivum* L. cv Castan were more sensitive to *E*-alloxydim and *E/Z* alloxydim mixture.

The log-logistic equations obtained from the experimental data are the following:

<i>E</i> -alloxydim	<i>E/Z</i> alloxydim mixture
$Y = 0,86 + \frac{2,93 - 0,86}{1 + e^{4,77 \cdot [\log(X) - \log(0,37)]}}$	$Y = 1,03 + \frac{3,09 - 1,03}{1 + e^{6,15 \cdot [\log(X) - \log(0,70)]}}$
$R^2 = 77.52$	$R^2 = 83.06$

The IC₅₀ values calculated from the root lengths of wheat for *E*-alloxydim and *E/Z* alloxydim mixture were 0.37 and 0.70 mg L⁻¹, respectively. The data indicate that *E/Z* alloxydim mixture exert less phytotoxic effect than *E*-alloxydim in the seed germination *T. aestivum* cv Castan. These findings suggest that the *Z* isomer of alloxydim in the isomeric mixture has no phytotoxic effect on the wheat germination, resulting in a minor effectiveness for the control of this cereal if the mixture of both isomers of alloxydim were formed in the field.

CONCLUSIONS

The isomerization of the marketed *E*-alloxydim in the field could lead to a reduction of the efficacy of this herbicide. Furthermore, the easy and rapid formation of the *Z*-isomer generates an increase of xenobiotics in the environment. This isomer has unknown impacts in the environment. Thus, further studies would be desirable to improve the knowledge of the fate of this herbicide.

REFERENCES

- BOXALL A (2009) *The handbook of environmental chemistry. Vol. XIV, Part 2P, Transformation products of synthetic chemicals in the environment.* Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- OSANO O, ADMIRAAL W, KLAMER HJC, PASTOR D & BLEEKER EAJ (2002) Comparative toxic and genotoxic effects of chloroacetanilides, formamidines and their degradation products on *Vibrio fischeri* and *Chironomus riparius*. *Environmental Pollution* 119, 195-202.
- SANDÍN-ESPAÑA P, SEVILLA-MORÁN B, CALVO L, MATEO-MIRANDA M & ALONSO-PRADOS JL (2013) Photochemical behavior of alloxydim herbicide in environmental waters. Structural elucidation and toxicity of degradation products. *Microchemical Journal* 106, 212-219.

SEEFELDT SS, JENSEN JE & PATRICK FUERST E (1995) Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. *Weed Technology* 9, 218-25.

SEVILLA-MORÁN B, SANDÍN-ESPAÑA P, VICENTE-ARANA MJ, ALONSO-PRADOS JL & GARCÍA-BAUDÍN JM (2008) Study of alloxydim photodegradation in the presence of natural substances: Elucidation of transformation products. *Journal of Photochemistry and Photobiology A* 198, 162-168.

OPCIONES DE MANEJO DE *PAPAVER RHOEAS* CON RESISTENCIA MÚLTIPLE A HERBICIDAS

Torra J.^{1*}, Royo-Esnal A.¹, Rey-Caballero J.¹, Recasens J.¹, Salas M.²

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

²DuPont de Nemours France SAS, 24 rue de Moulin,
68740 Nambsheim, France.

* joel@hbj.udl.cat

Resumen: Se han estudiado diferentes sistemas de GIMh en una población de *Papaver rhoeas* con resistencia múltiple a tribenurón-metil y 2,4-D. Se establecieron cuatro sistemas de GIMh, con dos tipos de labores del suelo (siembra directa o mínimo laboreo), que incluyen rotación con girasol, retraso de la fecha de siembra, o aplicaciones herbicidas en diferentes momentos. Las densidades de amapola fueron mayores en siembra directa que en mínimo laboreo. Los sistemas de GIMh más eficaces en el manejo de *P. rhoeas* fueron aquéllos con una rotación con girasol y aplicaciones tempranas de herbicidas (pre-emergencia y/o post-emergencia precoz). La eficacia del retraso de la fecha de siembra difirió entre campañas. En cereales de invierno, es posible el desarrollo de sistemas de GIMh para el control de poblaciones resistentes de *P. rhoeas* integrando herramientas químicas y culturales.

Palabras clave: Amapola, rotación de cultivo, gestión integrada de malas hierbas (GIMh), manejo del suelo, momento de aplicación.

Summary: Management options for *Papaver rhoeas* with multiple herbicide resistance. Different integrated weed management (IWM) systems have been studied in a multiple herbicide resistant *P. rhoeas* population to tribenuron-methyl and 2,4-D. Four systems were established with two types of soil management (direct drilling and minimum tillage), which included rotation with sunflower, sowing delay or different herbicide application timings. Corn poppy densities were higher during the experiment in direct drilling compared to minimum tillage. Most efficient IWM systems for *P. rhoeas* were those that included rotation with sunflower and early herbicide application timings (pre-emergence and/or early post-emergence). Sowing delay effectiveness depended on the growing season conditions. In winter cereals, the development of

IWM systems to manage herbicide resistant *P. rhoeas* populations is possible integrating chemical and cultural tools.

Keywords: Corn poppy, crop rotation, integrated weed management (IWM), soil management, application timing.

INTRODUCCIÓN

Papaver rhoeas L. (amapola) es una de las malas hierbas dicotiledóneas más problemáticas en los cereales de invierno de la Península Ibérica y del sur de Europa. Su capacidad persistencia e infestación se debe a su alta fecundidad, extenso periodo de emergencia, y larga viabilidad de sus semillas (Torra & Recasens, 2008). A su vez, desde hace unas décadas, han aparecido en la mitad norte peninsular (desde Castilla y León hasta Cataluña) biotipos resistentes a herbicidas inhibidores de la enzima ALS (Acetolactato sintetasa) y/o a las auxinas sintéticas. Se estima que un 40% de los campos con amapola tienen biotipos resistentes a estos herbicidas (CPRH, 2015). Por lo tanto, el desarrollo de estrategias de gestión integrada de malas hierbas (GIMh) para esta especie resulta imprescindible, especialmente ante la nueva Directiva Europea 2009/128/CE relativa al Uso Sostenible de Fitosanitarios, que tiene su transposición en España a través del Real Decreto 1311/2012. El presente Real Decreto tiene por objeto “establecer el marco de acción para conseguir un uso sostenible de los productos fitosanitarios mediante la reducción de los riesgos y los efectos del uso de los productos fitosanitarios en la salud humana y el medio ambiente, y el fomento de la gestión integrada de plagas y de planteamientos o técnicas alternativos, tales como los métodos no químicos”. Hay que añadir que la nueva Política Agraria Comunitaria 2015-2020 (Real Decreto 1075/2014) obliga a la diversificación de cultivos, es decir, a tener un mínimo de tres cultivos diferentes por explotación agraria de más de 30 ha. Por lo tanto, resulta necesario saber qué efectos pueden tener los diferentes métodos no químicos (rotaciones de cultivos, variación de la fecha de siembra, etc.) en la dinámica poblacional de *P. rhoeas* en los cereales de invierno. A su vez, el desarrollo de estrategias de GIMh será aún más necesario en el futuro ante la más que probable exclusión del registro (Anejo I) de algunos herbicidas ampliamente utilizados para el control de esta mala hierba.

Con este propósito se plantea el presente estudio cuyos objetivos son evaluar la eficacia de diferentes sistemas de GIMh en una población de *Papaver rhoeas* resistente a herbicidas durante dos campañas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

Se estableció un ensayo en un campo comercial de cereal de invierno durante dos campañas consecutivas (2013/14 y 2014/15) en la localidad de Cubells, provincia de Lleida.

Caracterización del biotipo de *P. rhoeas*

En junio de 2013 se cogieron semillas de al menos 50 plantas escogidas al azar realizando un transecto en zigzag en la parcela. Posteriormente, las semillas se pusieron a germinar juntamente con un estándar sensible (Herbiseed) en Placa de Petri con agar al 1,4% en cámara de germinación con 16 horas de luz durante dos semanas a 5/15°C. Se trasplantaron cinco plántulas por maceta (7x7x7 cm) rellena con una mezcla de turba, arena y perlita (4:3:3), de las cuales se dejaron finalmente tres. En el estadio de 5-6 hojas, las plantas del biotipo estudiado fueron tratadas con tribenuron-metil (Granstar 50 SX, DuPont, 50%) a 1200, 600, 150, 37,5, 18,7, 9,3, 4,6, 2,3 y 0 g m.a. ha⁻¹, y 2,4-D (Esteron 60, Dow AgroSciences, 60%) a 4800, 1200, 600, 300, 150, 75 y 0 g m.a. ha⁻¹. El biotipo sensible fue tratado a 18,7, 9,3, 4,6, 2,3, 1,1, 0,5, 0,25 y 0 g m.a. ha⁻¹ de tribenuron-metil, y 600, 300, 150, 75, 37,5, 18,7, 9,3 y 0 g m.a. ha⁻¹ de 2,4-D. Se incluyeron un total de cuatro repeticiones para cada dosis. Los herbicidas se aplicaron utilizando un pulverizador de precisión de mesa a 200 l ha⁻¹, a una presión de 215 kPa. Cuatro semanas después de los tratamientos, se recogió la parte aérea de las plantas y después de secar las muestras a 65 °C durante 48h, se estimó para cada biotipo el peso seco y el porcentaje de reducción de peso seco de las plantas tratadas respecto a los testigos no tratados.

Diseño experimental

Se consideraron cuatro sistemas de GIMh, todos con dos tipos de labores del suelo (siembra directa y mínimo laboreo) en un diseño en split-plot con tres repeticiones. Los sistemas de manejo incluían rotación de cultivos con girasol, retraso de la fecha de siembra, densidad de siembra o aplicaciones herbicidas en diferentes momentos. En el sistema 1 (Temprano) la primera campaña se sembró girasol cv. Express-Sun® (09/04); la segunda campaña se retrasó la fecha de siembra de la cebada (14/12 cv. Gustav y 13/12 cv. Graphic para mínimo laboreo y siembra directa, respectivamente) y se aplicó pendimetalina (3 l/ha) en pre-emergencia (17/12). En el sistema 2 (Tardío) la primera campaña se sembró el mismo girasol; la segunda campaña se retrasó la fecha de siembra de la cebada como en el sistema 1 y se aplicó una formulación experimental en post-emergencia (04/03). En el sistema 3 (Químico) la

primera campaña, sin variación en la fecha de siembra de la cebada cv. Meseta (25/11 y 9/11 para mínimo laboreo y siembra directa, respectivamente), se aplicó una formulación experimental en post-emergencia (05/03); la segunda campaña, sin variación en la fecha de siembra de la cebada cv. Meseta (16/11 para mínimo laboreo y siembra directa), se aplicó pendimetalina (3 l/ha) en pre-emergencia (17/11). En el sistema 4 (Cultural) se retrasó la fecha de siembra de la cebada cv. Gustav tanto en la primera campaña (27/12 para mínimo laboreo y siembra directa) como en la segunda campaña (como en el sistema 1); los dos años la densidad de siembra fue 25% superior a la normal (200 kg ha⁻¹ en el resto de sistemas).

Análisis estadístico

Los datos del experimento de dosis respuestas fueron analizados usando un modelo de regresión no lineal con el paquete drc (Knezevic et al., 2007) en el programa estadístico de código libre R (R Core Development Team 2012). La dosis de herbicida que causa el 50% de reducción de crecimiento en peso seco de las plantas (RC50) fue calculado usando una curva logística de cuatro de parámetros del tipo:

$$y = c + \frac{(d - c)}{1 + \text{EXP}[b(\log(x) - \log(\text{RC50}))]}$$

donde c es el límite inferior, d es el límite superior, b la pendiente en la RC50, y RC50 la dosis de herbicida para reducir el crecimiento un 50%. En esta ecuación, la dosis herbicida (g ha⁻¹) era la variable independiente (x) y el peso seco (porcentaje de reducción del control no tratado para cada población) era la variable dependiente (y). Posteriormente se calculó el factor de resistencia para los dos herbicidas como la proporción de las RC50 entre el biotipo resistente y el sensible.

Para el experimento de campo, cada campaña se realizaron dos conteos, uno en invierno antes de la primera aplicación en post-emergencia, y otro al final de la campaña. Los conteos se realizaron ubicando al azar cinco cuadrados de 0,1 m² en cada parcela elemental y se estimó la densidad en plantas m⁻²; en el último muestreo, realizado en floración de la mala hierba, se contaron todos los individuos de *P. rhoeas* presentes en cada parcela. Posteriormente se realizó un análisis de la varianza para cada fecha de muestreo con el programa estadístico Sigmaplot 11.0, considerando dos factores: tipo de manejo del suelo (dos niveles, mínimo laboreo y siembra directa) y el sistema de manejo (cuatro niveles, temprano, tardío, químico, cultural). Ante la significación de los factores, se realizó una separación de medias mediante el test de Tukey ($P < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del biotipo de *P. rhoeas*

El estudio de curvas dosis-respuesta confirmaron la presencia de una población de *P. rhoeas* con resistencia múltiple a tribenurón-metil y 2,4-D en la localidad estudiada (Tabla 1). La resistencia a sulfonilureas se puede considerar fuerte (FR=882) mientras que la resistencia al 2,4-D es moderada (FR=12).

Tabla 1. Efecto de los herbicidas tribenurón-metil y 2,4-D para dos poblaciones de *Papaver rhoeas*: RC50, b (pendiente), c (límite inferior), d (límite superior) (g ha⁻¹), suma de cuadrados de los residuos (Res SS) y factor de resistencia (RF) (media ± error estándar; n=4).

Población	RC50	b	c	d	Res SS	RF
2,4-D						
Cubells	794 ± 198	-0,9 ± 0,2	936 ± 17	636768 ± 3900	7236	12
Sensible	68,6 ± 10,2	-1,2 ± 0,16	429 ± 116	60328 ± 2616	23693	1
Tribenurón-metil						
Cubells	69,5 ± 23,1	-0,5 ± 0,1	1,90 ± 0,28	1957 ± 958	12858	882
Sensible	0,1 ± 0,0	-0,4 ± 0,1	0,09 ± 0,05	1897 ± 71	4894	1

Sistema de manejo GISh

Durante las dos campañas las densidades de amapola fueron significativamente menores en mínimo laboreo que en siembra directa, con densidades iniciales la primera campaña de 67 y 291 plantas m⁻², y la segunda 61 y 514 plantas m⁻², respectivamente. En la Figura 1 se puede apreciar la diferencia en los niveles de infestación entre una parcela con mínimo laboreo y una bajo siembra directa.

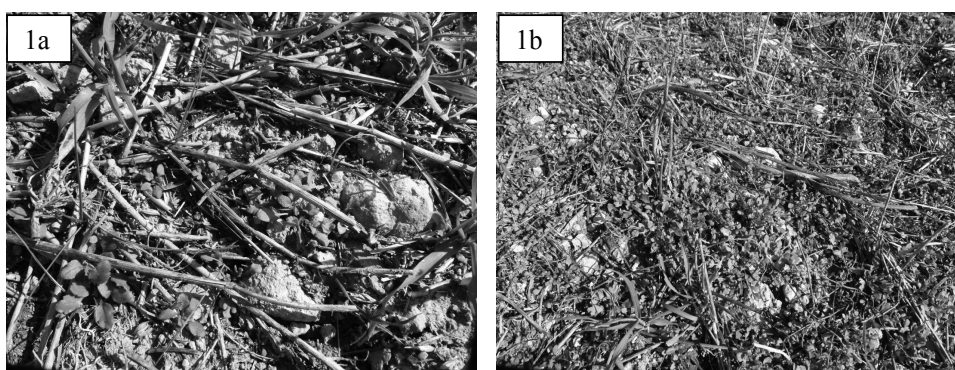


Figura 1. Niveles de infestación de *Papaver rhoeas* en el campo de cereal de invierno en Cubells (Lleida). 1a) Bajo mínimo laboreo; 1b) Bajo siembra directa.

Cabe considerar la posibilidad de que el banco de semillas inicial fuera más elevado en parcelas bajo siembra directa que en aquellas con mínimo laboreo a pesar de las tres repeticiones de las parcelas (Dorado & López-Fando, 2006). Dentro de un mismo manejo del suelo la infestación fue homogénea entre los diversos sistemas al no haber diferencias estadísticas (Tabla 2).

Los sistemas de GIMh que se mostraron más eficaces en el control de *P. rhoeas* fueron aquéllos que incluían una rotación con girasol y aplicaciones tempranas de herbicidas (pre-emergencia y/o post-emergencia precoz), tanto en mínimo laboreo como bajo siembra directa. Los sistemas más efectivos en la primera campaña fueron los sistemas Temprano y Tardío (con girasol el primer año), y en la segunda campaña lo fueron los sistemas Temprano y Químico (con pendimetalina en pre-emergencia) (Tabla 2). El girasol no se adaptó bien a la baja pluviometría de la zona, pero en zonas más húmedas, es una alternativa a considerar.

Tabla 2. Densidad de *Papaver rhoeas* (plantas m⁻²) durante dos campañas (2013-14 y 2014-15) en un campo de cereal de la localidad de Cubells (Lleida) con cuatro sistemas de manejo bajo dos tipos de labores del suelo (mínimo laboreo y siembra directa) en dos fechas (antes de los tratamientos de post-emergencia y al final de la campaña) (media ± ET; n=3).

Sistemas de manejo	2013-2014		2014-2015	
	13/02/2014	03/06/2014	03/12/2014	27/04/2015
Mínimo laboreo				
Sistema Temprano	74 ± 20 a	0 ± 0 a	27 ± 18 a	0 ± 0 a
Sistema Tardío	114 ± 34 a	0 ± 0 a	107 ± 65 a	0,3 ± 0 ab
Sistema Químico	51 ± 18 a	0,4 ± 0 a	3 ± 2 a	0 ± 0 a
Sistema Cultural	26 ± 18 a	0,7 ± 0 a	106 ± 53 a	0,8 ± 0 b
Siembra directa				
Sistema Temprano	493 ± 266 a	0,3 ± 0 a	355 ± 70 b	0,1 ± 0 a
Sistema Tardío	490 ± 277 a	0,2 ± 0 a	276 ± 70 a	0,4 ± 0 a
Sistema Químico	130 ± 53 a	1,3 ± 1 a	17 ± 12 a	0 ± 0 a
Sistema Cultural	49 ± 14 a	2,9 ± 1 b	1408 ± 242 c	1,3 ± 0 b
P	0,013	0,011	<0,001	n.s.

P representa la significación del factor manejo del suelo (P<0,05) sin considerar el sistema de manejo. Diferentes letras denotan diferencias estadísticamente significativas entre los sistemas con un mismo manejo del suelo mediante el test de Tukey.

Todos los sistemas, excepto el Cultural en siembra directa, han conseguido reducir o contener, la segunda campaña, la densidad inicial de

amapola. Hay que tener en cuenta que la segunda campaña en el sistema Químico se aplicó pendimetalina en pre-emergencia en noviembre. El sistema Cultural, sin control químico, no ha sido suficiente para contener la infestación de amapola. En este sistema, 2.9 plantas m⁻² al final de la primera campaña ha sido suficiente para incrementar notablemente, durante la segunda campaña, la densidad de *P. rhoeas*. El retraso de la fecha de siembra sólo se mostró más efectivo la segunda campaña, ya que en la primera, debido a la sequía durante el otoño, hubo pocas emergencias de *P. rhoeas* antes de la fecha retrasada de siembra. Estudios previos (Torra et al., 2011), mostraron, en cebada, la efectividad de un retraso de tres meses (hasta enero) de la fecha de siembra. Un menor retraso (mes y medio), como el establecido en este estudio, podría ser igualmente suficiente aunque dependerá de la climatología de la campaña. Este ensayo continuará una tercera campaña, y se espera ver a medio plazo el efecto de estos sistemas en el manejo de *P. rhoeas*.

CONCLUSIONES

La rotación con girasol, el retraso de la fecha de siembra y/o aplicaciones herbicidas tempranas son estrategias a considerar para el desarrollo de sistemas de GIMh para poblaciones de *P. rhoeas* con resistencia múltiple.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido financiado por la empresa DuPont de Nemours SA.

BIBLIOGRAFÍA

- BOE Nº 223 del 15 de septiembre de 2012. Real Decreto 1311/2012, de 14 de septiembre, por el que se establece el marco de actuación para conseguir un uso sostenible de los productos fitosanitarios.
- COMITÉ PARA LA PREVENCIÓN DE RESISTENCIAS A HERBICIDAS, C.P.R.H. (2015) http://www.semh.net/resistencia_herbicidas.html.
- DIRECTIVE 2009/128/CE. Directive for sustainable use of pesticides. *Official Journal of European Union* 2009; L309, 71-86.
- DORADO J & LÓPEZ-FANDO C (2006) The effect of tillage system and use of a paraplow on weed flora in a semiarid soil from central Spain. *Weed Research* 46, 424-431.

- KNEZEVIC SZ, STREIBIG JC & RITZ C (2007) Utilizing R software package for dose-response studies: The concept and data analysis. *Weed Technology* 21, 840-848.
- TORRA J & RECASENS J (2008) Demography of corn poppy (*Papaver rhoeas*) in relation to emergence time and crop competition. *Weed Science* 56, 826-833.
- TORRA J, ROYO-ESNAL A & RECASENS J (2011) Management of herbicide-resistant *Papaver rhoeas* in dry land cereal fields. *Agronomy for Sustainable Development* 31, 483-490.

VALIDACIÓN DE UN MÉTODO RÁPIDO PARA CONFIRMAR LA RESISTENCIA DE *LOLIUM PERENNE* A GLIFOSATO

Triviño M., Calha I.M.*

Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, IP (INIAV), Av. da República, 2784-505 Oeiras, Portugal.

* *isabel.calha@iniav.pt*

Resumen: En 2012 se confirmó la resistencia de *Lolium perenne* a glifosato en viñedos en Douro (Portugal). Se trató de validar con *L. perenne* un método rápido desarrollado para reducir el tiempo de obtención de resultados de resistencia, anteriormente validado para *Lolium rigidum* por Ballot et al. (2009). Se midió cada coleóptilo, tras una semana de incubación de las plántulas en placa ELISA conteniendo diferentes concentraciones de glifosato hasta 50e.a.L⁻¹. Se seleccionaron dos poblaciones confirmadas como resistentes en ensayos de planta entera. Las plántulas de *L. perenne* crecieron más rápido que en *L. rigidum*, siendo más sensibles a glifosato. El periodo de preincubación fue más corto y las concentraciones más bajas marcaron mayor diferencia entre las poblaciones R y S. Se obtuvo una alta correlación entre los métodos de planta entera y en placa ELISA ($R^2=0,77$).

Palabras clave: Resistencia a herbicida, viñedos, coleóptilo, placa ELISA, ballico.

Summary: *Validation of a quick method to confirm Lolium perenne resistance to glyphosate.* In 2012 glyphosate resistant *Lolium perenne* populations were confirmed in Douro vineyards (Portugal). This study intends to validate for *L. perenne* a quick test, to shorten the test duration for resistance confirmation, originally developed for *Lolium rigidum*. The method relies on measuring coleoptile length after a week incubation of seedlings in the wells of ELISA plates containing glyphosate concentrations until 50e.a.L⁻¹. Two populations already confirmed resistant with dose-response bioassays were selected for this validation. Seedlings growth of *L. perenne* was faster than *L. rigidum* and were more sensitive to glyphosate. The preincubation was shortened and the concentrations needed to discriminate between R and S populations were adapted to a narrower range in the lowest concentrations. High correlation ($R^2=0.77$) was found by the two methods: pot bioassay and ELISA plate.

Keywords: Herbicide resistance, vineyards, coleoptile, ELISA plate, perennial ryegrass.

INTRODUCCIÓN

Las prácticas de manejo de malas hierbas en viñedos se basan principalmente en la aplicación de herbicidas en la línea de las cepas y cubierta vegetal entrelíneas. En los viñedos de Douro (Norte de Portugal) existe una intensa presión de selección impuesta por el herbicida glifosato que se ha estado aplicando desde hace más de 15 años, a menudo más de una vez al año (Portugal et al., 2012). Las aplicaciones de herbicida redujeron la población de muchas malas hierbas anuales, lo cual favoreció la expansión de malas hierbas perennes (inversión floral) y también la selección de biotipos resistentes de especies que previamente eran susceptibles. En 2012 se confirmó la resistencia de *Lolium perenne* a glifosato en estos viñedos (Portugal et al., 2011). *Lolium perenne* (ballico perenne) es una planta perenne longeva, cespitosa, nativa de Europa. Está clasificado como hierba que forma macollas, se propaga principalmente por semilla y presenta polinización alógama cruzada anemófila (Kloot, 1983). Se han llevado a cabo bioensayos de dosis-respuesta con glifosato para confirmar resistencia en poblaciones de *L. perenne* con planta entera (Calha et al., 2013). Para reducir el tiempo de obtención de resultados resistencia a herbicidas, se han desarrollado métodos rápidos con semillas, plántulas y clones (Moss, 2000; Cirujeda et al., 2001; Nadler-Hassar & Rubin, 2003; Boutsalis, 2004; Barroso et al., 2010; Kaundun et al., 2011).

El objetivo de este trabajo es: Validar con *Lolium perenne* un método rápido para reducir el tiempo de obtención de resultados de resistencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron tres poblaciones de *L. perenne*, dos resistentes a glifosato (P02 y P11) y una susceptible de referencia (PVIC) para ensayos de dosis-respuesta en maceta (Perez-Jones & Kogan, 2003) y placa ELISA (Ballot et al., 2009).

Experimento dosis-respuesta con planta entera

El herbicida glifosato (RoundUp Extra 360 g s.a.L⁻¹, SL, Bayer) fue aplicado en plantas de distintas poblaciones con 2 a 3 hojas (BBCH 12-13) en una escala logarítmica (0; 62,5; 125; 250; 500; 1000 y 2000 g e.a. ha⁻¹) con un OPS (*Oxford Precision System*) calibrado para aplicar 169 L ha⁻¹ de herbicida (275 kPa) (Perez-Jones & Kogan, 2003). Las plantas

fueron cortadas a ras de suelo y se anotó el peso verde y el porcentaje de supervivencia 21 días después de la aplicación (DDA).

Método rápido en placa ELISA

El método seguido fue la medición de la longitud del coleóptilo, tras una semana de incubación de las plántulas en placa ELISA, conteniendo diferentes concentraciones de glifosato (0; 0,39; 0,78; 1,6; 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50 e.a.L⁻¹). Se seleccionaron para este experimento dos poblaciones confirmadas como resistentes en ensayos de planta entera.

Análisis estadístico

Se ajustó un modelo de regresión no lineal de tipo logístico (Knezevic et al., 2007).

$$y = f(x) = c + \frac{d - c}{(1 + (x / ED_{50})^b)}$$

En la expresión y corresponde al peso verde (g) o a la longitud del coleóptilo (mm); x a la dosis (e.a. ha⁻¹) o concentración (e.a. L⁻¹); d y c corresponden a las asíntotas superior e inferior de la curva dosis-respuesta respectivamente; b al declive de la curva obtenido al nivel del punto inflexión con valor de la dosis o concentración causante de un 50% de daño (ED₅₀ o EC₅₀). Los valores ED₅₀ (EC₅₀) para cada población se obtuvieron a partir de las curvas dosis respuesta representadas en los dos tipos de ensayo, así como el cálculo del respectivo factor de resistencia. ED₅₀ (EC₅₀) es la dosis (o concentración) de herbicida que causa el 50 % de reducción del crecimiento de las plantas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento dosis-respuesta con planta entera

Las poblaciones resistentes de *L. perenne* (P02 y P11) presentaron una reducción gradual del peso verde con respecto al aumento de la dosis de glifosato. De las poblaciones P02 y P11 se registraron, sin diferencias significativas entre sí, un peso verde significativamente superior al de PVIC para cada una de las dosis. Fue posible ajustar un modelo no lineal de tipo logístico en todas las poblaciones (Figura 1) y se obtuvieron los valores de ED₅₀ de 2,55 x 10³; 1,84 x 10³ g e.a. ha⁻¹ y unos Factores de Resistencia (FR método rápido = EC₅₀R/EC₅₀S; FR experimento con planta entera ED₅₀R/ED₅₀S) de 13,7 y 8,1 para P02 y P11 respectivamente (Tabla 1). Estos datos permitieron confirmar que se trata de poblaciones resistentes a glifosato.

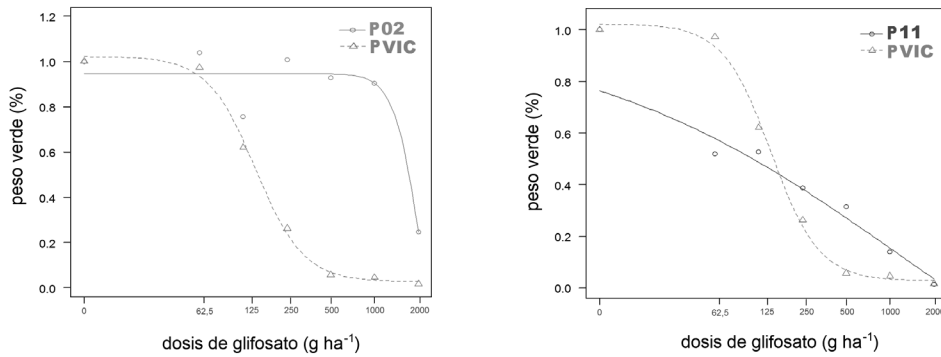


Figura 1. Curvas de dosis-respuesta a glifosato para las poblaciones P02 e P11 de *L. perenne*. Ensayo en maceta con planta entera.

Método rápido en placa ELISA

Todas las poblaciones presentaron una reducción gradual de la longitud de los coleóptilos con respecto al aumento de la concentración de glifosato (Figura 2). Se ajustó un modelo lineal tipo logístico en todas las poblaciones y se obtuvieron valores de EC_{50} de 0,43; 5,96 y 2,65 g e.a.L⁻¹ para PVIC, P02 y P11 respectivamente. Los valores de FR fueron similares a los encontrados para cada población en el ensayo con planta entera (Tabla 1) correspondiendo a una elevada correlación entre los dos métodos ($R^2=77\%$) como se demuestra en la Figura 3.

Tabla 1. Correlación entre los métodos con planta entera y en placa ELISA.

Población	FR	FR
	método rápido	experimento con planta entera
PVIC	-	-
P02	13,72	13,70
P11	6,05	8,10

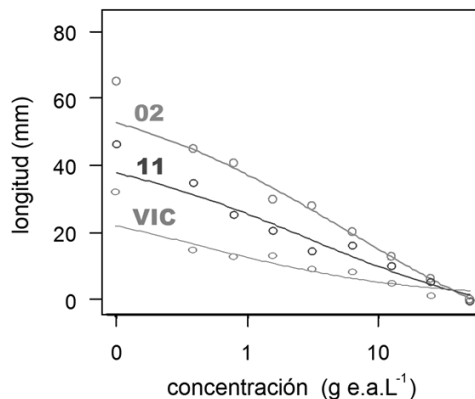


Figura 2. Curvas de dosis-respuesta a glifosato para las poblaciones P02, P11 y VIC de *L. perenne*. Método rápido en placa ELISA.

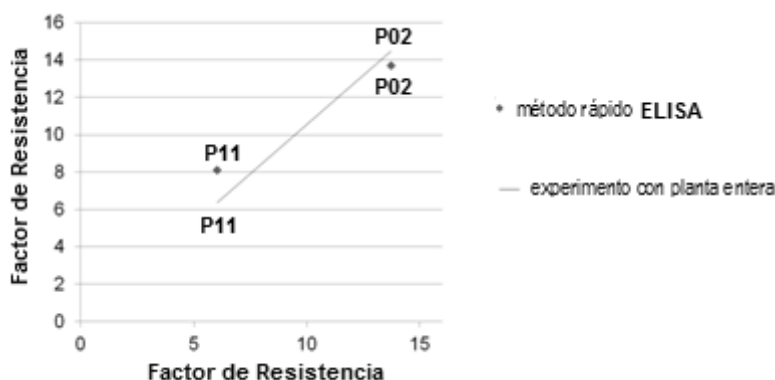


Figura 3. Correlación entre los métodos con planta entera y en placa ELISA.

CONCLUSIONES

La duración do método rápido (placa ELISA) con *Lolium perenne* fue de 10 días, revelando elevada sensibilidad al herbicida. Por ello, el periodo de preincubación en glifosato fue de solo dos días y la concentración discriminadora de 0,39 e.a. L⁻¹ marcaba mayor diferencia entre las poblaciones R y S. Se obtuvo una alta correlación de los métodos con planta entera y placa ELISA ($R^2=0,77$) para confirmar la resistencia a glifosato. Concluimos así que este método permite reducir significativamente el tiempo de respuesta respecto a los ensayos de dosis-respuesta en estufa de 90 a apenas 10 días.

AGRADECIMIENTOS

Marina Triviño becada con Quercus VI - Programa Leonardo da Vinci (FUNDECYT, España).

BIBLIOGRAFÍA

- BALLOT R, DESCHOMETS G & GAUVRIT C (2009) *A quick test of glyphosate resistance in ray-grass*. AFPP - XIIIème Colloque International sur la Biologie des Mauvaises Herbes - Dijon, France, 331-338.
- BARROSO J, LOUREIRO I, ESCORIAL MC & CHUECA MC (2010) The response of *Bromus diandrus* and *Lolium rigidum* to dalapon and glyphosate I: baseline sensitivity. *Weed Research* 50, 312-319.

- BOUTSALIS P (2004) *The herbicide resistance quick test is back*. In V. Stewart (ed.) Department of Agriculture Western Australia e-weed 5, No. 4: 14-19.
- CALHA IM, PORTUGAL J, GONZALEZ-TORRALBA F, ROLDAN R & DE-PRADO R (2013) Management of *Lolium perenne* resistant to glyphosate. *Proc 20th Symp EWRS*: 238. 24-28 SanSun, Turquía.
- CIRUJEDA A, RECASENS J & TABERNER A (2001) A qualitative quick-test for detection of herbicide resistance to tribenuron in *Papaver rhoeas*. *Weed Research* 41, 523-534.
- KAUNDUN SS, HUTCHINGS SJ, DALE RP, BAILLY GC & GLANFIELD P (2011). Syngenta 'RISQ' test: a novel in-season method for detecting resistance to post-emergence ACCase and ALS inhibitor herbicides in grass weeds. *Weed Research* 51, 284-293.
- KLOOT PM (1983) The genus *Lolium* in Australia. *Australian Journal of Botany* 31, 421-435.
- KNEZEVIC SZ, STREIBIG JC & RITZ C (2007) Utilizing R software package for dose-response studies: the concept and data analysis. *Weed Technology* 21, 840-848.
- MOSS (2000) *WSSA Annual Meeting*, 40, Abstract 102, Toronto, Canadá.
- NADLER-HASSAR T & RUBIN B (2003) Natural tolerance of *Cuscuta campestris* to herbicides inhibiting amino acid biosynthesis. *Weed Research* 43, 341-347.
- PEREZ A & KOGAN M (2003) Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. *Weed Research* 43, 12-19.
- PORTUGAL J, CALHA IM, GONZALEZ-TORRALVA F & ROLDAN R (2012) Resistência ao glifosato em vinhas do douro. *9^o Simp. Vitivinic. Alentejo*, 139-148 ATEVA.15-17 Maio, Évora.

VALORACIÓN DEL CONTROL DE MALAS HIERBAS MEDIANTE APLICACIÓN FOLIAR DE QUINATO

Zulet-González A., Zulet A., Gil-Monreal M., Fernández-Escalada M., Zabalza A., Royuela M.*

Universidad Pública de Navarra,
Campus Arrosadía s/n, 31006 Pamplona.

* royuela@unavarra.es

Resumen: En estudios previos se detectó una importante acumulación de quinato en la parte aérea de las plantas tratadas con herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos, lo que podría explicar su capacidad de inducir la respuesta tóxica. También se evaluó el potencial efecto fitotóxico en función del modo de aplicación exógena, que fue superior tras aplicaciones radicales que foliares. En este trabajo se planteó valorar la utilización del quinato, pulverizado exógenamente, para el control del crecimiento de ciertas malas hierbas. Se realizaron aplicaciones foliares de quinato mediante pulverización en post-emergencia sobre plantas en diferentes estados fenológicos de *Sinapis alba*, *Papaver rhoeas*, *Lolium rigidum*, *Bromus diandrus* y *Cynodon dactylon*. Los resultados muestran que dicho compuesto presentó un mayor control y un efecto fitotóxico más evidente en las especies dicotiledóneas que en las monocotiledóneas, siendo *P. rhoeas* la única especie susceptible de ser controlada en sus estadios iniciales con este compuesto. En *S. alba* únicamente se produjo una reducción temporal del crecimiento sin llegar a ser letal.

Palabras clave: *Sinapis alba*, *Papaver rhoeas*, *Lolium rigidum*, *Bromus diandrus*, *Cynodon dactylon*.

Summary: Assessment of weed control via foliar application of quinate. In previous studies quinate was accumulated in leaves of plants treated with amino acid biosynthesis inhibiting herbicides, which begged the question of whether quinate have the capacity of inducing the toxic effects of the herbicides. The phytotoxic effects of exogenous application were more evident when quinate was applied to the nutrient solution than when it was sprayed onto the foliage. The objective of this study was to evaluate whether sprayed quinate could control the growth of some weed species. This was evaluated by spraying quinate to the leaves of plants of *Sinapis alba*, *Papaver rhoeas*, *Lolium rigidum*, *Bromus diandrus* and *Cynodon dactylon* at different phenological states in

postemergence. Exogenous application of quinate was more phytotoxic on dicotyledonous species than monocotyledonous species. *Papaver rhoeas* was the only species tested that would be potentially affected and controlled with the application of quinate, specifically in the initial states of plant development. Growth of *S. alba* was only temporally arrested after quinate application, but the treatment was not lethal.

Keywords *Sinapis alba*, *Papaver rhoeas*, *Lolium rigidum*, *Bromus diandrus*, *Cynodon dactylon*.

INTRODUCCIÓN

A pesar de que la aplicación de herbicidas es una práctica útil y eficaz en el control de malas hierbas, el uso indiscriminado y repetido de herbicidas de síntesis con el mismo mecanismo de acción ha generado diversos problemas, relacionados con la aparición de malas hierbas resistentes y la acumulación de residuos herbicidas en el suelo y aguas superficiales y subterráneas.

Como alternativa a la aplicación de los herbicidas convencionales de síntesis está el empleo de compuestos naturales, compuestos que serían no residuales al tener mayor probabilidad de ser degradados biológicamente, aspecto muy importante desde el punto de vista medioambiental, además de presentar distinto mecanismo de acción.

En estudios previos se detectó una importante acumulación de quinato tras la aplicación de dos tipos de herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos (Orcaray et al., 2010). La acumulación de quinato, compuesto sintetizado en una ramificación de la ruta del siquimato, como efecto común de diferentes tipos de herbicidas permitió plantear su potencial carácter fitotóxico. El estudio de la posible letalidad provocada por el quinato (dentro de la tendencia actual de buscar nuevos ingredientes activos a partir de compuestos naturales) mostró que en guisante la aplicación exógena de este compuesto a través de la solución nutritiva es letal y más fitotóxica que su aplicación foliar (Zulet et al., 2013). Sin embargo, al tratarse de un compuesto natural su persistencia en suelo es baja, lo que obligaría a una utilización práctica mediante aplicación foliar en postemergencia.

El objetivo del presente trabajo es seguir profundizando en la utilización del quinato en el control de malas hierbas valorando si la pulverización de forma exógena con quinato controla el crecimiento de las diversas malas hierbas (dos dicotiledóneas y tres monocotiledóneas) y si resulta letal para las mismas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se evaluó el efecto del quinato sobre diversas especies de malas hierbas a diferentes dosis, entre 50 y 400 mM. Se utilizaron dos dicotiledóneas: *Sinapis alba* L. y *Papaver rhoeas* L. y tres monocotiledóneas *Lolium rigidum* Gaudin, *Bromus diandrus* Roth y *Cynodon dactylon* (L.) Pers. Se realizaron aplicaciones foliares de quinato mediante pulverización en post-emergencia sobre plantas crecidas en invernadero y se evaluó posteriormente el crecimiento (peso fresco y peso seco de las plantas) así como los efectos visuales a diferentes tiempos desde la aplicación.

La siembra de las semillas de *S. alba*, *P. rhoeas*, *L. rigidum* y *C. dactylon* se realizó distribuyéndolas al azar por toda la parcela elemental. En este ensayo se utilizaron bandejas de plástico de dimensiones de 50 × 35 × 7cm (superficie 0,125 m²) que contenían una mezcla de perlita y turba fertilizada en relación 1:1. La germinación de *B. diandrus* se realizó en placas de agar y posteriormente se transplantaron las plántulas a las bandejas.

La aplicación foliar del quinato se realizó con un aerógrafo (Mod. Defi-nik; Sagola) conectado a un compresor. El quinato (Aldrich) fue aplicado foliarmente a unas dosis de 50, 100, 200 y 400 mM (9,6; 19,2; 38,4 y 76,8 g L⁻¹) disolviéndolo en agua con un surfactante alquiléter sulfato sódico (Biopower al 27,65% p/v, Bayer CropScience) al 5,4% v/v. Cada bandeja fue dividida en dos. Una mitad se pulverizó con la solución de quinato (20 mL) y la otra mitad se utilizó como control (únicamente se les aplicó Biopower). Una vez obtenido el caldo a aplicar, se ajustó el pH a 6-6,5 con NaOH para aplicar los tratamientos a pH controlado. La aplicación de todos los tratamientos fue a través de las hojas de las plantas cuando éstas alcanzaban un estado fenológico determinado.

Se realizó una comparación de medias según la t de Student ($p < 0,05$) para muestras independientes, comparándose los tratamientos control y quinato para cada especie y cada concentración. Como los resultados estaban expresados en porcentajes se realizó la conversión $\text{arcoseno}(x/100)^{1/2}$ previa al análisis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la dicotiledónea *S. alba*, las plantas tratadas con quinato fueron afectadas de manera temporal. La reducción del crecimiento fue transitoria, dando una inhibición significativa de la biomasa a los 21 días de evaluación (Tabla 1 y Figura 1a) aunque después se recuperaban parcialmente. Los bordes de las hojas se presentaban quemados por la acción del compuesto (Figura 1b).

Tabla 1. Efecto de la pulverización de quinato sobre *S. alba* (media±SE; n=3-6). * indica diferencias significativas entre plantas control y tratadas con quinato en el momento del muestreo.

Estado fenológico al tratar	Muestreo (días)	Dosis quinato (mM)	g PF /m ² (% del control)	g PS /m ² (% del control)
2 hojas	7	400	89,3 ± 4,2	88,1 ± 7,9
	21	400	84,1 ± 3,7 *	85,5 ± 4,9*

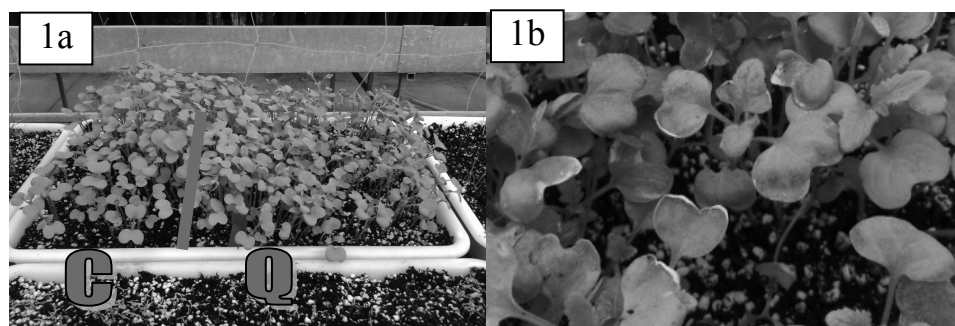


Figura 1. Estado de las plantas de *S. alba*. 1a) estado a los 21 días tras el tratamiento: C=control; Q=quinato; 1b) estado a los 2 días del tratamiento: detalle de los bordes de las hojas afectados por el quinato.

En la dicotiledónea *P. rhoeas* (Tabla 2), se pudo observar que, con la misma concentración que se aplicaba al resto de las especies, 400 mM, el daño producido en las plántulas era total. La muerte de las plántulas fue muy rápida y se hacía evidente a las 24 horas desde la aplicación con quinato. En el caso de esta especie se evaluaron diferentes concentraciones del compuesto, para ver cuál era la menor que podría seguir manteniendo un control significativo sobre ellas. Aunque las concentraciones más bajas estudiadas (50 y 100mM) sí que producían una reducción del crecimiento de las plántulas, no se producía la letalidad observada con las concentraciones más altas (200 y 400mM) (Tabla 2 y Figura 2). Los mayores efectos se consiguieron con la dosis más alta de 400 mM.

Tabla 2. Efecto de la pulverización de quinato sobre *P. rhoeas* (media±SE; n=3-6). * indica diferencias significativas entre plantas control y tratadas con quinato en el momento del muestreo.

Estado fenológico al tratar	Muestreo (días)	Dosis quinato (mM)	g PF/m ² (% del control)	g PS/m ² (% del control)
cotiledones	21	400	6,7 ± 2,3*	5,9 ± 2*
	21	50	49,3 ± 6,9	46,4 ± 9,9
2 hojas	21	100	33,7 ± 8,9	31,2 ± 4,6
	21	200	52,9 ± 23,9	49,7 ± 21,5
	21	400	21,7 ± 11,3 *	26,7 ± 10,9 *
	21	200	12,1 ± 5,4 *	16,2 ± 6,5 *
4 hojas	21	400	12,5 ± 4,4 *	12,3 ± 4,0 *

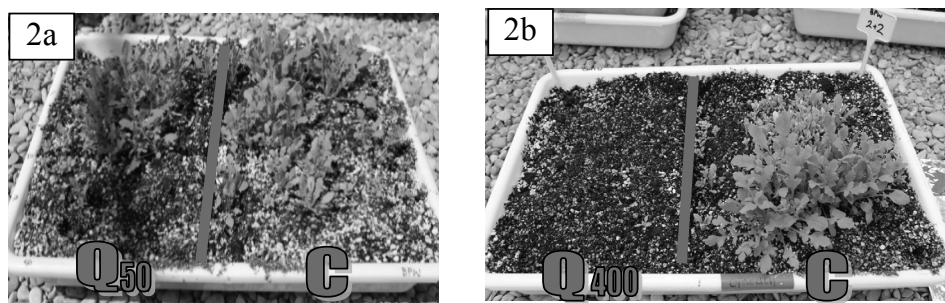


Figura 2. Estado de las plantas de *P. rhoeas* tratadas en estado fenológico de 2 hojas a los 21 días. 2a) Q₅₀=50 mM quinato; C= control. 2b) Q₄₀₀=400 mM quinato; C= control.

En *L. rigidum* (Tabla 3 y Figura 3a) tampoco pudieron observarse efectos visuales claros tras la aplicación de quinato. Se realizaron dos tipos de ensayo, uno en el que el muestreo se realizaba a los 7 días y otro en el que se realizaba a los 21 días, y el único efecto significativo se pudo observar en la evaluación a los 21 días del tratamiento, con un 25% de reducción del mismo. Los experimentos realizados con *B. diandrus* (Tabla 3 y Figura 3b), no resultaron muy significativos ni concluyentes ya que tras realizar la aplicación las plántulas quedaban tumbadas sobre la superficie del sustrato, sin vigor (Figura 3b). Dentro de la limitación de los resultados obtenidos, la aplicación de quinato no resulta fitotóxica para esta mala hierba. La aplicación de quinato no provocó ningún efecto fitotóxico sobre las plantas de *C. dactylon* (Tabla 3 y Figura 3c).

Tabla 3. Efecto de la pulverización de quinato sobre *L. rigidum*, *B. diandrus* y *C. dactylon*. (media±SE; n=4-6). * indica diferencias significativas (dentro de la misma especie) entre plantas control y tratadas con quinato en el momento del muestreo.

Especie	Altura de la planta al tratar (cm)	Muestreo (días)	Dosis quinato (mM)	g PF/m ² (% del control)	g PS/m ² (% del control)
<i>L. rigidum</i>	10	7	400	86,4 ± 3,2	94,5 ± 5,2
		21	400	78,7 ± 6,5 *	75,4 ± 4,7 *
<i>B. diandrus</i>	6-8	21	400	82,1 ± 22,2	71,7 ± 16,4
<i>C. dactylon</i>	5	21	400	103,2 ± 24,1	115,9 ± 37,3

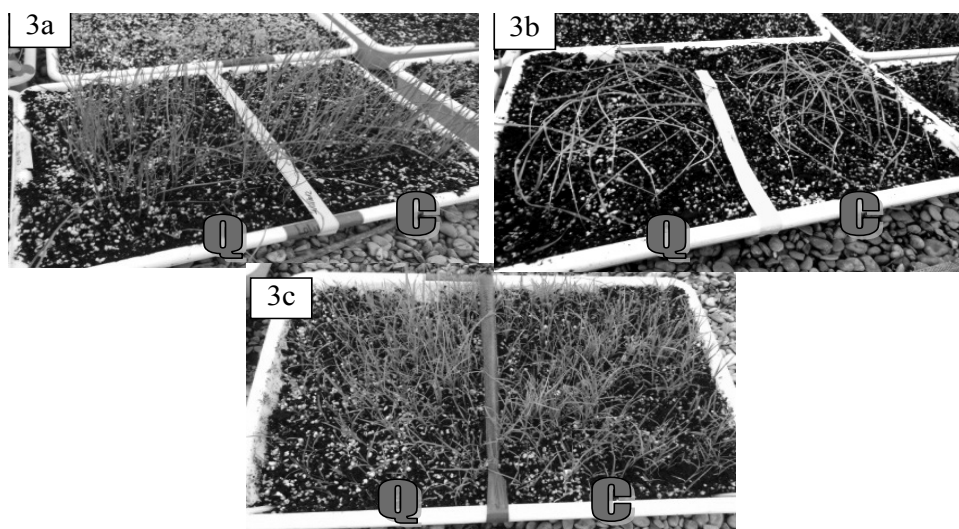


Figura 3. Estado de las plantas a los 21 días de la pulverización de Q= 400 mM quinato, C=control. 3a) *L. rigidum*; 3b) *B. diandrus*; 3c) *C. dactylon*.

CONCLUSIONES

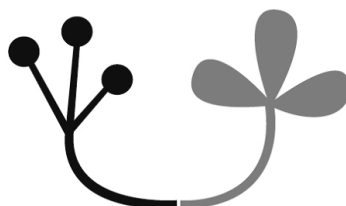
La aplicación foliar de quinato produjo un efecto fitotóxico y un control más evidente en las especies dicotiledóneas que en las monocotiledóneas evaluadas. El quinato produjo una reducción temporal del crecimiento de plantas de *S. alba*, seguido de una recuperación parcial. *P. rhoeas* fue la única especie que podría llegar a controlarse con quinato, ya que este compuesto produjo una letalidad completa tras aplicaciones de quinato 400 mM sobre plántulas en todos los estadios evaluados y una importante reducción del crecimiento (50-90%) tras aplicaciones de 200 mM sobre plantas con 2 o 4 hojas. Ninguna de las tres especies monocotiledóneas evaluadas *L. rigidum*, *B. diandrus* y *C. dactylon* se vio afectada significativamente por el tratamiento con quinato.

AGRADECIMIENTOS

Financiación: MINECO AGL-2013-40567-R. Zulet, Gil-Monreal y Fernández-Escalada han contado con una beca predoctoral de la Universidad Pública de Navarra y Zulet-González con una beca SEMh-2014.

BIBLIOGRAFÍA

- ORCARAY L, IGAL M, MARINO D., ZABALZA A & ROYUELA M. (2010) The possible role of quinate in the mode of action of glyphosate and acetolactate synthase inhibitors. *Pest Management Science* 66, 262-269.
- ZULET A, ZABALZA A & ROYUELA M. (2013) Phytotoxic and metabolic effects of exogenous quinate on *Pisum sativum* L. *Journal of Plant Growth Regulation* 3, 779-788.



XV CONGRESO DE MALHERBOLOGÍA

SEMH 2015

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica

NUEVAS TECNOLOGÍAS

RECONSTRUCCIÓN 3D DE MALAS HIERBAS UTILIZANDO CÁMARAS DE PROFUNDIDAD

Andújar D.^{1*}, Ribeiro A.¹, Bengoechea J.M.¹, San-Martín C.²,
Fernández-Quintanilla C.², Dorado J.²

¹Centro de Automática y Robótica (CSIC),
28500 Arganda del Rey, Madrid, España.

²Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), Serrano 115B,
28006 Madrid, España.

* dionisioandujar@hotmail.com

Resumen: El objetivo de este estudio fue optimizar el ángulo de posicionamiento del sensor Kinect para la reconstrucción de la estructura tridimensional de *Xanthium strumarium* L., *Datura stramonium* L. y *Chenopodium album* L., utilizando para ello algoritmos que permiten la captura y combinación de imágenes de profundidad y RGB. Se han comparado diferentes ángulos, fijando en cada uno de ellos el sensor Kinect de forma estática respecto de la planta objetivo. Los resultados han confirmado la correlación entre la biomasa de malas hierbas y el área estimada con el sensor. La estimación de la altura de las plantas también fue adecuada, con una media de 2cm de error dependiendo de la posición del sensor. Sin embargo, aunque el sensor ha mostrado su capacidad para la creación de modelos tridimensionales, el adecuado posicionamiento del sensor es fundamental para la correcta reconstrucción de plantas. La posición ideal del sensor debe ser elegida de acuerdo a la especie a medir y su estado fenológico. Estos resultados sugieren que Kinect es una herramienta útil para caracterizar de forma rápida y fiable las malas hierbas, con importantes ventajas sobre otros sensores debido a su bajo coste, bajo requerimiento energético y alta frecuencia de transmisión de imágenes.

Palabras clave: Kinect, agricultura de precisión, sensores.

Summary: 3D reconstruction of weeds using depth cameras. The objective of this study was to optimize the positioning angle of a Kinect sensor for reconstructing the three dimensional structure of weeds, using Kinect fusion algorithms to generate a 3D point cloud from the depth video stream. The sensor was mounted in different positions facing the plant in order to obtain depth (RGB-D) images from different angles. The results confirmed the correlation between ground truth (e.g. weed biomass) and the measured area with Kinect. In addition, plant height was accurately

estimated with a few centimeters error. However, although the Kinect sensor has shown its ability for plant reconstruction, proper positioning of the sensor is critical for correct reconstruction of plants. The best position of the sensor must be chosen according to the species to be measured and their growth stage. These results suggest that Kinect is a promising tool for a rapid and reliable weed characterization, with several important advantages such as low cost, low power requirement and a high frame rate.

Keywords: Kinect, angle of view, plant structure characterization.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de caracterización geométrica de plantas pueden ser utilizados por sistemas específicos para manejar de forma más eficiente los insumos en las explotaciones agrícolas. Por ejemplo, existen numerosas técnicas para adquirir información con la que generar modelos 3D de plantas, los cuales pueden utilizarse para una aplicación diferenciada de productos fitosanitarios. Entre estas técnicas pueden citarse sistemas que utilizan sensores radar (Bongers, 2001), rayos (Stuppy et al., 2003), resonancia magnética, imagen digital, ultrasonidos (Andújar et al., 2011), láser (Méndez et al., 2014), visión estereoscópica (Andersen et al., 2005), etc. Actualmente, una propuesta novedosa consiste en utilizar cámaras de profundidad. Quienes defienden el empleo de este tipo de cámaras, lo justifican por su bajo coste de adquisición y sus grandes posibilidades de uso (Dal Mutto et al., 2012). Entre los sistemas más conocidos se encuentran Asus Xtion™ o Microsoft Kinect™ (Microsoft, Redmond, USA), dos sistemas capaces de adquirir nubes de puntos de una forma rápida y con información asociada del espectro RGB. Estas cámaras proporcionan una imagen con información de profundidad en cada píxel, asignando un valor entre 1 y 4000 para representar el valor en milímetros de la distancia hasta el primer objeto que detecta la cámara. Una de las aplicaciones de este tipo de cámaras en agricultura es el fenotipado de plantas (*plant phenotyping*), es decir, definir las características físicas de las plantas, especialmente aquellas características que se pueden detectar, pudiendo así relacionar la genética con la ecofisiología vegetal y la agricultura. Existen varios antecedentes en este sentido: Chen et al. (2012), utilizando un sensor Kinect consiguieron construir modelos de plantas de maíz, reconstruyendo su estructura y calculando parámetros como el índice de área foliar (LAI) y el ángulo de distribución de hojas (LAD). Chéné et al. (2012) identificaron con éxito la forma de hojas, mejorando los resultados obtenidos con una cámara RGB.

El objetivo principal del presente trabajo consistió en valorar las posibilidades de uso de cámaras tipo Kinect para la reconstrucción de malas hierbas en estado temprano de desarrollo, contrastando diferentes ángulos de visión del sensor para la obtención de modelos digitales.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se utilizó un sensor Kinect para Windows v1 (Microsoft Corporation) instalado en una estructura fija que permitía modificar el ángulo de visión de la cámara respecto a la planta objetivo. Kinect está integrado por una cámara RGB, un sensor de profundidad y un procesador interno con software que permite la captura de nubes de puntos en 3D. La cámara cuenta con dos tipos de resolución gráfica (320×240 y 640×480 píxeles) a una frecuencia de actualización de 30 fps (*frames per second*). Cada una de las lecturas tiene un campo de visión horizontal y vertical de 57 y 43 grados respectivamente con una profundidad de visión de hasta 4 m. Para detectar la profundidad, Kinect utiliza un emisor IR (infrarrojo) para la creación de una nube de puntos. Es decir, Kinect calcula la distancia entre cada punto y el sensor. Para las lecturas fue necesario el SDK (Software de Desarrollo de Kinect) de Kinect desarrolladores, que permite acceso al código y las herramientas para realizar aplicaciones en entornos Windows.

Las medidas se realizaron en laboratorio bajo condiciones controladas de iluminación debido a las interferencias de alta iluminación sobre el sensor IR de Kinect. El propósito de las mediciones fue evaluar la precisión de los modelos 3D obtenidos con plántulas de malas hierbas desde un ángulo fijo, utilizando para ello una cámara de profundidad. Debemos tener en cuenta que la identificación de malas hierbas tiene una particularidad debida a la ventana de tiempo existente entre su detección y el posterior tratamiento dirigido a su control. Es decir, se necesita un rápido procesamiento de la información. Sin embargo, la obtención de modelos tridimensionales completos desde múltiples ángulos es técnicamente costosa dada la elevada resolución espacial y, consecuentemente, el gran requerimiento en la velocidad de procesamiento. En este sentido, el ángulo de visión (i.e. el posicionamiento del sensor sobre una plataforma móvil) se convierte en un parámetro fundamental a la hora de crear el mejor modelo de las plántulas objetivo.

Las medidas se hicieron en 10 plantas de *Xanthium strumarium* L., *Datura stramonium* L. y *Chenopodium album* L. modelizadas en un estado fenológico BBCH 11 a 15 susceptible de recibir un tratamiento herbicida (Hess et al., 1997). Las medidas fueron tomadas a 0,8 m de distancia entre la planta y el sensor desde diferentes ángulos: visión cenital (0°), lateral (45°) y frontal (90°) (Figura 1). Para ello, cada planta se colocó en una plataforma giratoria, realizándose un giro completo de la planta, manteniendo el sensor colocado en cada uno de los ángulos citados sobre la estructura de fijación. Las medidas se tomaron durante un tiempo de 10 segundos en cada una de las posiciones, utilizando el software Skanect® que permite la fusión de las nubes de puntos proporcionadas por el sensor, mediante el acceso al SDK. La verdad terreno para validar

los diferentes modelos 3D consistió en las medidas de biomasa y altura reales de las plantas, calculando el grado de acuerdo entre valores reales y valores estimados con el sensor.

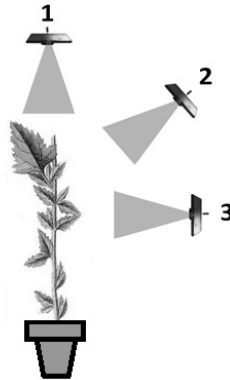


Figura 1. Posicionamiento esquemático del sensor: 1) visión cenital (0°); 2) visión lateral (45°); y 3) visión frontal (90°).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados mostraron que este tipo de cámaras permite una reconstrucción rápida en pocos segundos y fiable de las plantas. La precisión del sistema mejoró sustancialmente en estados fenológicos más avanzados. Por ejemplo, las malas hierbas con una altura de 8-11 cm fueron correctamente reconstruidas, pudiéndose reconocer su estructura básica (Figura 2).

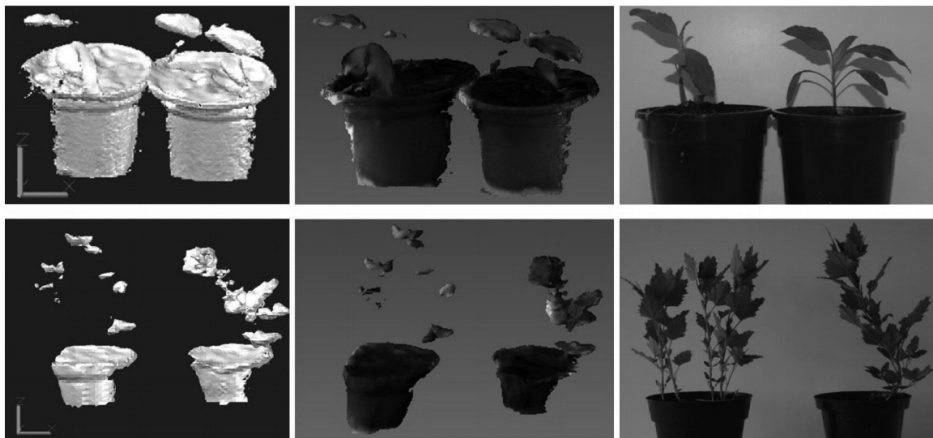


Figura 2. Reconstrucción 3D de *Xanthium strumarium* (arriba) y *Chenopodium album* (abajo) creada por superposición de nubes de puntos usando un sensor Kinect a 0,8 m de distancia y un ángulo de inclinación de 45°.

Debido a que el soporte de la planta era visible en la reconstrucción tridimensional, la altura fue fácil de medir y mostró errores inferiores a 2 cm en la mayoría de los casos, excepto en las medidas tomadas a 90°. Un caso similar se encontró en un estudio con plantas de *Salix* spp., donde las ramas pequeñas inferiores a 6 mm eran imposibles de detectar con cámaras de profundidad (Nock et al., 2012).

Respecto al ángulo de posicionamiento del sensor, se han observado diferencias en función de la especie analizada, debido fundamentalmente a su estructura. En el caso de *X. strumarium* y *D. stramonium*, la visión cenital permitió una correcta caracterización de la estructura de la planta. Sin embargo, la reconstrucción fue peor en el caso de la visión frontal, posiblemente por la disposición perpendicular de las hojas respecto al sensor. En general, se ha encontrado una buena correlación entre los valores reales de altura y biomasa, y los valores estimados de altura y área utilizando ángulos de 0° y 45°. En cambio, la visión frontal no mostró ningún valor significativo (Tabla 1). Estos resultados sugieren que la arquitectura de estas especies dicotiledóneas, con las hojas orientadas en paralelo a la superficie del suelo, favorece la reconstrucción del modelo 3D desde los ángulos cenital y lateral comparados con la posición frontal del sensor. Los valores obtenidos para *C. album* fueron diferentes, mostrando un menor grado de acuerdo con las medidas reales. Solamente, la altura resultó significativa, mientras que la biomasa no fue correctamente estimada.

La problemática asociada a la caracterización de malas hierbas en estadios tempranos es un reto interesante. La reconstrucción de plantas en estadios más avanzados es más fiable y fácil. Sin embargo, en el momento óptimo de tratamiento, las plantas tienen un tamaño menor difícil de captar con cámaras de bajo coste con limitaciones en cuanto a resolución de la cámara. A este problema se unen ciertas restricciones relativas a las condiciones ambientales. Por ejemplo, la alta radiación solar impide la toma de datos en días soleados.

Tabla 1. Coeficientes de correlación entre medidas reales de biomasa y altura respecto a los parámetros de área y altura estimados por Kinect desde diferentes ángulos de visión.

Ángulo	<i>Xanthium strumarium</i>		<i>Datura stramonium</i>		<i>Chenopodium album</i>	
	Biomasa	Altura	Biomasa	Altura	Biomasa	Altura
0°	0,750**	0,89**	0,840**	0,92**	0,530	0,76*
45°	0,815**	0,91**	0,790**	0,92**	0,330	0,79**
90°	0,260	0,57	0,350	0,81*	0,660	0,62

*Correlación significativa a $P < 0,05$; ** Correlación significativa a $P < 0,01$.

La problemática asociada a las mediciones con Kinect v1 podría ser resuelta con nuevos algoritmos y hardware para la realización de medidas en las condiciones de luminosidad de campo. Debido a los problemas de iluminación en los cuales la radiación IR afecta a su uso en exteriores, las mediciones con condiciones de alta luminosidad impide su uso en tareas agrícolas a pleno día. El uso de filtros o medios de sombreo posibilita mejorar la calidad de las mediciones, aunque para llegar a un grado aceptable de reconstrucción es necesario que se realicen estas mediciones durante la mañana, tarde o en días con alta nubosidad. La nueva versión del sensor (Kinect para Windows v2) mejorará notablemente las prestaciones en cuanto a trabajo en exteriores, ya que incorpora un sensor de medición por tiempo de vuelo que permite la lectura bajo cualquier condición de iluminación, con mayor precisión y penetración en la planta. Además, dispone de una cámara en alta definición (HD) que permite mayor resolución en el espectro RGB. La nueva versión del sensor permitirá obtener imágenes más claras y precisas; sin embargo, el procesamiento y la mayor cantidad de información hace necesario disponer de nuevos y mejores algoritmos para poder trabajar en agricultura. Por otro lado, todas estas características mejoradas no tienen validez si el sensor no es correctamente colocado y orientado para la detección de malas hierbas en el cultivo. Otras utilidades del sensor podrían estar en los sistemas de guiado o cualquier otra aplicación en el campo de la robótica agrícola.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la CICYT (Proyectos AGL2011-25243 y AGL2014-52465-C4-3-R).

BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSEN HJ, RENG L & KIRK K (2005) Geometric plant properties by relaxed stereo vision using simulated annealing. *Computers and Electronics in Agriculture* 49, 219-232.
- ANDÚJAR D, ESCOLÀ A, DORADO J & FERNÁNDEZ-QUINTANILLA C (2011) Weed discrimination using ultrasonic sensors. *Weed Research* 51, 543-547.
- BONGERS F (2001) Methods to assess tropical rain forest canopy structure: An overview. *Plant Ecology* 153, 263-277.
- CHEN Y, ZHANG W, YAN K, LI X & ZHOU G (2012) Extracting corn geometric structural parameters using Kinect. En: *Proceedings of the 2012 IEEE International Geoscience and Remote Sensing Symposium. IGARSS*, 6673-6676. Munich, Alemania.

- CHÉNÉ Y, ROUSSEAU D & LUCIDARME P et al. (2012) On the use of depth camera for 3D phenotyping of entire plants. *Computers and Electronics in Agriculture* 82, 122-127.
- DAL MUTTO C, ZANUTTIGH P & CORTELAZZO GM (2012) Time-of-Flight Cameras and Microsoft Kinect; Series: Springer Briefs in Electrical and Computer Engineering; Springer: New York, NY, USA.
- HESS M, BARRALIS G, BLEIHOLDER H, BUHR L, EGGERS T, HACK H & STAUSS R (1997) Use of the extended BBCH scale-general for the descriptions of the growth stages of mono- and dicotyledonous weed species. *Weed Research* 37, 433-441.
- MÉNDEZ V, ROSELL-POLO JR, SANZ R, ESCOLÀ A & CATALÁN H (2014) Deciduous tree reconstruction algorithm based on cylinder fitting from mobile terrestrial laser scanned point clouds. *Biosystems Engineering* 124, 78-88.
- NOCK CA, TAUGORURDEAU O, DELAGRANGE S & MESSIER C (2012) Assessing the potential of low-cost 3D cameras for the rapid measurement of plant woody structure. *Sensors* 13, 16216-16233.
- STUPPY WH, MAISANO JA, COLBERT MW, RUDALL PJ & ROWE TB (2003) Three-dimensional analysis of plant structure using high-resolution X-ray computed tomography. *Trends in Plant Science* 8, 2-6.

EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA DE RESAMPLING EN IMÁGENES UAV PARA LA DETECCIÓN DE MALAS HIERBAS MEDIANTE ANÁLISIS OBIA

Borra I.*, Peña J.M., Torres-Sánchez J., López-Granados F.

*Instituto de Agricultura Sostenible (IAS-CSIC),
Apdo. 4084, 14004 Córdoba, España.*

**irene.borra@ias.csic.es*

Resumen: Los vehículos aéreos no tripulados (UAVs) son una tecnología emergente en el estudio de parámetros agrícolas por sus características y por portar sensores en diferente rango espectral. En este trabajo se ha detectado y cartografiado rodales de malas hierbas en fase temprana mediante análisis OBIA para elaborar mapas que optimicen el tratamiento herbicida localizado. Se ha aplicado resampling (resamplio) sobre imágenes tomadas en campo desde un UAV (UAV-I) para crear una nueva imagen con distinta resolución espacial. A las imágenes resampleadas (RS-I) se les evaluó la calidad espacial y espectral y la eficacia de nuestro análisis en la detección de malas hierbas. Los resultados de las imágenes RS-I muestran una precisión similar a las imágenes UAV-I siendo factible su utilización en tecnologías de manejo localizado de malas hierbas. Se discuten las ventajas del uso de la técnica de resampling en imágenes UAV.

Palabras clave: Agricultura de precisión, teledetección, mapas, drones.

Summary: *Evaluation of resampling applied to UAV imagery for weed detection using OBIA.* Unmanned aerial vehicles (UAV) are an emerging technology for the study of agriculture parameters due to its characteristics and the availability of embedding sensors with different spectral range. In our study, the detection and mapping of weeds in early phenological stage allowed to design a strategy for the optimizing of herbicide treatment. In this work, resampling is used to create a new version of an image with a different spatial resolution, using real UAV imagery. A spatial and spectral quality evaluation was carried out to resampled images (RS-I), and then, our workflow for weed detection applied. The results showed that RS-I and UAV-I showed similar accuracy on weed detection and thus could be used for site-specific weed management achieving a percentage of savings in the herbicide. Opportunities of using RS-I are discussed.

Keywords: Precision agriculture, remote sensing, maps, UAV.

INTRODUCCIÓN

La distribución en rodales y la variabilidad en densidad y especie de las malas hierbas en los cultivos ha sido demostrada (López-Granados, 2011). Sin embargo, para controlarlas, en la mayoría de los casos, se aplica herbicida de forma uniforme en el campo generando gastos innecesarios. Esta situación puede solventarse mediante un control localizado de las infestaciones presentes en el campo de cultivo. Para estados fenológicos tardíos se han creado mapas de malas hierbas a partir de imágenes de satélite y aéreas; pero en fase temprana, la baja resolución espacial que presentan dichas imágenes (>50cm/píxel) no permite distinguir la mala hierba del cultivo. El UAV surge como alternativa que cumple los requisitos de generar imágenes con alta resolución espacial y espectral. Peña et al. (2013) emplearon el análisis de imagen basado en objetos (*Object-Based Image Analysis*, OBIA) para la discriminación temprana de malas hierbas en maíz mediante imágenes UAV sin mosaicar. No obstante, para cubrir la superficie de toda la parcela y localizar los rodales es necesario emplear imágenes orto-mosaicadas.

El *Resampling* es una técnica matemática usada para crear una nueva imagen (RS-I) con un tamaño diferente de píxel (Dogson, 1992) que se ha empleado desde los años 70 para la fusión de imágenes de satélite con distinta resolución. En el caso de aplicar resampling a imágenes tomadas con UAV (UAV-I), se persigue obtener una nueva imagen que simule una altura de vuelo mayor (con menor resolución espacial) a partir de una imagen de baja altitud (alta resolución espacial) para reducir costes económicos (menor número de vuelos), tiempos y optimizar el análisis (mapas se obtienen en menor tiempo).

Por lo anterior, los objetivos de este trabajo fueron: 1) resamplear imágenes UAV a diferentes alturas de vuelo y evaluar su calidad espacial y espectral, 2) aplicar el proceso OBIA en RS-I y UAV-I, 3) comparar los mapas de malas hierbas resultantes en cada tipo de imágenes, y 4) valorar las ventajas del resampling en relación a la optimización de la tecnología UAV.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización, vuelos y sensores

El estudio se realizó en dos campos de girasol de 1 ha (Campo1 y Campo2) en la provincia de Sevilla (coordenadas UTM X=295.400m Y=4.156.107m, y X=295.112m Y=4.155.611m, respectivamente). El estado fenológico tanto de las malas hierbas como del cultivo era: fase principal 1, de 4 a 6 hojas verdaderas según escala BBCH (Meier, 1997).

Las imágenes fueron tomadas mediante un quadcopter UAV modelo md4-1000. Se tomaron las imágenes utilizando dos sensores, una cámara convencional visible (RGB) Olympus PEN E-PM1 y una multiespectral Tetracam mini-MCA-6 (TTC; RGB+NIR, infrarrojo cercano), el día 7 de mayo 2014 a diferentes alturas de vuelo: 30, 60 y 100m. No obstante, el vuelo a 60m con RGB en el Campo1 no ha podido ser estudiado por problemas de descarga de las imágenes en el ordenador. Información más detallada de la configuración de los vuelos y especificaciones del vehículo y cámaras pueden encontrarse en Torres-Sánchez et al. (2013). Para mosaicar las imágenes se empleó el software Agisoft Photoscan Professional Edition (Agisoft LLC, St. Petersburg, Rusia).

Resampling: degradación espacial de imágenes de alta calidad

La UAV-I generada del vuelo a 30m (resolución espacial 1,07cm para RGB y 1,16cm para TTC) fue degradada para simular las resoluciones espaciales de vuelos a 60 y 100m de altura. Para crear las RS-Is se empleó el método de resampling del vecino más próximo (*nearest neighbor*, NN) en el software ENVI (ENVI 5.0, Research Systems Inc. Boulder, CO, USA). Se opta por la técnica NN si la nueva imagen ha de ser clasificada por dos motivos: mantiene los niveles digitales de los píxeles al realizar simplemente un reajuste posicional (se asigna al nuevo píxel el valor del más cercano de la imagen de partida), y por la sencillez de su implementación (Dogson, 1992). Se crearon 7 imágenes, 3 para Campo1 y 4 para Campo2.

A las RS-Is se les realizó una evaluación visual y matemática de la calidad espacial y espectral. La fiabilidad posicional (calidad espacial) fue estimada mediante un test de la *American Society of Photogrammetry and Remote Sensing* (ASPRS, 1990). Dicho test establece tres categorías de calidad acorde al Error Medio Cuadrático (RMSE, de las siglas en inglés *Root-Mean-Square Error*) siendo clase 1 la más precisa, con un valor máximo de 1,25cm, y las restantes categorías dos y tres veces menos exactas. El RMSE en este caso corresponde a la diferencia en las coordenadas entre las RS-Is y UAV-Is de 20 puntos de muestreo seleccionados. Los valores espectrales se compararon mediante histogramas para comprobar que no se habían modificado los niveles digitales de los píxeles.

Detección de malas hierbas

Como primer paso, se delimitó el área a estudiar con el fin de comparar superficies iguales. A las RS-Is y UAV-Is se les aplicó un algoritmo OBIA para la detección de rodales de malas hierbas desarrollado en el software eCognition Developer 8.9 (Trimble GeoSpatial, Munich, Germany) y basado conceptualmente en el algoritmo OBIA diseñado para cultivo de maíz en imágenes no mosaicadas por Peña et al. (2013). Para

determinar la idoneidad de la aplicación del algoritmo OBIA en las RS-Is se compararon los resultados obtenidos con los de las UAV-Is reales tomadas en campo (mismo sensor, alturas y campo) del área infestada de malas hierbas que requería tratamientos localizados. Además, se evaluó la discriminación de mala hierba dentro de 32 marcos de 1 m² distribuidos por todo el campo. Estos marcos de muestreo fueron representativos del grado de infestación observado en cada campo. Los marcos se clasificaron visualmente en 4 categorías: 0 correspondió a la no presencia (zona libre de mala hierba), 1 a baja infestación (30-50 píxeles infestados en la UAV-I de 30m), 2 a media infestación (unos 75 píxeles) y 3 a alta infestación (más de 100 píxeles). Por otra parte, se establecieron 7 umbrales de detección en base al porcentaje de cobertura de mala hierba como regla de decisión para la aplicación de herbicidas. Desde el 0% (herbicida se aplica en el momento que la presencia es detectada) al 15% de área infestada (tratamiento si la cobertura de mala hierba es >15%) con incrementos de 2,5. Los marcos de muestreo fueron clasificados en *Tratar* o *No_tratar* en función de si el umbral era rebasado en la RS-I y la UAV-I para cada campo, altura y cámara.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de la similitud y calidad entre RS-I and UAV-I

Las resoluciones espaciales de RS-Is y UAV-Is a 60 y 100m fueron análogas debido a que el tamaño de píxel es función de la altura y sensor empleado. Los resultados del test de calidad espacial llevado a cabo entre los dos tipos de imágenes mostraron que todos los valores de RMSE obtenidos fueron menores a 1,25cm. Por lo tanto, las RS-Is creadas pertenecieron a la clase 1, la de mayor calidad según el test ASPRS. Además, los histogramas de las imágenes fueron semejantes (test de calidad espectral), indicando que la técnica de resampling elegida no modificó los valores digitales.

Detección de mala hierba: mapeo y fiabilidad

Se localizaron las líneas de cultivo con un 95% de exactitud. Este hecho no se consiguió únicamente por la buena ejecución del resampling sino por el mosaicado realizado para construir la UAV-I de 30m. Si los mosaicos no hubiesen mostrado alta calidad, las líneas de cultivo hubieran aparecido interrumpidas sin una buena georreferenciación y el proceso de clasificación se hubiese visto afectado negativamente (Gómez-Candón et al., 2014). La correcta unión y el mosaicado de las fotos es imprescindible para lograr la detección de mala hierba localizada entre las líneas de cultivo y es más complejo en escenarios agrícolas que en

otros casos debido al patrón de distribución repetitivo de las hileras de cultivo y a la carencia de elementos invariantes en las parcelas.

Como primer resultado, se obtuvo el área a tratar para ambos campos, cámaras y alturas en las RS-Is y UAV-Is. En todos los casos, excepto para RGB a 100m de altitud, en las RS-Is se tendió a detectar mayor cobertura de mala hierba y por consiguiente, el área a tratar fue mayor. Desde un punto de vista agronómico, la sobreestimación de infestación es preferible ya que los agricultores prefieren tratar más superficie, aún incluyendo zonas sin presencia, para no asumir riesgos y asegurar el control de las malas hierbas (Peña-Barragán et al., 2007). Aunque difieran ambos tipos de imagen, se consiguió un importante ahorro de herbicida frente al manejo tradicional. La discrepancia pudo deberse a la calidad de la información espectral: los píxeles de las RS-Is a 60m de altura de vuelo preservaron el valor espectral original de la UAV-I a 30m (píxel de 1,07cm para RGB y 1,6cm para TTC) frente a los píxeles de UAV-I a 60m que pudieron presentar mezcla espectral debido a su mayor tamaño (2 y 3,2cm respectivamente).

La detección de mala hierba entre RS-I y UAV-I se realizó en toda la superficie del campo (Figura 1) evaluando el porcentaje de acierto en la clasificación en los 32 marcos de muestreo en función de los umbrales establecidos.

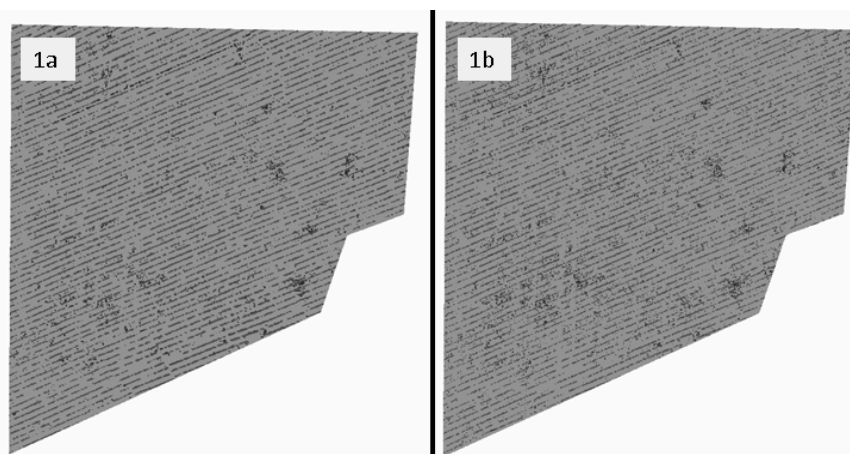


Figura 1. Ejemplo de mapas de malas hierbas (en oscuro) en Campo1 a 60m con TTC: 1a) UAV-I; 1b) RS-I. Se muestra también la discriminación de las hileras de siembra y del suelo desnudo.

En la Tabla 1 se observan los mejores resultados en las RS-Is procedentes de UAV-Is tomadas con TTC llegando a alcanzarse 100% de acierto (misma clasificación en todos los marcos). La tendencia fue que

el porcentaje de acierto aumenta con el umbral. Se debe a que OBIA detecta mejor una mayor cobertura de mala hierba al abarcar mayor número de píxeles lo que aumenta la diferencia espectral frente al suelo. Ello se comprobó examinando los marcos por niveles de infestación. En el Campo1 se obtuvo un 100% de acierto en las categorías 2 y 3, mientras que en las otras dos se alcanzó un 70%. En el Campo 2, el 100% se logró en la categoría 3, siendo un 70% en las categorías 0, 1 y 2. Desde un punto de vista agronómico, es deseable detectar con mayor precisión las categorías correspondientes a las mayores densidades de malas hierbas (es decir, 2 y 3), y de este modo ser más efectivo en los tratamientos de control.

Tabla 1. Porcentajes de acierto en la clasificación de los marcos de muestreo (Cámara visible: RGB; Cámara multispectral, TTC: RGB + NIR).

Campo	Sensor	Altura (m)	Umbrales			
			0	5	10	15
1	RGB	100	84	88	88	81
		60	81	100	94	97
	TTC	100	84	97	100	91
2	RGB	60	84	88	91	94
		100	63	75	88	91
	TTC	60	84	94	97	94
		100	69	91	91	94

Según la precisión de los resultados obtenidos, la metodología UAV puede beneficiarse del resampling. Por ejemplo, la aplicación de OBIA en la UAV-I de 30m tarda aproximadamente 90 minutos y para la RS-I de 100m se tarda 15 minutos (85% menos). Al ser la cartografía de los rodales de malas hierbas en la RS-I a 100m similar a la de UAV-I, se sugiere no volar a dicha altura y resamplear la UAV-I de menor altitud para evitar las posibles distorsiones por viento en altitudes altas. Además, si el rodal de malas hierbas es menor al tamaño de píxel de la UAV-I a 100m (5,4cm) se produciría una mezcla entre el suelo y la mala hierba dentro del píxel. Igualmente sería posible crear RS-I cuando un conjunto de imágenes a distintas alturas tiene que ser comprobado y ocurre alguna incidencia que no permite terminar la toma de imágenes para acabar el experimento. También se sugiere aplicar RS-I en un test preliminar donde se quieren extrapolar los resultados a áreas más extensas facilitando la toma de decisión de la realización del vuelo a mayor altitud si los resultados son satisfactorios.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran la idoneidad del uso del resampling-NN para optimizar las limitaciones que se presentan a lo largo de todo el proceso de obtención de mapas de mala hierba. Hasta el momento, no había sido publicada ninguna evaluación cuantitativa de la calidad de RS-I procedentes de UAV-I orto-mosaicada para detección temprana y mapeo mediante OBIA. El hecho de realizar nuestro estudio con dos cámaras y en dos campos indica que nuestros resultados son consistentes.

AGRADECIMIENTOS

Estudio financiado por el Proyecto RECUPERA2020 (Acuerdo CSIC y MINECO-Fondos FEDER). El trabajo de J. Torres-Sánchez y J.M. Peña han sido financiados por los programas FPI y Ramón y Cajal. Los autores agradecen al Duque del Infantado y Marqués de Armunia por facilitar los campos para el desarrollo de nuestra experimentación.

BIBLIOGRAFÍA

- ASPRS (1990) Accuracy standards for large scale maps. *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing* 56, 1068-1070.
- DOGSON NA (1992) Image resampling. PhD thesis, University of Cambridge, UK.
- GÓMEZ-CANDÓN D, CASTRO AID & LÓPEZ-GRANADOS F (2014) Assessing the accuracy of mosaics from unmanned aerial vehicle (UAV) imagery for precision agriculture purposes in wheat. *Precision Agriculture* 15, 44-56.
- LÓPEZ-GRANADOS F (2011) Weed detection for site-specific weed management: mapping and real-time approaches. *Weed Research* 51, 1-11.
- MEIER U (1997) *Growth stages of mono- and dicotyledonous plants*. BB Monograph. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry. Available at: http://www.jki.bund.de/fileadmin/dam_uploads/_veroeff/bbch/BBCH-Skala_englisch.pdf.
- PEÑA-BARRAGÁN JM, LÓPEZ-GRANADOS F, JURADO-EXPÓSITO M & GARCÍA-TORRES L (2007) Mapping *Ridolfia segetum* patches in sunflower crop using remote sensing. *Weed Research* 47, 164-172.

PEÑA JM, TORRES-SÁNCHEZ J, CASTRO AID, KELLY M & LÓPEZ-GRANADOS F (2013) Weed mapping in early-season maize fields using object-based analysis of unmanned aerial vehicle (UAV) Images. *PLOS ONE* 8:e77151.

TORRES-SÁNCHEZ J, LÓPEZ-GRANADOS F, CASTRO AID & PEÑA-BARRAGÁN JM (2013) Configuration and specifications of an Unmanned Aerial Vehicle (UAV) for early site specific weed management. *PLOS ONE* 8:e58210.

OPTIMIZACIÓN DE ALGORITMOS PARA SEGMENTACIÓN POR VALOR UMBRAL APLICADO A DETECCIÓN DE MALAS HIERBAS EN IMÁGENES PROCEDENTES DE VEHÍCULOS AÉREOS NO TRIPULADOS

**Caballero-Novella J.J.*, Peña J.M., Torres-Sánchez J.,
López-Granados F.**

*Instituto de Agricultura Sostenible, IAS-CSIC,
Apdo. 4084, 14080 Córdoba, España.*

** juanjcn@ias.csic.es*

Resumen: En este trabajo se ha buscado la implementación de una alternativa al método de Otsu (1979) desarrollada por Hui-Fuang Ng (2006), el cual maximiza la diferencia entre varianzas espectrales y realiza una búsqueda multiumbral. En el estudio se emplearon imágenes procedentes de vehículos aéreos no tripulados (UAVs) tomadas en cultivos de maíz y girasol. Con una única ejecución del algoritmo en un entorno de análisis orientado a objetos, se discriminan aquellos objetos correspondientes a la fracción vegetal del suelo desnudo y se estima un umbral diferenciador entre cultivo y malas hierbas que contribuya a un subsiguiente proceso de clasificación. La técnica de Hui-Fuang detectó un mayor porcentaje de vegetación en todos los casos estudiados, oscilando el incremento entre un 3% y un 20%.

Palabras clave: Agricultura de precisión, drones, sensores remotos, teledetección.

Summary: *Optimizing algorithms for thresholding segmentation applied to weed detection on UAV remote images.* This work aimed to implement an alternative to Otsu's method (1979) developed by Hui-Fuang Ng (2006), which maximizes the difference between spectral variances and performs a multithreshold seeking. Unmanned aerial images taken in maize and sunflower crops were used in the research. In a single algorithm execution applied to an Object Based Image Analysis environment, the objects corresponding to both the vegetation fraction and bare soil are discriminated and a threshold to separate crop from weeds was also estimated, making easier a subsequent classification process. Hui-Fuang's technique provides a higher percentage of vegetation detection in all the cases, with an improvement which ranges from 3% to 20%.

Keywords: Precision agriculture, drones, sensors, remote sensing.

INTRODUCCIÓN

El Análisis Orientado a Objetos (OBIA, *Object Based Image Analysis*) permite estudiar las imágenes remotas atendiendo a criterios espaciales y espectrales (Peña et al., 2013). A diferencia de los métodos basados en píxeles, mediante OBIA se segmentan las imágenes agrupando píxeles en objetos, otorgándoles atributos y estadísticas que facilitan la clasificación de las mismas. OBIA puede resultar muy útil para detección de malas hierbas ya que éstas suelen presentar una distribución en agregados y los objetos obtenidos de la agrupación de píxeles infestados de malas hierbas pueden posibilitar su discriminación y posterior cartografía. Antes de realizar cualquier tipo de análisis sobre la fracción vegetal (malas hierbas + cultivo) presente en las imágenes, el primer paso es separar suelo desnudo de vegetación. Empleando el software apropiado y un algoritmo de determinación de umbral entre varianzas espectrales (Otsu, 1979) se puede automatizar este proceso para obtener objetos diferenciados de ambas categorías (suelo + vegetación) y posteriormente seguir los procedimientos de análisis para discriminar entre cultivo y malas hierbas.

Gracias a los Vehículos Aéreos no Tripulados o UAV (*Unmanned Aerial Vehicles*) es posible realizar vuelos a muy baja altura que generan imágenes de muy alta resolución espacial, permitiendo la detección de suelo desnudo, hileras de cultivo y rodales de malas hierbas en emergencia temprana. La clasificación por umbrales Otsu es efectiva para separar suelo de fracción vegetal aunque en ocasiones presenta limitaciones para distinguir posteriormente malas hierbas de cultivo, como por ejemplo ocurre en el cultivo de trigo dada su escasa separación entre hileras (Torres-Sánchez et al., 2014).

Los objetivos de este trabajo son: 1) estudiar una variante del método Otsu desarrollada por Hui-Fuang Ng (2006), que propone un modo alternativo de calcular el umbral de separación de varianzas, 2) determinar la fracción vegetal (malas hierbas + cultivo) que detecta cada método, y 3) estimar el porcentaje de vegetación de cada tipo detectado dentro de la fracción vegetal total.

MATERIAL Y MÉTODOS

Áreas de estudio

El estudio se realizó en dos campos, uno de maíz (provincia de Córdoba, coordenadas WGS84: 37,938N, 4,625W) y otro de girasol (provincia de Sevilla, coordenadas WGS84: 37,524N; 5,318W). El campo de maíz se sembró el 14 de abril de 2014 a una dosis de siembra de 6 kg ha⁻¹ y estaba infestado de *Sorghum halepense* L. Pers. El campo de girasol se

sembró el 25 de marzo de 2014 y presentaba infestaciones de *Amaranthus blitoides* L., *Sinapis arvensis* L y *Convolvulus arvensis* L. Tanto los cultivos como las malas hierbas estaban en estado fenológico temprano con 4-6 hojas verdaderas o inicio de encañado (BBCH extended scale code 14, Meier, 2001). La pendiente media en ambos campos no superaba el 1% de elevación.

Sobre cada campo se tomó un vuelo los días 6 y 7 de mayo de 2014 en maíz y girasol, respectivamente. La altura de toma de las imágenes en los dos casos fue de 30 metros sobre el nivel del suelo. Para el estudio del Girasol, adicionalmente, se emplearon técnicas de remuestreo espacial en la imagen de 30 metros para obtener otra de 60 metros y poder comparar la influencia de la altura en la efectividad de los algoritmos. Como puntos de muestreo fueron establecidos 49 marcos rectangulares de 1 m² cada uno, en disposición regular de 7 x 7 m. Dos de los marcos quedaron fuera durante la toma de imagen en el campo de maíz, reduciendo en su caso el total a 47 muestras.

Características del UAV y preparación de las imágenes

Se empleó un UAV multirrotor modelo MD4-1000 (microdrones GmbH, Siegen, Alemania) en el que se instaló una cámara PEN E-PM1 (Olympus Corporation, Tokyo, Japón) capaz de tomar imágenes de 12 megapíxeles en el rango visible RGB, con 8 bits de resolución radiométrica y equipado con zoom óptico de 14-42 mm.

Para la segmentación de cada imagen en objetos se transformaron las bandas RGB a sus versiones normalizadas, aplicando posteriormente el índice de vegetación *Excess Green* para facilitar una mayor precisión en la clasificación de la fracción vegetal en las alturas de vuelo utilizadas (Torres-Sánchez et al., 2014):

$$R_n = \frac{R}{R + G + B} \quad G_n = \frac{G}{R + G + B} \quad B_n = \frac{B}{R + G + B}$$

$$ExG(2) = 2G_n - R_n - B_n$$

Otsu-Valley (Hui-Fuang, 2006)

La alternativa a Otsu (1979) propuesta por Hui-Fuang (2006) establece que el umbral óptimo para separar la imagen en clases diferenciadas reside en el valor del histograma espectral situado entre sus dos picos máximos (de ahí su denominación en inglés como *Valley*). La ecuación para calcular dicho umbral otorga un peso a cada valor potencial de

umbralización que es mayor cuanto menor sea su frecuencia p_t de aparición, considerando como otras variables significativas la probabilidad ω y la media μ de cada clase que resulte de realizar la clasificación:

$$t^* = \max_{0 \leq t \leq L} \{ (1 - p_t) (\omega_1(t) \mu_1^2(t) + \omega_2(t) \mu_2^2(t)) \}$$

Este método puede generalizarse para calcular simultáneamente más de un umbral de separación. Aplicado de esa manera, el algoritmo trata de determinar durante la ejecución un valor de umbral que separe el suelo desnudo de las malas hierbas y otro para separar las malas hierbas del cultivo. La ecuación para el nuevo método es:

$$t^* = \max_{0 \leq t_1 < \dots < t_{M-1} < L} \left\{ \left(1 - \sum_{j=1}^{M-1} p_{t_j} \right) \left(\sum_{k=1}^M \omega_k \mu_k^2 \right) \right\}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A cada imagen procedente de cada campo, se aplicaron tanto el algoritmo de Otsu (1979) tradicional como la alternativa Valley, buscando los porcentajes detectados de cultivo, malas hierbas y fracción vegetal total mediante el software eCognition Developer 9.0. Para cada uno de los marcos colocados sobre el terreno sobrevolado, estos porcentajes se contrastaron con aquellos calculados gracias a los datos gráficos y posicionales de verdad-terreno recopilados durante la ejecución de los vuelos, arrojando un porcentaje global de detección por cada categoría (fracción vegetal total, cultivo y malas hierbas).

En todos los casos estudiados, Valley logró detectar una mayor cantidad de vegetación, ofreciendo además un umbral preliminar de subdivisión entre las malas hierbas y el cultivo. La diferencia es especialmente significativa para el caso de malas hierbas, ya que el método Valley mejora entre un 15% y un 20% la detección con respecto al método Otsu (1979). En la discriminación de la fracción vegetal, ambos métodos ofrecen una buena tasa de detección, proporcionando Valley una mejoría del 4-8%. Para los cultivos este porcentaje se reduce al 3-6%, resultando prácticamente igual en la imagen de girasol tomada a 30 metros.

Tabla 1. Porcentaje de vegetación (cultivo + malas hierbas) detectada en el campo de girasol utilizando el vuelo a 30m (media \pm DE; n° de marcos para verdad terreno = 49). En negrita se destacan los porcentajes más elevados.

	% Fracción Vegetal	% Cultivo	% Malas Hierbas	Umbral
Método Otsu	91,62 \pm 11,58	99,04 \pm 3,99	70,13 \pm 31,53	0,04
Método Valley	95,89 \pm 7,00	99,73 \pm 1,45	87,00 \pm 19,36	0,017 + 0,1

Tabla 2. Porcentaje de vegetación (cultivo + malas hierbas) detectada en el campo de girasol utilizando el vuelo a 60 m (media \pm DE; n° de marcos para verdad terreno = 49). En negrita se destacan los porcentajes más elevados.

	% Fracción Vegetal	% Cultivo	% Malas Hierbas	Umbral
Método Otsu	86,37 \pm 16,03	94,89 \pm 10,87	46,62 \pm 36,87	0,04
Método Valley	92,20 \pm 11,73	97,61 \pm 9,01	66,50 \pm 33,36	0,017 + 0,09

Tabla 3. Porcentaje de vegetación (cultivo + malas hierbas) detectada en el campo de maíz utilizando el vuelo a 30m (media \pm DE; n° de marcos para verdad terreno = 47). En negrita se destacan los porcentajes más elevados.

	% Fracción Vegetal	% Cultivo	% Malas Hierbas	Umbral
Método Otsu	90,62 \pm 8,17	93,70 \pm 6,74	83,06 \pm 27,50	0,06
Método Valley	98,74 \pm 2,70	99,28 \pm 1,89	96,94 \pm 9,87	0,01 + 0,1

La variante propuesta por Hui-Fuang (2006) al método de Otsu (1979) incrementa el porcentaje de vegetación que se discrimina del suelo desnudo. Al emplear un criterio de separación doble se logra también un umbral preliminar de diferenciación entre malas hierbas y cultivo, que facilitará la elaboración de una clasificación definitiva mediante la aplicación de subsiguientes algoritmos y técnicas de OBIA más elaboradas que están actualmente en estudio.

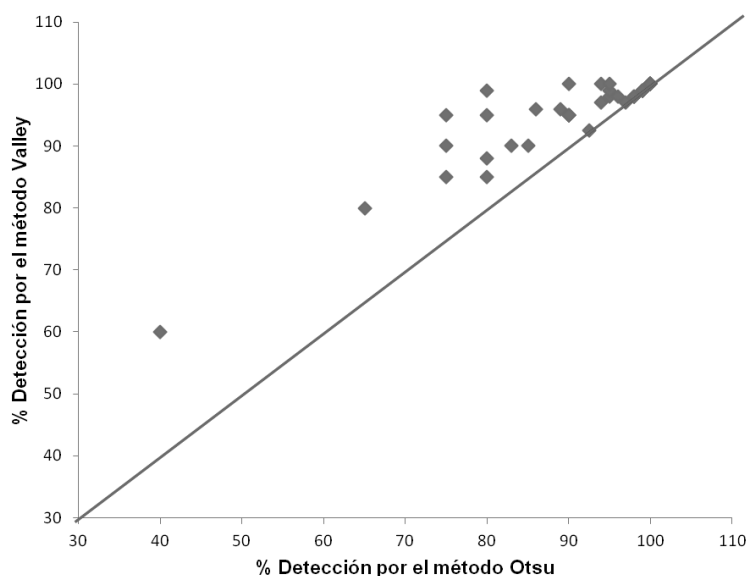


Figura 1. Comparativa del porcentaje de fracción vegetal detectada por ambos métodos.

AGRADECIMIENTOS

Trabajos financiados por el Proyecto RECUPERA2020 (Acuerdo CSIC y MINECO, fondos EU-FEDER). El trabajo de J. Torres-Sánchez y J.M. Peña han sido financiados por los programas FPI y Ramón y Cajal (ambos MINECO y fondos EU-FEDER). Los autores agradecen al Duque del Infantado y Marqués de Armunia por permitir el desarrollo del trabajo de campo.

BIBLIOGRAFÍA

HUI-FUANG NG (2006) Automatic thresholding for defect detection. *Pattern Recognition Letters* 27, 1644-1649.

MEIER U (2001) *Growth stages of mono-and dicotyledonous plants*. BBCH Monograph 2nd Edition. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Quedlinburg, Germany.

OTSU N (1979) A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetic* 9, 62-66.

PEÑA JM, TORRES-SÁNCHEZ J, DE CASTRO AI & LÓPEZ-GRANADOS F (2013) Weed mapping in early-season maize fields using object-based analysis of unmanned aerial vehicle (UAV). *PLoS ONE* 8(10), e77151, DOI: 10.1371/journal.pone.0077151.g001.

TORRES-SÁNCHEZ J, PEÑA JM, DE CASTRO AI & LÓPEZ-GRANDOS F (2014) Multi-temporal mapping of the vegetation fraction in early-season wheat fields using images from UAV. *Computers and Electronics in Agriculture* 103, 104-113.

DETERMINACIÓN MEDIANTE SISTEMAS ÓPTICOS DE LA DISTANCIA REAL ENTRE PLANTAS DE CULTIVO PARA UN CONTROL PRECISO DE LA MALA HIERBA

Martínez J.¹, Pérez-Ruiz M.^{1*}, Garrido M.², Agüera J.³, Slaughter D.C.⁴

¹Dpto. Ingeniería Aeroespacial y Mecánica de Fluidos, Universidad de Sevilla, Ctra. Sevilla-Utrera km 1, 41013 Sevilla.

²LPF-TAGRALIA: Técnicas Avanzadas en Agroalimentación, E.T.S. de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, 28040 Madrid.

³Dpto. de Ingeniería Rural, Universidad de Córdoba, Campus Rabanales, 14014 Córdoba.

⁴Department of Plant Sciences and Biological and Agricultural Engineering, Sensor and Instrumentation Lab, University of California, Davis, One Shields Ave, Davis, CA 95616, USA.

*manuelperez@us.es

Resumen: La automatización en el manejo de las malas hierbas de forma individualizada está siendo una realidad cada vez más cercana, atendiendo a objetivos tanto de eficiencia como de beneficios económicos. En un futuro muy próximo la mecanización y su diseño tendrá que contemplar técnicas de monitorización o detección de precisión. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de un sensor óptico para determinar la distancia entre las plantas de una misma línea de cultivo en condiciones de laboratorio y campo. En concreto, se ha investigado la detección de plantas con un sensor fotoeléctrico de infrarrojo (880 nm) en modo opuesto. El sensor fotoeléctrico fue capaz de detectar la planta de tomate y por tanto permitir conocer la separación entre ellas de forma muy precisa. El uso de sistemas de detección como este puede dar lugar a una nueva era que permita el control en la línea de cultivo de la mala hierba de forma más económica y a la automatización de la operación.

Palabras clave: Detección de plantas, sensor óptico, control preciso de mala hierba.

Summary: *Determination by optical systems of the inter-plant real distance for precise weed control.* Automation of individual crop plant care in commercial vegetable crop fields has increased practical feasibility and improved efficiency and economic benefit. Its systems approach is taken in the mechanization engineering design by the

incorporation of precision sensing techniques. The objective of this study was design-sensing capabilities in an implement for measuring plant spacing under different test conditions: laboratory and field. The optical sensor provided tomato plant detection and therefore the spacing between tomato plants was determined with accuracy. The use of this detection system may result in a new era that allow for an online control of aggressive weeds and the automation of weeding tools, which we plan to pursue through future research.

Keywords: Tomato detection, infrared sensor, precise crop protection.

INTRODUCCIÓN

Estudios recientes en el sector agrícola han identificado que las principales barreras para conseguir una agricultura sostenible se encuentran en muchas de las técnicas actuales de cultivo y se pone de manifiesto que el sector está inmerso en grandes cambios en la forma de recopilar, analizar, y utilizar la información para conseguir agregar valor a su producción (Fennimore et al., 2010). En los últimos años se han conseguido grandes retos y se han introducido mejoras sustanciales en lo concerniente a las prácticas agrícolas en los cultivos en líneas (e.g. remolacha azucarera, tomate, etc.) (Norremark et al., 2007; Pérez-Ruiz et al., 2012). No obstante, y dada la tendencia a la disminución del proteccionismo agrícola por parte de Europa, es obligatorio reorientar la producción, de forma que estos cultivos sean más competitivos por sí mismos. Desde este punto de vista, la automatización de las tareas de protección de cultivos puede ser el punto de partida de una nueva filosofía productiva, más competitiva, más económica, más eficiente y más respetuosa con el medio ambiente.

En la forma convencional de trabajar en áreas donde no existe o existe poca cantidad de mala hierba, se aplica la misma cantidad de herbicida que en aquellas otras donde la densidad de mala hierba es mayor. Se está trabajando fundamentalmente en dos metodologías para conocer la localización de la mala hierba en el campo: a) detección en tiempo-real basada en sensores y b) la generación de mapas de infestación. Con respecto a esta última metodología, Pérez-Ruiz et al. (2015) presentan los resultados del proyecto RHEA (Robot Fleets Highly Effective Agriculture and Forestry Management) donde se ha conseguido una reducción de herbicida de hasta un 75% del líquido aplicado por hectárea. Estos resultados muestran la viabilidad de uso de los equipos inteligentes de aplicación y abre una nueva era en el control de infestaciones, logrando con la automatización una operación más económica, sostenible y eficiente.

En los últimos 10 años un gran número de trabajos científicos han abordado diferentes tecnologías para la detección de la mala hierba en tiempo real (e.g. Brown & Noble, 2005; Slaughter et al., 2008; Christensen et al., 2009; Weis & Sökefeld, 2010; Cope et al., 2012). Algo clave y coincidente en todos los trabajos es la limitación en la adopción del control automático de mala hierba por la falta de un método de detección robusto y asequible. Otros autores han decidido abordar el control automático de la mala hierba localizando los cultivos con precisión centimétrica durante la operación de siembra (Ehsani et al., 2004) o plantación (Sun et al., 2010) utilizando un sistema de posicionamiento global en tiempo real (GNSS-RTK). Así mismo, la localización de forma precisa de la planta de cultivo, además de posibilitar el control automático de la mala hierba, también posibilita un tratamiento individualizado planta a planta (e.g. fitosanitarios, nutrientes).

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de un sistema de sensores ópticos para determinar la distancia entre las plantas de tomate de una misma línea de cultivo en diferentes condiciones: laboratorio y campo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Plataforma de Laboratorio

La plataforma de laboratorio está formada por 4 elementos esenciales para poder detectar las plantas de tomate y de esta forma estimar la separación entre ellas.

- a) Detector óptico de barrera en modo opuesto (Mini-Beam SM31 EL/RL). En este modo, el emisor de luz infrarroja (880 nm) y el receptor están ubicados en posiciones opuestas entre sí pero alineados, de modo que la luz del primero incide directamente sobre el segundo. La detección se produce cuando la planta interrumpe el haz de luz emitido.
- b) Encoder óptico (Grayill modelo 63R256) para medir posiciones angulares, de 256 pulsos por revolución.
- c) Para monitorizar y almacenar las señales procedentes de ambos sensores, se ha utilizado el microcontrolador ATme32u4 (Arduino modelo Leonardo). Este controlador recibe de forma simultánea la señal de bloqueo del haz y los pulsos generados por el encoder, mostrando esta información en pantalla y almacenándola en una tarjeta de memoria SD para su posterior procesado.

- d) Bandeja de transporte de plantas artificiales 3D, simulando una línea de cultivo. Un motor eléctrico unido a un sistema de transmisión permite mover una cadena, a una velocidad lineal de 0,378 m/s, en cuyos eslabones se colocan las plantas artificiales separadas 10 cm entre sí. Las plantas han sido diseñadas en el programa AutoCAD 3D e impresas en la impresora Prusa i3 Hephestos (Mundo Reader S.L., Madrid), el diseño de las mismas ha sido modular, consiguiendo de esta forma la misma geometría de todas las plantas para su estudio en laboratorio (Figura 1).

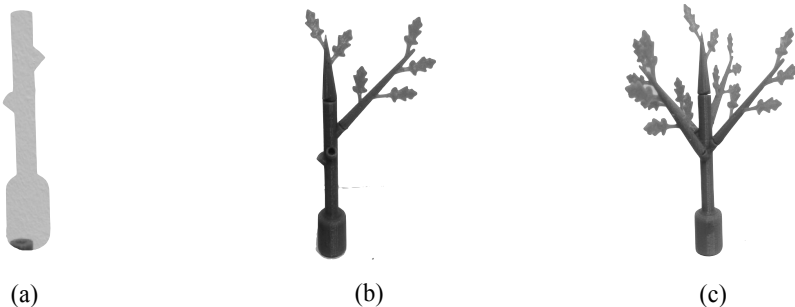


Figura 1. Planta modular 3D utilizada para su detección en laboratorio.

Plataforma de Ensayos de Campo

En las medidas realizadas sobre plantas reales (en campo) se ha utilizado el mismo detector óptico y encoder que en laboratorio. Para los ensayos de campo fue diseñada una estructura de arrastre para colocar y ajustar la pareja de sensores a las condiciones de campo (Figura 2).

Para el sistema de adquisición de la plataforma sensorica utilizada en campo, las señales de salida del sensor han sido conectados a un módulo digital bidireccional (NI 9403, National Instruments Co., Austin, Texas, EE.UU.), mientras que la señal del encoder se conectó a un módulo de entradas digitales (NI 9411, National Instruments Co., Austin, Texas, EE.UU.). Ambos módulos se integran en un NI cRIO 9004 (NI 9411, National Instruments Co., Austin, Texas, EE.UU.), y todos los datos se registraron utilizando el programa Labview de National Instruments Co.

Se realizaron medidas en tres líneas de cultivo de tomate, de 20 metros de longitud cada una, las que constituyeron las tres repeticiones del ensayo.

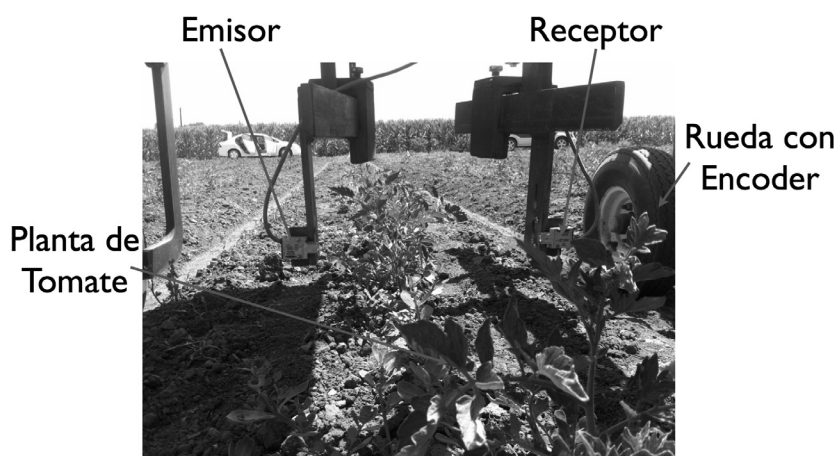


Figura 2. Emisor y receptor fotoeléctrico usado en la plataforma de campo para la detección de plantas de tomate.

Caracterización de la planta con el detector óptico

En el ensayo de laboratorio, la altura efectiva de emisor y receptor fue de 4 cm y la altura de las plantas 3D de 13 cm, en el ensayo de campo el sensor fue colocado a 12 cm del suelo (altura media de plantas reales 19,5 cm) para evitar obstáculos propios del campo (e.g. piedras, pequeños desniveles, etc.). El receptor fue configurado para obtener un pulso TTL de salida en cada ocasión que el haz de luz fuese bloqueado por alguna parte de la planta. Esta forma de trabajar permite monitorizar y, posteriormente, analizar la distancia entre plantas dentro de una misma línea de cultivo. Para el análisis de los datos registrados en el estudio fue empleado el programa Matlab (MATLAB R2015b, The MathWorks, Inc., Natick, MA, EE.UU.).

La calibración del sistema fue llevada a cabo mediante el empleo de 33 plantas artificiales en laboratorio y 122 plantas de tomate reales en campo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados en los ensayos de laboratorio

A modo de ejemplo se muestra las Figuras 3a y 3b del ensayo número 3 llevado a cabo en laboratorio. La Figura 3a muestra las posiciones de las detecciones de los tallos de tomate y la distancia estimada entre ellos. En cada uno de los tres ensayos realizados en laboratorio el 100% de los tallos fueron detectados. No olvidemos que en condiciones de laboratorio

no se encuentran obstáculos en la línea de cultivo, situación que dista de lo que podemos encontrar en campo. La Figura 3b muestra el diámetro del tallo medido para una de las plantas del ensayo 3 de laboratorio, valor medio estimado de diámetro 11,2 mm y el valor real del tallo 10 mm.

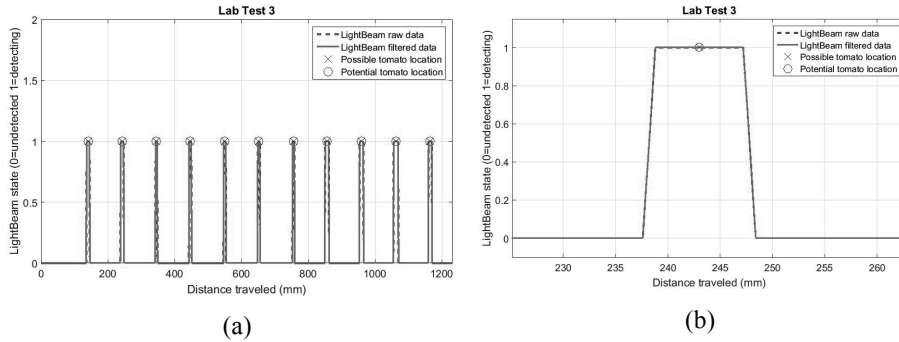


Figura 3. a) Posiciones de los tallos de las 11 plantas en el ensayo de laboratorio número 3 y b) posición media de la planta durante un recorrido de unos 11 mm.

La Figura 4 muestra, para los tres ensayos de laboratorio, el histograma para las distancias estimadas entre tallo y tallo de planta. La distancia media estimada de tallo a tallo para los tres ensayos es 102,5 mm, la distancia real medida entre plantas es de 100,0 mm. La desviación estándar media para los tres ensayos es de 2,2 mm. Si nos centramos en el ensayo 3, último gráfico en la Figura 5, se observa como todas las distancias entre plantas fueron estimadas entre los valores de 100,1 mm y 103,8 mm.

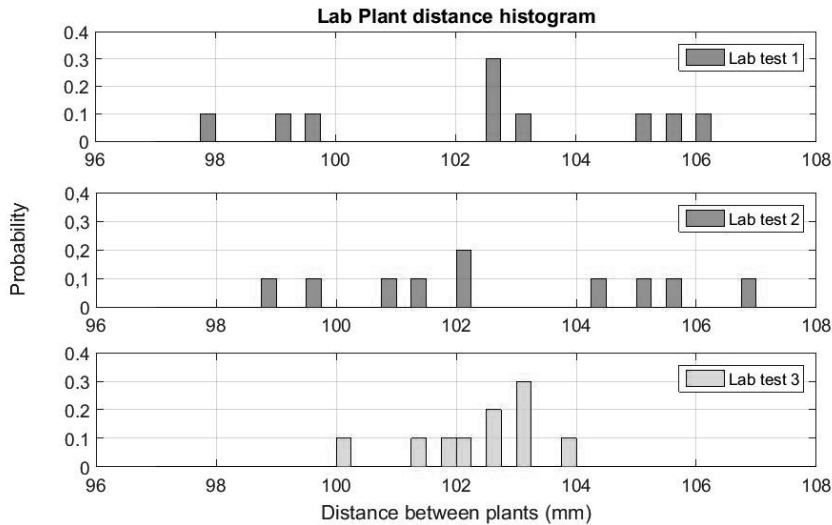


Figura 4. Histograma para las distancias estimadas entre tallo y tallo de planta en laboratorio (mm).

Resultados en los ensayos de campo

A modo de ejemplo se muestra la Figura 5a y 5b del ensayo número uno llevado a cabo en campo. A diferencia de las detecciones realizadas en laboratorio, en los datos registrados y analizados de campo, la distancia determinada entre tallo y tallo presenta mayor variabilidad. Esta variabilidad se produce fundamentalmente por falta de plantas en la línea de cultivo o por encontrar alguna mala hierba muy próxima al tallo de la planta a detectar. En la Figura 5b se observa como se establecen varias posiciones para los posibles candidatos (aspa), siendo la planta potencial sólo una (círculo).

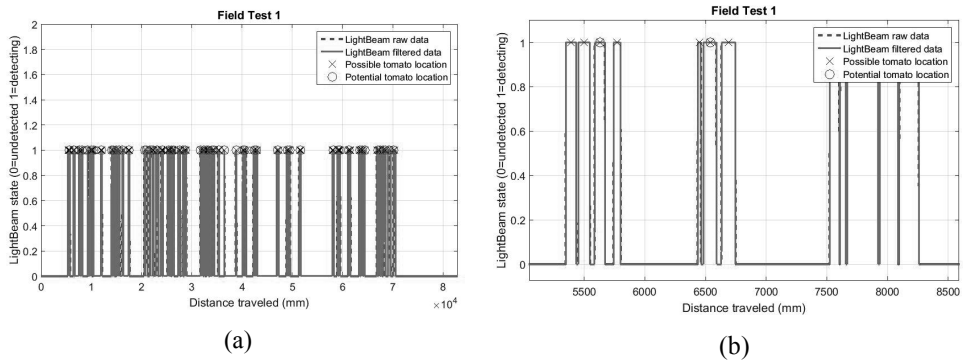


Figura 5. a) Posiciones de los tallos de las 41 plantas en el ensayo de campo número 1 y b) posición de la planta denominada potencial.

En la Tabla 1 se muestra el ensayo de campo número uno. En este ensayo se produjeron 41 detecciones cuando existían 32 plantas reales en la línea de cultivo, esto ha supuesto para este ensayo un error en el número de detecciones del 22%. En cambio en el ensayo número dos se produjeron 32 detecciones de tallos cuando existían 34 plantas reales en la línea, esto significó un 94% de acierto. En el ensayo número tres el acierto fue del 98%.

Tabla 1. Porcentajes de acierto en la detección de tallos en campo.

	Plantas Reales	Plantas Detectadas	% Aciertos
Ensayo 1	32	41	78
Ensayo 2	34	32	94
Ensayo 3	48	49	98

CONCLUSIONES

Estos primeros resultados muestran que el uso de un detector óptico representa una técnica útil para localizar el tallo de plantas en líneas y

estimar con precisión la distancia entre los tallos. Entre otros logros de este trabajo pueden citarse:

- Construir una plataforma sensorica con éxito para los ensayos de laboratorio y de campo, consiguiendo registrar medidas ópticas (detector) y posiciones (encoder) de forma simultanea para una línea de cultivo.
- Alto porcentaje (100%) de tallos detectados con éxito en laboratorio, con un valor bajo de error en la localización y por tanto en la distancia estimada entre tallos.
- Un 90% como porcentaje medio de tallos detectados en campo, con una mayor variabilidad en la estimación de distancia entre tallos de plantas.

El uso de sistemas de detección como este puede dar lugar a un cambio de paradigma que permita el control de la mala hierba en la línea de cultivo de forma más sostenible económica y ambientalmente, y a la completa automatización de la operación. El control preciso de la mala hierba es un reto importante para este grupo constituyendo una de sus principales líneas de investigación.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado dentro de las actuaciones y con la financiación del proyecto Autonómico de Excelencia "P12-AGR-1227". Los autores desean expresar su reconocimiento a todos los participantes del proyecto mencionado y al "Precision Agriculture Laboratory" de la Universidad de Sevilla (<http://grupo.us.es/pal/>).

BIBLIOGRAFÍA

- BROWN RB & NOBLE SD (2005) Site-specific weed management: sensing requirements-what do we need to see? *Weed Science* 53, 252-258.
- CHRISTENSEN S, SOGAARD HT, KUDSK P, NORREMARK M, LUND I, NADIMI ES & JORGENSEN R (2009) Site-specific weed control technologies. *Weed Research* 49, 233-241.
- COPE JS, CORNEY D, CLARK JY, REMAGNINO P & WILKIN P (2012) Plant species identification using digital morphometrics: a review. *Expert Systems with Applications* 39, 7562-7573.

- EHSANI MR, UPADHYAYA SK & MATTSON ML 2004. Seed location mapping using RTK-GPS. *Transactions of the ASAE* 47, 909-914.
- FENNIMORE SA, TOURTE L, RACHUY JS, SMITH RF & GEORGE C (2010) Evaluation and economics of a machine-vision guided cultivation program in Broccoli and Lettuce. *Weed Technology* 24, 33-38.
- NØRREMARK M, SØGAARD HT, GRIEPENTROG HW & NIELSEN H (2007) Instrumentation and method for high accuracy geo-referencing of sugar beet plants. *Computers and Electronics in Agriculture* 56, 130-146.
- PÉREZ-RUIZ M, SLAUGHTER DC, GLIEVER CJ & UPADHYAYA SK (2012) Automatic GPS-based intra-row weed knife control system for transplanted row crops. *Computers and Electronics in Agriculture* 80, 41-49.
- PÉREZ-RUIZ M, GONZALEZ-DE-SANTOS P, RIBEIRO A, FERNÁNDEZ-QUINTANILLA C, PERUZZI A, VIERI M, TOMIC S & AGÜERA J (2015) Highlights and preliminary results for autonomous crop protection. *Computers and Electronics in Agriculture* 110, 150-161.
- SLAUGHTER DC, GILES DK & DOWNEY D (2008) Autonomous robotic weed control systems: a review. *Computers and Electronics in Agriculture* 61, 63-78.
- SUN H, SLAUGHTER DC, PÉREZ-RUIZ M, GLIEVER C, UPADHYAYA SK & SMITH RF (2010) RTK GPS mapping of transplanted row crops. *Computers and Electronics in Agriculture* 71, 32-37.
- WEISS M & SÖKEFELD M (2010) Chapter 8: Detection and identification of weeds. In: Oerke E-C et al. (eds) Precision crop protection – the challenge and use of heterogeneity. Springer, Dordrecht, pp 119-134.

A WEED MONITORING SYSTEM USING UAV-IMAGERY AND THE HOUGH TRANSFORM

Pérez-Ortiz M.^{1*}, Peña J.M.¹, Gutiérrez P.A.², Torres-Sánchez J.¹,
Hervás-Martínez C.², López-Granados F.¹

¹*Institute for Sustainable Agriculture, CSIC, P.O. Box 4084,
14080 Córdoba.*

²*Department of Computer Science and Numerical Analysis,
University of Córdoba, Rabanales Campus, C2 building,
14004 Córdoba, Spain.*

*mperezortiz@ias.csic.es

Summary: Usually, weed-infested crops require the use of herbicides as a useful manner of controlling the quality and quantity of crop production. Although there are weed-free areas, the most common approach is to broadcast herbicides entirely over crop fields, resulting in a potential reduction of profits. Recently, patch spraying has allowed the application of site-specific weed management by using precise and timely weed maps at very early phenological stage obtained either by ground sampling or proximal or remote sensing. Remote imagery from piloted planes and satellites are not suitable for this purpose given their low spatial and temporal resolutions; however, unmanned aerial vehicles (UAV) represent an excellent alternative. This paper presents a new classification framework for weed monitoring via UAV showing promising results and accurate generalisation in different scenarios.

Keywords: Precision agriculture, unmanned aerial vehicles, remote sensing, post-emergence.

Resumen: *Un método para cartografiar malas hierbas mediante imágenes de vehículos aéreos no tripulados y la transformada de Hough.* Las infestaciones de malas hierbas precisan del uso de herbicidas para controlar la calidad y el rendimiento de los cultivos. Aunque las malas hierbas con frecuencia se distribuyen en rodales o agregados, la práctica más extendida es la aplicación de herbicidas en todo el cultivo, resultando en un aumento de los costes. El control localizado de malas hierbas se hace mediante muestreos en campo, detección próxima o teledetección. En este último caso es necesaria la obtención de mapas de emergencias de malas hierbas en fases fenológicas tempranas para utilizarlos para su control en post-emergencia. Las imágenes remotas de aviones pilotados o satélites no son útiles debido a su baja resolución

espacial y temporal. Sin embargo, este no es el caso de los vehículos aéreos no tripulados. Este artículo presenta un nuevo método para monitorización de malas hierbas mediante este tipo de plataformas, mostrando resultados prometedores.

Palabras clave: Agricultura de precisión, drones, teledetección, post-emergencia.

INTRODUCTION

Precision agriculture referred to weed control is usually based on the design of early post-emergence site-specific control treatments according to weed coverage. The development of this type of agricultural approaches has been motivated by the potential economical and environmental risks derived from over application of herbicides. In this sense, the recent inclusion of patch spraying in the treatment equipment has supported the feasibility of using site-specific weed management via the use of weed coverage maps. Weed maps can be obtained either by ground sampling or by proximal or remote detection. However, in early growth stages, the spectral and appearance characteristics of crops and weeds are similar, thus imposing an additional handicap when using remote platforms.

Previous works have mapped weeds at late growth stage (e.g. flowering) using piloted aircrafts or QuickBird satellite imagery (De Castro et al., 2013). However, this technology cannot be applied in early detection because of the poor spatial resolution of the remote data captured. Nonetheless, recently, a new aerial platform has joined the traditional ones, the Unmanned Aerial Vehicle (UAV), which represents a suitable option for this purpose.

In this paper, we study how to combine UAV imagery with a crop row detection method to improve the performance of the classification method, given the spectral similarities of crops and weeds at the early phenological stage. Two sensors (three and six band multispectral cameras) and flight altitudes (30 and 100 meters) are also compared in our experiments. The experiment in this paper is mainly intended to test the difference in performance using the proposed feature based on the Hough transform, as well as to analyse the impact of the flight height and sensor used.

MATERIALS AND METHODS

This section exposes the studied area and the method used for the classification based on pixels performed in this paper.

Study area

The UAV system was tested in a sunflower field situated at the private farm La Monclova (Seville, southern Spain). The sunflower crop was sown at the end of March 2014 at 6 kg ha⁻¹ in rows 0.7m apart, and was naturally infested by the following broadleaved weeds: *Amaranthus blitoides* S. Wats (pigweed), *Sinapsis arvensis* L. (mustard) and *Convolvulus arvensis* L. (bindweed). The set of aerial images were collected on May 15th, just when post-emergence herbicide or other control techniques are recommended. Several visits were periodically made to the field from crop sowing to monitor crop growth and weed emergence and, finally, to select the best moment to take the set of remote images. The sunflower was at the stage of 4-6 leaves unfolded. The weed plants had a similar size or, in some cases, were smaller than the crop plants. An experimental plot of 100 × 100m was delimited within the crop-field to perform the flights. A systematic on-ground sampling procedure was carried out the day of the UAV flights. The procedure consisted of placing 49 square white frames of 1 × 1m distributed regularly throughout the studied surface. Every frame was georeferenced with a GPS and photographed in order to compare on-ground weed infestation and output from image classification. These numbered cards were also utilised as artificial terrestrial targets (ATTs) to perform the imagery orthorectification and mosaicking process. In the course of the UAV flights, a barium sulphate standard spectral panel (Labsphere Inc., North Sutton, NH, USA) of 1 × 1m was also placed in the middle of the field to calibrate the spectral data.

UAV flights, sensors and image preprocessing

A quadcopter platform with vertical take-off and landing, model md4-1000 (microdrones GmbH, Siegen, Germany), was used to collect the set of aerial images over the experimental crop-field (for different altitudes). The whole UAV system consists of the vehicle, the radio control transmitter, a ground station with the software for mission planning and flight control and a telemetry system. Three persons were employed for the secure use of the UAV: a radio control pilot, a ground station operator and a visual observer. Two sensors with different spectral and spatial resolutions were separately mounted on the UAV to be tested in this experiment: a still point-and-shoot camera, model Olympus PEN E-PM1 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan), and a six-band multispectral camera, model Tetracam mini-MCA-6 (Tetracam Inc., Chatsworth, CA, USA). The Olympus camera acquires 12-megapixel images in true colour (Red, R; Green, G; and Blue, B, bands) with 8-bit radiometric resolution and is equipped with a 14-42mm zoom lens. The camera's sensor is 4,032 × 63,024 pixels. The mini-MCA-6 is a lightweight multispectral

sensor composed of six individual digital channels arranged in a 2x3 array. Each channel has a focal length of 9.6mm and a 1.3 megapixel (1, 280 × 61, 024 pixels) resolution. The camera has user configurable band pass filters (Andover Corporation, Salem, NH, USA) of 10-nm full-width at half-maximum and centre wavelengths at B (450 nm), G (530 nm), R (670 and 700 nm), R edge (740 nm) and near-infrared (NIR, 780 nm). These bandwidth filters were selected across the visible and NIR regions with regard to well-known biophysical indices developed for vegetation monitoring (Kelcey & Lucieer, 2012). Different overlapped images were collected for this study to cover the whole experimental field. This is due to UAV images flying at low altitudes (according to Spanish regulation maximum altitude is 120m for UAV < 25kg) that can not cover the whole field, and this causes the need to take a sequence of multiple overlapped (end-lap or lateral-lap and side-lap or longitudinal-lap) images. One of the crucial steps of the image analysis procedure developed in this paper is the combination of these individual images via a process of image orthorectification and mosaicking. The Agisoft Photoscan Professional Edition (Agisoft LLC, St. Petersburg, Russia) software was employed for this task.

Applied method

The classification method developed in this paper is based on the well-known Support Vector Machine paradigm (SVM), a machine learning classifier that has been widely used for remote sensing (Mountrakis et al., 2011). Machine learning classifiers receive a set of training data and construct a model based on these patterns in order to generalise over new unseen data. The first step of the classification process is therefore the selection of a training set. In this case, we consider a very small set of data, in order to alleviate the user intervention and analyse the capabilities of the method in such a situation. More specifically, we have selected a square of 10x10 pixels for each class (soil, weed and crop) for each image considered in the experiments.

The next step of the classification process is to decide the data features to include. The most straight-forward idea would be to use the spectral information of each pixel. This is our first option for the experiments. However, other information could be included as well. In this case, we consider the use of the Hough transform for crop row detection (Duda & Hart, 1972; Comba et al., 2015) for developing a new data feature that helps in the classification. This is motivated by the fact that usually, in early growth stages, the spectral and appearance characteristics of crops and weeds are similar. However, crops are distributed in rows and this information could be then of interest to train a classification model.

The Hough transform is usually computed over binary images. Two vegetation indexes have been selected for this purpose: the excess green vegetation index (ExG) (Woebbecke et al., 1995) for the Olympus camera and the normalised difference vegetation index (NDVI) (Gitelson et al., 2002) for the Tetracam sensor. A thresholding step using the Otsu's algorithm (Otsu, 1979), was applied to binarise these indexes. Then, crop rows are detected using this binary image via the Hough transform. After detecting the crop rows, an unsupervised method was designed to optimize a different threshold to obtain a buffer for these crop rows. This method is based on the use of the ROC curve. After this step, we would have a binary image that indicates whether each pixel belongs to a crop row according to the detected lines and the computed buffer. The new characteristic included in the processing is simply the multiplication of the vegetation index and this feature indicating the belonging to crop rows. In this sense, this new proposed characteristic would differentiate between pixels that lie within and outside crop rows (also considering the vegetation index of these, which is crucial to detect weeds lying within crop rows).

The parameters associated to the SVM classification method and the Hough transform have been cross-validated using a 5-fold procedure. For the evaluation of the results 32 frames of ground truth have been considered for each image. For each frame, the approximate percentages of soil, crop and weed number of pixels have been computed. These percentages will be compared to the ones obtained. In order to evaluate and compare the performance, the Mean Average Error (MAE) is used. The measure is equivalent to the general mean deviation from the expected percentages computed differently for each class. In this case, we only consider the deviation obtained for the weed class.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the results obtained for the experiments considered. Several conclusions can be drawn in this case. Firstly, the flight altitude is an important factor to consider, being the results at 100m worst than the ones at 30m. Secondly, the inclusion of the proposed feature helps to improve the results (i.e., decrease MAE) in all the cases considered. Moreover, the results for each camera do not differ to a great extent, although Tetracam seems to be better suited for greater altitudes. It is also noticeable the good synergy presented by the use of the Tetracam sensor and the proposed feature. However, in this case, the authors consider that the use of the Olympus camera could be more interesting, given the greater cost of the Tetracam sensor. Finally, the general tendency of the results (a mean deviation of 3% from the 32 original weed percentages)

indicates that the use of this approach and the inclusion of very few training information lead to promising results for this crop. This can also be appreciated analysing the results presented in Figure 1.

Table 1. Mean MAE (Mean Absolute Error) results obtained for two sensors, two flight altitudes and two different approaches. Recall that MAE is to be minimised.

Features	Cameras and flight altitudes			
	Olympus		Tetracam	
	30m	100m	30m	100m
Spectral features	0.037	0.252	0.053	0.172
Spectral features + proposed feature	0.032	0.138	0.039	0.042

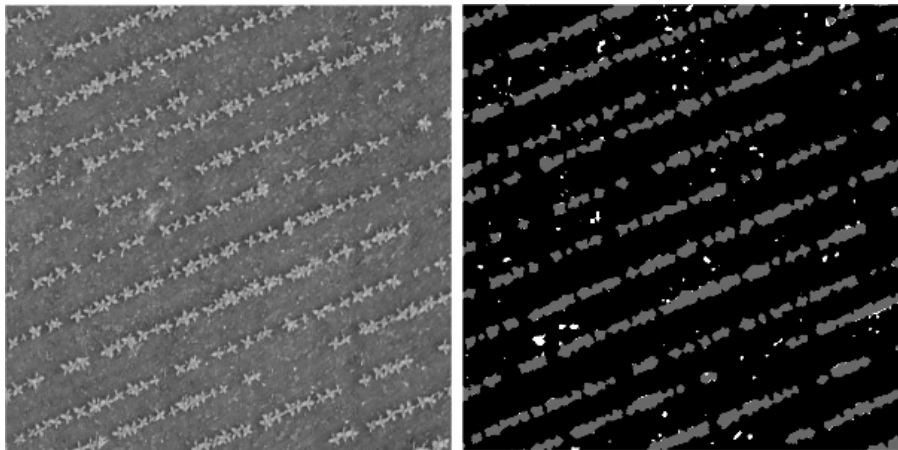


Figure 1. The image in the left part shows a selected part of the experimental field at 30m; the figure on the right shows the classification results obtained by the procedure proposed.

CONCLUSIONS

This paper has explored the use of UAV-imagery for the purpose of weed monitoring in sunflower crops. The proposal of this paper is to complement a well-known classification technique with a crop row detection method. This is based on the assumption that the classification method will benefit from the crop row information, given that the spectral and appearance characteristics of crops and weeds are similar. The results show that such an approach leads to promising results in all the cases considered (two different cameras and flight altitudes), therefore opening a future line of research using the Hough transform for UAV-imagery.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financed by the Recupera 2020 Project (Spanish MI-NECO and EU-FEDER Funds). Research of Mr. Torres-Sánchez and Dr. Peña was financed by the FPI and Ramón y Cajal Programs, respectively. Research of Dr. Gutiérrez and Dr. Hervás-Martínez has been subsidized by the TIN2014-54583-C2-1-R project of the Spanish Ministerial Commission of Science and Technology (MICYT), FEDER funds and the P11-TIC-7508 project of the "Junta de Andalucía" (Spain).

REFERENCES

- COMBA L, GAY P, PRIMICERIO J & AIMONINO DR (2015) Vineyard detection from unmanned aerial system images. *Computers and Electronics in Agriculture* 114, 78-87.
- DE CASTRO AI, LÓPEZ-GRANADOS F & JURADO-EXPÓSITO M (2013) Broad-scale cruciferous weed patch classification in winter wheat using QuickBird imagery for in-season site-specific control. *Precision Agriculture* 14, 392-413.
- DUDA RO & HART PE (1972) Use of the hough transformation to detect lines and curves in pictures. *Communications of the ACM* 15, 11-15.
- GITELSON AA, KAUFMAN YJ, STARK R & RUNDQUIST D (2002) Novel algorithms for remote estimation of vegetation fraction. *Remote Sensing of Environment* 80, 76-87.
- KELCEY J & LUCIEER A (2012) Sensor correction of a 6-band multispectral imaging sensor for UAV remote sensing. *Remote Sensing* 4, 1462-1493.
- MOUNTRAKIS G, IM J & OGOLE C (2011) Support vector machines in remote sensing: A review. *Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 66, 247-259.
- OTSU N (1979) A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics* 9, 62-66.
- WOEBBECKE DM, MEYER GE, VON BARGEN K & MORTENSEN DA (1995) Color indices for weed identification under various soil, residue, and lighting conditions. *Transactions of the ASAE* 38, 259-269.

DETECCIÓN Y TRATAMIENTO PRECISO DE MALAS HIERBAS CON UNA FLOTA DE ROBOTS AUTÓNOMOS AÉREOS Y TERRESTRES

Ribeiro A.^{1*}, Fernández-Quintanilla C.², Dorado J.²,
López-Granados F.³, Peña J.M.³; Pérez-Ruiz M.⁴,
Agüera J.⁵, González-De-Santos P.¹

¹*Centro de Automática y Robótica, CSIC-UPM, Arganda del Rey, España.*

²*Instituto de Ciencias Agrarias, CSIC, Madrid, España.*

³*Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC, Córdoba, España.*

⁴*Dpto. de Ingeniería Aeroespacial y Mecánica de Fluidos,
Universidad de Sevilla, España.*

⁵*Dpto. Ingeniería Rural. Universidad de Córdoba, España.*

* angela.ribeiro@csic.es

Resumen: El proyecto RHEA (Robot Fleets for Highly Effective Agriculture and Forestry Management) financiado por el 7º Programa Marco de la CE se centró en el diseño, desarrollo y evaluación de una nueva generación de sistemas robotizados para el control tanto químico como físico de plagas incluyendo malas hierbas. RHEA abordó las aplicaciones mediante una flota de robots compuesta por vehículos aéreos no tripulados (UAV) y vehículos terrestres no tripulados (UGV), equipados con sistemas avanzados de percepción, aperos inteligentes y algoritmos de toma de decisiones. Este artículo describe aspectos importantes de la arquitectura RHEA y detalla los ensayos llevados a cabo en la Finca Experimental La Poveda del CSIC (Madrid) donde se trató, con el sistema descrito, más del 97% de las zonas infestadas de malas hierbas en dos parcelas de trigo.

Palabras clave: Agricultura de precisión, drones, robots autónomos, teledetección.

Summary: *Detection and accurate treatment of weeds with a fleet of autonomous aerial and ground robots.* The RHEA project (Robot Fleets for Highly Effective Agriculture and Forestry Management) funded by the 7th EC Framework Programme focused on the design, development and assess of a new generation of automated and robotic systems for both chemical and physical management of pests including weed control. RHEA addressed the crop treatments by a reconfigurable

fleet of robots composed by unmanned aerial vehicles (UAV) and unmanned ground vehicles (UGV) equipped with advanced perception systems, intelligent implement and enhanced decision-making algorithms. This paper describes important aspects of the RHEA architecture and details the trials conducted at the Experimental Farm La Poveda (Madrid) where over 97% of the weed infested areas in two wheat crops were treated by the described system.

Keywords: Precision agriculture, drones, autonomous robots, remote sensing.

INTRODUCCIÓN

El control seguro y efectivo de las malas hierbas según los principios preconizados por la Agricultura de Precisión requiere una tecnología específica, avanzada y de coste asumible dentro de los márgenes de beneficio. El uso de plataformas móviles autónomas tanto terrestres como aéreas equipadas con sistemas de percepción innovadores, sistemas inteligentes de toma de decisión y herramientas que permitan la aplicación precisa de los tratamientos herbicidas, reduce el coste asociado a la operación así como los potenciales daños ambientales y el riesgo para los agricultores. Varios son los grupos internacionales de investigación dedicados al desarrollo de tecnología robótica capaz de optimizar las operaciones complejas implicadas en un tratamiento de precisión.

El desarrollo de sistemas autónomos de ayuda al control preciso de malas hierbas es el objetivo principal del proyecto RHEA (Robot Fleets for Highly Effective Agriculture and Forestry Management), financiado por el 7º Programa Marco de la CE y dirigido a minimizar los insumos (agroquímicos, combustible, etc.) a la vez que se garantiza la calidad y seguridad del producto así como la cobertura total del campo independientemente del tamaño que éste tenga. RHEA propone utilizar una flota de robots pequeños/medianos tanto aéreos como terrestres para la inspección/monitorización y posterior aplicación de fitosanitarios, lo que presenta múltiples ventajas frente al tratamiento basado en una máquina de mayores dimensiones más tradicional. Entre otras, una flota de robots de tamaño pequeño/mediano reduce el impacto sobre la compactación del suelo e interactúa de un modo más seguro con los operarios ya que la detección e interacción se puede distribuir en varios sistemas de detección y gestión de fallos. Además, con un buen método de planificación (Conesa et al., 2012) es posible determinar el número óptimo de vehículos para cubrir con coste mínimo un área concreta, o determinar un nuevo plan de ruta para los vehículos en el caso de que alguno de ellos falle. Esta capacidad de planificación convierte la propuesta en escalable o lo que

es lo mismo, la dimensión de la flota se adapta fácilmente al tamaño del campo y las necesidades de las tareas a realizar.

A continuación se describen los aspectos más importantes de los módulos que integran la arquitectura RHEA y se presenta un resumen de los resultados de los ensayos de campo llevados a cabo en enero y mayo de 2014 en la Finca Experimental La Poveda (CSIC, Madrid).

MATERIAL Y MÉTODOS

En RHEA se consideran dos tipos de misiones: 1) de *inspección/monitorización* realizadas por los UAV (en inglés *unmanned aerial vehicles*) de la flota, cuyo objetivo es la captura de un número suficiente de imágenes aéreas que permita la construcción posterior del mapa de distribución de malas hierbas y 2) de *aplicaciones* llevadas a cabo por los UGV (en inglés *unmanned ground vehicles*) de la flota y cuyo objetivo es la realización de un tratamiento preciso basado en los mapas previos de infestación de malas hierbas obtenidos con los UAVs (percepción remota) o en la información suministrada en tiempo real por el equipo de percepción a bordo de los UGVs. El enfoque es generalista abordando tres tipos de escenarios: la pulverización de precisión de malas hierbas en cultivos de cereal, el control térmico y mecánico de las malas hierbas en cultivos de maíz y la pulverización de árboles, en particular de olivos.

RHEA está constituido principalmente por seis subsistemas que se organizan de forma jerárquica (véase Figura 1): 1) La *Interfaz Gráfica de Usuario (GUI)*, que permite al operador definir la misión y controlar la flota de robots. 2) El *Director de Misiones*, que establece el plan de rutas y las actuaciones tanto para los vehículos aéreos como terrestres (en la Figura 1 *Planificador Aéreo* y *Planificador Terrestre*) y gestiona el control automático de los vehículos autónomos, aéreos y terrestres, supervisándolos durante la misión (en la Figura 1 *Supervisor de Misión de Inspección* y *Supervisor de Misión de Tratamiento*). Tanto el subsistema *GUI* como el subsistema *Director de Misiones*, que son la parte superior de la jerarquía, están alojados en un ordenador que se encuentra en la *Estación Base*. 3) Las *Unidades Móviles*, vehículos tanto aéreos como terrestres no tripulados (UAVs y UGVs) controlados por sistemas inteligentes de toma de decisiones de alto nivel (*AUHLC* para los UAVs y *HLDMS* para los UGVs) (Emmi et al., 2014). 4) Los *Aperos* transportados por los UGVs, que pueden realizar un control térmico-mecánico (Frasconi et al., 2014) o químico de las malas hierbas (Pérez- Ruiz et al., 2014) o una aplicación de plaguicidas dirigida a árboles. 5) *Sistemas de Percepción* tanto los embarcados en los UAVs, encargados de la recogida de las imágenes aéreas (Torres-Sánchez et al., 2014), como los que van a bordo de los UGVs, responsables de la detección de las malas hierbas en

tiempo real, de los obstáculos así como de las líneas de cultivo que son la base de la navegación autónoma de los UGV en cultivos como el maíz (Guerrero et al., 2012). 6) *Sistemas de Localización y Comunicaciones* (Drenjanac et al., 2014), que proporcionan la ubicación de las unidades móviles a partir de receptores GNSS-RTK y que gestionan el intercambio de información entre los equipos fijos y móviles.

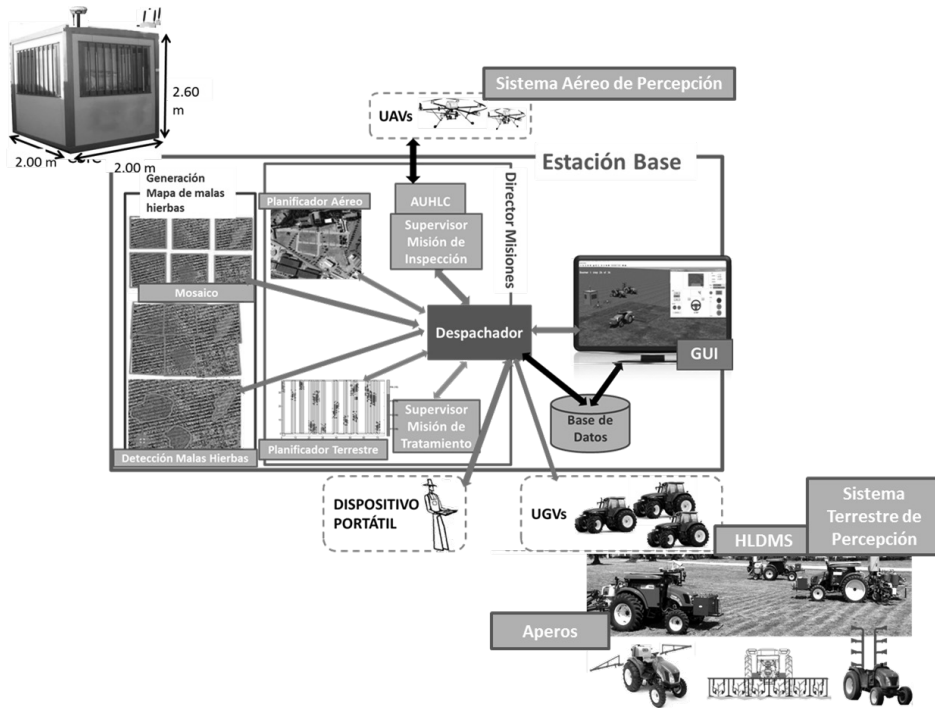


Figura 1. Esquema que describe la arquitectura de RHEA: Subsistemas principales y la interconexión entre ellos.

Otros módulos de interés mostrados en la Figura 1 son: el *Dispositivo Portátil*, especialmente útil en la reparación de vehículos en campo ya que permite la monitorización y el control de la flota a pie de máquina, y el *Despachador*, encargado de gestionar las solicitudes realizadas por el operario, es decir las ordenes que proviene de la *GUI* o del *Dispositivo Portátil*, transmitiéndolas al correspondiente módulo especializado de la arquitectura RHEA.

Los ensayos llevados a cabo tenían por objeto la evaluación principalmente de dos aspectos: 1) la precisión de la operación de pulverización (velocidad de aplicación 8 km h^{-1} y el volumen de agua de 200 L ha^{-1}) y 2) la desviación de las trayectorias de los UGVs del plan de ruta establecido.

Para evaluar el primer aspecto, se establecieron artificialmente nueve rodales de malas hierbas en un cultivo de trigo de invierno, sembrando semillas de mostaza en cuadrados de 9 m² y protegiendo estos cuadrados con una lámina de plástico cuando se realizaban los tratamientos herbicidas necesarios para mantener el resto de la superficie libre de malas hierbas. En cada rodal se distribuyeron cinco tiras de 10 cm de ancho de papel blanco, en la dirección de la marcha del UGV y dispuestas en paralelo con una separación de 1 metro, es decir, tres tiras dentro y dos fuera del rodal. El objetivo era medir con precisión centimétrica el desplazamiento de la zona de pulverización debido al retraso en la apertura/cierre de las boquillas, así como estimar los porcentajes de las áreas objetivo; tanto pulverizadas como no pulverizadas. Asimismo se distribuyeron al azar un total de 100 etiquetas de papel de 10 cm × 10 cm para comprobar que no se pulverizaban zonas que no fuesen objetivo, es decir las no infestadas. La pulverización la realizaba un UGV que transportaba el equipo de pulverización accionándolo en función de un plan (ruta y ordenes de apertura/cierre de boquillas) elaborado por el *Planificador Terrestre* a partir del mapa de distribución de malas hierbas obtenido con los UAVs (misión de inspección). Para la evaluación de la precisión del tratamiento se aplicó agua teñida con un colorante azul, lo que permitía definir claramente las zonas tratadas.

Para medir la desviación del plan de ruta establecido por el *Planificador*, la trayectoria objetivo o de referencia se marcó con una cinta blanca de 80 m que conectaba dos extremos de la parcela y la trayectoria realmente seguida por el UGV se extrajo de la huella producida por las ruedas durante el recorrido. Se realizaron dos mediciones en dos momentos diferentes, registrando la distancia entre trayectorias (referencia y real) en 24 puntos separados 3 m (prueba 1) y en 16 puntos separados 5 m (prueba 2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados muestran que se pulverizó más del 97% de las áreas objetivo (rodales de malas hierbas) aunque se observaron ligeros retrasos en la apertura y cierre de las boquillas en los bordes de los rodales (Figura 2a). Una aplicación que garantice un tratamiento efectivo tiene que corregir el ligero retraso en la apertura a fin de evitar que una parte de rodal quede sin tratar, esto se puede lograr adelantando la orden de apertura considerando las limitaciones del equipo y evitando utilizar más herbicida.

En cuanto a las trayectorias, la Figura 2b muestra que el vehículo autónomo siguió con gran precisión la trayectoria sin apenas desviarse del plan de ruta establecido. Teniendo en cuenta que las continuas correcciones de la trayectoria del vehículo deben hacerse en tiempo real, se

observaron desviaciones inferiores a 7 cm en las medidas comprendido entre los percentiles 25 y 75 respecto a la trayectoria definida en las dos pruebas realizadas.

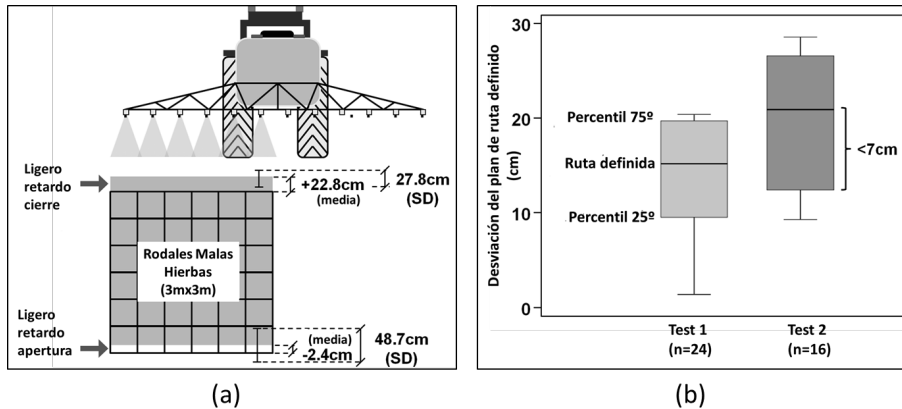


Figura 2. (a) Precisión en la apertura y cierre de las boquillas de pulverización de herbicida respecto al área objetivo. (b) Diferencias en las dos pruebas realizadas entre trayectoria real seguida por el vehículo y la trayectoria establecida.

La flota se evaluó también en otros dos escenarios: 1) El control físico de malas hierbas en maíz con la detección en tiempo real de la infestación a partir de una cámara RGB situada en la parte delantera del robot. En este escenario, en la zona entre hileras se realizó un control mecánico no selectivo (cultivador) y dentro de la hilera un control térmico selectivo, consistente en quemadores de gas de petróleo licuado (LPG) que actuaban cuando se detectaba la infestación. 2) La aplicación de plaguicidas en olivos como ejemplo de la utilización de la flota en el tratamiento de árboles.

Por último para probar el buen funcionamiento cooperativo de los vehículos terrestres, en cada tipo de tratamiento uno de los vehículos transportaba el apero adecuado mientras que los otros dos vehículos se movían simulando la realización del tratamiento. Los resultados mostraron que los tres tractores autónomos eran capaces de trabajar juntos siguiendo los planes de ruta establecidos, con la supervisión continua del *Director de Misiones* que detectaba y resolvía las situaciones de conflicto (Conesa-Muñoz et al., 2015).

En la página web del proyecto RHEA (www.rhea-project.eu/) se pueden encontrar videos de los dos días de demostración realizadas en enero y mayo de 2014.

A la vista de los resultados se puede concluir que los prototipos diseñados, desarrollados y evaluados muestran la validez de un nuevo concepto

que propone la aplicación de una flota de robots autónomos aéreos y terrestres de pequeña/mediana envergadura que colaboran para lograr un tratamiento preciso de malas hierbas.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto financiado por el 7º Programa Marco de la Unión Europea (Grant Agreement No. 245986). Agradecimiento a todos los socios de RHEA: CSIC (España), CogVis (Austria), FTW (Austria), Cyberbotics (Suiza), Universidad de Pisa (Italia), Universidad Complutense de Madrid (España), Tropical (Grecia), Soluciones Agrícolas de Precisión, S.L. (España), Universidad Politécnica de Madrid (España), AirRobot (Alemania), Universidad de Florencia (Italia), IRSTEA (Francia), CNH (Bélgica), Bluebotics (Suiza) y CM (Italia).

BIBLIOGRAFÍA

- CONESA-MUÑOZ J, RIBEIRO A, ANDUJAR D, FERNANDEZ-QUINTANILLA C & DORADO J (2012) Multi-path planning based on a NSGA-II for a fleet of robots to work on agricultural tasks. In: 2012 IEEE Congress on Evolutionary Computation, CEC 2012 n. 6256629.
- CONESA-MUÑOZ J, GONZALEZ-DE-SOTO M, GONZALEZ-DE-SANTOS P & RIBEIRO A (2015) Distributed multi-level supervision to effectively monitor the operations of a fleet of autonomous vehicles in agricultural tasks. *Sensors* 15, 5402-5428.
- DRENJANAC D, TOMIC S, AGÜERA J & PEREZ-RUIZ M (2014) Wi-fi and satellite-based location techniques for intelligent agricultural machinery controlled by a human operator. *Sensors* 14, 19767-19784.
- EMMI L, GONZALEZ-DE-SOTO M, PAJARES G & GONZALEZ-DE-SANTOS P (2014) Integrating sensory/actuation systems in agricultural vehicles. *Sensors* 14, 4014-4049.
- FRASCONI C, MARTELLONI L, FONTANELLI M, RAFFAELLI M, EMMI L, PIRCHIO M & PERUZZI A (2014) Design and full realization of physical weed control (PWC) automated machine within the RHEA project. In: 2nd International Conference on Robotics and associated High-technologies and Equipment for Agriculture and forestry (RHEA 214) 3-11.
- GUERRERO JM, PAJARES G, MONTALVO M, ROMEO J & GUIJARRO M (2012) Support Vector Machines for crop/weeds identification in maize fields. *Expert Systems with Applications* 39, 11149-11155.

PEREZ-RUIZ M, GONZALEZ-DE-SANTOS P, RIBEIRO A, FERNANDEZ-QUINTANILLA C, PERUZZI A, VIERI M, TOMIC S & AGÜERA J (2014) Highlights and preliminary results for autonomous crop protection. *Computers and Electronics in Agriculture* 110, 150-161.

TORRES-SÁNCHEZ J, PEÑA JM, DE CASTRO AI & LÓPEZ-GRANADOS F (2014) Multi-temporal mapping of the vegetation fraction in early-season wheat fields using images from UAV. *Computers and Electronics in Agriculture* 103, 104-113.

DETECCIÓN AUTOMÁTICA DE VEGETACIÓN EN ESTADO DE PLÁNTULA EN IMÁGENES PROCEDENTES DE UN VEHÍCULO AÉREO NO TRIPULADO (UAV): APLICACIÓN PARA LA DISCRIMINACIÓN DE MALAS HIERBAS

Torres-Sánchez J.*, Peña J.M., Serrano-Pérez Á., López-Granados F.

*Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC),
Apdo. 14004, Córdoba, España.*

**jtorres@ias.csic.es*

Resumen: Investigaciones recientes han demostrado la capacidad de las imágenes procedentes de vehículos aéreos no tripulados (UAV) para la cartografía de malas hierbas en fase de plántula, entre otros usos. El primer paso para su detección es la discriminación de suelo desnudo y vegetación (malas hierbas + cultivo). Para ello, es necesario definir un método que calcule automáticamente el umbral óptimo del índice de vegetación que facilita su detección. Uno de los métodos de cálculo de umbrales más extendido es el método de Otsu. Se presenta la adaptación de este método a un entorno de análisis de imagen orientado a objetos para su utilización en imágenes UAV de girasol, maíz y trigo tomadas con dos sensores de distinto rango espectral a bordo de un UAV. Se obtuvieron valores de R^2 en torno a 0,7 para la relación entre la vegetación observada y la detectada automáticamente.

Palabras clave: Índices de vegetación, sensores remotos, teledetección, multispectral, segmentación, aplicación localizada de herbicidas.

Summary: *Automatic detection of vegetation in early season for weed detection in UAV images.* Recent research has demonstrated the ability of Unmanned Aerial Vehicle (UAV) images for weed mapping in early season. First step is the discrimination between bare soil and vegetation (weeds + crop) throughout the definition of a method for optimal thresholding of the vegetation indices that allows vegetation detection. One of the best known thresholding procedures is the Otsu's method. The adaptation of this method to an Object-based image analysis framework is presented for its application for vegetation detection in UAV images acquired over sunflower, maize and wheat crops. R^2 values about 0.7 were achieved for the regression between observed and automatically detected vegetation.

Keywords: Vegetation indices, sensors, remote sensing, multispectral, segmentation, SSWM.

INTRODUCCIÓN

Investigaciones recientes han demostrado la idoneidad de las imágenes procedentes de vehículos aéreos no tripulados (UAVs, por las siglas en inglés de *Unmanned Aerial Vehicle*) para la detección tanto de especies invasoras como de malas hierbas en cultivos (Peña et al., 2013; Hung et al., 2014), incluso en condiciones difíciles como la fase de plántula, en que la mala hierba y el cultivo son difícilmente diferenciables. La idoneidad de esta tecnología se justifica por diferentes causas: 1) las imágenes pueden ser tomadas con el UAV en el momento en que sea necesario, lo que permite adaptarse muy bien a las condiciones del cultivo; 2) al poder realizarse vuelos a baja altura las imágenes tienen una alta resolución espacial, haciendo posible la detección de las plantas incluso en sus fases más tempranas de crecimiento; y 3) el desarrollo de técnicas de análisis de imagen orientado a objetos (OBIA, por las siglas en inglés de *Object Based Image Analysis*), que posibilitan mediante la agrupación de píxeles en "objetos", un adecuado manejo de la elevada cantidad de información presente en las imágenes de alta resolución espacial, y una mayor precisión en las clasificaciones que la obtenida usando el análisis basado en píxeles (Blaschke, 2010).

Uno de los primeros pasos para la detección de malas hierbas en estado de plántula mediante el análisis de imágenes UAV es la discriminación de la vegetación (malas hierbas + cultivo), a partir de la cual se discriminan las malas hierbas en pasos posteriores. La detección de la vegetación se realiza mediante el uso de índices de vegetación, que son combinaciones matemáticas de los valores espectrales procedentes de las imágenes. Para separar el suelo de la vegetación es necesario encontrar el valor del índice que discrimina entre las dos clases. Por tanto, para conseguir la total automatización de los algoritmos de clasificación de malas hierbas, es necesario definir un método que calcule automáticamente el umbral, es decir, el valor óptimo del índice para la discriminación entre vegetación y suelo desnudo. Uno de los métodos de cálculo de umbrales más extendido en el análisis de imagen es el método de Otsu (1979). Por tanto, en el presente trabajo se presenta la adaptación de este método a un entorno OBIA para la detección de vegetación en imágenes procedentes de UAV con el objetivo final de discriminar las malas hierbas en cultivos de girasol, maíz y trigo en estado de plántula.

MATERIAL Y MÉTODOS

UAV y sensores

El UAV empleado fue un multirrotor MD4-1000, con capacidad para llevar acoplado un sensor de hasta 1,25 kg y una autonomía de vuelo de 45 minutos. Este modelo de despegue y aterrizaje vertical está dotado de un receptor GNSS que le permite volar de manera automática siguiendo una ruta previamente programada por el piloto. El sistema de manejo del UAV incluye una emisora de radiocontrol, una estación base para recepción de datos de telemetría, así como un paquete de software para diseño de rutas, configuración del vehículo e interpretación de la telemetría. A bordo del UAV se instalaron por separado dos sensores para sendas evaluaciones, una cámara convencional Olympus PEN E-PM1 y una cámara multispectral Mini-MCA, con el fin de comprobar la influencia de la altura de vuelo sobre la resolución espacial de las imágenes obtenidas con dichos sensores. La cámara Olympus tiene un sensor de 12 Megapíxeles y registra imágenes en rango visible (canales rojo, verde y azul). La cámara Mini-MCA es un sensor multispectral formado por 6 objetivos o sensores CMOS con una resolución de 1,3 Megapíxeles. Cada uno de los objetivos lleva acoplado un filtro para captar información en un rango de 10 nm en torno a seis longitudes de onda, de manera que se obtienen datos espectrales en las siguientes bandas: azul (450 nm), verde (530 nm), rojo (670 y 700 nm), rojo límite (740 nm) e infrarrojo cercano-NIR (780 nm). De estas seis bandas, tres se usaron para componer imágenes con falso color compuestas por los canales infrarrojo, rojo y verde. Más detalles de la configuración del UAV y los sensores consultar Torres-Sánchez et al. (2013).

Área de estudio

El ensayo fue realizado en la finca pública dedicada a la investigación "Alameda del Obispo" (Córdoba) en un área de 250 m². Se tomaron imágenes a 30 m de altura con los dos sensores sobre cultivos herbáceos de invierno y verano infestados de manera natural por malas hierbas: girasol, maíz, y trigo. Esta altura resultó en un tamaño de píxel de 1,14 cm para la cámara visible y de 1,63 cm para la multispectral. En el momento de la adquisición de las imágenes (29/01/12 para trigo, y 04/06/12 para girasol y maíz) los cultivos estaban en el estado 1 de la escala BBCH (Meier, 2001). Las diferencias entre sensores, la distancia entre hileras de cultivo (17, 70 y 75 cm para trigo, girasol y maíz, respectivamente) y la diversidad de malas hierbas infestantes (dos monocotiledóneas, *Phalaris* spp y *Lolium rigidum*; y una dicotiledónea, *Convolvulus arvensis*) permitieron la validación del algoritmo dada la variedad de escenarios considerados.

Funcionamiento del algoritmo

El algoritmo presentado es una adaptación a un entorno OBIA del método de cálculo de umbrales de Otsu. Éste ha sido usado con anterioridad en la discriminación de vegetación en imágenes agrícolas (Guijarro et al., 2011; Torres-Sánchez et al., 2014), pero no en entorno OBIA. Este método de cálculo de umbrales se basa en métodos estadísticos que determinan el valor de referencia que mejor separa dos clases en una imagen. Partiendo de un valor inicial, el método va probando de forma iterativa sucesivos valores para clasificar la imagen calculando para cada uno de ellos la varianza de las dos clases resultantes y un parámetro conocido como *varianza entre clases* que cuantifica cómo de diferentes son. A lo largo de este proceso iterativo se busca el valor umbral que maximice la varianza entre clases a la vez que reduce al mínimo la varianza dentro de las dos clases resultantes. Este proceso iterativo de prueba de valores umbral y cálculo de varianzas se programó en forma de bucle dentro del software eCognition 8.9 (Trimble GeoSpatial, Múnich, Alemania).

Validación del algoritmo

El algoritmo se utilizó para calcular el valor necesario para clasificar los cultivos en las imágenes tomadas en los tres cultivos utilizando dos índices de vegetación. Los índices utilizados fueron ExG (Ecuación 1) para la cámara visible y NDVI (Ecuación 2) para la cámara multi-espectral, dichos índices en el espectro visible y el infrarrojo han sido ampliamente utilizados en la detección de vegetación (Woebbecke et al., 1995).

$$ExG = 2g - r - b; \text{siendo } g = \frac{G}{R + G + B}; r = \frac{R}{R + G + B}; b = \frac{B}{R + G + B} \quad (1)$$

$$NDVI = \frac{NIR - R}{NIR + R} \quad (2)$$

Antes de aplicar el algoritmo a cada una de las imágenes, éstas fueron segmentadas mediante eCognition ajustando los parámetros para obtener objetos cuya forma y dimensiones se ajustaran a las plantas de girasol, maíz, y trigo. Finalmente se comparó el porcentaje de área cubierto por vegetación detectado por el algoritmo con el porcentaje observado delineando manualmente la vegetación sobre la imagen en 30 zonas de 1 m².

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra la representación gráfica de la comparación entre la vegetación detectada automáticamente y la observada de manera manual, así como los parámetros definitorios de las regresiones lineales entre dichos valores. Con excepción de la clasificación del maíz en la imagen con infrarrojo y del trigo en la imagen convencional o visible, todos los coeficientes de regresión son $\geq 0,7$, llegando a alcanzarse un valor de 0,84 y 0,80 para el girasol en la imagen convencional y la infrarroja respectivamente. Estos resultados son satisfactorios ya que en la mayoría de los casos la discriminación de la vegetación es correcta, si bien R^2 a veces es más bajo por datos anómalos que pueden deberse a fallos en la hilera de siembra. También se constata que incluso en los casos con menor R^2 , el RMSE tiene un valor reducido (10,02 en el mayor caso). El hecho de que los mejores resultados se produzcan en girasol se debe a que la planta es mayor que el trigo y tiene una forma más compacta que el maíz, lo que provoca que la segmentación de imágenes de girasol genere objetos mejor ajustados a la forma de la planta y por tanto más fácil de detectar. La Figura 2 muestra varias ilustraciones de las clasificaciones conseguidas en las imágenes analizadas de los diferentes cultivos.

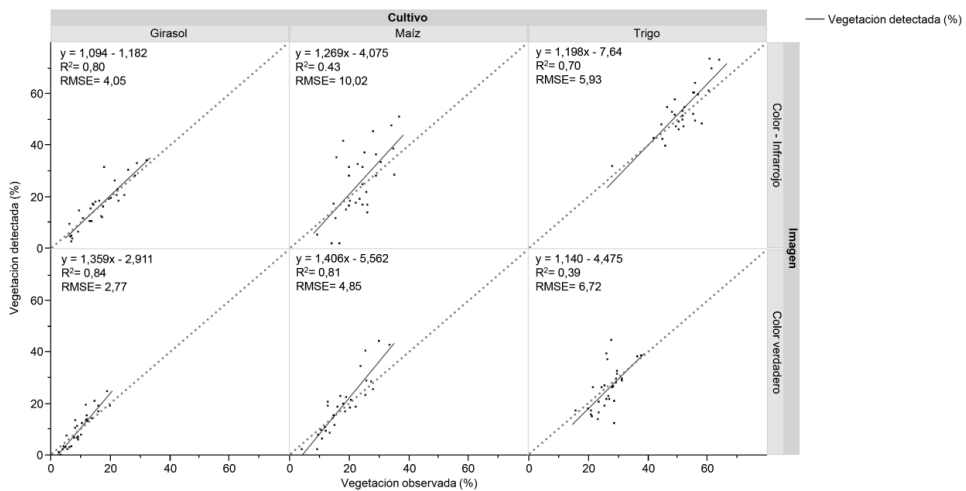


Figura 1. Relación entre la vegetación observada en la clasificación manual y la detectada por el algoritmo automático de cálculo de umbrales para girasol, maíz y trigo en los dos tipos de imagen. La línea sólida representa la recta de regresión ajustada, la discontinua representa la línea 1:1.

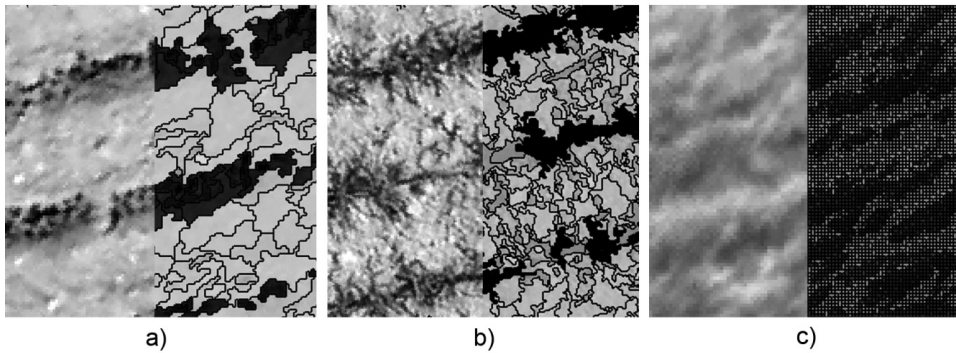


Figura 2. Muestras de la imagen original y la segmentación clasificada usando los umbrales calculados de manera automática por el algoritmo para girasol (a), maíz (b), y trigo (c).

Estos resultados indican que la clasificación automática de vegetación en imágenes aéreas-UAV de cultivos herbáceos se puede llevar a cabo de manera precisa, lo que permite la automatización de otros procesos en los que la discriminación de vegetación sea un paso previo crucial como ocurre con la detección de malas hierbas. Otro hecho que avala la posible integración del método presentado en análisis más complejos es que el proceso de cálculo de umbral se llevó a cabo de manera rápida, tardando en todos los casos salvo en el trigo menos de 1 s en un ordenador convencional. En el caso del trigo en la imagen con infrarrojo el proceso requirió de 33 s debido a que los objetos generados para adaptarse al cultivo eran muy pequeños y por tanto abundantes lo que requiere un incremento del tiempo.

CONCLUSIONES

El algoritmo desarrollado para la detección automática de vegetación en imágenes de cultivos herbáceos tomadas con UAV permite la total automatización de la clasificación de vegetación de cara a la posterior discriminación de malas hierbas en cultivos herbáceos en estado de plántula. Asimismo ha demostrado ser robusto, fiable y rápido, lo que permite su implementación en los complejos algoritmos que se requieren para detección de malas hierbas en cultivos herbáceos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el proyecto AGL2014-52465-C4-4-R MINECO-FEDER. La investigación de Jorge Torres Sánchez y José Manuel Peña Barragán fue financiada por los programas FPI y Ramón y Cajal, respectivamente.

BIBLIOGRAFÍA

- BLASCHKE T (2010) Object based image analysis for remote sensing. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing* 65, 2-16.
- GUIJARRO M, PAJARES G, RIOMOROS I, HERRERA PJ, BURGOS-ARTIZU XP & RIBEIRO A (2011) Automatic segmentation of relevant textures in agricultural images. *Computers and Electronics in Agriculture* 75, 75-83.
- HUNG C, XU Z & SUKKARIEH S (2014) Feature learning based approach for weed classification using high resolution aerial images from a digital camera mounted on a UAV. *Remote Sensing* 6, 12037-12054.
- MEIER U (2001) BBCH Monograph: Growth stages for mono- and dicotyledonous plants. Berlin: *Blackwell Wiss.-Verlag*.
- OTSU N (1979) A Threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics* 9, 62-66.
- PEÑA JM, TORRES-SÁNCHEZ J, DE CASTRO AI, KELLY M & LÓPEZ-GRANADOS F (2013) Weed mapping in early-season maize fields using object-based analysis of Unmanned Aerial Vehicle (UAV) Images. *PLoS ONE* 8, e77151.
- TORRES-SÁNCHEZ J, LÓPEZ-GRANADOS F, DE CASTRO AI & PEÑA-BARRAGÁN JM (2013) Configuration and specifications of an Unmanned Aerial Vehicle (UAV) for early site specific weed management. *PLoS ONE* 8, e58210.
- TORRES-SÁNCHEZ J, PEÑA JM, DE CASTRO AI & LÓPEZ-GRANADOS F (2014) Multi-temporal mapping of the vegetation fraction in early-season wheat fields using images from UAV. *Computers and Electronics in Agriculture* 103, 104-113.
- WOEBBECKE DM, MEYER GE, VON BARGEN K & MORTENSEN DA (1995) Color indices for weed identification under various soil, residue, and lighting conditions. *Transactions of the ASAE* 38, 259-269.