



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA

**PROPIEDADES ÓPTICAS DE TRIGO Y DEFICIENCIAS
DE NITRÓGENO**

VÍCTOR MANUEL JIMÉNEZ MEZA

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2009

La presente tesis, titulada: **Propiedades ópticas de trigo y deficiencias de nitrógeno**, realizada por el alumno: **Víctor Manuel Jiménez Meza**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:

DR. GABRIEL ALCÁNTAR GONZÁLEZ

ASESOR:

DR. PROMETEO SÁNCHEZ GARCÍA

ASESOR:

DR. JOSÉ ANTONIO SANTÍZO RINCÓN

Montecillo, Texcoco, México, julio de 2009

PROPIEDADES ÓPTICAS DE TRIGO Y DEFICIENCIAS DE NITRÓGENO

Víctor Manuel Jiménez Meza

Colegio de Posgraduados, 2009

El presente trabajo estudió la relación entre la reflectancia en el espectro visible e infrarrojo cercano y la concentración de nitrógeno en plantas de trigo con el objetivo de encontrar un procedimiento económico, rápido y confiable para conocer el estado de nutrición nitrogenada del cultivo. Las propiedades ópticas de plantas de trigo con diferentes concentraciones de nitrógeno se midieron por cuatro métodos, utilizando un radiómetro, un medidor portátil de clorofila, imágenes obtenidas con cámara digital e imágenes obtenidas con escáner. A partir de las mediciones se generaron modelos de tipo lineal y cuadrático para relacionar las propiedades ópticas con la concentración de nitrógeno en las plantas. El método que utilizó las imágenes de escáner para estimar la concentración de nitrógeno en las plantas fue el que presentó el modelo matemático con mayor grado de asociación ($r^2 = 0.89$). Este método muestra potencial para extenderse a campo, sin embargo se requiere realizar investigaciones para estandarizar los procesos de obtención de reflectancias y establecer modelos para diferentes cultivos.

Palabras clave: *Triticum aestivum* L., reflectancia, radiómetro, diagnóstico de nutrición, sensores remotos.

OPTICAL PROPERTIES OF WHEAT AND NITROGEN DEFICIENCIES

Víctor Manuel Jiménez Meza

Colegio de Posgraduados, 2009

This work studied the relationships between visible and near infrared reflectance and nitrogen concentration on wheat plants with the objective to find an economical, faster and reliable procedure to know the nutritional status of the crop. Optical properties of wheat plants with different nitrogen concentrations was measured by four methods, using a radiometer, a chlorophyll portable meter and registered pictures of digital camera and scanner. With these measures were generated lineal and square models to find a relationship between optical properties and nitrogen concentration on the plants. For each method were selected those models with regression coefficients less than 0.05 of significance. The mathematical model obtained of scanned images method had the higher association grade ($r^2 = 0.89$). This method can be employed into field conditions, although is required get standardize the procedures to obtain another reflectances and models to different crops.

Keywords: *Triticum aestivum* L., reflectance, radiometer, nutritional diagnosis, remote sensing.

CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
2.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1.	Espectro electromagnético.....	3
2.2.	Interacción de la radiación y la materia.....	4
2.3.	Propiedades espectrales de las plantas.....	7
2.4.	Reflectancia espectral de plantas bajo condiciones de estrés.....	8
2.5.	Estrés nutrimental y reflectancia espectral.....	10
2.6.	Importancia del nitrógeno para las plantas.....	12
2.7.	Desarrollo de síntomas de deficiencia de nitrógeno.....	13
3.	OBJETIVOS.....	14
3.1.	Objetivo general.....	14
3.2.	Objetivos específicos.....	14
4.	HIPÓTESIS.....	14
4.1.	Hipótesis general.....	14
4.2.	Hipótesis particulares.....	14
5.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
5.1.	Ubicación del experimento.....	15
5.2.	Etapas del experimento.....	15
5.3.	Producción de plantas.....	15
5.4.	Diseño del experimento.....	16
5.5.	Diseño experimental.....	16
5.6.	Variables respuesta.....	17
5.6.1.	Reflectancia de la planta medida con radiómetro.....	17
5.6.2.	Reflectancia de la planta obtenida a partir de fotografías.....	18
5.6.3.	Concentración de clorofila en hoja estimada con SPAD-502.....	20
5.6.4.	Reflectancia de hoja obtenida a partir de imágenes de escáner.....	20
5.6.5.	Concentración de nitrógeno en biomasa aérea de plantas.....	21
5.7.	Análisis estadístico.....	21
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22

6.1.	Concentración de nitrógeno en biomasa aérea de plantas	22
6.2.	Estimaciones de la concentración de clorofila con SPAD-502	23
6.2.1.	Estimación de clorofila en hojas recientes	23
6.2.2.	Medición de clorofila en hojas jóvenes	24
6.2.3.	Medición de clorofila en hojas adultas	25
6.2.4.	Relación entre las concentraciones de nitrógeno en planta y de clorofila en hojas.....	26
6.3.	Reflectancia de plantas obtenida con radiómetro bajo malla sombra.....	27
6.4.	Reflectancia de plantas obtenida de fotografías tomadas bajo malla sombra.....	30
6.5.	Reflectancia de plantas obtenida de fotografías tomadas bajo sombra completa.....	33
6.6.	Reflectancia de hoja obtenida a partir de imágenes de escáner.....	36
6.6.1.	Relación entre la reflectancia medida con el escáner y las mediciones de SPAD	37
6.6.2.	Relación entre la reflectancia en hojas obtenida con imágenes de escáner y la concentración de nitrógeno en parte aérea.	39
7.	CONCLUSIONES	42
8.	CONSIDERACIONES FINALES	43
9.	BIBLIOGRAFÍA	44
10.	ANEXO 1	48

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 5.1. Descripción de los tratamientos.....	16
Cuadro 6.1. Modelos para estimar concentración de clorofila a partir de la concentración de nitrógeno en parte aérea de trigo.	26
Cuadro 6.2. Resultado del análisis de la variación de la reflectancia de plantas de trigo obtenida con radiómetro bajo malla sombra.	27
Cuadro 6.3. Modelos para estimar la reflectancia de plantas de trigo obtenida con radiómetro bajo malla sombra a partir de la concentración de nitrógeno en parte aérea.....	29
Cuadro 6.4. Resultado del análisis de la variación de la reflectancia obtenida de fotografías de plantas de trigo bajo malla sombra.	30
Cuadro 6.5. Modelos para estimar la reflectancia obtenida de fotografías de plantas de trigo bajo malla sombra a partir de la concentración de nitrógeno en parte aérea.....	32
Cuadro 6.6. Resultado del análisis de la variación de la reflectancia de obtenida de fotografías de plantas de trigo bajo sombra completa.	33
Cuadro 6.7. Modelos para estimar la reflectancia de fotografías de plantas de trigo a partir de la concentración de nitrógeno en parte aérea.	35
Cuadro 6.8. Resultado del análisis de la variación de las reflectancias de hojas recientes, jóvenes y maduras de trigo.	36
Cuadro 6.9. Modelos para estimar la reflectancia de hojas de trigo a partir de la concentración de clorofila medida con SPAD-502.	37
Cuadro 6.10. Modelos para estimar la concentración de nitrógeno en parte aérea a partir de la reflectancia de hojas adultas de trigo.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. a) Propiedad de onda de un haz de radiación electromagnética. b) Onda polarizada propagándose en eje x. El campo eléctrico oscila en un plano perpendicular al campo magnético (Skoog <i>et al.</i> , 2004).	3
Figura 2.2. Características de distintas regiones del espectro electromagnético. Nótese que el color puede expresarse cuantitativamente por su longitud de onda (Brown <i>et al.</i> , 2004).	4
Figura 2.3. Interacciones entre la energía electromagnética y un cuerpo de agua (Lillesand y Klefer, 1994).	5
Figura 2.4. Reflectancia espectral generalizada para árboles de hoja caduca y coníferas (Lillesand y Klefer, 1994).	7
Figura 2.5. Firma espectral de la vegetación sana (Soria <i>et al.</i> , 1998).	8
Figura 2.6. Patrones de reflectancia espectral generalizados. a) Hoja verde sana; b) Hoja con daño incipiente; c) Hoja amarillenta; d) Muerte de tejido (hoja café rojiza) (Murtha, 1982).	9
Figura 2.7. Espectros de reflectancia de plantas de arroz con diferentes dosis de nitrógeno (Lihong <i>et al.</i> , 2004).	11
Figura 5.1. Esquema general de la investigación.	15
Figura 5.2. Distribución aleatoria de los tratamientos (T1 a T5) en el invernadero.	17
Figura 5.3. Forma en la que se realizaron las mediciones con radiómetro.	18
Figura 5.4. Ejemplo de las fotografías utilizadas en la investigación.	19
Figura 5.5. Forma en que se realizaron las mediciones con SPAD-502.	20
Figura 5.6. Imágenes de hojas de trigo obtenidas con escáner.	21
Figura 6.1. Efecto de los tratamientos en la concentración de nitrógeno en biomasa aérea de plantas de trigo (Scheffe, $\alpha = 0.05$).	22
Figura 6.2. Efecto de los tratamientos en la concentración de clorofila de hojas recientes de trigo (Tukey, $\alpha = 0.05$).	23
Figura 6.3. Efecto de los tratamientos en la concentración de clorofila de hojas jóvenes de trigo (Tukey, $\alpha = 0.05$).	24
Figura 6.4. Efecto de los tratamientos en la concentración de clorofila de hojas adultas de trigo (Tukey, $\alpha = 0.05$).	25

Figura 6.5. Comparaciones de medias utilizando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) para las reflectancias de plantas de trigo obtenidas con radiómetro bajo malla sombra.	28
Figura 6.6. Relación entre la concentración de nitrógeno en parte aérea y la reflectancia de plantas de trigo medida con radiómetro a 560 nm bajo malla sombra.	30
Figura 6.7. Comparaciones de medias utilizando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) para la reflectancia obtenida de fotografías de plantas de trigo bajo malla sombra.	31
Figura 6.8. Relación entre la concentración de nitrógeno en parte aérea y la reflectancia promedio de fotografías de plantas de trigo bajo malla sombra.	33
Figura 6.9. Comparaciones de medias utilizando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) para la reflectancia obtenida de fotografías de plantas de trigo bajo sombra completa.	34
Figura 6.10. Relación entre la concentración de nitrógeno en parte aérea y la reflectancia en banda roja obtenida de fotografías de plantas de trigo bajo sombra completa.	36
Figura 6.11. Relación entre la clorofila medida con SPAD y la reflectancia en banda del azul de hojas adultas de trigo.	38
Figura 6.12. Relación entre clorofila medida con SPAD y reflectancia en banda verde de hojas adultas de trigo.	38
Figura 6.13. Relación entre clorofila medida con SPAD y reflectancia en banda roja de hojas adultas de trigo.	39
Figura 6.14. Relación entre la reflectancia de hojas adultas en la banda del rojo y la concentración de nitrógeno en parte aérea de plantas de trigo.	40

1. INTRODUCCIÓN

El diagnóstico nutricional de cultivos es una herramienta que permite determinar el origen de anomalías en el estado nutrimental, por medio del análisis y la interpretación de las características morfológicas, físicas y químicas presentes en las plantas. Su importancia en los sistemas de producción agrícolas radica en que la nutrición es un factor fundamental para que los cultivos expresen su potencial para producir cosechas de alto rendimiento y calidad.

Los procedimientos para realizar el diagnóstico nutricional pueden agruparse en técnicas de campo y de laboratorio. Las primeras comprenden al diagnóstico visual y a las pruebas rápidas semicuantitativas, en tanto que las segundas engloban a los análisis químicos de suelo, solución de suelo, tejido vegetal, savia y agua de riego.

Dentro de las técnicas de campo el diagnóstico visual presenta, entre otras, la desventaja de identificar los desordenes nutrimentales de forma tardía, cuando estos ya afectaron el crecimiento y el rendimiento (Marschner, 2004), lo cual limita su uso. Por otra parte, las pruebas rápidas semicuantitativas solo ofrecen aproximaciones gruesas de las cantidades de algunos nutrimentos en el tejido vegetal y requieren la compra de equipo especializado, generalmente costoso, como ionómetros o medidores de clorofila o equipos portátiles de reactivos y de material de laboratorio para realizar las pruebas químicas.

Las técnicas convencionales de laboratorio por el contrario, son precisas y existen para todos los nutrimentos, sin embargo algunos de sus principales inconvenientes son: el tiempo que se consume en todo el proceso (muestreo, traslado, preparación, análisis e interpretación), el costo del análisis y la escasez de laboratorios que expidan resultados confiables (Alcántar y Sandoval, 1999).

Las técnicas de diagnóstico nutricional señaladas anteriormente presentan ventajas y desventajas particulares, por lo que resulta difícil elegir una que llene los requisitos deseables de precisión, rapidez, reproducibilidad y bajo costo (Alcántar y Sandoval, 1999).

Desde 1960 se han realizado estudios acerca de los fenómenos que ocurren en la interacción de la luz con el tejido vegetal (Gates *et al.*, 1965 y Thomas *et al.*, 1967). Dichos trabajos han dado la pauta para la realización de investigaciones recientes y alentadoras que relacionan la reflexión de radiaciones electromagnéticas por los cultivos y el estrés de tipo hídrico y nutrimental, principalmente nitrógeno.

Las técnicas comunes de medición de la radiación electromagnética se basan en el uso de radiómetros, los cuales son costosos y utilizan procedimientos difíciles de llevar a campo debido a que sus mediciones son afectadas por factores del ambiente. El presente trabajo pretende desarrollar procedimientos de diagnóstico confiables y económicos que hagan uso de las propiedades ópticas de las plantas de trigo para determinar deficiencias de nitrógeno.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Espectro electromagnético

Las radiaciones electromagnéticas son una forma de energía que se propaga por el espacio en ondas a velocidades muy altas. En el vacío se transmiten a una velocidad mayor y constante de $2.99792 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$ (Laidler y Meiser, 1999). De manera esquemática la radiación electromagnética puede representarse como oscilaciones sinusoidales perpendiculares de campos magnéticos y eléctricos (Figura 2.1). Este tipo de energía se caracteriza por poseer propiedades típicas de onda y de partícula. La longitud de onda, frecuencia, velocidad y amplitud son las propiedades ondulatorias que describen a las radiaciones electromagnéticas (Skoog *et al.*, 2004). La amplitud de la onda sinusoidal (A) se define como la longitud del vector del campo eléctrico en el punto máximo de la onda (Figura 2.1). La frecuencia (ν) es el número de oscilaciones del vector de campo eléctrico por unidad de tiempo y la longitud de onda (λ) es la distancia lineal entre dos puntos sucesivos máximos o mínimos de la onda.

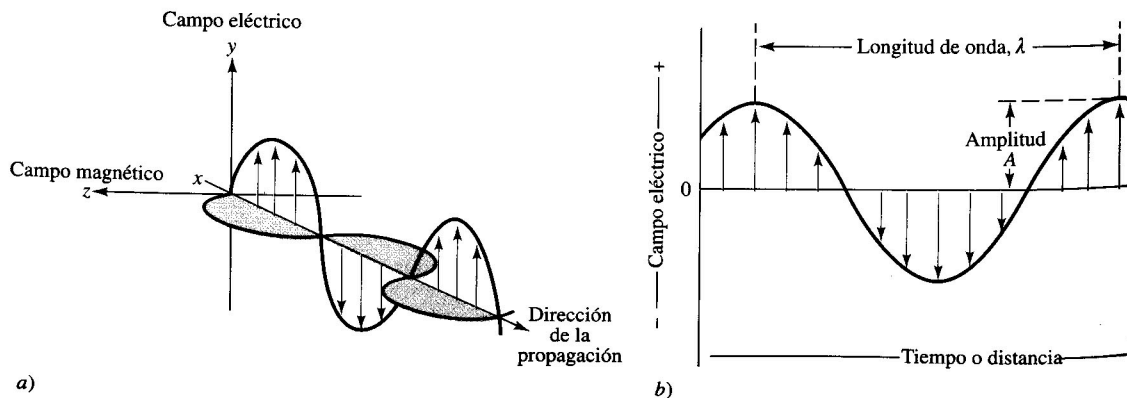


Figura 2.1. a) Propiedad de onda de un haz de radiación electromagnética. b) Onda polarizada propagándose en eje x. El campo eléctrico oscila en un plano perpendicular al campo magnético (Skoog *et al.*, 2004).

Las radiaciones electromagnéticas pueden ordenarse en un espectro que se extiende desde ondas de frecuencias muy elevadas (longitudes de onda pequeñas) hasta frecuencias muy bajas (longitudes de onda grandes). Por orden creciente de longitudes de onda el espectro

electromagnético (Figura 2.2) está compuesto por rayos gamma, rayos X, radiación ultravioleta, luz visible, rayos infrarrojos, microondas y ondas de radio.

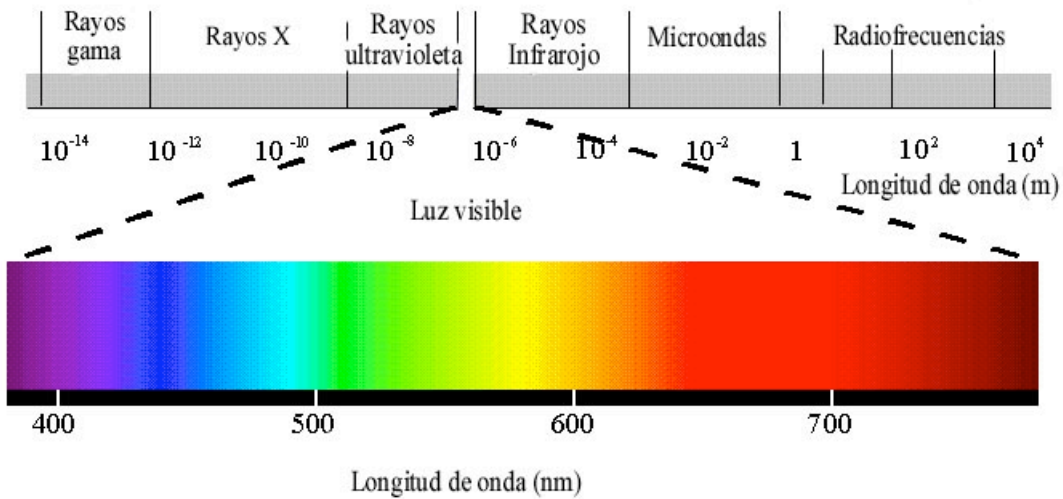


Figura 2.2. Características de distintas regiones del espectro electromagnético. Nótese que el color puede expresarse cuantitativamente por su longitud de onda (Brown *et al.*, 2004).

Cuando se hace referencia a las propiedades de partícula de las radiaciones electromagnéticas se entiende a éstas como una corriente de fotones. La energía de un fotón está relacionada con la frecuencia y la longitud de onda de la radiación electromagnética de acuerdo con la Ley de Planck (Mathews *et al.*, 2004).

$$E = h \nu = \frac{h c}{\lambda}$$

Donde **h** es la constante de Planck (6.63 x 10⁻³⁴ J s), **ν** la frecuencia, **c** la velocidad de la luz y **λ** la longitud de onda. A diferencia de la longitud de onda, la frecuencia es directamente proporcional a la energía del fotón **E**.

2.2. Interacción de la radiación y la materia

Cuando las radiaciones electromagnéticas inciden sobre una superficie se presentan tres fenómenos (Figura 2.3). Diferentes porciones de la energía incidente pueden ser reflejadas,

absorbidas o transmitidas por los cuerpos (Lillesand y Klefer, 1994). Estas formas de energía se relacionan de la siguiente forma:

$$E_I(\lambda) = E_R(\lambda) + E_A(\lambda) + E_T(\lambda)$$

Donde E_I denota la energía incidente, E_R la energía reflejada, E_A la energía absorbida y E_T la energía transmitida.

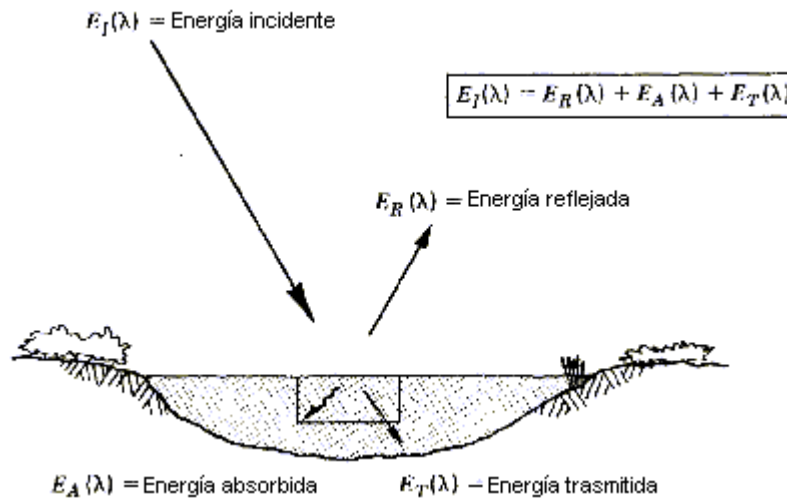


Figura 2.3. Interacciones entre la energía electromagnética y un cuerpo de agua (Lillesand y Klefer, 1994).

Todo objeto en la naturaleza posee una distribución única de radiación reflejada, transmitida y absorbida. Estas características espectrales pueden ser usadas para distinguir un objeto de otro o para obtener información acerca de la forma, tamaño y otras propiedades físicas y químicas (Soria *et al.*, 1998).

Las propiedades particulares de cada material producen una distribución específica de la reflectancia en diferentes longitudes de onda, generando un patrón único conocido como firma espectral. Las firmas están afectadas por las características del objeto que originan su interacción con la energía electromagnética y son distintas según las longitudes de onda (Soria *et al.*, 1998). Dentro de la porción visible del espectro electromagnético las variaciones en reflectancia resultan en el efecto visual llamado color (Hecht, 2000). Por ejemplo llamamos a un objeto azul cuando este refleja principalmente la porción azul del espectro electromagnético y decimos que un objeto es verde cuando este refleja de manera importante la porción verde.

Las propiedades de reflectancia de los cuerpos son muy importantes debido a que muchos sistemas de sensores remotos operan en regiones de longitud de onda en las cuales predomina la energía reflejada. Por tal motivo resulta conveniente expresar los fenómenos de interacción de los materiales con la energía radiante por medio de la reflectancia espectral, porción de la energía incidente que es reflejada en función de la longitud de onda (Lillesand y Klefer, 1994).

$$\rho_{\lambda} = \frac{E_R(\lambda)}{E_I(\lambda)}$$

Donde ρ_{λ} es la reflectancia de la energía de longitud de onda (λ) expresada en porcentaje, $E_R(\lambda)$ es la energía de longitud de onda (λ) reflejada por el objeto y $E_I(\lambda)$ es la energía de longitud de onda (λ) incidente sobre el objeto.

La gráfica de la reflectancia de un objeto, como una función de la longitud de onda, es llamada curva de reflectancia espectral. La configuración de una curva de reflectancia espectral proporciona una idea de las características espectrales de un objeto y tiene una fuerte influencia en la elección de las regiones de longitud de onda que debe medir un sensor para cierta aplicación deseada (Lillesand y Klefer, 1994). En la Figura 2.4 se muestran las curvas de reflectancia espectral altamente generalizadas para árboles de hoja caduca y coníferas.

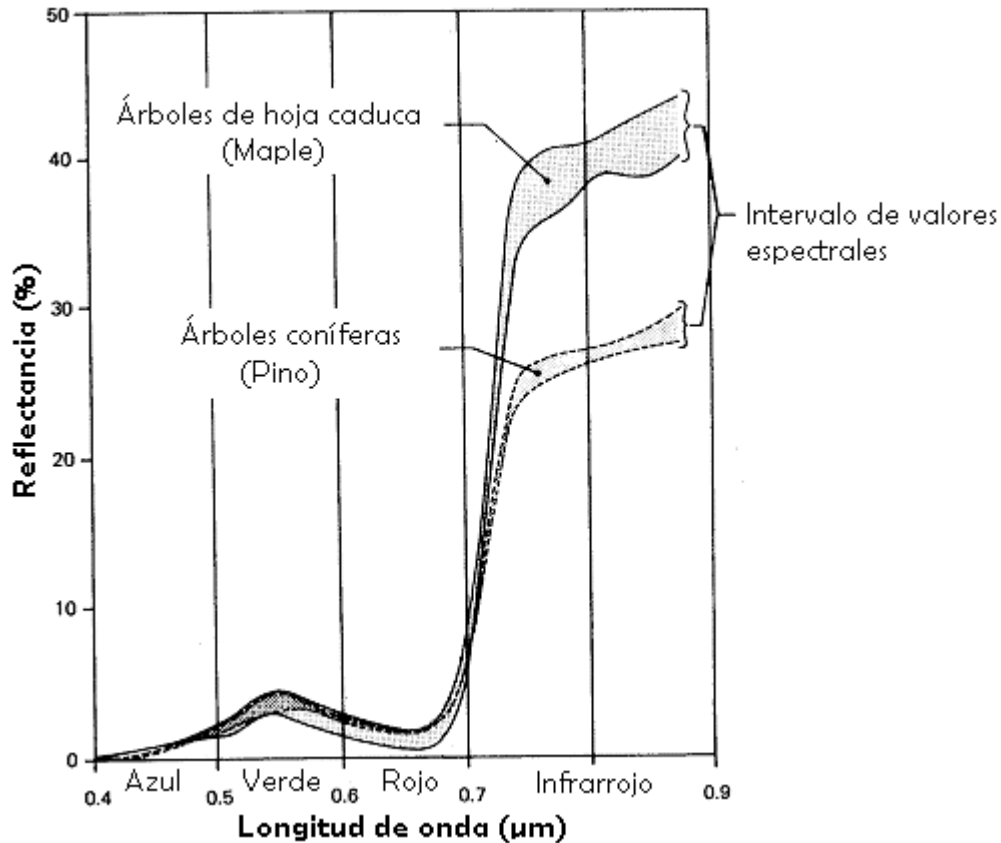


Figura 2.4. Reflectancia espectral generalizada para árboles de hoja caduca y coníferas (Lillesand y Klefer, 1994).

2.3. Propiedades espectrales de las plantas

Soria *et al.* (1998) mencionan que el comportamiento típico de la vegetación vigorosa muestra una reducida reflectancia en las bandas del visible con un máximo relativo en la porción verde, en torno a $0.55 \mu\text{m}$ (Figura 2.5). La absorción de luz por los pigmentos de la hoja, principalmente clorofila, xantofila y caroteno, son los responsables de tan baja reflectancia (Carolís y Amodeo, 1980).

La reflectancia de la planta en el infrarrojo cercano se incrementa rápidamente cerca de los $0.8 \mu\text{m}$ y se mantiene hasta niveles altos incluso a los $1.3 \mu\text{m}$ aproximadamente. Esta alta reflectancia se atribuye a que esta región del espectro es muy poco absorbida por los pigmentos.

La estructura interna de la lámina foliar al parecer adquiere una gran importancia sobre la reflectancia en estas longitudes de onda (Lillesand y Klefer, 1994).

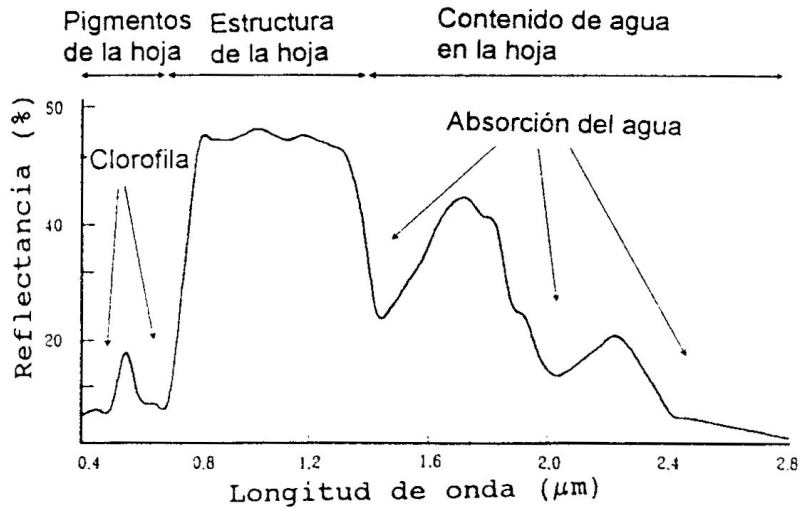


Figura 2.5. Firma espectral de la vegetación sana (Soria *et al.*, 1998).

En la región del espectro de 1.3 a 2.3 μm (infrarrojo cercano térmico), la estructura interna de la hoja parece ser menos importante que el contenido de agua en los tejidos (Soria *et al.*, 1998). El hecho de que el comportamiento tan lineal de la curva en esta región sea interrumpido por picos de más baja reflectancia, cerca de 1.45, 1.95 y 2.6 μm , corresponde principalmente a que el agua de la hoja absorbe considerablemente esas longitudes de onda conocidas como bandas de absorción de agua (Carolis y Amodeo, 1980).

Lillesand y Klefer (1994) mencionan que en las bandas de absorción de agua la reflectancia está relacionada de manera indirecta con el contenido total de agua en la hoja, lo que es función del contenido de humedad y del espesor de la hoja.

2.4. Reflectancia espectral de plantas bajo condiciones de estrés

La identificación de plantas bajo condiciones de estrés por medio de mediciones de reflectancia ha sido estudiada por más de 40 años (Al-Abbas *et al.*, 1974). Ahora se sabe que existe un patrón normal (curva de reflectancia espectral) para cultivos desarrollados bajo condiciones óptimas

(Figura 2.6 a). De acuerdo con Murtha (1982) un cultivo bajo condiciones de estrés fisiológico o morfológico cambia ese patrón de reflectancia normal (figuras 2.6 b, c y d).

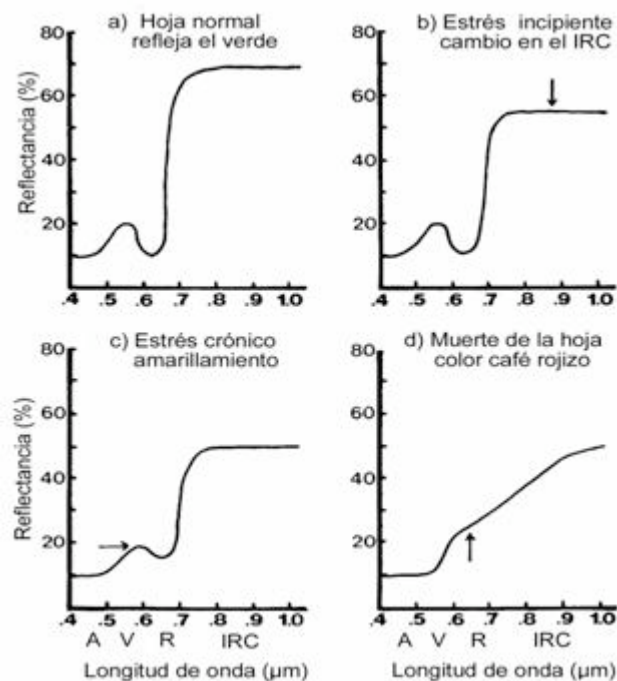


Figura 2.6. Patrones de reflectancia espectral generalizados. a) Hoja verde sana; b) Hoja con daño incipiente; c) Hoja amarillenta; d) Muerte de tejido (hoja café rojiza) (Murtha, 1982).

Sin embargo, la identificación de estrés de tipo nutrimental con frecuencia se dificulta debido a que otro tipo de condiciones desfavorables para el cultivo pueden ocasionar cambios similares en la firma espectral. Murtha (1982) menciona que cuando una planta se encuentra en condiciones de estrés son característicos ciertos cambios graduales en su firma espectral. También señala que los cambios en la reflectancia espectral primero ocurren en la región del infrarrojo cercano y después en el espectro visible. Estas alteraciones han sido llamadas síntomas previsuales e implican que los cambios en el infrarrojo sean siempre seguidos por cambios de reflectancia en la región visible.

En la Figura 2.6 b se observa un cambio previsual en la reflectancia del infrarrojo cercano. Gausman (1977) menciona que los constituyentes celulares proporcionan cerca del 8 por ciento de la reflectancia en el cercano infrarrojo, mientras que las paredes celulares y el espacio de aire en interfases proporcionan el resto (25-50 %). Murtha (1982) sugiere que los cambios

previsuales están asociados con la variación en el 8 % correspondiente a los constituyentes celulares, mientras que los cambios que envuelven a la pared celular y al espacio de aire interfase ocurren al final y con frecuencia se asocian con los cambios visuales.

Después de la aparición de los síntomas previsuales en el infrarrojo, si las plantas continúan por un periodo largo bajo condiciones de estrés ligero, es más probable que se afecten primero los constituyentes internos celulares (por ejemplo membranas, organelos o pigmentos) que la pared celular o el espacio de aire interfase (Murtha, 1982). Una característica típica de éstas condiciones es la pérdida o deterioro de los cloroplastos, lo que provoca un cambio en las bandas verde y rojo de la reflectancia visual observándose entonces un amarillamiento (Figura 2.6 c).

Sin embargo, de continuar las condiciones de estrés el cambio final generalizado es el enrojecimiento del follaje muerto. Este cambio es descrito tanto como una disminución de la reflectancia en el infrarrojo cercano o como un incremento en la reflectancia de la banda del rojo (Figura 2.6 d).

2.5. Estrés nutricional y reflectancia espectral

Con el objetivo de estudiar el efecto de las deficiencias de nutrimentos en la respuesta espectral de las plantas, Al-Abbas *et al.* (1974) determinaron los espectros de reflectancia, transmitancia y absorbancia producidos por hojas de maíz normal y seis tipos de deficiencias nutricionales, en 30 longitudes de onda seleccionadas entre los 500 y los 2600 nm. La concentración de clorofila de las hojas en todos los tratamientos deficientes en los nutrimentos nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre fue más baja que la de aquellas hojas pertenecientes al tratamiento sin estrés nutricional, como consecuencia la absorbancia fue menor en los rangos de 530 a 750 nm.

La reflectancia y transmitancia de la hoja en la región del infrarrojo cercano, localizada entre 750 y 1300 nm, estuvo generalmente asociada con su estructura y morfología. Entre todos los tratamientos, las hojas deficientes en potasio tuvieron la más alta reflectancia y el más bajo grosor de hoja y contenido de humedad.

La reflectancia espectral y la transmitancia en el intervalo de longitudes de onda entre 1300 y 2500 nm estuvieron relacionadas principalmente con el contenido de agua de la hoja. Este experimento mostró una correlación positiva entre el contenido de agua y el porcentaje de absorbancia a 1450 y 1950 nm. Las plantas deficientes en azufre, magnesio y nitrógeno tuvieron un mayor porcentaje de humedad por lo que mostraron una mayor absorbancia en esas longitudes de onda.

En trabajos recientes se ha buscado relacionar las propiedades espectrales de las plantas con los contenidos de ciertos nutrientes en el follaje. En la mayoría de los casos el nitrógeno ha sido el nutriente más estudiado con resultados alentadores (Brizuela *et al.*, 2007).

Lihong *et al.* (2004) trabajando con arroz encontraron que la reflectancia a los 560 nm correlacionaba de manera inversa con la concentración de nitrógeno en el follaje (Figura 2.7). También observaron que la concentración de nitrógeno en la hoja correlacionaba de manera positiva con la reflectancia mostrada en la longitud de onda 810 nm.

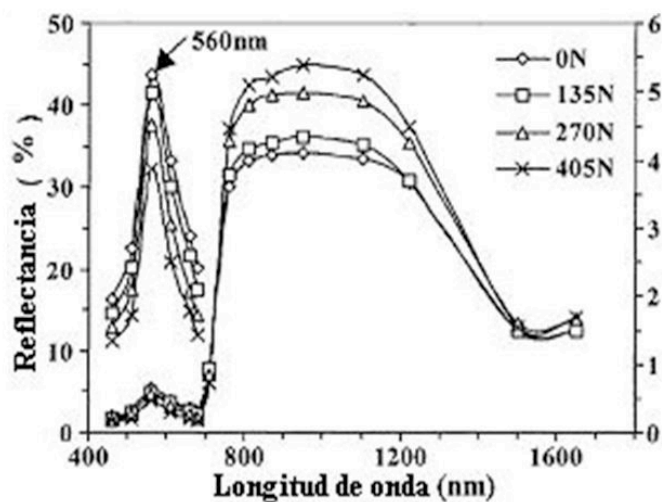


Figura 2.7. Espectros de reflectancia de plantas de arroz con diferentes dosis de nitrógeno (Lihong *et al.*, 2004).

Con estas observaciones Lihong *et al.* (2004) generaron un modelo matemático lineal para predecir las concentraciones de nitrógeno en el follaje a partir de las reflectancias a 560 y 810 nm con un coeficiente de ajuste del 85 % ($R^2 = 0.85$).

Osborne *et al.* (2002) realizaron un experimento en maíz con la intención de encontrar una relación entre la reflectancia espectral y las concentraciones de nitrógeno y fósforo en el follaje y grano. Ellos encontraron correlaciones importantes de la concentración de tales nutrientes en el tejido vegetal con la reflectancia espectral en longitudes de onda correspondientes a los espectros visible e infrarrojo. Como conclusión de su trabajo mencionan que mediante mediciones de reflectancia espectral es posible conocer de manera satisfactoria ($R^2 = 0.87$) el contenido de nitrógeno del follaje durante las diferentes etapas fenológicas del cultivo. La predicción del contenido de fósforo en el tejido fue mejor en las etapas fenológicas tempranas ($R^2 = 0.68$) utilizando para esto la reflectancia en el azul (440 y 445 nm) y en el cercano infrarrojo (730 y 930 nm).

2.6. Importancia del nitrógeno para las plantas

El nitrógeno es uno de los 17 elementos considerados como esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas. El nitrato (NO_3^-) y el amonio (NH_4^+) son las principales formas inorgánicas de nitrógeno que las plantas absorben. Acerca de la asimilación de este elemento Marschner (2004) menciona que la mayor parte del amonio absorbido es incorporada en compuestos orgánicos en las raíces mientras que el nitrato puede ser fácilmente transportado por el xilema de la raíz hacia los tallos, hojas y órganos de almacenamiento para su posterior asimilación.

Después del carbono, hidrógeno y oxígeno el nitrógeno es el elemento que mas abunda en las plantas, se encuentra en muchos compuestos orgánicos que incluyen todos los aminoácidos y los ácidos nucleicos. La biomasa vegetal puede contener entre 0.5 y 6% de nitrógeno, las grandes cantidades requeridas por las plantas junto a su baja disponibilidad en los suelos agrícolas hacen del nitrógeno el nutriente limitante mas frecuente para los cultivos (Epstein y Bloom, 2005).

El nitrógeno es un elemento constituyente de las biomoléculas, es un importante componente de aminoácidos, proteínas y ácidos nucleicos. De acuerdo con Alcántar *et al.* (2007) el nitrógeno está presente en coenzimas, nucleótidos, amidas, ureidos y en la molécula de clorofila y participa en todas las reacciones enzimáticas y en todo el metabolismo.

2.7. Desarrollo de síntomas de deficiencia de nitrógeno

Por las cantidades en las que es requerido y por su baja disponibilidad en los suelos minerales, el nitrógeno suele ser el nutrimento que con mayor frecuencia se encuentra limitando el rendimiento de los cultivos. La deficiencia de nitrógeno en la planta afecta en diferentes grados a todo el metabolismo debido a las funciones tan diversas que este nutrimento desempeña.

El inicio de desarrollo de un síntoma debe ser la suspensión de una reacción bioquímica en una célula. Esta alteración frecuentemente no es comprobable sino que la alteración nutrimental se puede detectar hasta que numerosas reacciones, que en alguna forma son activadas por el nutrimento, no tienen lugar, o toman otro transcurso; mientras que las reacciones normales en las cuales debería haber participado el nutrimento son mínimas, conduciendo a alteraciones, transformaciones y pérdida de funciones de las células, tejidos y órganos (Sánchez *et al.*, 2007).

Los síntomas típicos por los cuales se puede identificar a las deficiencias nutrimentales incluyen tres características, la apariencia anormal del órgano indicador de forma simétrica en lados opuesto de la planta, el desarrollo de los síntomas de acuerdo a la movilidad del nutrimento en hojas jóvenes o adultas y la universalidad del síntoma entre cultivos (Sánchez *et al.*, 2007 y Gárate y Bonilla, 2003).

Una planta con deficiencia de nitrógeno mostrará una reducción de la tasa de crecimiento, evidenciada por hojas más pequeñas de lo normal y un color verde claro a amarillo uniforme en hojas viejas debido a la disminución de clorofila (California Plant Health Association, 2008). La necrosis de hojas o partes de éstas ocurre en etapas tardías bajo fuertes deficiencias. Otros síntomas de la deficiencia de nitrógeno incluyen de acuerdo con Sánchez *et al.* (2007) incluyen un crecimiento desproporcionado de la raíz con respecto a la parte aérea de la planta.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

- Detectar carencias de nitrógeno en trigo, con diferentes niveles de suministro, a través de sus propiedades ópticas.

3.2. Objetivos específicos

- Identificar deficiencias de nitrógeno en trigo mediante un radiómetro CROPSCAN.
- Identificar deficiencias de nitrógeno en trigo con el medidor de clorofila SPAD-502.
- Identificar deficiencias de nitrógeno en trigo con imágenes de cámara digital.
- Identificar deficiencias de nitrógeno en trigo a través de imágenes digitales de escáner.

4. HIPÓTESIS

4.1. Hipótesis general

- El espectro de reflexión de la luz producido por plantas de trigo, con diferentes niveles de suministro, conduce a la identificación de deficiencias de nitrógeno.

4.2. Hipótesis particulares

- La concentración de nitrógeno en plantas de trigo se relaciona en manera positiva con las unidades SPAD medidas en sus hojas.
- La concentración de nitrógeno en plantas de trigo se relaciona de manera negativa con su reflectancia medida con radiómetro.
- La concentración de nitrógeno en plantas de trigo se relaciona de manera negativa con la reflectancia de sus fotografías digitales.
- La concentración de nitrógeno en plantas trigo se relaciona de manera negativa con la reflectancia de imágenes digitales de sus hojas obtenidas con escáner.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Ubicación del experimento

El experimento se realizó en los invernaderos del Área de Nutrición Vegetal del Colegio de Postgraduados, campus Montecillo en Texcoco, Estado de México.

5.2. Etapas del experimento

La investigación incluyó trabajo en invernadero, laboratorio y el análisis estadístico de datos. En la Figura 5.1 se presenta una descripción de las actividades realizadas.

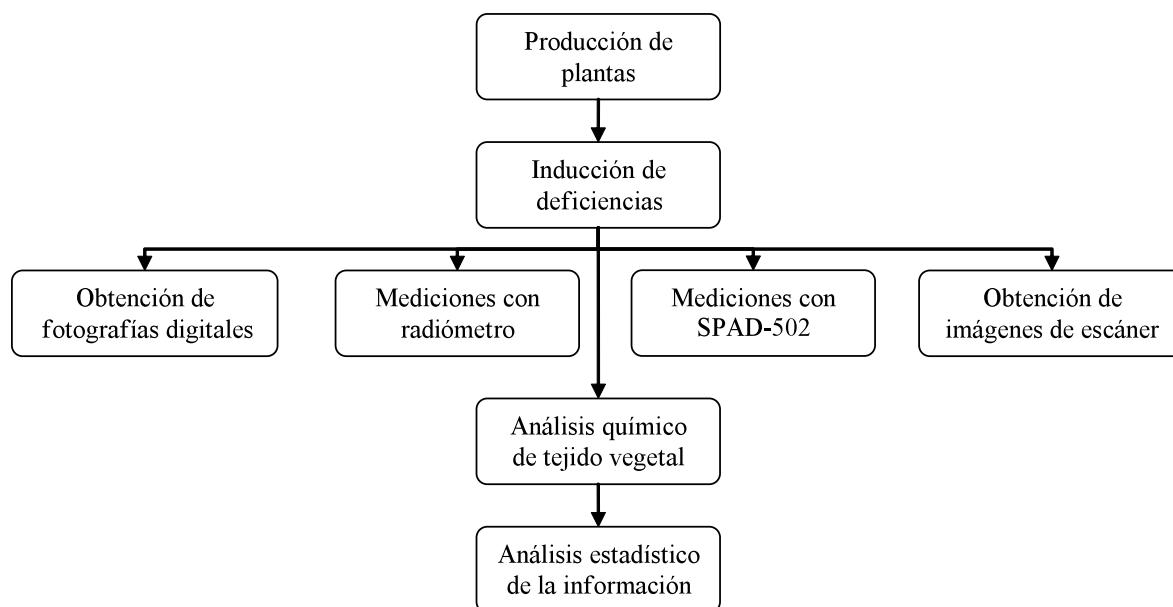


Figura 5.1. Esquema general de la investigación.

5.3. Producción de plantas

La producción de plantas se hizo en macetas de plástico de 22 cm de diámetro y 11 cm de altura rellenas hasta un 85% de su capacidad con tezontle cernido en una malla de 7 mm. Una capa de tezontle tamizado en una malla de 1 mm se adicionó para rellenar la parte superior de la maceta.

38 semillas de trigo variedad Tlaxcala F2000 (liberada por el CEVAMEX) se sembraron uniformemente distribuidas en la maceta y fueron regadas diariamente. Con el objetivo de homogenizar las unidades experimentales, después de la emergencia se dejaron 30 plántulas por maceta.

Después de la emergencia, las plantas se regaron con la solución nutritiva propuesta por Steiner (1984) diluida al 50% la primer semana, al 75% la segunda semana y sin dilución la tercera y cuarta semana.

5.4. Diseño del experimento

Los tratamientos consistieron en aplicar riegos con la Solución Nutritiva Universal de Steiner modificada en la concentración de nitrógeno para inducir la deficiencia gradual de este elemento. Se aplicaron desde los 28 hasta los 63 días después de la emergencia. Los diferentes tratamientos se presentan en el Cuadro 5.1. El diseño completo de las soluciones nutritivas para cada uno de los tratamientos se encuentra en el Anexo 1.

Cuadro 5.1. Descripción de los tratamientos.

Identificación	Tratamientos	Concentración NO_3^- ($\text{mmol}^{(-)} \text{L}^{-1}$)	Concentración de N (%)*
T1	Deficiente I	1.2	10
T2	Deficiente II	2.4	20
T3	Deficiente III	4.8	40
T4	Marginal	7.2	60
T5	Suficiente	12	100

* En relación a la solución nutritiva universal de Steiner (1984).

5.5. Diseño experimental

Los tratamientos fueron distribuidos en el invernadero en un diseño experimental completamente al azar, con cuatro repeticiones por tratamiento. Cada unidad experimental consistió en una maceta de 4.2 litros de capacidad, con 30 plantas de trigo distribuidas de forma homogénea. La ubicación en campo de las macetas se presenta en la Figura 5.2.

T1 2	T5 3	T1 3	T4 2
T3 4	T5 2	T4 4	T3 3
T4 3	T5 1	T1 1	T5 4
T2 3	T2 4	T2 2	T3 2
T4 1	T3 1	T1 4	T2 1

Figura 5.2. Distribución aleatoria de los tratamientos (T1 a T5) en el invernadero.

5.6. Variables respuesta

Las variables respuesta se colectaron después de 30 días de aplicación de los tratamientos, momento en el cual las plantas de trigo se encontraban en la etapa fenológica de floración (63 días después de la emergencia). Se consideraron las siguientes variables respuesta:

1. Reflectancia de la planta medida con radiómetro
2. Mediciones de clorofila con SPAD-502
3. Reflectancia de la planta obtenida a partir de fotografías
4. Reflectancia de hoja obtenida a partir de imágenes de escáner
5. Concentración de nitrógeno en biomasa aérea de plantas

5.6.1. Reflectancia de la planta medida con radiómetro

La toma de datos se realizó con un radiómetro multiespectral marca CROPSCAN de cinco bandas (centradas en 485, 560, 660, 830 y 1650 nm). Con el objetivo de homogenizar las condiciones de medición del radiómetro se tomaron en cuenta los siguientes factores:

- **Tiempo de medición.** Las mediciones duraron entre 60 y 70 minutos y se llevaron a cabo a partir de las 12:00 horas.
- **Condiciones de iluminación.** Las mediciones fueron hechas bajo una malla sombra colocada a una altura de 2 m.

- **Altura de la medición.** El radiómetro se colocó sobre cada unidad experimental a una altura de 1 m apoyándose para esto de un trípode.
- **Secuencia de la medición.** Las mediciones se realizaron de manera aleatoria, tomando como base la distribución en campo de las unidades experimentales.
- **Fondo homogéneo.** Se construyó una base de madera de forma cuadrada con un agujero en el centro donde se insertaron las macetas con plantas de trigo. La base de madera y la maceta fueron cubiertas con una capa de tezontle húmedo y cernido en malla de 3 mm de diámetro, con el objetivo de homogenizar las mediciones a un mismo sustrato de fondo. En la Figura 5.3 se presenta la manera en la que se realizaron las mediciones con el radiómetro.



Figura 5.3. Forma en la que se realizaron las mediciones con radiómetro.

5.6.2. Reflectancia de la planta obtenida a partir de fotografías

La obtención de fotografías se realizó con una cámara digital marca Sony con lente Carl Zeiss a una resolución de 1240 x 800 píxeles. Las fotografías digitales se tomaron a la par con las mediciones del radiómetro bajo condiciones homogéneas, considerando los siguientes factores:

- **Duración del proceso.** La obtención de fotografías duró entre 60 y 70 minutos y se llevó a cabo a partir de las 12:00 horas del día.
- **Condiciones de luz.** Las fotografías digitales fueron tomadas bajo dos condiciones de iluminación:
 - Bajo una malla sombra colocada a una altura de 2 metros.
 - Bajo la sombra de un panel de cartón colocado a una altura de 1.85 metros.
- **Altura de la fotografía.** La cámara se colocó sobre cada unidad experimental a una distancia de 1 metro.
- **Secuencia de las fotografías.** Las fotografías se obtuvieron de manera aleatoria, tomando como base la distribución en campo de las unidades experimentales.

Las fotografías digitales fueron almacenadas en una computadora y con el paquete de cómputo Idrisi Kilimajaro se obtuvo la reflectancia del tejido vegetal en las bandas azul, verde y roja.



Figura 5.4. Ejemplo de las fotografías utilizadas en la investigación.

5.6.3. Concentración de clorofila en hoja estimada con SPAD-502

La concentración de clorofila se estimó con el medidor portátil de clorofila SPAD-502 de marca Minolta. La primera, segunda y tercera hojas recientes durante la etapa de floración, se utilizaron como órganos de muestreo. Por cada unidad experimental se realizaron mediciones en 18 plantas escogidas al azar, en la parte media del órgano de muestreo ver Figura 5.5.



Figura 5.5. Forma en que se realizaron las mediciones con SPAD-502.

5.6.4. Reflectancia de hoja obtenida a partir de imágenes de escáner

La obtención de imágenes se realizó con un escáner de escritorio marca Genius modelo Vivid II USB. Como órgano de muestreo se utilizaron la primera, segunda y tercera hojas recientes durante la etapa de floración. Por cada unidad experimental se colectaron hojas de 12 plantas escogidas al azar. Los 5 cm de la parte media de cada hoja fueron escaneados a una resolución de

300 dpi (puntos por pulgada) ver Figura 5.6. Posteriormente, se utilizó el programa de cómputo Idrisi Kilimanjaro para obtener la reflectancia del tejido vegetal en las bandas azul, verde y roja de la manera siguiente: primero se descompuso la imagen en los colores primarios azul, verde y rojo, después se señalaron las partes de la imagen correspondientes únicamente a tejido vegetal (área de muestreo) y por ultimo se pidieron los valores de reflectancia correspondientes a cada banda.



Figura 5.6. Imágenes de hojas de trigo obtenidas con escáner.

5.6.5. Concentración de nitrógeno en biomasa aérea de plantas

En la etapa de floración se cortó la parte aérea de las plantas de trigo arriba del primer centímetro de tallo. Inmediatamente después, las plantas fueron llevadas al laboratorio y secadas en una estufa a 65 °C por 48 horas. Las plantas secas fueron pasadas por un molino con cuchillas de acero y por un tamiz con abertura de 0.47 mm de diámetro. A las muestras secas y molidas se les determinó la concentración de nitrógeno por el método Kjeldahl descrito por Bremmer y Mulvaney (1982).

5.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante el programa de cómputo Statistic Analysis System version 9.2 (SAS 9.2). Se efectuó un análisis de la varianza y una prueba de medias Scheffé a la concentración de nitrógeno en parte aérea. Se realizó análisis de regresión entre la concentración de nitrógeno en parte aérea y las variables respuesta y se seleccionaron modelos para estimar el comportamiento de dichas variables.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Concentración de nitrógeno en biomasa aérea de plantas

Se realizó un análisis a la variación de la concentración de nitrógeno en la biomasa aérea, el cual reveló la existencia de diferencias altamente significativas ($\alpha < 0.0001$) en el comportamiento de la variable a causa de la aplicación de los tratamientos. Una comparación de medias por el método de Scheffe con un nivel de significancia de 0.05 se llevó a cabo. Los resultados se muestran en la Figura 6.1.

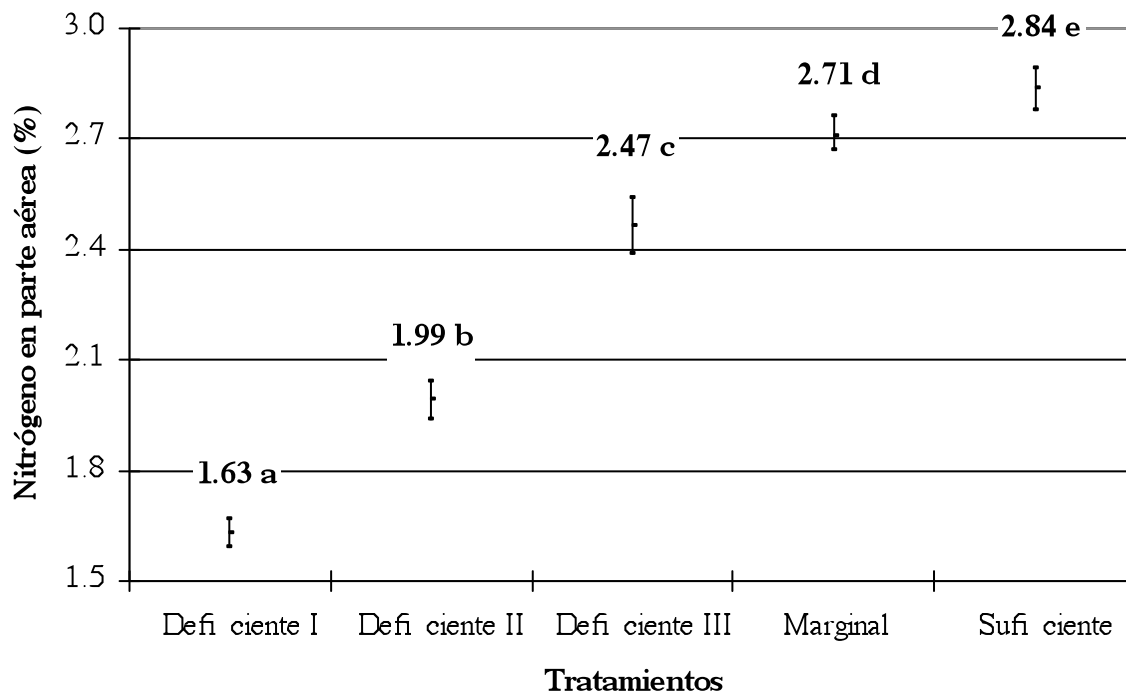


Figura 6.1. Efecto de los tratamientos en la concentración de nitrógeno en biomasa aérea de plantas de trigo (Scheffe, $\alpha = 0.05$).

La comparación de medias en la Figura 6.1 muestra que las soluciones nutritivas modificaron la concentración de nitrógeno en el tejido vegetal. Este resultado es fundamental para las siguientes mediciones porque permitió tener unidades experimentales con diferentes niveles de deficiencia de nitrógeno.

6.2. Estimaciones de la concentración de clorofila con SPAD-502

Las mediciones de clorofila estimadas con el SPAD-502 fueron sometidas a un análisis de varianza y a una prueba de medias de Tukey con un nivel de significancia de 5%. Los resultados se describen a continuación.

6.2.1. Estimación de clorofila en hojas recientes

El análisis de varianza indicó que al menos uno de los tratamientos produjo un efecto estadísticamente diferente ($\alpha < 0.0001$) en las mediciones del SPAD-502. Los resultados de la prueba de medias se muestran en la Figura 6.2.

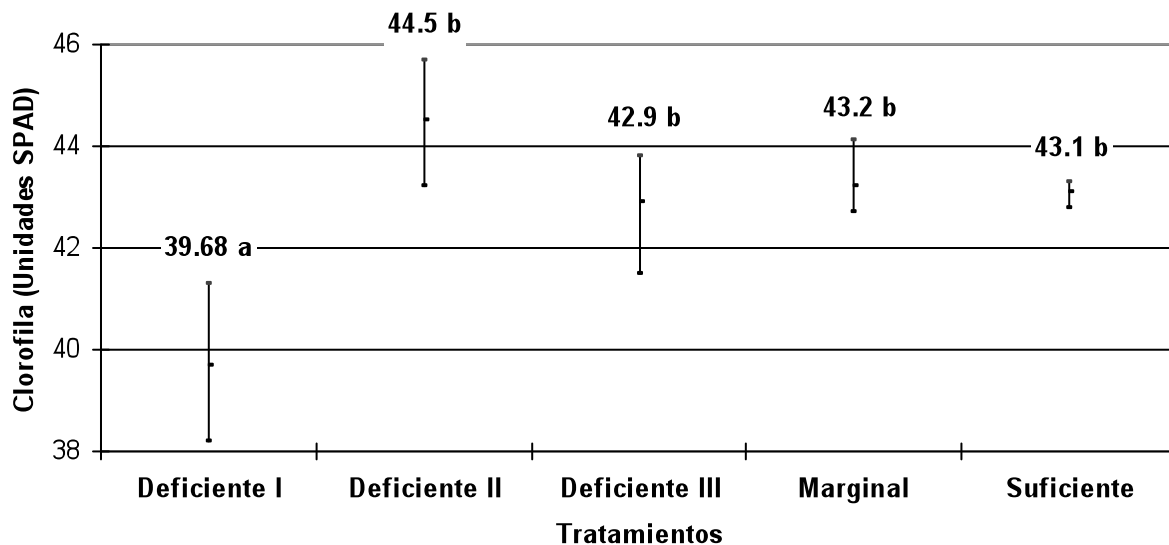


Figura 6.2. Efecto de los tratamientos en la concentración de clorofila de hojas recientes de trigo (Tukey, $\alpha = 0.05$).

La comparación de medias realizada a las mediciones de clorofila con SPAD-502, en hojas nuevas, muestra que solo el tratamiento con menor abasto de nitrógeno presentó una concentración de clorofila menor al resto de los tratamientos. A pesar de que los tratamientos produjeron unidades experimentales con diferentes concentraciones de nitrógeno en sus tejidos, los niveles de clorofila en las hojas recientes no fueron lo suficientemente modificados para

representar dichas diferencias, esto debido a la alta movilidad que el nitrógeno tiene en las plantas, principalmente de las hojas adultas a las hojas jóvenes (Grundon *et al.*, 1997; Bonilla, 2003 y Sánchez *et al.*, 2007).

6.2.2. Medición de clorofila en hojas jóvenes

Los resultados del análisis de la varianza para las mediciones de clorofila en hojas medias muestran que al menos uno de los tratamientos produjo un efecto estadísticamente diferente ($\alpha < 0.0003$). Los resultados de las comparaciones de medias de Tukey con $\alpha = 0.05$ se presentan en la Figura 6.3.

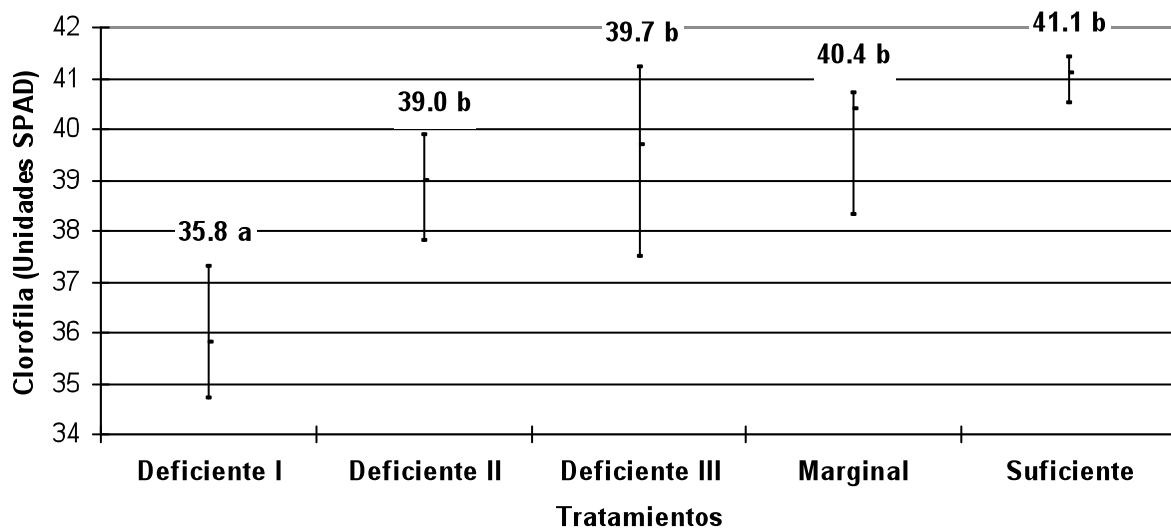


Figura 6.3. Efecto de los tratamientos en la concentración de clorofila de hojas jóvenes de trigo (Tukey, $\alpha = 0.05$).

El resultado de las comparaciones de medias de la concentración de clorofila en hojas jóvenes muestra similitud con lo encontrado en las hojas recientes; solo el tratamiento con menor abastecimiento de nitrógeno presentó una menor concentración de clorofila con respecto a los demás. Aunque hubo una tendencia a aumentar la concentración de clorofila con el incremento en el abastecimiento de nitrógeno, está no fue lo suficientemente clara para establecer más de una diferencia. El movimiento de nitrógeno de tejidos adultos hacia tejidos jóvenes reportado ampliamente en la literatura (Grundon *et al.*, 1997; Bonilla, 2003 y Sánchez *et al.*, 2007) y fue

detectado en este trabajo, lo que evitó que se presentaran mayores diferencias en la concentración de clorofilas.

6.2.3. Medición de clorofila en hojas adultas

Los resultados del análisis de varianza para las mediciones de clorofila en hojas viejas muestran que al menos uno de los tratamientos provocó un efecto estadísticamente diferente ($\alpha < 0.0001$). El resultado de las comparaciones de medias por el método de Tukey con $\alpha = 0.05$ se presenta en la Figura 6.4.

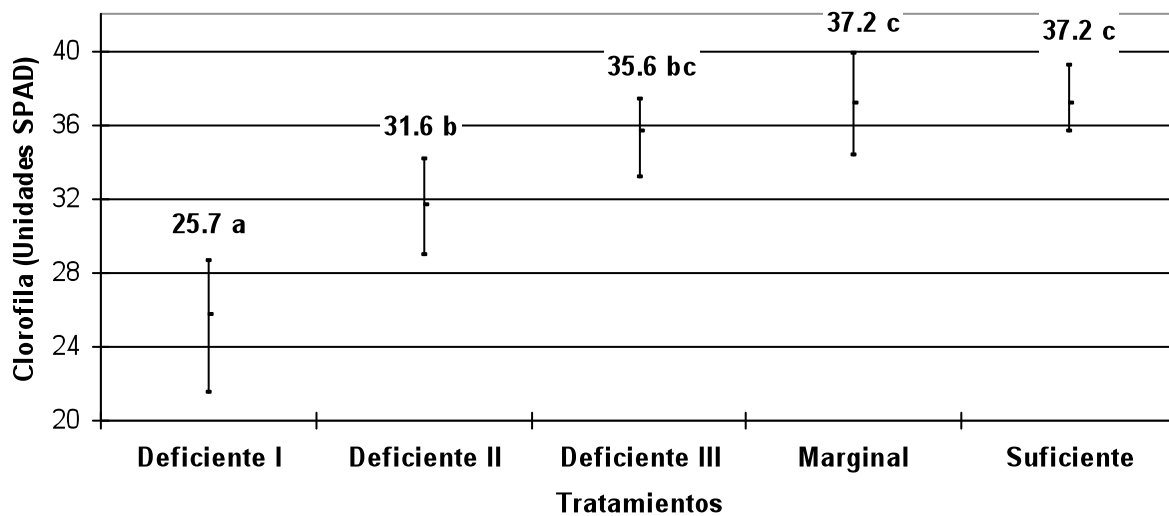


Figura 6.4. Efecto de los tratamientos en la concentración de clorofila de hojas adultas de trigo (Tukey, $\alpha = 0.05$).

El cambio gradual en la concentración de clorofila en hojas adultas fue provocado por las diferencias en el abastecimiento de nitrógeno. Las unidades experimentales con mayor suministro del nutriente presentaron las concentraciones de clorofila más elevadas.

Las menores concentraciones de clorofila en los tratamientos Deficiente I, II y III se atribuyen al proceso de destrucción de clorofilas para sintetizar aminoácidos y amidas necesarias para solventar la deficiencia de nitrógeno en las hojas recientes y jóvenes.

6.2.4. Relación entre las concentraciones de nitrógeno en planta y de clorofila en hojas

Para conocer la relación existente entre las concentraciones de nitrógeno en planta y de clorofila en hojas adultas se realizó un análisis de regresión entre las variables. Se probaron modelos de tipo lineal y cuadrático, los resultados del análisis de regresión se muestran en el Cuadro 6.1.

Cuadro 6.1. Modelos para estimar concentración de clorofila a partir de la concentración de nitrógeno en parte aérea de trigo.

Modelo	r^2	C. V.
Clorofila = 9.309 (Nitrógeno) + 11.807	0.78	7.37
Clorofila = -7.759 (Nitrógeno) ² + 44.032 (Nitrógeno) - 25.387	0.82	6.69

Los análisis de regresión lineal y cuadrático mostraron una relación positiva y altamente significativa ($\alpha < 0.0001$) entre el porcentaje de nitrógeno en parte aérea y el nivel de clorofila estimado con SPAD-502. El modelo cuadrático presentó un mayor coeficiente de correlación ($r^2 = 0.82$) y un menor coeficiente de variación (C. V. = 6.69). La distribución de los datos puede apreciarse en la Figura 6.4.

La relación positiva establecida en el análisis de regresión se atribuye principalmente a que el nitrógeno es un elemento que forma parte de la estructura de las clorofilas. Por tal motivo, las unidades experimentales con un abastecimiento de nitrógeno inferior a sus necesidades presentaron niveles de clorofila menores que aquellas con un abastecimiento suficiente. Las relaciones positivas entre las unidades SPAD y el nitrógeno han sido reportadas para otros cultivos en trabajos anteriores (Rodríguez *et al.*, 1998) y corroboran la importancia del nitrógeno como elemento constituyente de la molécula de clorofila.

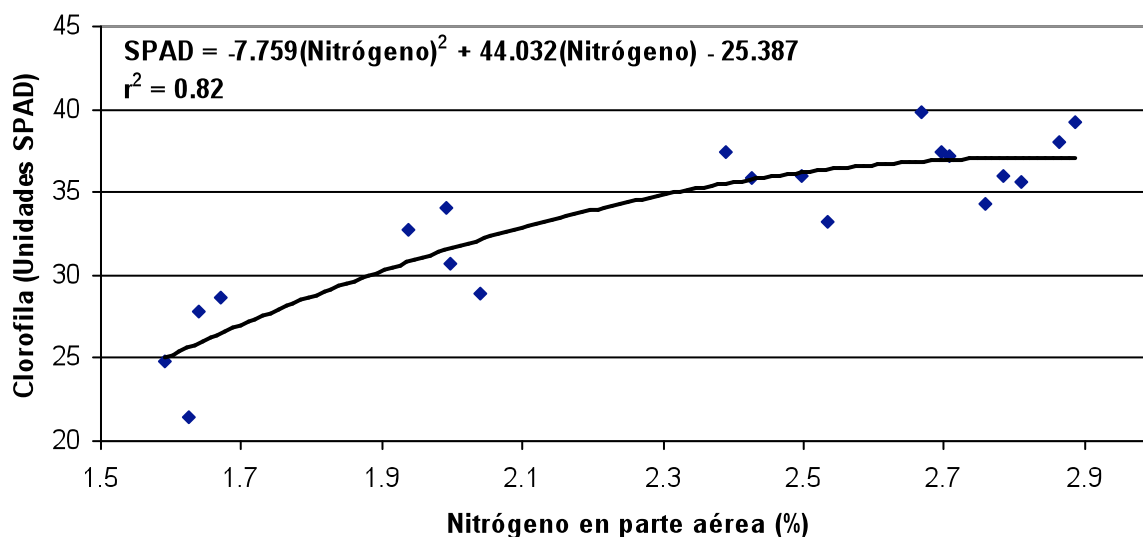


Figura 6.4. Relación entre nitrógeno en parte aérea y clorofila medida con SPAD-502 en plantas de trigo de 60 días de edad.

6.3. Reflectancia de plantas obtenida con radiómetro bajo malla sombra

El análisis de la variación de la reflectancia de plantas en las bandas centradas en 485, 560, 660 y 830 nm, Cuadro 6.2, muestra que estas variables fueron afectadas por los cambios en el abastecimiento de nitrógeno.

Cuadro 6.2. Resultado del análisis de la variación de la reflectancia de plantas de trigo obtenida con radiómetro bajo malla sombra.

Fuente de variación	Modelo estadístico		Media	Valor de F	Significancia de la prueba
	r^2	C. V.			
Banda 485 nm	0.7355	2.55	7.64	10.43	0.0003
Banda 560 nm	0.7128	1.90	10.71	9.31	0.0005
Banda 660 nm	0.6969	1.92	11.89	8.62	0.0008
Banda 830 nm	0.6021	4.12	22.82	5.67	0.0055

Las comparaciones de medias utilizando la prueba de Tukey con una significancia de 5% muestran que los tratamientos con mayor abastecimiento de nitrógeno (Marginal y Suficiente) presentaron las menores reflectancias en las cuatro bandas (Figura 6.5).

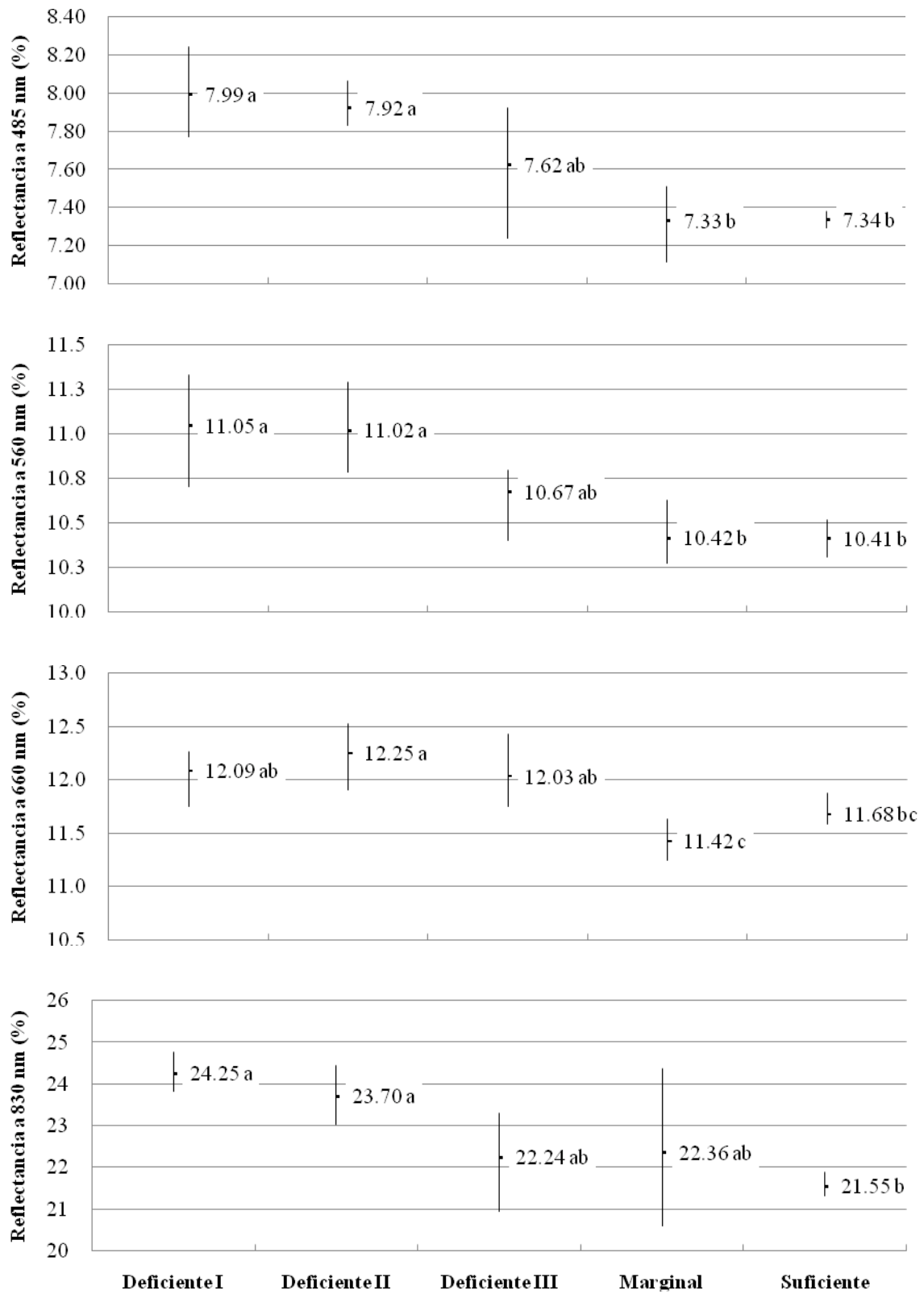


Figura 6.5. Comparaciones de medias utilizando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) para las reflectancias de plantas de trigo obtenidas con radiómetro bajo malla sombra.

Los tratamientos Deficiente I y Deficiente II fueron los que tuvieron las reflectancias más altas. Lo anterior se atribuye a la presencia de menores cantidades de clorofila en sus hojas recientes, jóvenes y adultas. La disminución en la concentración de clorofila es un fenómeno inherente a la deficiencia de nitrógeno y pudo comprobarse con las mediciones del SPAD-502.

La relación entre la concentración de nitrógeno en parte aérea y la reflectancia de plantas obtenida con radiómetro bajo malla sombra fue estudiada mediante análisis de regresión. Los modelos de tipo lineal presentados en el Cuadro 6.3 fueron los que presentaron mayores coeficientes de determinación y menores coeficientes de variación siendo en todos los casos su significancia menor a 0.0002.

Cuadro 6.3. Modelos para estimar la reflectancia de plantas de trigo obtenida con radiómetro bajo malla sombra a partir de la concentración de nitrógeno en parte aérea.

Modelos	r^2	C. V.
Reflectancia a 485 nm = -0.60159 (Nitrógeno) + 9.0403	0.69	2.52
Reflectancia a 560 nm = -0.59526 (Nitrógeno) + 12.0986	0.67	1.86
Reflectancia a 660 nm = -0.52503 (Nitrógeno) + 13.1152	0.44	2.38
Reflectancia a 830 nm = -2.09102 (Nitrógeno) + 27.6852	0.54	4.04

Los diferentes modelos muestran la existencia de una relación negativa y altamente significativa ($\alpha < 0.0002$) entre la reflectancia de plantas medida con radiómetro bajo malla sombra y la concentración de nitrógeno en parte aérea. La variable que presentó el mayor ajuste fue la reflectancia a 560 nm ($r^2 = 0.67$ y C. V. = 1.86).

En la Figura 6.6 se observa que las plantas de trigo con menor concentración de nitrógeno en la parte aérea reflejaron un mayor porcentaje de radiaciones electromagnéticas de longitud de onda cercana a los 560 nm. Las menores reflectancias se presentaron en las plantas con mayor concentración de nitrógeno debido a que estas también tuvieron mayores concentraciones de clorofilas. La clorofila al ser un pigmento de absorción de radiaciones electromagnéticas del espectro visible disminuyó la reflectancia.

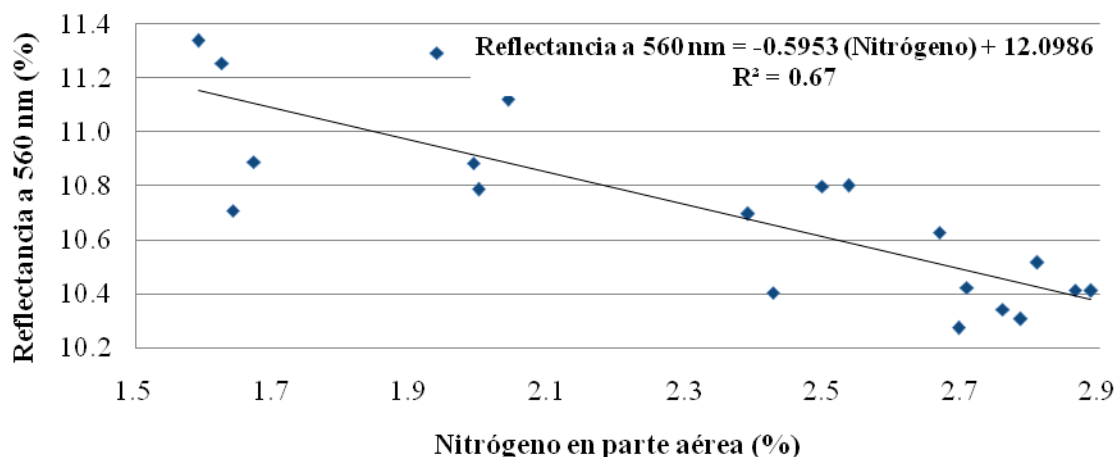


Figura 6.6. Relación entre la concentración de nitrógeno en parte aérea y la reflectancia de plantas de trigo medida con radiómetro a 560 nm bajo malla sombra.

6.4. Reflectancia de plantas obtenida de fotografías tomadas bajo malla sombra

El análisis de la variación de la reflectancia en las bandas azul, verde y roja, Cuadro 6.4, reveló que éstas variables fueron afectadas por los cambios en el abastecimiento de nitrógeno a las plantas.

Cuadro 6.4. Resultado del análisis de la variación de la reflectancia obtenida de fotografías de plantas de trigo bajo malla sombra.

Fuente de variación	Modelo estadístico		Media	Valor de F	Significancia de la prueba
	r ²	C. V.			
Banda azul	0.52	2.77	48.56	4.07	0.0198
Banda verde	0.71	1.51	68.41	9.37	0.0005
Banda roja	0.67	2.87	62.51	7.45	0.0016

Las comparaciones de medias utilizando la prueba de Tukey con una significancia de 5% muestran que la banda azul fue la menos sensible a los cambios en el suministro de nitrógeno a las plantas (Fig. 6.7).

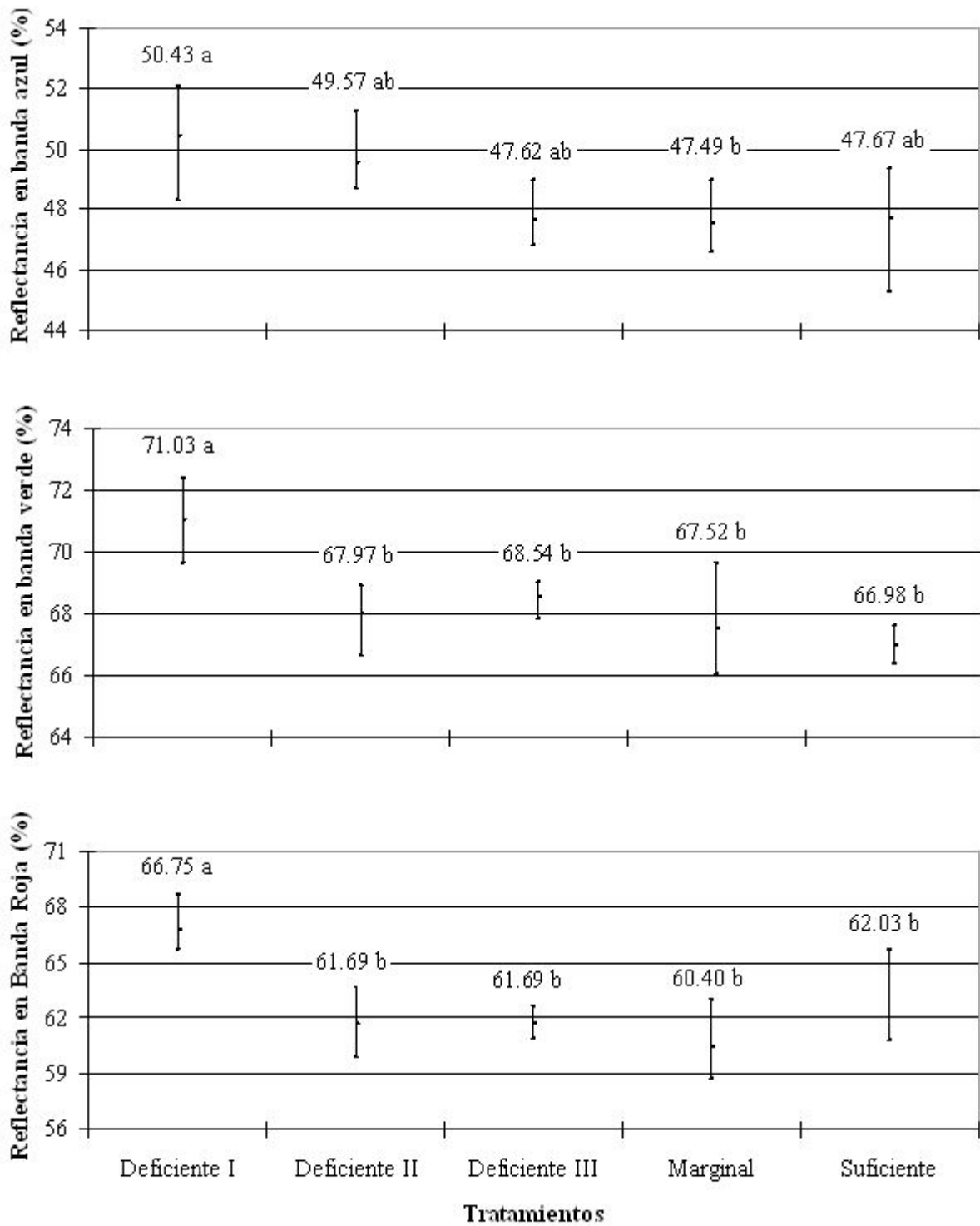


Figura 6.7. Comparaciones de medias utilizando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) para la reflectancia obtenida de fotografías de plantas de trigo bajo malla sombra.

Las comparaciones de medias permitieron dividir a los tratamientos en dos grupos de acuerdo a su efecto sobre la reflectancia en las bandas verde y roja. La disminución en la reflectancia de las plantas con mayor abastecimiento de nitrógeno es atribuida al incremento en la presencia de clorofilas, lo que pudo comprobarse en las mediciones realizadas con el SPAD-502. La molécula de clorofila es un pigmento que reduce la reflexión de luz al absorber energía de las regiones azul, verde y roja del espectro electromagnético.

Para conocer la relación existente entre la reflectancia de plantas y su concentración de nitrógeno en parte aérea, se realizaron análisis de regresión entre las variables. Se probaron modelos de tipo lineal y cuadrático y se seleccionaron aquellos cuyos coeficientes de regresión tuvieron una significancia menor a 0.05 los resultados se muestran en el Cuadro 6.5.

Cuadro 6.5. Modelos para estimar la reflectancia obtenida de fotografías de plantas de trigo bajo malla sombra a partir de la concentración de nitrógeno en parte aérea.

Modelos	r²	C. V.
Lineales		
Reflectancia en banda azul = -2.497 (Nitrógeno) + 54.368	0.45	2.69
Reflectancia en banda verde = -2.628 (Nitrógeno) + 74.5221	0.51	1.80
Reflectancia en banda roja = -3.713 (Nitrógeno) + 71.148	0.39	3.53
Reflectancia promedio* = -2.946 (Nitrógeno) + 66.6792	0.58	1.99
Cuadráticos		
Reflectancia en banda azul = -0.546 (Nitrógeno) ² + 51.6235	0.44	2.74
Reflectancia en banda verde = -0.571 (Nitrógeno) ² + 71.616	0.48	1.85
Reflectancia en banda roja = 7.563 (Nitrógeno) ² - 37.561 (Nitrógeno) + 107.403	0.55	3.12
Reflectancia promedio* = 4.124 (Nitrógeno) ² - 21.401 (Nitrógeno) + 86.446	0.70	1.75

* Reflectancia promedio es igual al promedio de las reflectancias de bandas azul, verde y roja.

La reflectancia promedio de fotografías fue la variable que presentó mayor asociación con el nitrógeno en parte aérea ($r^2 = 0.70$). En la Figura 6.8 se observa la relación negativa entre las variables. Las unidades experimentales con mayores concentraciones de nitrógeno en sus tejidos mostraron una menor reflectancia promedio; lo cual se atribuye principalmente a la mayor presencia de clorofila en estas.

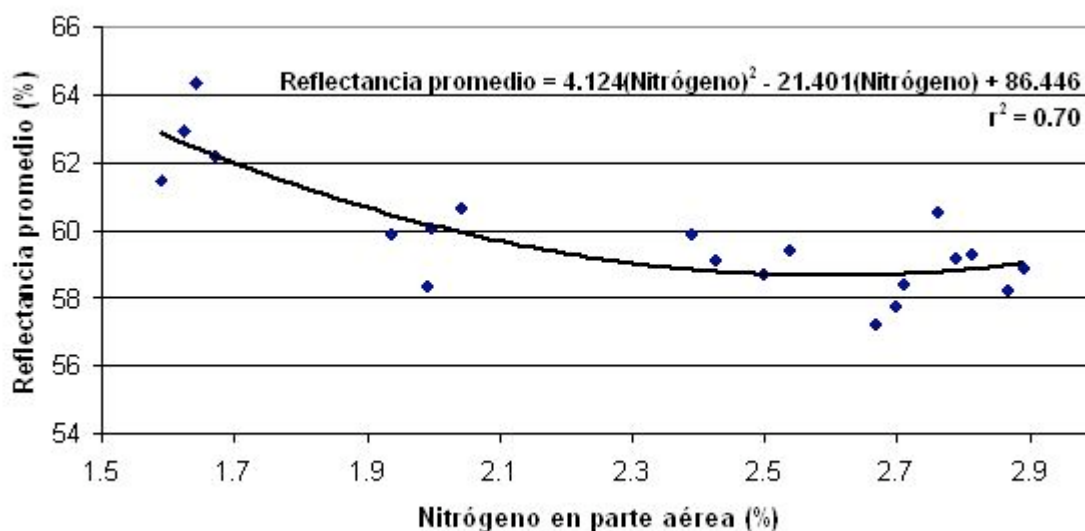


Figura 6.8. Relación entre la concentración de nitrógeno en parte aérea y la reflectancia promedio de fotografías de plantas de trigo bajo malla sombra.

6.5. Reflectancia de plantas obtenida de fotografías tomadas bajo sombra completa

El análisis de la variación de la reflectancia en las bandas azul, verde y roja, Cuadro 6.6, reveló que éstas variables fueron afectadas por los cambios en el abastecimiento de nitrógeno a las plantas.

Cuadro 6.6. Resultado del análisis de la variación de la reflectancia de obtenida de fotografías de plantas de trigo bajo sombra completa.

Fuente de variación	Modelo estadístico		Media	Valor de F	Significancia de la prueba
	r^2	C. V.			
Banda azul	0.58	2.10	46.70	5.17	0.008
Banda verde	0.82	1.45	63.89	17.55	< 0.0001
Banda roja	0.85	1.68	57.29	20.76	< 0.0001

Las comparaciones de medias realizadas con la prueba de Tukey ($\alpha < 0.05$) muestran que la banda azul fue la menos sensible a los cambios en el suministro de nitrógeno a las plantas (Fig. 6.9).

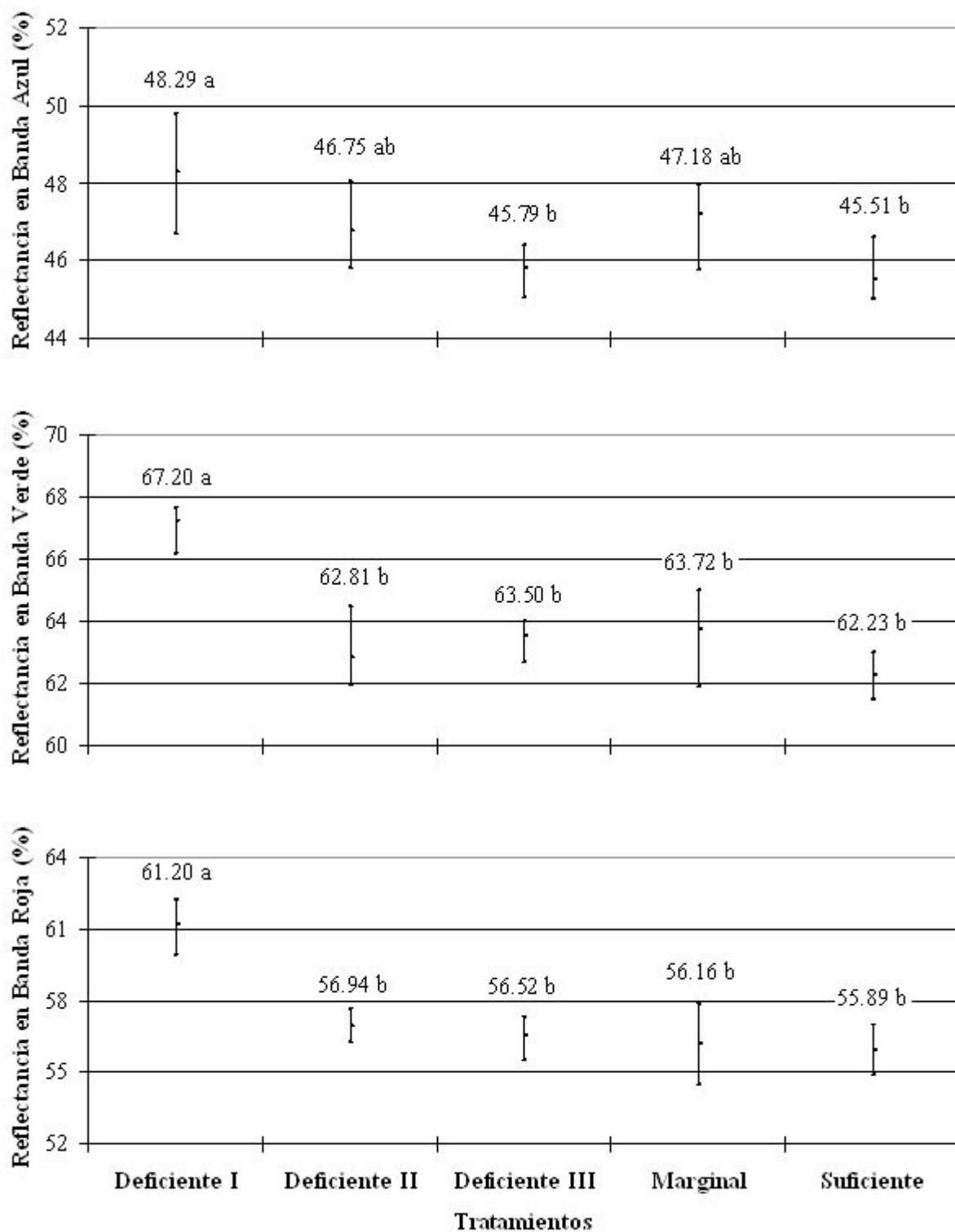


Figura 6.9. Comparaciones de medias utilizando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) para la reflectancia obtenida de fotografías de plantas de trigo bajo sombra completa.

La reflectancia de las plantas en las tres bandas disminuyó con el incremento en las dosis de nitrógeno. El tratamiento Deficiente I fue el que presentó la mayor reflectancia en las bandas verde y roja. La disminución en la reflectancia en los tratamientos con mayor suministro de nitrógeno se atribuye a la mayor presencia de clorofila, como se pudo comprobar en las mediciones realizadas con el SPAD-502.

Se estudió la relación existente entre la concentración de nitrógeno en parte aérea y la reflectancia de plantas obtenida de fotografías bajo sombra completa. Se probaron modelos de tipo lineal y cuadrático y se seleccionaron aquellos cuyos coeficientes de regresión tuvieron una significancia menor de 5%. Los resultados se muestran en el Cuadro 6.7.

Cuadro 6.7. Modelos para estimar la reflectancia de fotografías de plantas de trigo a partir de la concentración de nitrógeno en parte aérea.

Modelos	r^2	C. V.
Lineales		
Reflectancia en banda azul = -1.566 (Nitrógeno) + 50.347	0.29	2.49
Reflectancia en banda verde = -2.800 (Nitrógeno) + 70.405	0.44	2.36
Reflectancia en banda roja = -3.685 (Nitrógeno) + 65.914	0.61	2.43
Reflectancia promedio* = -3.242 (Nitrógeno) + 68.159	0.55	2.31
Cuadráticos		
Reflectancia en banda azul = -0.3376 (Nitrógeno) ² + 48.599	0.27	2.52
Reflectancia en banda verde = 5.3596 (Nitrógeno) ² - 26.786 (Nitrógeno) + 96.097	0.60	2.06
Reflectancia en banda roja = 6.0362 (Nitrógeno) ² - 30.698 (Nitrógeno) + 94.849	0.77	1.92
Reflectancia promedio* = 5.6979 (Nitrógeno) ² - 28.742 (Nitrógeno) + 95.473	0.71	1.90

* Reflectancia promedio es igual al promedio de las reflectancias de bandas verde y roja.

La reflectancia en banda roja fue la variable que presentó mayor asociación ($r^2 = 0.77$) con el nitrógeno en parte aérea. En la Figura 6.10 se observa la relación negativa entre las variables. Las unidades experimentales con mayores concentraciones de nitrógeno en sus tejidos mostraron una menor reflectancia; lo cual se atribuye principalmente a la mayor presencia de clorofila en estas.

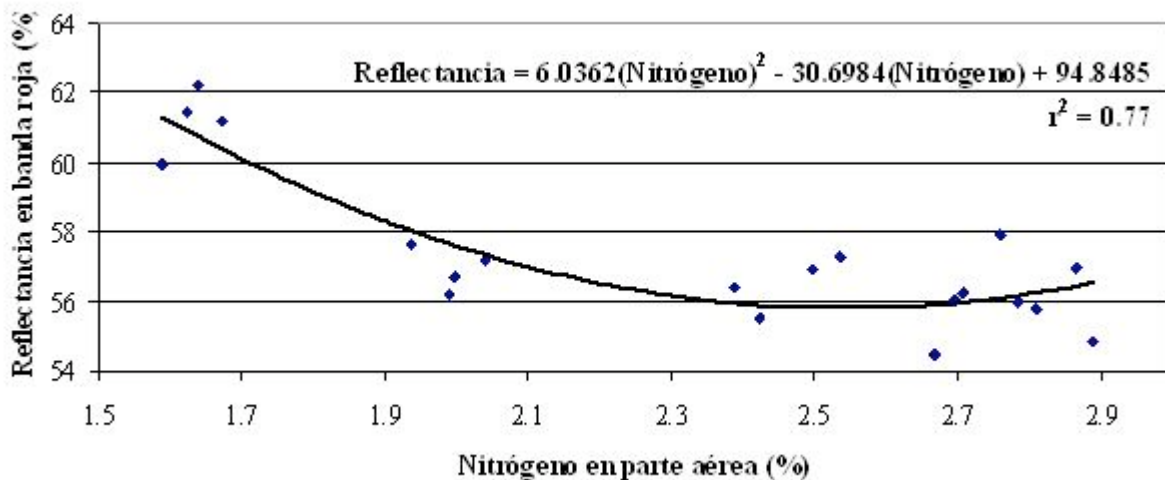


Figura 6.10. Relación entre la concentración de nitrógeno en parte aérea y la reflectancia en banda roja obtenida de fotografías de plantas de trigo bajo sombra completa.

6.6. Reflectancia de hoja obtenida a partir de imágenes de escáner

Para conocer el efecto de los tratamientos sobre las reflectancias en las bandas verde, azul y roja se analizó la variación de estas en las hojas recientes, jóvenes y maduras. El resultado de los análisis de varianza se presenta en el Cuadro 6.8.

Cuadro 6.8. Resultado del análisis de la variación de las reflectancias de hojas recientes, jóvenes y maduras de trigo.

Fuente de variación	Modelo estadístico		Media	Valor de F	Pr > F
	r ²	C. V.			
- - - - - Hoja reciente - - - - -					
Banda azul	0.66	2.91	28.82	7.42	0.0017
Banda verde	0.76	4.41	40.47	12.04	0.0001
Banda roja	0.80	3.87	32.77	15.18	< 0.0001
- - - - - Hoja joven - - - - -					
Banda azul	0.06	3.54	31.83	0.22	0.9227
Banda verde	0.60	3.92	44.40	5.66	0.0055
Banda roja	0.53	3.96	36.20	4.17	0.0182
- - - - - Hoja adulta - - - - -					
Banda azul	0.83	4.50	38.80	18.14	< 0.0001
Banda verde	0.89	5.48	54.28	28.97	< 0.0001
Banda roja	0.90	5.77	46.34	34.16	< 0.0001

Del análisis de la varianza puede observarse que los tratamientos de nitrógeno modificaron la reflectancia de luz verde y roja en las tres clases de hojas. Los mayores valores de F se encontraron en las hojas adultas, indicando que los tratamientos tuvieron un efecto más intenso en éstas en comparación con las hojas jóvenes y recientes. Lo anterior pone en evidencia los mecanismos de translocación del nitrógeno, los cuales funcionan moviendo el nutrimento desde las hojas adultas hasta las jóvenes cuando existe un déficit en su abastecimiento. El movimiento del nitrógeno trae consigo la destrucción de moléculas de clorofila en los tejidos adultos y la formación de este pigmento en los tejidos recientes. Este fenómeno se observó en el experimento y es la causa por la que las hojas adultas presentaron los valores más elevados de las medias de las reflectancias en las tres bandas.

De acuerdo con el análisis de la varianza mostrado en el Cuadro 6.8 y la información reportada en la literatura puede inferirse que las hojas adultas son, de las tres examinadas, las más sensibles a los cambios en el abastecimiento de nitrógeno al cultivo.

6.6.1. Relación entre la reflectancia medida con el escáner y las mediciones de SPAD

Para estudiar las relaciones existentes entre la reflectancia de hojas en las bandas azul, verde y roja y la concentración de clorofila medida con el SPAD se realizaron análisis de regresión entre las variables. Los resultados se presentan en el Cuadro 6.9.

Cuadro 6.9. Modelos para estimar la reflectancia de hojas de trigo a partir de la concentración de clorofila medida con SPAD-502.

Modelo	r ²	C. V.
Reflectancia banda azul = - 0.871 (Clorofila) + 66.626	0.83	6.12
Reflectancia banda verde = - 1.438 (Clorofila) + 101.671	0.88	5.81
Reflectancia banda roja = 0.0192 (Clorofila) ² - 2.756 (Clorofila) + 115.607	0.90	6.14

Los análisis de regresión muestran una asociación negativa entre las reflectancias y la concentración de clorofila de hojas estimada con el SPAD. Esta relación fue altamente significativa ($\alpha < 0.0001$) y de tipo lineal para las bandas azul y verde (Figuras 6.11 y 6.12 respectivamente).

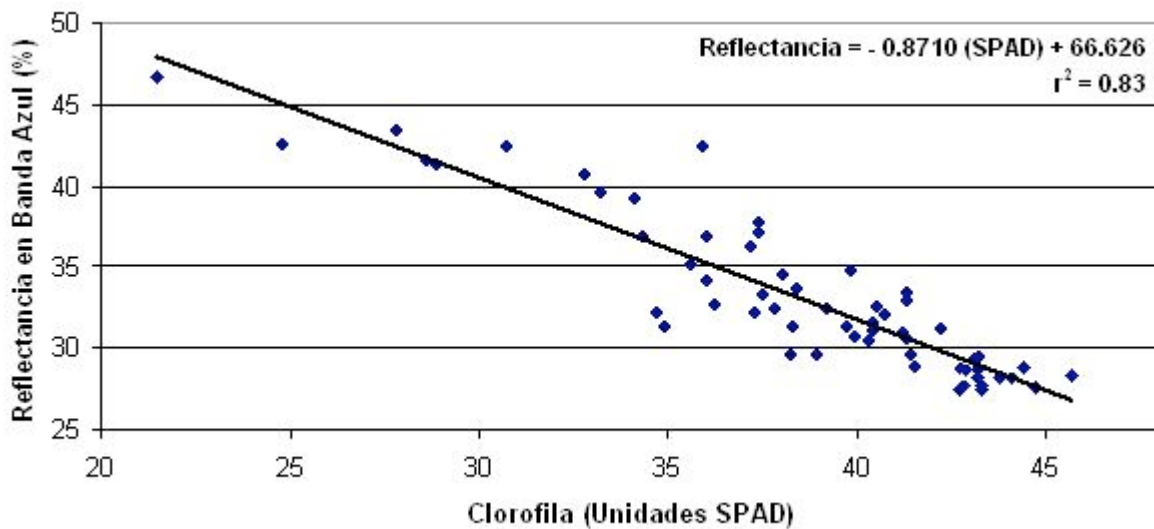


Figura 6.11. Relación entre la clorofila medida con SPAD y la reflectancia en banda del azul de hojas adultas de trigo.

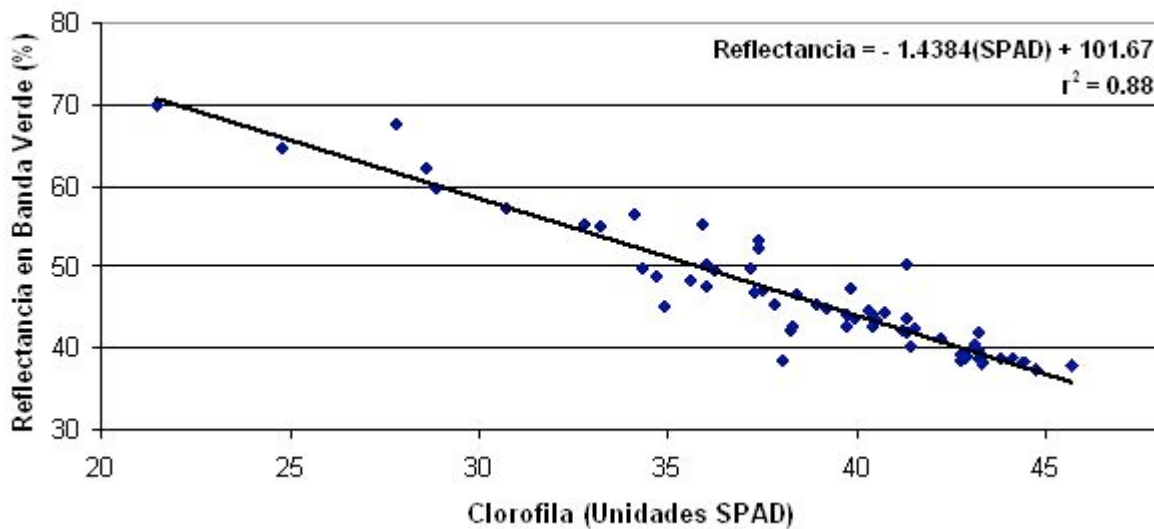


Figura 6.12. Relación entre clorofila medida con SPAD y reflectancia en banda verde de hojas adultas de trigo.

La reflectancia en la banda del rojo fue la que presentó el mayor grado de asociación con la clorofila medida con SPAD. El modelo cuadrático ($\alpha = 0.032$), fue el que presentó el mayor grado de asociación ($r^2 = 0.90$). La relación entre las variables puede observarse en la Figura 6.13.

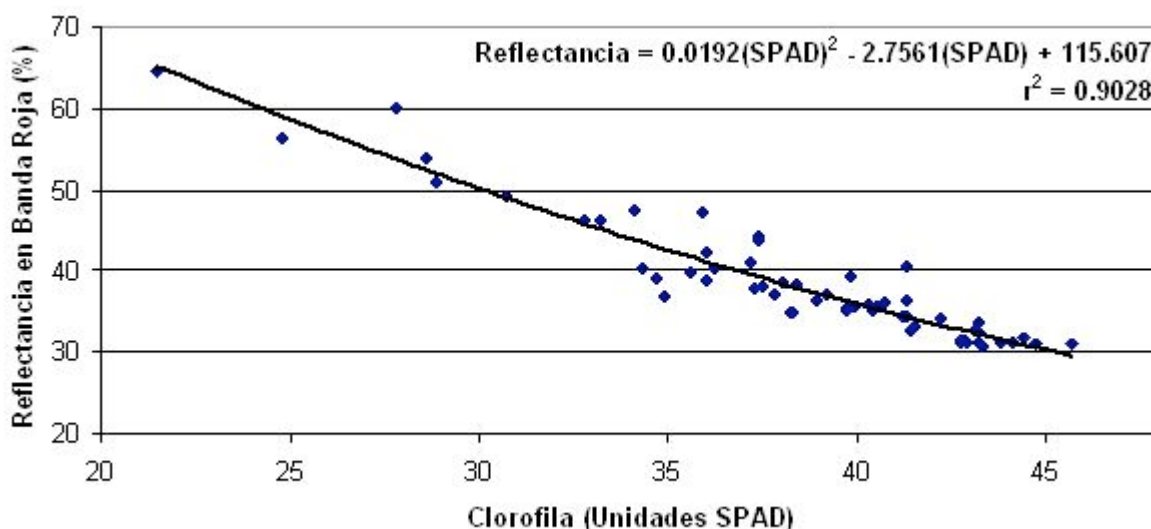


Figura 6.13. Relación entre clorofila medida con SPAD y reflectancia en banda roja de hojas adultas de trigo.

6.6.2. Relación entre la reflectancia en hojas obtenida con imágenes de escáner y la concentración de nitrógeno en parte aérea.

Con el propósito de conocer la relación existente entre la reflectancia de hojas adultas y la concentración de nitrógeno en parte aérea se realizaron análisis de regresión entre las variables. Se probaron modelos de tipo lineal y cuadrático y se seleccionaron aquellos cuyos coeficientes de regresión tuvieron una significancia menor de 5%, los resultados se presentan en el Cuadro 6.10.

Cuadro 6.10. Modelos para estimar la concentración de nitrógeno en parte aérea a partir de la reflectancia de hojas adultas de trigo.

Modelos	r ²	C. V.
Lineales		
Nitrógeno en parte aérea = - 0.1099 (Reflectancia azul) + 6.5913	0.78	9.57
Nitrógeno en parte aérea = - 0.0547 (Reflectancia verde) + 5.2949	0.84	8.17
Nitrógeno en parte aérea = - 0.0567 (Reflectancia rojo) + 4.9559	0.85	7.95
Cuadráticos		
Nitrógeno en parte aérea = - 0.0013970 (Reflectancia azul) ² + 4.4481	0.78	9.65
Nitrógeno en parte aérea = - 0.0004951 (Reflectancia verde) ² + 3.8130	0.85	8.03
Nitrógeno en parte aérea = 0.001577 (Reflectancia rojo) ² - 0.214 (Reflectancia rojo) + 8.749	0.89	6.91

Los análisis de regresión mostraron una relación negativa entre la concentración de nitrógeno en la parte aérea de plantas de trigo y la reflectancia de luz de sus hojas adultas. El modelo lineal fue el que representó mayor asociación para la reflectancia en la banda del azul, mientras que los modelos cuadráticos funcionaron mas adecuadamente para el caso de las reflectancias en las bandas del verde y el rojo.

La reflectancia en la banda del rojo fue la variable que presentó mayor asociación ($r^2 = 0.89$) con la concentración de nitrógeno en parte aérea. En la Figura 6.14 puede observarse la relación negativa de las variables.

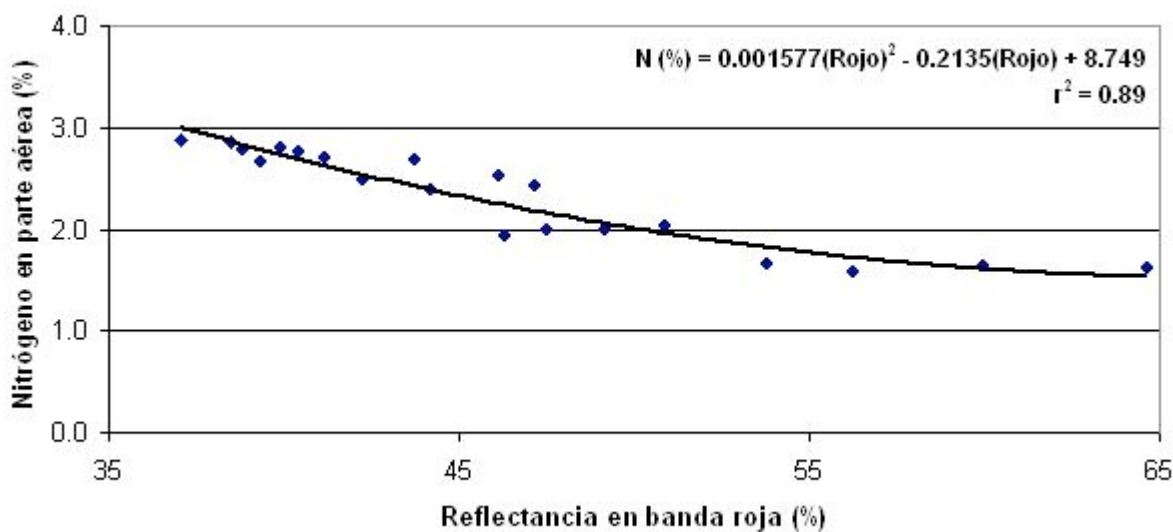


Figura 6.14. Relación entre la reflectancia de hojas adultas en la banda del rojo y la concentración de nitrógeno en parte aérea de plantas de trigo.

Thomas y Oerther (1972) indican que las bajas reflectancias de los cultivos saludables, observadas en la región visible del espectro electromagnético, se deben principalmente a la intensa absorción de la molécula de clorofila. Se confirmó que las plantas con menor contenido de nitrógeno presentaron concentraciones menores de clorofila y por tanto reflejaron una mayor cantidad de luz.

De acuerdo con Rivas (2000) la “clorofila a” es la más abundante en los tejidos vegetales y ésta muestra dos picos de absorción importantes, uno en la región azul y otro en la región del rojo, los

cuales con frecuencia son utilizados para medir la concentración de clorofilas. Sin embargo el pico de la región azul se mezcla con la absorción de carotenoides, por lo que algunos investigadores han optado por no utilizarlo (Sims y Gamon, 2002). Este hecho coincide con los resultados obtenidos, ya que la reflectancia en la banda del azul presentó las correlaciones más bajas como estimador, tanto de la concentración de nitrógeno como de las unidades SPAD.

La reflectancia en la banda del rojo fue la que alcanzó los coeficientes de correlación más altos y los coeficientes de variación más bajos, por lo que fue la mejor para predecir tanto la concentración de nitrógeno en la parte aérea de plantas de trigo como las unidades SPAD. Lo anterior coincide con el hecho de que en esa región se encuentra uno de los picos de mayor absorción de las clorofilas, el cual cuando no llega a ser saturado es un buen indicador del contenido de éstas (Sims y Gamon, 2002).

La reflectancia en la banda del rojo tuvo una mayor correlación con el nitrógeno en la parte aérea en comparación con las unidades SPAD. Esto se atribuye a diferencias en el tamaño de muestra, ya que con el medidor de clorofila SPAD-502 se muestreó cerca de 4 mm^2 por hoja y las hojas de trigo presentaron una amplia variedad de tonos de verde, lo que dificultó encontrar una medida representativa. Por su parte, las medidas de reflectancia en hojas adultas, se obtuvieron a partir de imágenes digitales que consideraban un área de muestro mayor (alrededor de 5 cm^2 por hoja), lo que permitió acercarse más a un valor representativo del estado nitrogenado de las plantas.

Los resultados del experimento indican que las reflectancias obtenidas por escáner, tanto de la banda del verde como del rojo, pueden ser utilizadas para estimar el contenido de nitrógeno y las unidades SPAD.

7. CONCLUSIONES

Se observó una relación positiva entre la concentración de nitrógeno en plantas de trigo y las unidades SPAD medidas en sus hojas adultas. El modelo:

$$\text{Clorofila} = -7.759 (\text{Nitrógeno})^2 + 44.032 (\text{Nitrógeno}) - 25.387$$

con un nivel de significancia $\alpha < 0.0001$, presentó el mayor grado de asociación entre las variables ($r^2 = 0.82$).

Se identificó una relación negativa entre la concentración de nitrógeno y la reflectancia de plantas de trigo medida con radiómetro bajo malla sombra. El modelo:

$$\text{Reflectancia a 560 nm} = -0.59526 (\text{Nitrógeno}) + 12.0986$$

con un nivel de significancia $\alpha < 0.0001$, presentó el mayor grado de asociación entre las variables ($r^2 = 0.67$).

Se encontró una relación negativa entre la concentración de nitrógeno y la reflectancia obtenida de fotografías de plantas de trigo. El modelo:

$$\text{Reflectancia en banda roja} = 6.0362 (\text{Nitrógeno})^2 - 30.698 (\text{Nitrógeno}) + 94.849$$

con un nivel de significancia $\alpha < 0.003$, presentó el mayor grado de asociación entre las variables ($r^2 = 0.77$).

Se observó una relación negativa entre la concentración de nitrógeno de plantas de trigo y la reflectancia de sus hojas obtenida de imágenes de escáner. El modelo:

$$\text{Reflectancia en banda roja} = 0.001577 (\text{Nitrógeno})^2 - 0.214 (\text{Nitrógeno}) + 8.749$$

con significancia $\alpha < 0.02$, presentó el mayor grado de asociación entre las variables ($r^2 = 0.89$).

8. CONSIDERACIONES FINALES

Los resultados de la investigación muestran la posibilidad de estimar la concentración de nitrógeno en los cultivos con diferentes equipos utilizando la reflectancia. Los métodos del escáner y del medidor de clorofila portátil SPAD-502 presentaron los modelos más confiables para estimar la concentración de nitrógeno en parte aérea.

Los métodos que utilizaron las reflectancias obtenidas con fotografías digitales y radiómetro, métodos de percepción remota, fueron menos precisos debido a que fueron influenciados por factores externos como el nivel de radiación solar, ángulo de inclinación de la planta, ángulo de incidencia solar y cobertura vegetal.

El método de las imágenes de escáner muestra potencial para extenderse a campo por ser económico, rápido y confiable, sin embargo se requiere realizar investigaciones para estandarizar los procesos de obtención de reflectancias y establecer modelos para diferentes cultivos.

9. BIBLIOGRAFÍA

Al-Abbas, A.H., Barr, R.; Hall, J.D., Crane, F.L. y M.F. Baumgardner. 1974. Spectra of normal and nutrient-deficient maize leaves. *Agron. J.* 66:16-20.

Alcántar G., G. y M. Sandoval V. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación. Publicación especial 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A. C. Chapingo, México.

Alcántar G., G., Trejo-Téllez, L.I., Fernández P., L. y M. Rodríguez Mendoza. 2007. Elementos esenciales. En: Alcántar G., G. y L. Trejo-Téllez. *Nutrición de Cultivos*. Editorial Mundi-Prensa. México. pp. 7-48.

Bonilla, I. 2003. Introducción a la nutrición mineral de las plantas. Los elementos minerales. En: Azcón-Bieto, J. y Talón, M. *Fundamentos de fisiología vegetal*. España. pp. 83-98.

Bremner, L.M. y C.S. Mulvaney. 1982. Total nitrogen. In: *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties (Agronomy 9)*. Page, R., H. Miller and D.R. Keeney (eds). 2nd edition. ASA, S.S.A. Madison, Wisconsin, USA. pp. 595-634.

Brizuela-Amador, B., Alcántar-González, G., Sánchez-García, P., Pea-kalra, Y., Crumbaugh, J., Olive C., Tijerina-Chávez L. y R. Maldonado-Torres. 2007. Establecimiento de índices espectrales en el diagnóstico nutrimental de nitrógeno en maíz. *Agrociencia*. 41 (8): 827-835.

Brown, T.L., LeMay, H.E., Bursten, B.E. y J.R. Burdge. 2004. *Química la ciencia central*. Novena edición. Ed. Prentice-Hall. México.

California Plant Health Association (CPHA). 2008. *Manual de fertilizantes para cultivos de alto rendimiento*. Editorial Limusa. México.

Carolis, C. y P. Amodeo. 1980. Basic Problems in the reflectance and emittance properties of vegetation. En: Frayse, G. (Ed.) Remote sensing application in agriculture and hydrology Netherlands.

Epstein, E. y Bloom, A.J. 2005. Mineral nutrition of plants: Principles and perspectives. Second edition. Sinauer Associates, Inc. E. U. A.

Gárate A. e I. Bonilla. 2003. Nutrición mineral y producción vegetal. En: Azcón-Bieto, J. y Talón, M. Fundamentos de fisiología vegetal. España. pp. 113-130.

Gates, D.M., Keegan, H.J., Scheleter J.C. y V.R. Weidner. 1965. Spectral properties of plants. Applied Optics. 4:11-20.

Gausman, H.W. 1977. Reflectance of leaf components. Remote Sensing of the Environment 6(1):1-9.

Grundon, N.J., Robson, A.D., Lambert, M.J. y Snowball K. 1997. Nutrient deficiency and toxicity symptoms. En: Reuter, D.J. y J.B. Robinson (Ed.). Plant Analysis: An interpretation manual. Second edition. CSIRO Publishing. Australia. pp. 36-48.

Hecht, E. 2000. Óptica. Tercera Edición. Traducción al español de: Raffaello, D. C. Addison Wesley Iberoamericana. Madrid, España.

Laidler, K.J. y J.H. Meiser. 1999. Fisicoquímica. Segunda reimpresión. Traducción al español de: Aguilar, M. T. Grupo Editorial Continental. México.

Lihong, X.; Weixing, C.; Weihong, L.; Tingbo, D. and Y. Zhu. 2004. Monitoring leaf nitrogen status in rice with Canopy spectral reflectance. Agronomy Journal. 96:135-142.

Lillesand, T.M. and R.W. Klefer. 1994. Remote sensing and image interpretation. Third edition USA. Ed. John Wiley & sons, Inc.

Marschner, H. 2004. Mineral Nutrition of Higher Plants. Second edición. Ed. Academic Press Inc. San Diego, E. U. A.

Mathews, C.K.; Van, K.E. y K.G. Ahern. 2004. Bioquímica. Tercera edición. Traducción al español de: González, J. M. Pearson Addison Wesley. España.

Murtha, P.A. 1982. Detection and analysis of vegetation stress. In: Johannsen, C. J. and Sanders, J. L. (Eds.). 1982. Remote sensing for resource management. Soil Conservation Society of America.

Osborne, S.L.; Schepers, J.S.; Francis, D.D. and M.R. Schlemmer. 2002. Detection of phosphorus and nitrogen deficiencies in corn using spectral radiance measurements. *Agronomy Journal*. 94:1215-1221.

Rivas, J. 2000. La luz y el aparato fotosintético. En: Azcón-Bieto, J. y Talón, M. Fundamentos de fisiología vegetal. España. pp. 131-153.

Rodríguez M., M., Alcántar G., G., Aguilar S., A., Etchevers B., J. y Santizó R., J. 1998. Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. *Terra* 16:135-141.

Sánchez G., P.; Molinos S., C.; Alcántar G., G. y M. Sandoval V. 2007. Diagnóstico nutrimental en plantas. En: Alcántar G., G. y L.I. Trejo-Téllez (Coordinadores). Nutrición de cultivos. Mundi-Prensa. México. pp. 201-248.

Sims, D.A. y J.A. Gamon. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a Wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sensing of Environment* 81:337-354.

Skoog, D.A., West, D.M, Holler, F.J. y S.R. Crouch. 2004. Química analítica. Séptima edición. McGraw-Hill. México.

Soria R., J; Ortíz S., C.A.; Islas G., F. y V. Volke H. 1998. Sensores remotos. Principios y aplicaciones en la evaluación de los recursos naturales. Experiencias en México. Publicación especial 7. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo (S. M. C. S.) Chapingo, México.

Thomas, J.R. y G.F. Oerther. 1972. Estimating nitrogen content of sweet pepper leaves by reflectance measurements. *Agronomy Journal*. 83:11-13.

Thomas, J.R., Wiegand, C.L. y V.I. Myers. 1967. Reflectance of cotton leaves and its relation to yield. *Agronomy Journal*. 59:551-554.

10. ANEXO 1

Tratamiento: Solución Steiner 100%

Sales	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁴⁻	SO ₄ ²⁻	Concentración g L ⁻¹
	mmol L ⁻¹						
Ca(NO₃)₂·4H₂O	9			9			1.063
KNO₃			3	3			0.303
K₂SO₄			3			3	0.261
MgSO₄·7H₂O		4				4	0.493
KH₂PO₄			1		1		0.136
Presión Osmótica	0.720	Atm					

Tratamiento: Marginal

Sales	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁴⁻	SO ₄ ²⁻	Concentración g L ⁻¹
	mmol L ⁻¹						
Ca(NO₃)₂·4H₂O	4.2			4.2			0.496
KNO₃			3	3			0.303
K₂SO₄			3			3	0.261
MgSO₄·7H₂O		4				4	0.493
CaSO₄·2H₂O	4.8					4.8	0.413
KH₂PO₄			1		1		0.136
Presión Osmótica	0.662	Atm					

Tratamiento: Deficiente III

Sales	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁴⁻	SO ₄ ²⁻	Concentración g L ⁻¹
	mmol L ⁻¹						
Ca(NO₃)₂·4H₂O	1.8			1.8			0.213
KNO₃			3	3			0.303
K₂SO₄			3			3	0.261
MgSO₄·7H₂O		4				4	0.493
CaSO₄·2H₂O	7.2					7.2	0.620
KH₂PO₄			1		1		0.136
Presión Osmótica	0.634	Atm					

Tratamiento: Deficiente II

Sales	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ²⁻	Concentración g L ⁻¹
	mmol L ⁻¹						
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	0			0			0.000
KNO ₃			2.4	2.4			0.243
K ₂ SO ₄			3.6			3.6	0.314
MgSO ₄ ·7H ₂ O		4				4	0.493
CaSO ₄ ·2H ₂ O	9					9	0.775
KH ₂ PO ₄			1		1		0.136
Presión Osmótica	0.605	Atm					

Tratamiento: Deficiente I

Sales	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ²⁻	Concentración g L ⁻¹
	mmol L ⁻¹						
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	0			0			0.000
KNO ₃			1.2	1.2			0.121
K ₂ SO ₄			4.8			4.8	0.418
MgSO ₄ ·7H ₂ O		4				4	0.493
CaSO ₄ ·2H ₂ O	9					9	0.775
KH ₂ PO ₄			1		1		0.136
Presión Osmótica	0.590	Atm					

Concentración de sales para el aporte de micronutrientos

Sales	mg L ⁻¹ del elemento
Fe-EDTA	5
H ₃ BO ₃	0.5
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.5
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.05
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.045
H ₂ MoO ₄ ·H ₂ O	0.011