

## ESTIMACIÓN DEL ESTADO NITROGENADO DE PLANTAS DE FRESA A PARTIR DE SU RESPUESTA ESPECTRAL

### ESTIMATING NITROGEN STATUS OF STRAWBERRY PLANTS FROM ITS SPECTRAL RESPONSE

Ma. Luisa España Boquera\*, Luis López-Pérez, Vilma del Carmen Castellanos Morales y Raúl Cárdenas-Navarro

Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF), Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). Morelia, Mich., México. Km. 9.5 Carr. Morelia-Zinapécuaro Unidad Posta Zootécnica. Tarímbaro, Mich. Tel. y Fax: 01 (443) 295-8324.

\*Autor para correspondencia (boquera@zeus.umich.mx)

#### RESUMEN

La fertilización nitrogenada aportada al cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) en Michoacán (México), excede con mucho las necesidades reales de las plantas, por lo que supone un gasto de producción excesivo y causa, además, graves problemas ambientales. Para optimizar el suministro de fertilizantes es necesario monitorear su estado de nutrición nitrogenada, lo cual se puede hacer con medidas espectrales que son rápidas, no destructivas y fáciles de automatizar. A partir de los espectros de hojas de plantas de fresa cultivadas en hidroponía con tres niveles de fertilización nitrogenada (0.1, 3 y 20 mM de N), se calcularon índices de vegetación en cuatro fechas de muestreo, y la correlación con los contenidos de nitrógeno y clorofila, así como con biomasa, área y densidad foliares. Las plantas cultivadas con 3 mM de N presentaron mejor desarrollo que las cultivadas con 0.1 mM de N, que mostraron un crecimiento más lento; las plantas con 20 mM de N presentaron un desarrollo similar al de las plantas con 3 mM de N. Entre los índices de vegetación calculados, las mejores correlaciones con el contenido de N en la materia seca, las presentaron la reflectancia en el verde (R550), el MTCI (MERIS Terrestrial Chlorophyll Index) y el REP (Red Edge Position), si bien este último presenta problemas de saturación.

**Palabras clave:** *Fragaria x ananassa* Duch., clorofila, respuesta espectral foliar, nitrógeno.

#### SUMMARY

Application of nitrogen fertilizer to strawberry crop in Michoacan (Mexico) exceeds its requirements, increasing production costs and causing serious environmental problems. In order to adjust nitrogen fertilization to achieve maximum plant yield without exceeding nitrogen requirements, it is crucial that plant nitrogen status be closely and accurately monitored. Contrary to traditional nitrogen analysis methods, the estimation of plant nitrogen status from its spectral response is quick, non destructive and easy of automate. Several vegetation indices were calculated from the leaf spectrum of plants cultivated in a hydroponic system with three level of nitrogen fertilization (0.1, 3 and 20 mM N), and four sampling dates. The

Pearson correlation analysis was used to determine significant relationships among foliar nitrogen content, chlorophyll, biomass, and leaf area and density. Nitrogen fertilization at 3 and 20 mM nitrogen showed comparative stable growth, whereas plants biomass was decreased at 0.1 mM nitrogen. Among calculated vegetation indices, only green reflectance (R550), MTCI (MERIS Terrestrial Chlorophyll Index) and REP (Red Edge Position) were highly correlated to nitrogen content.

**Index words:** *Fragaria x ananassa* Duch., chlorophyll, leaf spectral response, nitrogen.

#### INTRODUCCIÓN

Anualmente se cultivan en Michoacán (México) más de 3 000 ha de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) con una producción aproximada de 93 000 toneladas, que dan una rentabilidad mínima de 50 000 pesos ha<sup>-1</sup>. Esto sitúa a la fresa en el tercer lugar de importancia económica y social en el estado, después del aguacate (*Persea americana* Mill.) y la zarzamora (*Rubus fruticosus* L.) (INEGI, 2004). Ante este panorama, los productores no escatiman en prácticas agrícolas relacionadas con la obtención de mejores rendimientos. Una labor agrícola para lograr esto es la fertilización nitrogenada, cuyos niveles superan, en la mayoría de los casos, los 600 kg ha<sup>-1</sup>, cantidad que excede con mucho las necesidades de la planta y las recomendaciones dadas en otras regiones del mundo (Cárdenas-Navarro *et al.*, 2004 a, b; Maroto, 1986; Sobrino, 1989; Branzanti, 1989; Raynal-Lacroix *et al.*, 1999; Hochmuth, *et al.*, 1996; Miner *et al.*, 1997). Esto conlleva un aumento innecesario de los gastos de producción y, sobre todo, causa graves problemas al ambiente, por el ensalitramiento y acidificación de los terrenos agrícolas y la contaminación de los mantos freáticos.

En algunos trabajos de investigación recientes (Cárdenas-Navarro *et al.*, 2004a) se ha buscado explicar el metabolismo del nitrógeno (N) en el cultivo de la fresa durante su ciclo de desarrollo, con el fin de ajustar el aporte de N a las necesidades reales de la planta. Como las necesidades de N varían a lo largo del ciclo, es importante monitorear periódicamente su estado nitrogenado. Las técnicas tradicionales de análisis del contenido de N son destructivas, tardadas y costosas, por lo que la estimación del estado nitrogenado de las plantas a partir de su respuesta espectral está despertando interés, ya que se trata de técnicas rápidas, no destructivas y fáciles de implementar a gran escala, en particular en el marco de la agricultura de precisión.

Entre los numerosos ejemplos de la aplicación de estas técnicas están los trabajos de Lamb *et al.* (2002), quienes estimaron el contenido de N en hojas de *Lolium spp.*, White *et al.* (2000) que estudiaron la relación entre el contenido de N y la respuesta espectral de diferentes especies; Blackmer *et al.* (1996) y Graeff y Claupein (2003) estimaron las deficiencias de N en maíz; Oppelt y Mauser (2004) dieron seguimiento a varios parámetros fisiológicos del trigo durante todo su ciclo; Bortolot y Wynne (2003) propusieron un método para estimar el contenido de N en hojas verdes frescas, que no requiere datos de campo; Buscaglia y Varco (2002) propusieron un método para estimar el estado nitrogenado de hojas de algodón (*Gossypium barbadense* L.) a partir del análisis de espectros foliares.

El N no absorbe ni refleja en el visible ni en el infrarrojo cercano, por lo que su concentración no se puede determinar directamente a partir de medidas espectroscópicas. Sin embargo, los diferentes niveles de N en la planta se reflejan en el contenido de clorofila foliar, lo que hace posible estimar el contenido de N a partir de la reflectancia en el visible. Otras características de la hoja también se ven afectadas por el nivel de N; por ejemplo, cuando las plantas sufren una carencia de N, sus células foliares son menos numerosas, más grandes y con menos materia seca, lo que se traduce en una reflectancia más débil en el infrarrojo cercano y medio (Guyot, 1997). Puesto que el N afecta todo el desarrollo de la planta, los diferentes niveles nitrogenados afectarán no sólo a la reflectancia de las hojas, tomadas individualmente, sino a la de todo el dosel.

Una forma simple de estudiar la relación entre el espectro de reflectancia y el contenido de N consiste en utilizar índices de vegetación, que se calculan como relaciones matemáticas simples entre los valores de reflectancia de diferentes bandas espectrales (o longitudes de onda, si se trabaja con datos hiperespectrales). El más conocido y ampliamente utilizado con datos satelitales es el NDVI (Normalized Difference Vegetation Index). Para evitar la alta dependencia del NDVI con respecto a las características

del suelo, se ha definido toda una familia de índices: AVI (Adjusted Vegetation Index), SAVI (Soil Adjusted Vegetation Index), OSAVI (Optimized Soil Adjusted Vegetation Index) y NSAVI (Normalized Soil Adjusted Vegetation Index), que suponen una corrección del NDVI (Gilbert *et al.*, 1997). Un índice muy utilizado por su buena correlación con el contenido de clorofila es el Red Edge Position (REP) o Red Edge Inflection Point (REIP) (Horler *et al.*, 1983; Schlerf y Atzberger, 2002), que corresponde a la longitud de onda en la que se produce el cambio brusco entre la fuerte absorción de luz en el rojo y la fuerte reflexión en el infrarrojo cercano.

Existen otros índices utilizados en la estimación de la clorofila y otros pigmentos, como el Normalized total Pigment to Chlorophyll a ratio Index (NPCI) y el Chlorophyll Absorption Integral (CAI) (Oppelt y Mauser, 2004), el MERIS Terrestrial Chlorophyll Index (MTCI) (Dash y Curran, 2004) y el Photochemical Reflectance Index (PRI) (Peñuelas *et al.*, 1997), diseñado como una medida cuantitativa de las alteraciones en el estado del ciclo de las xantofilas, pigmentos que tienen una función fotoprotectora (Trotter *et al.*, 2002). Los estudios de Barton y North (2001) y Guo y Trotter (2004) muestran una correlación positiva entre el PRI y la eficiencia fotosintética (LUE, Light Use Efficiency) a nivel del dosel, por lo que este índice permite estimar la eficiencia fotosintética de las plantas y se ha utilizado para detectar situaciones de estrés (Bort *et al.*, 2005). Algunos investigadores han utilizado directamente los valores de reflectancia de algunas longitudes de onda, como 550 nm (verde) y 680 nm (rojo) (Osborne *et al.*, 2002 a, b; Blackmer *et al.*, 1996; Royo *et al.*, 2003).

El objetivo de este trabajo es evaluar varios índices de vegetación, calculados a partir de medidas de reflectancia de las hojas, y elegir los más aptos para determinar la evolución del estado nitrogenado de plantas de fresa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en Morelia, Michoacán, en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, a 19° 46' 5" LN y 101° 9' 0" LO, con una altitud de 1860 m.

En un invernadero de pantalla termo-reflectora (Agroholland, Shade) se cultivaron durante 8 meses plantas de fresa de la variedad 'Aromas', en un sistema hidropónico constituido por tinas de plástico con capacidad de 80 L de solución, las cuales contaban con un sistema de aireación continuo. Las plantas se sujetaron con segmentos de manguera aislante de color negro, en orificios de 4 cm de

diámetro fabricados en la tapa de las tinas, para evitar el estrangulamiento de la corona. Se evaluaron tres concentraciones de N en la solución nutritiva: 0.1, 3 y 20 mM. Las soluciones se prepararon con base en la solución 3 mM de N utilizada por Cárdenas-Navarro *et al.* (1998), que se modificó con la metodología propuesta por Morard (1995). El Cuadro 1 muestra la concentración de los macroelementos en las soluciones nutritivas. Con el fin de no afectar la actividad del Mg y su absorción por la planta, en las tres soluciones se mantuvo constante la proporción 3/7/3 para K/Ca/Mg, en meq L<sup>-1</sup>, respectivamente. Los elementos menores fueron aportados en las proporciones siguientes (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 0.217 g L<sup>-1</sup>, CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O 0.03 g L<sup>-1</sup>, Fe-EDTA 0.6 g L<sup>-1</sup>, MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 0.64 g L<sup>-1</sup>, (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O 0.27 g L<sup>-1</sup>, ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0.223 g L<sup>-1</sup>). El pH de cada solución se ajustó cada tercer día entre 5.5 y 6, y la solución completa de cada tratamiento fue reemplazada cada 15 d para restaurar la concentración y volumen inicial, que se modificaron por la transpiración. Cada concentración se repitió cuatro veces, en un arreglo completamente al azar, dando lugar a 12 tinas de cultivo, con 12 plantas de fresa cada una.

Cuadro 1. Concentración de macroelementos en las tres soluciones nutritivas utilizadas.

Ion	Nivel de Nitrógeno (meq L <sup>-1</sup> )		
	0.1 mM	3 mM	20 mM
K <sup>+</sup>	3.0	3.0	6.9
Ca <sup>2+</sup>	7.0	7.0	16.2
Mg <sup>2+</sup>	3.0	3.0	6.9
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.1	3.0	20.0
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	1.0	1.0	1.0
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	11.9	9.0	9.0

El experimento se estableció el 2 de marzo del 2004 y los muestreos se hicieron a 93, 127, 163 y 218 d después (dde). En ellos, de cada unidad experimental o tina de cultivo, se tomó una planta al azar en la que se determinó: peso fresco de cada órgano (raíz, corona, peciolo y folíolo) (Balanza Mettler Toledo, PR 8002), área foliar (Planímetro LI-COR LI-3100) e índice de densidad foliar (cociente entre biomasa fresca y área foliar).

Para los análisis radiométricos, de cada planta muestreada se eligió al azar una hoja intermedia (completamente desarrollada, no senescente) donde se tomaron las medidas de reflectancia y clorofila total (clorofila a + clorofila b). Para la determinación de clorofila se tomó un folíolo lateral de esta hoja y se siguió la metodología de Barnes *et al.* (1992). Para el espectro de reflectancia se tomó el folíolo central de la hoja muestreada y se midió en un espectrofotómetro UV-Visible (300 nm a 1100 nm ± 1 nm; Perkin Elmer Lambda 35), dotado de una esfera de integración (LabSphere). Para cada muestra se obtuvo el promedio de tres espectros y se calcularon los índices del Cuadro 2.

Cuadro 2. Índices de vegetación calculados a partir de los espectros foliares.

Índice	Descripción	Fórmula	Autor
MTCI	MERIS Terrestrial Chlorophyll Index	$(R_{753.75}-R_{708.75})/(R_{708.75}-R_{681.25})$	Dash y Curran (2004)
CAI	Chlorophyll Absortion Integral	$\int_{R_{600}}^{R_{735}} R_{Si} / R_{e_i}$	Oppelt y Mauser (2004)
NDVI	Normalized Difference Vegetation Index	$(R_{928}-R_{680}) / (R_{928}+R_{680})$	Varios autores
HNDVI	Hyperspectral Normalized Difference Vegetation Index	$(R_{827}-R_{668}) / (R_{827}+R_{668})$	Oppelt y Mauser (2004)
OSAVI	Optimized Soil Adjusted Vegetation Index	$(1+0.16)(R_{827}-R_{668}) / (R_{827}+R_{668}+0.16)$	Elvidge y Chen (1995)
REP G	Red Edge Possition (fórmula de Guyot)	$700+40(R_{iG}-R_{700}) / (R_{740}-R_{700})$ $R_{iG} = (R_{670}-R_{780})/2$	Guyot y Baret (1988)
REP M	Red Edge Possition (fórmula con las bandas del satélite MERIS)	$708.75+45(R_{iM}-R_{708.75}) / (R_{753.75}-R_{708.75})$ $R_{iM} = (R_{665}-R_{778.75})/2$	Clevers <i>et al.</i> (2002)
PRI	Photochemical Reflectance Index	$(R_{531}-R_{570}) / (R_{531}+R_{570})$	Peñuelas <i>et al.</i> (1995)
NPCI	Normalized total Pigment to Chlorophyll a ratio Index	$(R_{680}-R_{430}) / (R_{680}+R_{430})$	Peñuelas <i>et al.</i> (1993)

Después de secar las muestras durante 48 h a 60 °C (horno Felisa), se pesó la biomasa seca de cada órgano (raíz, corona, peciolo y folíolo) y se calculó la proporción de agua en éstos [(materia fresca del órgano - materia seca) / materia seca]. Por último, se determinó el contenido de N foliar por el método de Dumas (Carlo Erba FlashEA-1112).

Los resultados se analizaron en el paquete estadístico SYSTAT 9.01 para Windows. Se realizaron análisis de varianza y pruebas de correlación, con niveles de error de 0.05 0.01 y 0.001.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al considerar únicamente el nivel de fertilización, el análisis estadístico mostró un efecto significativo sobre la biomasa fresca total (P < 0.001), la biomasa seca total (P < 0.001), el área foliar (P < 0.001), el índice de densidad foliar (P < 0.05), el contenido de N total en la materia seca foliar (P < 0.001) y el contenido de clorofila total (P < 0.001).

La Figura 1A muestra la evolución de la materia seca durante el tiempo de duración del experimento. Las plantas cultivadas con el nivel 0.1 mM de N fueron siempre más pequeñas que las cultivadas con niveles mayores de N. El nivel 20 mM de N al final dio plantas con la misma biomasa seca que las de 3 mM, pero con un crecimiento inicial más lento; este mismo comportamiento se observó en área foliar y contenido de agua en la planta (datos no mostrados).

Respecto al contenido de N en la materia seca foliar (Figura 1B), en las plantas cultivadas con 0.1 mM de N su contenido fue bajo ( $\bar{x}$  1.35 %), a pesar de la ligera recuperación observada a los 127 dde. En las plantas con los niveles 3 y 20 mM de N se observó el fenómeno característico de dilución del N en la materia seca durante el crecimiento de las plantas, de 93 a 163 dde. Cuando la desaparición de las hojas más viejas no fue completamente compensada por la aparición de hojas nuevas y la biomasa total de las plantas disminuyó, se observó un incremento del contenido de N en las plantas cultivadas con los niveles 3 y 20 mM de N, sobre todo en el nivel 20 mM de N. Al final del experimento (218 dde) los contenidos de N de los tres tratamientos fueron estadísticamente diferentes. Estos resultados muestran la dilución de N durante el crecimiento de las plantas (Lemaire y Gastal, 1997) y son similares a los reportados por Cárdenas-Navarro *et al.* (2004).

En cuanto a clorofila total (Figura 1C), los tres tratamientos mostraron un contenido similar ( $1.9 \mu\text{g mg mf}^{-1}$ ) a los 93 dde. En las plantas cultivadas en 0.1 mM de N, el contenido disminuyó en 51 % a los 127 dde y permaneció bajo hasta el final del experimento (218 dde), lo que es coherente con lo reportado para otras especies sometidas a baja disponibilidad de N en el suelo (Osborne *et al.* 2002b; Evans, 1983; Khamis *et al.*, 1990). Las plantas cultivadas en 3 mM de N mantuvieron su contenido por encima de las plantas de los otros dos tratamientos, a partir de los 127 dde y hasta el final de experimento. En plantas con 20 mM de N el contenido de clorofila total disminuyó en 40 % a los 127 dde; a partir de esta fecha el contenido en clorofila de este tratamiento fue inferior, pero estadísticamente igual al del tratamiento de 3 mM. Otros autores reportan una tendencia asintótica del contenido en clorofila en plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) (Evans, 1983) y maíz (*Zea mays* L.) (Khamis, 1990) cultivadas a concentraciones superiores a 2 mM y 1 mM de N en la solución nutritiva, respectivamente.

No se encontró correlación significativa entre los contenidos de N y clorofila en las hojas analizadas. La asociación

de estas dos variables no es generalizada y depende de las condiciones experimentales (Baret y Fourty, 1998). Además, en el presente trabajo la clorofila se expresó sobre la base de la materia fresca foliar, mientras que en los reportes en los que se correlaciona con el contenido de N se expresa por unidad de superficie foliar.

La respuesta espectral de las hojas se vio afectada por el nivel de fertilización, como lo muestran los datos del Cuadro 3. En cada fecha de muestreo, la mayoría de los índices de vegetación calculados presentaron variaciones significativas con los niveles de fertilización. Entre ellos REP, MTCI y R550 presentaron una dependencia significativa ( $P < 0.001$ ) con la fertilización, en todas las fechas de muestreo. A los 163 dde, cuando las plantas ya habían alcanzado su máximo crecimiento, los índices NDVI y OSAVI también presentaron un comportamiento fuertemente dependiente del nivel de fertilización, lo que indica una variación de la estructura celular en función de la fertilización. El índice R550/R720 presentó un comportamiento significativo con la fertilización a los 127 dde ( $P < 0.01$ ) y en los siguientes muestreos ( $P < 0.001$ ). El índice CAI, que integra las reflectancias desde el verde hasta el REP, fue significativo a los 163 ( $P < 0.001$ ), 127 ( $P < 0.05$ ) y 218 dde ( $P < 0.05$ ).

La correlación entre los índices radiométricos y el contenido de clorofila y de N en la materia seca foliar, se estudió para cada fecha de muestreo (Cuadro 4, A-D). A los 93 dde, todos los índices (excepto NPCI, que está asociado al contenido de pigmentos *versus* clorofila) mostraron una correlación significativa ( $P < 0.05$ ) con el contenido de N, pero no con la clorofila; el REP, el MTCI y la reflectancia en el verde varían con el área foliar. A los 127 dde hubo variación significativa del NDVI, el OSAVI y el CAI con las medidas estructurales, pero no con las químicas, lo que es coherente con los datos mostrados en el Cuadro 3. A los 163 dde, la dependencia de estos índices

Cuadro 3. Significancias (valor de F) del nivel de fertilización de los índices de reflectancia calculados (definición de los índices en Cuadro 2).

Índice	Edad del cultivo (d)			
	93 dde	127 dde	163 dde	218 dde
MTCI	21.361 ***	39.654 ***	24.733 ***	75.344 ***
CAI	7.135 **	6.049 *	62.500 ***	11.475 *
NDVI	6.466 *	5.013 *	19.503 **	ns
HNDVI	6.177 *	5.711 *	24.191 ***	ns
OSAVI	5.444 *	5.211 *	20.838 ***	ns
REP G	43.858 ***	30.782 ***	39.897 ***	45.955 ***
REP M	48.019 ***	32.040 ***	42.138 ***	126.738 ***
PRI	ns	6.290 *	ns	ns
NPCI	ns	216.625 ***	ns	69.544 ***
R550	29.431 ***	46.481 ***	619.150 ***	69.390 ***
R680	4.784 *	ns	ns	ns
R550/R720	11.749 **	36.463 ***	22.491 ***	40.421 ***

dde = Días después de establecimiento. \*, \*\* y \*\*\* = significativo a 0.05, 0.01 y 0.001 de probabilidad del error.

con la estructura de las hojas se hace significativa ( $P < 0.01$ ); hay una dependencia significativa ( $P < 0.05$ ) con el contenido de N, pero no con el de clorofila. En el último muestreo (128 dde) no se apreció tendencia significativa alguna de estos índices. En los últimos muestreos hubo una influencia de la estructura de la hoja sobre la reflectancia en el verde, dado que aparecen correlaciones significativas entre R550 y biomasa (fresca y seca) y áreas foliares (Cuadro 4, C y D). Estas correlaciones son negativas porque al aumentar estas variables biofísicas se genera una variación en la estructura interna de la hoja, con lo que aumenta su capacidad de absorción y disminuye su reflectancia (Guyot, 1997). De todos los índices estudiados, los únicos que presentaron una variación significativa con el contenido de N de las hojas, durante todo el ciclo de cultivo, fueron REP, MTCI, R550 y R550/R720.

El área foliar parece influir más en la respuesta espectral de las hojas que la biomasa fresca y seca, porque fue más afectada por la fertilización ( $P \leq 0.001$ ). Como dicha área se refiere a la total de la planta, mientras que las medidas radiométricas se hicieron sobre una sola hoja, se puede pensar en una adaptación estructural interna de las hojas, como en volumen, arreglo y características de la epidermis superior e inferior, y del parénquima empalizada y esponjoso, que repercute en su respuesta radiométrica, principalmente en el infrarrojo (Guyot, 1997; Baret y Fourty, 1997). La dependencia con respecto al contenido de clorofila es menos significativa que respecto al N y no aparece realmente hasta las últimas etapas del cultivo, salvo por R550/R720 (127 dde) y REP (163 dde).

Se estudió la evolución temporal de la reflectancia en el verde (R550), de REP y de MTCI (Figura 2), por ser los índices que presentaron las mejores correlaciones con los niveles de N durante todo el tiempo que duró el experimento (Cuadro 4). El R550 permitió diferenciar durante todo el ciclo, el nivel 0.1 mM de N de los otros dos niveles. A los 218 dde, cuando el contenido de N es diferente entre los tres tratamientos, el índice R550 también lo es. Al comparar la evolución de este índice (Figura 2A) con la del contenido de N en la materia seca (Figura 1B) se observó una dinámica similar para cada nivel de N, pero el orden de los tratamientos se invirtió. Esto es coherente con la correlación negativa que existe entre estas dos variables (Cuadro 4) y se debe a que las plantas bien abastecidas con N presentan mayor absorción de luz (menor reflexión) que las que sufren deficiencia de este elemento (Guyot, 1997). Otros autores (Osborne *et al.*, 2002A; Blackmer *et al.*, 1996) encontraron una alta correlación entre el contenido de N y la reflectancia en el verde en estudios con maíz.

Cuadro 4. Coeficientes de correlación de Pearson entre contenido de N y clorofila, la biomasa fresca y seca, el área foliar, y los índices calculados (Cuadro 2), para cada fecha de muestreo.

Índice	Nitrógeno	Clorofila total	Biomasa fresca	Biomasa seca	Área foliar
<b>93 dde</b>					
NDVI	0.727 **	ns	ns	ns	ns
HNDVI	0.733 **	ns	ns	ns	ns
OSAVI	0.701 **	ns	ns	ns	ns
REP	0.852 ***	ns	ns	ns	0.640 *
CAI	0.809 **	ns	ns	ns	ns
PRI	0.710 *	ns	ns	ns	ns
NPCI	ns	ns	ns	ns	ns
MTCI	0.873 ***	ns	ns	ns	0.706 *
R550	-0.870 **	ns	ns	ns	-0.726 *
R680	-0.653 *	ns	ns	ns	ns
R550/R720	0.835 **	ns	ns	ns	ns
0					
<b>127 dde</b>					
NDVI	ns	ns	0.752 **	0.605 *	0.687 *
HNDVI	ns	ns	0.777 **	0.640 *	0.719 **
OSAVI	ns	ns	0.762 **	0.622 *	0.720 *
REP	0.679 *	0.709 *	ns	ns	0.743 *
CAI	ns	ns	0.837***	0.708 **	0.789 **
PRI	0.678 *	ns	0.634 **	0.765 **	0.726 **
NPCI	-0.997 **	ns	ns	ns	ns
MTCI	0.631 *	ns	ns	ns	0.738 *
R550	-0.992 **	ns	ns	ns	-0.600 *
R680	ns	ns	ns	ns	ns
R550/R720	0.886 ***	0.672 *	ns	ns	0.668 *
0					
<b>163 dde</b>					
NDVI	0.776 **	ns	0.772 **	0.757 *	0.813 **
HNDVI	0.779 **	ns	0.789 **	0.779 **	0.830 **
OSAVI	0.747 *	ns	0.775 **	0.770 **	0.811 **
REP	0.816 ***	0.669 *	0.703 **	0.680 **	0.779 **
CAI	ns	ns	0.885 **	0.854 **	0.826 *
PRI	ns	ns	ns	ns	0.809 *
NPCI	ns	ns	ns	ns	ns
MTCI	0.823 ***	0.669 *	ns	ns	0.812 ***
R550	-0.816 **	ns	-0.868 **	-0.799 **	-0.906***
R680	ns	ns	ns	ns	ns
R550/R720	0.720 *	0.601 *	0.761 **	0.757 **	0.841 ***
0					
<b>218 dde</b>					
NDVI	ns	ns	ns	ns	ns
HNDVI	ns	ns	ns	ns	ns
OSAVI	ns	ns	ns	ns	ns
REP	0.855 ***	0.661 **	0.660 **	0.653 *	0.709 *
CAI	ns	ns	ns	ns	ns
PRI	ns	ns	ns	ns	ns
NPCI	ns	-0.869 **	ns	ns	-0.631 *
MTCI	0.891 ***	0.676 **	0.706 *	0.712 *	0.751 **
R550	-0.960 ***	-0.941 ***	-0.796 **	-0.797 **	-0.796 **
R680	ns	ns	ns	ns	ns
R550/R720	0.950 **	ns	ns	ns	ns

A) 93 dde, B) 127 dde, C) 163 dde, D) 218 dde (\*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ).

En cuanto al REP (Figura 2B), en las primeras etapas del cultivo este índice permitió diferenciar las plantas del nivel 0.1 mM de N de las otras, pero al final del experimento, a pesar de que hubo diferencias significativas entre los contenidos de N y clorofila entre tratamientos, no las hubo entre los valores correspondientes de este índice. Esto se podría deber a un fenómeno de saturación del REP, que se puede explicar por la incapacidad de los pigmentos foliares de seguir ampliando la banda de absorción en el rojo y el infrarrojo cercano, lo que da lugar a una relación asíntótica entre el contenido de clorofila y este índice (Jago

et al., 1999). El MTCI fue diseñado para evitar el problema de saturación del REP, pues es más sensible a los niveles altos de clorofila (Dash y Curran, 2004). En la Figura 3C se observa como el MTCI siguió la evolución

del contenido de N de la materia seca y siempre fue más bajo en el 0.1 mM de N, que en los niveles 3 y 20 mM de N en los tres primeros muestreos y fue diferente entre los tres niveles al final del experimento (218 dde).

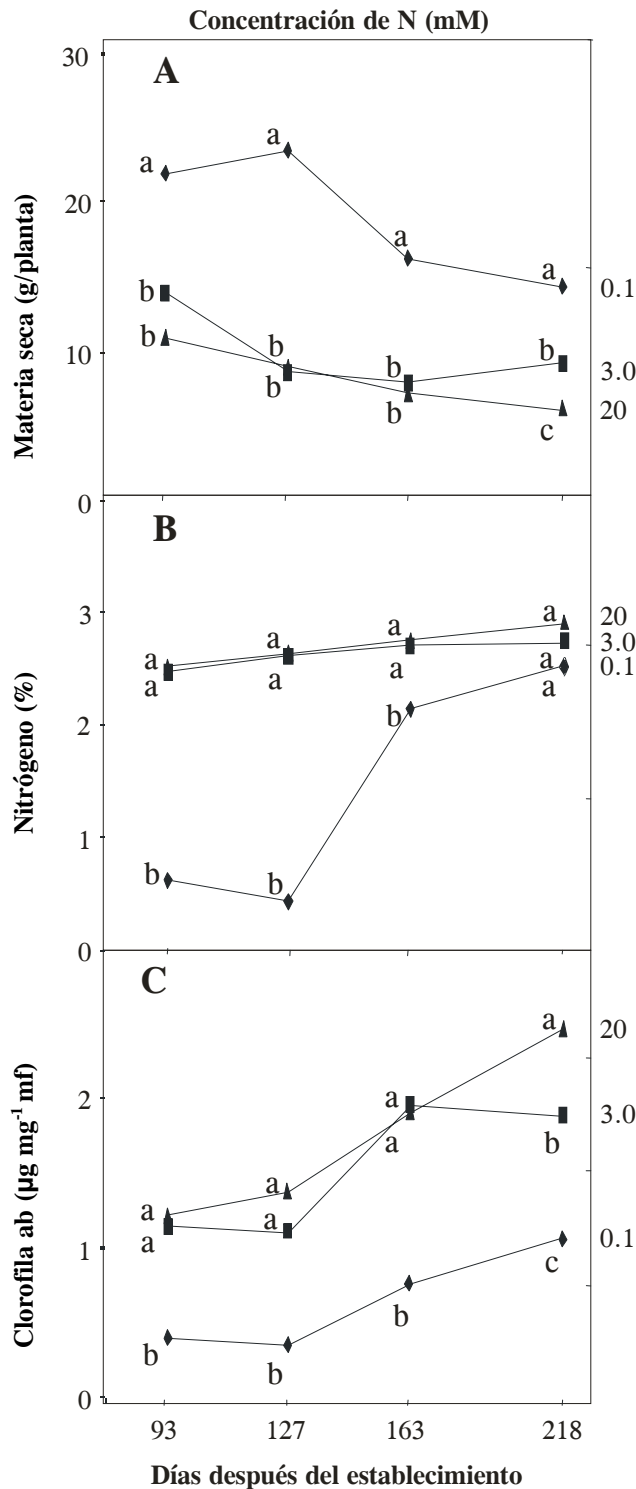


Figura 1. Evolución de medidas estructurales y bioquímicas por nivel de fertilización nitrogenada (Tukey, 0.05).

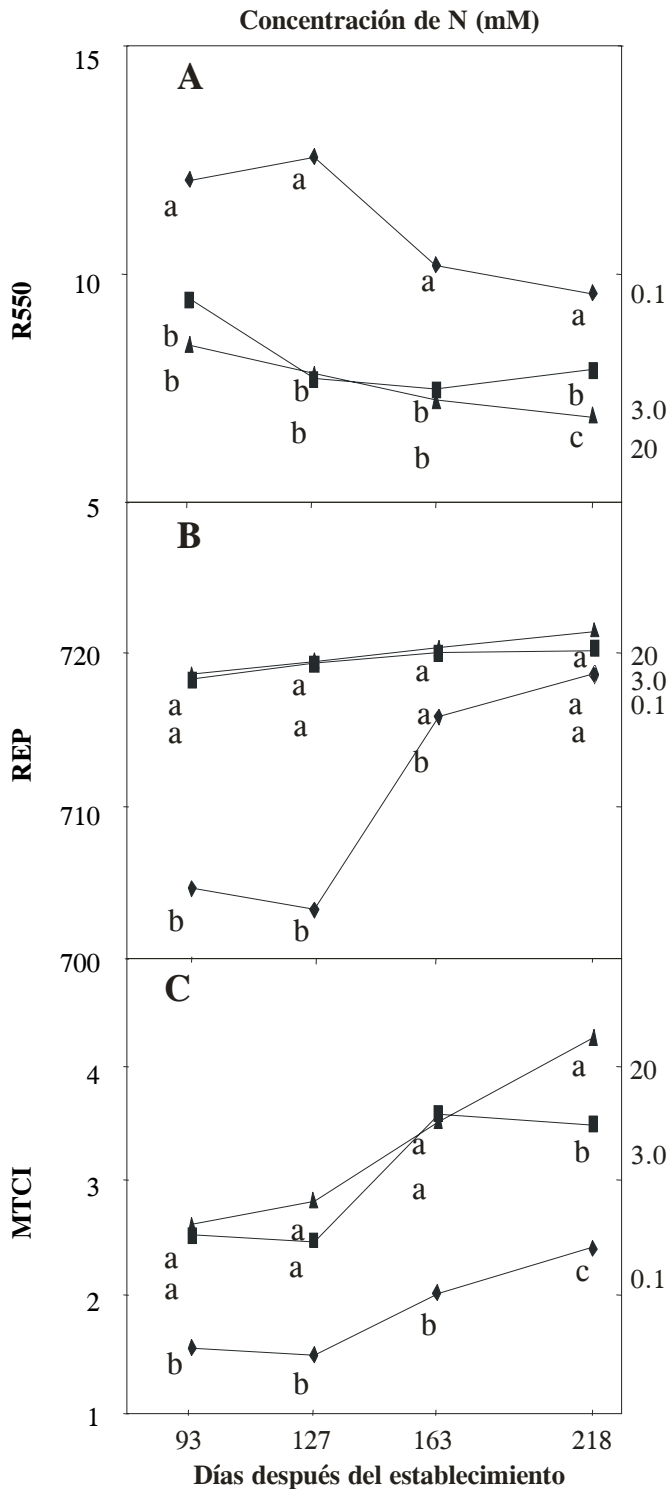


Figura 2. Evolución temporal de los índices MTCI (MERIS Terrestrial Chlorophyll Index, Dash y Curran, 2004), REP (Red Edge Position, Horler et al., 1983) y R550 (reflectancia en el verde), por nivel de fertilización nitrogenada (Tukey, 0.05).

## CONCLUSIONES

Los índices de vegetación que presentaron mayor sensibilidad con el nivel de fertilización fueron R550, REP y MTCl, los cuales también presentaron las correlaciones más altas con los contenidos de N y clorofila total en las hojas, así como correlación significativa con biomasa seca y área foliar, en las últimas fechas de muestreo. En todos los casos, la dependencia de los índices de vegetación con respecto al contenido de N fue mayor que con respecto al de clorofila. R550 y MTCl fueron los índices que mejor correlacionaron con la evolución del contenido de N, mientras que el REP se saturó.

Los índices NDVI y OSAVI, que a nivel de dosel presentan una estrecha relación con índice de área y biomasa, calculados a nivel de la hoja reflejaron las diferencias en la estructura y disposición celular derivadas del estado nitrogenado.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue sustentado con recursos obtenidos del PROMEP-SEP, para el mejoramiento del cuerpo académico Producción Agroforestal. Se agradece la colaboración del Biól. Omar Escalante Linares y de la Biól. Rita Ruiz Corro, así como del Dr. Philippe Lobit.

## BIBLIOGRAFÍA

- Barnes J D, L Balaguer, E Manrique, S Elvira, A W Davison (1992) A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls a and b in lichens and higher plants. *Environ. Exp. Bot.* 32: 85-100.
- Barton C V M, P R J North (2001) Remote sensing of canopy light use efficiency using the photochemical reflectance index. Model and sensitivity analysis. *Rem. Sen. Environ.* 78: 264-273.
- Baret F, Th Fourty (1997) Radiometric estimates of nitrogen status of leaves and canopies. In: *Diagnosis of the Nitrogen Status in Crops*. G Leamire (ed). Springer-Verlag. Berlin, Germany. 239 p.
- Blackmer T M, J S Schepers, G E Varvel, E A Walter-Sea (1996) Nitrogen deficiency detection using reflected shortwave radiation from irrigated corn canopies. *Agron. J.* 88:1-5.
- Bort J, J Casadesus, M M Nachit, J L Araus (2005) Factors affecting the grain yield predicting attributes of spectral reflectance indices in durum wheat: growing conditions, genotype variability and date of measurement. *Internatl. J. Rem. Sens.* 26:2337-2358.
- Bortolot Z J, R H Wynne (2003) A method for predicting fresh green leaf nitrogen concentrations from shortwave infrared reflectance spectra acquired at the canopy level that requires no in situ nitrogen data. *Internatl. J. Rem. Sens.* 24:619-624.
- Branzanti E C (1989) *La Fresa*. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España, 386 p.
- Buscaglia H J, Varco J J (2002) Early detection of cotton leaf nitrogen status using leaf reflectance. *J. Plant Nutr.* 25: 2067-2080.
- Cárdenas-Navarro R, S Adamowicz, P Robin (1998) Diurnal nitrate uptake in young tomato *Lycopersicon esculentum* Mill. plants: test of a feedback-based model. *J. Exp. Bot.* 49:721-730.
- Cárdenas-Navarro R, L López-Pérez, P Lobit, O Escalante-Linares (2004a) Diagnosis of N status in strawberry (*Fragaria x ananassas* Duch). *Acta. Hort.* 654:257-262.
- Cárdenas-Navarro R, J M Sánchez-Yáñez, R Farias-Rodríguez, J J Peña-Cabriales (2004b) Los aportes de nitrógeno en la agricultura. *Rev. Chapingo S. Hort.* 10:173-178.
- Clevers J G P W, S M de Jong, G F Epema, F van der Meer, W H Bakker, A K Skidmore, K H Scholte (2002) Derivation of the red edge index using the MERIS standard band setting. *Internatl. J. Rem. Sens.* 23:3169-3184.
- Dash J, P J Curran (2004) The MERIS terrestrial chlorophyll index. *Internatl. J. Rem. Sens.* 25:5403-5413.
- Elvidge C D, Z Chen (1995) Comparison of broad band and narrow band red and near-infrared vegetation indices. *Rem. Sens. Environ.* 54:38-48.
- Evans J R (1983) Nitrogen and photosynthesis in flag of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant. Physiol.* 72:397-302.
- Gilabert M A, J Gonzalez-Piqueras, J García-Haro (1997) Acerca de los índices de vegetación. *Rev. Teledetección* 8:1-10.
- Graeff S, W Claupein (2003) Quantifying nitrogen status of corn in the field by reflectance measurements. *Eur. J. Agron.* 19:611-618.
- Guo, J M, C M Trotter (2004) Estimating photosynthetic light-use-efficiency using the photochemical reflectance index: variations among species. *Funct. Plant. Biol.* 31:255-265.
- Guyot G, F Baret, D J Major (1988) High spectral resolution: Determination of spectral shifts between the red and the near infrared. *Arch. Photog. Rem. Sens.* 11:740-760.
- Guyot G (1997) *Climatologie de l'Environnement. De la Plante aux Écosystèmes*. Ed. Masson, Paris, Francia.
- Hochmuth G J, E E Albregts, C C Chandler, J Cornell, J Harrison (1996) Nitrogen fertirrigation requirements of drip-irrigated strawberries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121:660-665.
- Horler D N, M Dockray, J Barber (1983) The red edge of plant leaf reflectance. *Internatl. J. Rem. Sens.* 4: 273-288.
- INEGI, Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (2004) *Estadísticas Básicas de la Agricultura en México*, INEGI, México.
- Jago R A, M E J Cutler, P J Curran (1999) Estimating canopy chlorophyll concentration from field and airborne spectra. *Rem. Sen. Environ.* 68:217-224.
- Khamis S, T Lamaze, Y Lemoine, C Foyer (1990) Adaptation of the photosynthetic apparatus in maize leaves as a result of nitrogen limitation. *Plant. Physiol.* 94:1436-1444.
- Lamb D W, M Steyn-Ross, P Schaare, M M Hanna, W Silvester, A Steyn-Ross (2002) Estimating leaf nitrogen concentration in ryegrass (*Lolium* spp.) pasture using the chlorophyll red-edge: theoretical modelling and experimental observations. *Internatl. J. Rem. Sens.* 23:3619-3648.
- Lemaire G, F Gastal (1997) N uptake and distribution in plant canopies. In: *Diagnosis of the Nitrogen Status in Crops*. G Lemaire (ed). Springer-Verlag. Berlin, Germany. pp:3-43.
- Maroto B J V (1986) *Horticultura Herbácea Especial*. Mundi Prensa. Madrid, España. 590 p.
- Miner G S, E B Poling, D E Carroll, L A Nelson (1997) Influence of fall nitrogen and spring nitrogen-potassium applications on yield and fruit quality of 'Chandler' strawberry. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 122:290-295.
- Morard P (1995) *Les Cultures Végétales Hors Sol*. Publications Agricoles Agen, France, 303 p.
- Oppelt N, W Mauser (2004) Hyperspectral monitoring of physiological parameters of wheat during a vegetation period using AVIS data. *Internatl. J. Rem. Sens.* 25:145-159.
- Osborne S L, J S Schepers, D D Francis, M R Schlemmer (2002a) Detection of phosphorus and nitrogen deficiencies in corn using spectral radiance measurements. *Agron. J.* 94:1215-1212.
- Osborne S L, J S Schepers, D D Francis, M R Schlemmer (2002b) Use of a spectral radiance to estimate in-season biomass and

- grain yield in nitrogen- and water-stressed corn. *Crop Sci.* 42:165-171.
- Peñuelas J, J A Gamón, K L Griffinand, C B Field (1993)** Assessing community type, biomass, pigment composition and photosynthetic efficiency of aquatic vegetation from spectral reflectance. *Rem. Sen. Environ.* 46:110-118.
- Peñuelas J, I Fililla, J A Gamon (1995)** Assesment of photosynthetic radiation use efficiency with spectral reflectance. *New Phytol.* 131:291-296.
- Peñuelas J, R Isla, I Fililla, J L Araus (1997)** Visible and near infrared reflectance assessment of salinity effects on barley. *Crop Sci.* 37:198-20
- Raynal-Lacroix C, A Bardet, E Freixinos (1999)** Fraisier. La fertilisation azotée. *Infos-Ctifl* 149:34-39.
- Royo C, N Aparicio, D Villegas, J Casadeus, P Monneveux, J L Araus (2003)** Usefulness of spectral reflectance indices as durum wheat yield predictors under contrasting Mediterranean conditions. *Internatl. J. Rem. Sens.* 24:4403-4419.
- Schlerf M, C Atzberger (2002)** Use of a forest reflectance model for empirical estimation of Norway spruce characteristics from hyperspectral remote sensing imagery. *In: Proc. First Internatl. Symp. Recent Advances in Quantitative Remote Sensing*, Torrent España, 16-20 septiembre 2002. 984 p.
- Sobrino I E (1989)** Tratado de Horticultura Herbácea 1. Hortalizas de Flor y Fruto. Aedos. Barcelona, España. 352 p.
- Trotter G M, D Whitehead, E J Pinkney (2002)** The photochemical reflectance index as a measure of photosynthetic light use efficiency for plants with varying foliar nitrogen contents. *Internatl. J. Rem. Sens.* 23:1207-1212.
- White J D, C M Trotter, L J Brown, N Scott (2000)** Nitrogen concentration in New Zealand vegetation foliage derived from laboratory and field spectrometry. *Internatl. J. Rem. Sens.* 21:2525-2531.