



COLEGIO DE POSGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN EDAFOLOGÍA

**RANGOS CRÍTICOS DE NITRÓGENO
EN MAÍZ: MEDICIONES *IN SITU***

EDUHING EMILIANO ROACHO CORTÉS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE :

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2020

La presente tesis titulada: “**Rangos críticos de nitrógeno en maíz: mediciones *in situ***” realizada por el alumno: **Eduhin Emiliano Roacho Cortés** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

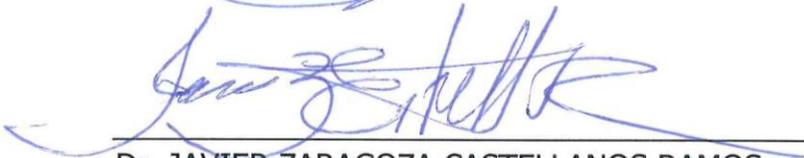
**MAESTRO EN CIENCIAS
EDAFOLOGÍA**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO


Dr. JORGE DIONISIO BARRA ETCHEVERS

ASESOR


Dr. JAVIER ZARAGOZA CASTELLANOS RAMOS

ASESOR


Dr. VÍCTOR ARTURO GONZÁLEZ HERNÁNDEZ

ASESORA


Dra. CLAUDIA MARIA ISABEL HIDALGO MORENO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, julio de 2020

RANGOS CRÍTICOS DE NITRÓGENO EN MAÍZ: MEDICIONES *in situ*

Eduhin Emiliano Roacho Cortés, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2020

RESUMEN

Existen pocas tecnologías que pueden emplear los productores para darle seguimiento cuantitativo al estado nutrimental que guardan los cultivos a lo largo de su ciclo vegetativo. Este es el caso particular el maíz. La técnica que se emplea con mayor frecuencia, es el análisis cuantitativo de hojas recolectadas al momento del “jiloteo”, pero a pesar de su efectividad es poco empleada y costosa. Sin embargo, se dispone de métodos alternativos al análisis foliar clásico de laboratorio, que han demostrado su funcionalidad en cultivos extensivos, como es el caso de procedimientos semicuantitativos para medir la situación del nitrógeno (N) en el maíz, pero para que estos sean efectivos deben ser calibrados regionalmente para cada cultivo y etapa fenológica. En este ensayo se propuso calibrar cuatro métodos semicuantitativos y dos cuantitativos, para diagnosticar la condición nutrimental del N del maíz en el Bajío guanajuatense. Para ello se montó un experimento durante el ciclo agrícola 2019 en un sitio previamente “blanqueado”. Los tratamientos fueron dosis crecientes de N (0, 120, 240, 360, 480 kg de N·ha⁻¹). Las parcelas experimentales se establecieron de acuerdo a un diseño experimental de bloques al azar. Cada tratamiento se repitió cinco veces. Los métodos semicuantitativos de monitoreo calibrados fueron: concentración de nitrato (N-NO₃) del extracto celular de la nervadura central de la hoja recientemente madura, N-NO₃ del extracto celular en la base del tallo, registro de la unidades SPAD, el Índice *de Vegetación de Diferencia Normalizada* (NDVI, por sus siglas en inglés). Estas mediciones se realizaron en las etapas V4, V7, V10, V12 y R1 del cultivo. Adicionalmente se emplearon dos métodos cuantitativos de laboratorio para medir el N-NO₃ en la materia seca de la base del tallo y N total foliar en las etapas V7, V12 y R1. Los resultados de las mediciones realizadas con cada método, en diferentes etapas fenológicas, fueron correlacionadas con el rendimiento relativo de grano de maíz (RR). Los coeficientes de correlación (r), entre estos parámetros, fueron superiores a 0.70. Para cada método se estimó aritméticamente una concentración crítica (CC) para que el cultivo alcanzase un RR cercano al 90% y arbitrariamente

se estableció un rango de concentración crítica considerando $\pm 5\%$ de la CC estimada. El monitoreo de N-NO₃ en el extracto de la nervadura central, en la base del tallo, y en la materia seca permitieron identificar diferencias en el abasto de N entre los sitios respuesta. Los sensores ópticos de NDVI y de unidades SPAD mostraron limitaciones para distinguir la respuesta a la fertilización en dosis mayores a 120 kg de N ha⁻¹. Las concentraciones críticas propuestas en este trabajo se deben entender como preliminares y requieren ser validadas a nivel de explotaciones comerciales en campo.

Palabras clave: *Nervadura central, concentración crítica, extracto celular, nitrógeno nítrico, NDVI, SPAD, nitrógeno total.*

CORN'S CRITICAL NITROGEN LEVELS: in situ MEASUREMENTS

Eduhin Emiliano Roacho Cortés, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2020

ABSTRACT

There are few technologies that producers can use to quantitatively monitor the nutritional status of crops throughout their vegetative cycle. This is the particular case of corn. The most frequently used technique is the quantitative analysis of leaves collected at the time of "jiloteo", but despite its effectiveness it is little used and expensive. However, alternative methods to classical laboratory leaf analysis are available, which have demonstrated their functionality in extensive crops, as is the case of semi-quantitative procedures to measure the situation of N in corn, but they must be regionally calibrated for each cultivation and phenological stage to be effective. In this trial, it was proposed to calibrate four semiquantitative and two quantitative methods, to diagnose the nutritional condition of N in corn. The experiment was carried out during the 2019 agricultural cycle in the Guanajuato Bajío. The treatments tested were corn fertilized with increasing rates of N (0, 120, 240, 360, 480 kg of N ha⁻¹); the experimental plots were established according to a randomized block experimental design (DEBA). Each treatment was repeated five times. The semi-quantitative monitoring methods to be calibrated were: nitrate concentration (N-NO₃) of the cell extract of the midrib of the recently mature leaf, N-NO₃ of the cell extract in the base stem, SPAD unit record, the Normalized Difference Vegetation Index (NDVI). These measurements were made in stages V4, V7, V10, V12 and R1 of the culture. Additionally, two quantitative laboratory methods were used: measure of N-NO₃ in dry matter of base stem and total foliar N. The results of the measurements made with each method, in different phenological stages, were correlated with the relative yield of corn grain (RR). The correlation coefficients (r) between these parameters were greater than 0.70. For each method, a critical concentration (CC) of N-NO₃ required for the culture to reach 80 and 90% of the relative yield was determined. The monitoring of N-NO₃ in the cell extract of the mid rib, in the base stem, and in the dry matter identify the different doses of N fertilizer applied across response sites. The optical sensors of NDVI and SPAD units showed limitations to distinguish the response to fertilization in doses greater than 120 kg of

N ha⁻¹. The critical concentrations proposed in this work should be understood as preliminary and require validation at the level of commercial farms in the field.

Key words: *Central vein, midrib, critical concentration, cellular extract, nitrate-nitrogen, NDVI, SPAD, total nitrogen.*

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Colegio de Postgraduados (COLPOS) por el financiamiento de mis estudios de maestría.

A las empresas Fertilab® y PROAIN®, empresas mexicanas que apoyaron financieramente esta investigación.

A la compañía semillera Aspros®, por las facilidades brindadas para realizar los muestreos en sus lotes comerciales y la donación de la semilla para el establecimiento del experimento.

Al Dr. Javier Z. Castellanos, por su intervención ante las empresas mencionadas para el financiamiento de esta investigación.

Al doctor Jorge D. Etchevers Barra, profesor consejero, quien dio soporte científico y revisó exhaustivamente todas las partes de la investigación.

A todos los miembros de mi consejo Dr. Jorge D. Etchevers, Dr. Javier Z. Castellanos, Dr. Claudia Isabel Hidalgo Moreno, Dr. Víctor A. González Hernández por su apoyo intelectual para el desarrollo de este trabajo de investigación, por su revisión de los resultados preliminares y sus correcciones del documento final.

A los maestros en ciencias Miguel Peña Datoli y Javier Bello Hernández colaboradores de Fertilab, por su apoyo y gestión para el desarrollo de este trabajo.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	v
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE CUADROS	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
Objetivo general.....	5
II. MATERIALES Y MÉTODOS	5
Monitoreo de la concentración de N-NO ₃ de la materia seca de la base del tallo	8
Monitoreo de unidades SPAD en hojas recientemente maduras	9
Índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI).....	9
Análisis de nitrógeno foliar.....	10
Cosecha	10
Análisis estadísticos	10
Concentración crítica	11
Porcentaje de sobre/subestimación del rendimiento relativo por método diagnóstico	12
Evaluación de métodos de diagnóstico semicuantitativos	12
III. RESULTADOS	13
Concentración de N-NO ₃ en el extracto celular de la nervadura central.....	15
Concentración de N-NO ₃ en el extracto celular de la base del tallo	16
Concentración de N-NO ₃ en la materia seca de la base de tallo	17
Índice de vegetación de diferencia normalizada	18
Nitrógeno total foliar.....	20
IV. DISCUSIÓN	32
Concentración de N-NO ₃ en el extracto celular de la nervadura central.....	32
Concentración de N-NO ₃ en el extracto celular de la base del tallo	33
Concentración de N-NO ₃ en la materia seca de la base de tallo	34
Índice de vegetación de diferencia normalizada	37
Sensor SPAD.....	38
V. CONCLUSIONES	42

Áreas de oportunidad	43
VI. LITERATURA CITADA.....	43
ANEXOS.....	50
ANEXO 1	51
<i>Descripción de un dispositivo para obtener extracto celular de material vegetal</i>	<i>51</i>
<i>Descripción y especificaciones técnicas de los materiales empleados para construcción del dispositivo:.....</i>	<i>56</i>
-Nylamid 6/6 SL. Gris marmoleado Extruido y cargado con disulfuro de molibdeno.	56
ANEXO 2.....	58
Validación de mediciones de NO ₃ ⁻ con electrodos portátiles	58
INTRODUCCIÓN.....	58
Uso de ISE´s para diagnóstico nutrimental de cultivos.....	58
Validación de métodos.....	59
MATERIALES Y METODOS.....	60
Cuadro 1. Soluciones preparadas de NO₃⁻.	60
RESULTADOS.....	62
Cuadro 4. Evaluación Linealidad de NO₃⁻.	63
CONCLUSIONES.....	64
ANEXO 3.....	66
BIBLIOGRAFIA.....	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelación de la concentración de N-NO ₃ en el extracto celular de la nervadura central de la hoja recientemente madura y su relación con el rendimiento relativo por etapas fenológicas V4, V7, V10, V12, V15 y R1*. *Nervadura central de la hoja que envuelve al jilote. Las ecuaciones que se presentan por etapa fenologica corresponden a la función lineal ascendente.	15
Figura 2. Modelación de la concentración de N-NO ₃ en el extracto celular de la base del tallo y su relación con el rendimiento relativo para las etapas fenológicas V7, V12, R1 y R5.	17
Figura 3. Modelación de la concentración de N-NO ₃ en la materia seca de la base del tallo y su relación con el rendimiento relativo por etapas fenológicas (V7, V12, R1 y R4).....	18
Figura 4. Relación de unidades NDVI con el rendimiento relativo en etapas fenológicas V7, V10, V12 y R1.	19
Figura 5. Relación de unidades SPAD con el rendimiento relativo en las etapas fenológicas V7, V10, V12 y R1* (*lectura tomada en la hoja envolvente jilote).....	20
Figura 6. Relación entre nitrógeno total foliar y el rendimiento relativo, en las etapas fenológicas V7, V12, R1 y R3. En R1 y R3, la muestra se extrajo de la hoja envolvente de la flor femenina.	21
Figura 7. Relación de la concentración de nitrógeno foliar y dosis de fertilización de nitrógeno en tres etapas fenológicas (V7, V12, R1).	22
Figura 8. Concentración de N-NO ₃ en el extracto celular de hojas recientemente maduras en diferentes etapas fenológicas (V7, V12, R1) y su relación con la dosis de nitrógeno aplicado.....	24
Figura 9. Concentración de N-NO ₃ en el extracto celular de la base del tallo en diferentes etapas fenológicas (V7, V12, R1) y su relación con la dosis de nitrógeno aplicado.	25
Figura 10. Concentración de N-NO ₃ en la materia seca de la base del tallo en diferentes etapas fenológicas (V7, V12, R1) y su relación con la dosis de nitrógeno aplicado.	27

Figura 11. Unidades NDVI en diferentes etapas fenológicas (V7, V12, R1) y su relación con la dosis de nitrógeno aplicado.	28
Figura 12. Valores SPAD en diferentes etapas fenológicas (V7, V12, R1) y su relación con la dosis de nitrógeno aplicado.	29
Figura 13. Relación de la dosis de nitrógeno con el rendimiento de grano (humedad del grano 15.5%).	31

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Concentraciones críticas estimadas con diferentes métodos de diagnóstico por etapa fenológica de contenido de N, en 9 etapas fenológicas.....	14
Cuadro 2. Correlación del nitrógeno total en hoja madura con otras mediciones para el diagnóstico de nitrógeno.....	23
Cuadro 3. Comparación de medias del rendimiento de grano por tratamiento de Nitrógeno.	31

I. INTRODUCCIÓN

Para lograr rendimientos cuantitativa y cualitativamente superiores, sin perjudicar el ecosistema, la práctica agrícola demanda actividades de manejo que permitan controlar la nutrición de las plantas. Entre estas acciones se encuentra el control de la fertilización química, con el propósito de saber si la aplicación de fertilización ha sido la adecuada. Esta última debe ser suficiente para satisfacer la demanda del cultivo. La demanda de nutrientes varía en función del estado del desarrollo del cultivo, y por ello sirve conocer la evolución que experimenta la concentración de uno o varios elementos esenciales en el tejido vegetal durante el ciclo de crecimiento. Este conocimiento permite satisfacer la demanda nutricional de la planta y hacer una eficiente fertilización del cultivo, y simultáneamente cuidar al ambiente (Dobermann, 2005; IPNI, 2013).

El análisis químico de tejido vegetal para diagnosticar el abasto nutrimental de los cultivos, no obstante su confiabilidad, presenta las siguientes limitaciones para su uso masivo (Muñoz-Huerta *et al.*, 2013; Ali *et al.*, 2017): costo alto; entrega tardada de resultados; dificultad de interpretación; y conocimiento impreciso de la época de recolección de muestra.

Para contar con tecnologías de fácil acceso y económicas, en la última mitad del siglo pasado comenzaron a desarrollarse métodos alternos para diagnosticar el abasto apropiado de N para los cultivos (Rauschkolb *et al.*, 1974; Withers, 1982; Schepers *et al.*, 1992). Estos diagnósticos fueron denominados “semicuantitativos” porque no medían de manera de exacta el contenido del elemento, sino sólo aproximadamente. En sus inicios los procedimientos alternativos requerían la preparación de reactivos, que posteriormente se aplicaban, preferentemente en el campo, a una fracción del tejido vegetal (hoja, nervadura, tallo) Tales técnicas eran de carácter

colorimétrico y se basaban en cambios de color. La intensidad de color que se desarrollaba en el caso de la prueba de N (para medir la concentración de N-NO₃) era comparada visualmente con una escala preestablecida para determinar la concentración de este ion (Rauschkolb *et al.*, 1974). El método producía resultados variados según la calidad del reactivo, el tiempo de almacenamiento de los mismos, y la subjetividad de quien realizaba la prueba. En la actualidad, los métodos semicuantitativos disponibles ofrecen resultados rápidos para decidir el complemento en el plan de fertilización, en un mismo ciclo agrícola (Meynard y Mary, 1997; Etchevers, 1999), que además son de un costo intermedio (Muñoz-Huerta *et al.*, 2013) y de fácil interpretación (Rauschkolb *et al.*, 1974), pero deben ser previamente calibrados para cada cultivo, variedad y zona agroecológica específica.

La calibración de un método de diagnóstico nutrimental consiste en obtener una curva de la biomasa producida o del rendimiento de un órgano de interés económico, en respuesta a niveles crecientes de un nutriente. Los resultados de acumulación de biomasa en diferentes regímenes de fertilización se relacionan con datos de mediciones obtenidas de muestras vegetales específicas (extracto celular, extracto de materia seca) de un órgano o parte específica de la planta, en alguna etapa específica de su crecimiento (generalmente un estado fenológico), agrupadas por régimen de fertilización, de acuerdo a un protocolo definido. Se debe cuidar, en la medida de lo posible, que el cultivo experimental no presente déficit de ningún otro factor de crecimiento (otros nutrientes diferentes al estudiado, agua, luz, temperatura, etc., como han apuntado varios investigadores (Mills y Jones, 1996; Smith y Loneragan, 1997; Alcántar-González y Sandoval-Villa, 1999; Etchevers, 1999).

Varios métodos de diagnóstico semicuantitativos con diversos principios de funcionamiento se han empleado para el caso de N. La cuantificación de la concentración de

compuestos que contienen N (*e.g.* N-NO₃ o NO₃) se realiza en una solución acuosa en su mayoría obtenida del extracto celular (EC). En dicha matriz se miden los compuestos mediante electrodos sensitivos a iones específicos (ISE's, por sus siglas en inglés), electrodos que se fundamentan en la ecuación de Nernst (Benson, 2017). El EC en vegetales se obtiene mediante prensado del órgano conductor (tallo, peciolo o nervadura). La concentración de N-NO₃ tiene una relación con el contenido de N, y por ello es un indicador de la concentración del N adquirido por la planta (Withers, 1982; Lemaire *et al.*, 2008; Muñoz-Huerta *et al.*, 2013).

Otro procedimiento semicuantitativo emplea sensores activos, como GreenSeeker® (Trimble, USA), que funciona mediante emisión de radiación electromagnética (luz de diodos, o LED's) en dos anchos de banda: luz roja (600 nm), que es absorbida por la clorofila de la hoja, y luz cercana al infrarrojo (780 nm) que es reflejada por la superficie foliar. Ambas bandas dependen de las características fisiológicas del complejo celular (Verhulst y Govaerts, 2010). Así, mediante la reflectancia del dosel vegetal se puede calcular el índice digital normalizado de vegetación (NDVI, por sus siglas en inglés), que es un predictor del contenido de clorofila, mismo que se relaciona con el N foliar (Muñoz-Huerta *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2015; Ali *et al.*, 2017).

Otro tipo de análisis semicuantitativo del N emplea un medidor óptico a nivel de hoja, como el SPAD 502® (Minolta Japón) que mediante un sensor de 6 mm² colocado en una pinza mide la luz roja (640 nm) absorbida por la clorofila, y la luz infrarroja (940 nm) reflejada por la superficie foliar. La diferencia entre la energía absorbida y la reflejada permite calcular la concentración relativa de clorofila, expresada en unidades adimensionales llamadas SPAD (Lemaire *et al.*, 2008; Muñoz-Huerta *et al.*, 2013). El contenido relativo de clorofila se asocia con la concentración de N total de la hoja, ya que aproximadamente 80% del N se localiza en los cloroplastos. La mitad de este N se emplea para la elaboración de moléculas fotosintéticas y solo

0.5 a 1.5% está integrado a la clorofila (Xiong *et al.*, 2015). Evans, (1989) y Le Roux *et al.*, (1999) consideraron que tal porcentaje es variable entre especies de plantas, estado fenológico y condición ambiental.

El N es el nutriente más dinámico en los sistemas productivos, por lo que su uso agrícola correcto requiere de amplios conocimientos (Halvin *et al.*, 2005). La falta de información sobre cómo manejar adecuadamente el N puede generar, entre otras cosas: la aplicación de cantidades excesivas a la que demanda el cultivo, sobre acumulación de N en el perfil del suelo y consecuente posibilidad de contaminación de los mantos acuíferos por lixiviación. Por el contrario, si no se cubre adecuadamente el fertilizante nitrogenado que contiene amonio, existe la posibilidad que el N se volatilice y se pierda hacia la atmósfera (Dobermann, 2005).

En maíz (*Zea mays L.*) el diagnóstico oportuno del estado nutrimental del N permite identificar deficiencia o exceso en el abasto del nutriente, comprobar si la absorción del nutriente ha sido proporcional a la cantidad de fertilizante añadido, e identificar posibles excesos o deficiencias en el cultivo (Smith y Loneragan, 1997). El diagnóstico adecuado ayuda a tomar decisiones acerca de la necesidad de hacer ajustes en la dosis de N que se debe aplicar al cultivo en esa localidad o ambiente.

En México el maíz es el principal cultivo, que es producido en condiciones muy diversas y contrastantes (agricultura comercial, de subsistencia, de economía complementaria). No todas las regiones productoras pueden implementar un programa de monitoreo de nutrición basado en análisis foliar de laboratorio para detectar problemas en el abasto nutrimental por lo menos de N, conocimiento esencial para diagnosticar el estado nutrimental del cultivo. En caso frecuente de no contar con los niveles óptimos, el cultivo puede disminuir su desarrollo y rendimiento, por lo que

disponer de una tecnología intermedia aplicable en campo, puede ser de gran utilidad para el diagnóstico.

El presente trabajo busca ofrecer una herramienta alternativa a los análisis químicos de laboratorio, mediante la prueba y calibración de técnicas semicuantitativas, que permitirían estimar confiablemente la dosis de N requerida por el maíz, para que la deficiencia nutrimental no constituya un factor limitativo del rendimiento, y que además la fertilización nitrogenada pueda ser aplicada en los momentos adecuados del desarrollo de ese cultivo, en los cuales aún se puede esperar una respuesta. De esta manera, estas técnicas alternativas ayudarían a hacer un uso eficiente del N aplicado al maíz, para maximizar al mismo tiempo el retorno económico para el productor y minimizar el daño ambiental.

Objetivo general

El objetivo del presente trabajo consistió en calibrar cinco métodos semicuantitativos de campo que se realizan con dispositivos portátiles y uno cuantitativo de laboratorio, en cuanto a su precisión y viabilidad para diagnosticar el estado nutrimental del N en maíz en El Bajío de Guanajuato, en comparación con el análisis de N total en laboratorio que se considera la herramienta de mayor confiabilidad para este propósito.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

El N edáfico de un lote de producción comercial de la comunidad Romerillo, municipio de Juventino Rosas, Guanajuato (20°35'19.2" N, 100°56'46.8" O), se abatió (“blanqueó”) un año antes de la siembra experimental con maíz para ello se estableció maíz sin adicionar fertilización nitrogenada. El suelo del sitio se clasificó como Vertisol pélico (WRB, 2015): Algunas características en la profundidad 0 - 0.30 m del sitio son: densidad aparente de 1.1 g·cm³,

conductividad hidráulica de $0.77 \text{ cm}\cdot\text{h}^{-1}$, $\text{pH} = 7.0$, capacidad de intercambio catiónico (CIC) = $34 \text{ cmol}^{(+)}\cdot\text{kg}^{-1}$ y contenido de materia orgánica = 2.0%. Después del blanqueo el suelo contenía $89 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N-NO_3 en la capa 0 a 0.90 metros.

El sitio experimental recibió al momento de siembra una fertilización basal con N, P y K, consistente en 200 kg ha^{-1} de P_2O_5 y K_2O , todo el P se aplicó como monofosfato de amonio MAP (12-46-0) y el potasio se suministró en forma de cloruro de potasio KCl (0-0-60), 50% de la dosis con cada una de las dos primeras fertilizaciones. Los tratamientos fueron cinco dosis crecientes de N (0, 120, 240, 360, $480 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) aplicados como se indica más adelante. En las parcelas testigo y el tratamiento 120 kg de N, el P se aplicó como súper fosfato triple (0-46-0). Todas las aplicaciones se hicieron de forma manual, a un lado de la línea de siembra ($\sim 5 \text{ cm}$) y el fertilizante fue cubierto inmediatamente después de su aplicación.

El maíz usado fue el híbrido Samurái de la compañía Aspros®, sembrado el 23 de mayo de 2019. Las unidades experimentales fueron de 30.4 m^2 , con 4 surcos distantes 0.76 m entre sí y de 8 m de longitud. Cada tratamiento se repitió cinco veces y el diseño experimental fue bloques al azar. La densidad de población, al momento de la cosecha, fue $9.5 \text{ plantas}\cdot\text{m}^2$ (95 mil plantas ha^{-1}).

La aplicación de N se hizo con tres fertilizantes y en tres oportunidades, según el caso: con sulfato de amonio (21-0-0-S24), monofosfato de amonio MAP (12-46-0) y urea (46-0-0). a) Al momento de la siembra se aplicó 30% de la dosis correspondiente a cada tratamiento como MAP y sulfato de amonio; en las parcelas del tratamiento 120 kg N , el aporte de fertilizante se hizo con sulfato de amonio. En los tratamientos con dosis de N mayores a 120 kg , el aporte de MAP fue de 52.18 kg de N, el resto del aporte requerido por tratamiento se completó con sulfato de amonio; b)

La segunda fertilización se aplicó cuando el cultivo presentó la quinta hoja ligulada (V5) (Castellanos *et al.*, 2019), que ocurrió 20 días después de las siembra, ocasión en que se añadió 35% de las dosis de N como urea a cada tratamiento; finalmente, c) La tercera fertilización se hizo cuando apareció la lígula de la hoja 14 (V14) a los 54 dds, en esta oportunidad se aplicó 35% de las dosis de N restante, con sulfato de amonio.

Monitoreo de la concentración de N-NO₃ en la nervadura central y la base del tallo

Parcelas experimentales. El muestreo para el análisis de N-NO₃ en el extracto celular de la nervadura central (N-NO₃ en EC de NC), se realizó en las etapas V4, V7, V10, V12 y R1 (Castellanos *et al.*, 2019). De cada unidad experimental se obtuvo una muestra compuesta por 12 nervaduras de hojas recientemente maduras, excepto en la etapa R1 en la que se muestreó la hoja de la flor femenina, conocida como jilote. Para el análisis del extracto celular de la base del tallo (N-NO₃ de EC de BT), en las fenológicas V7, V12, R1 y R5, el extracto celular se tomó una sección de 15 cm de la parte baja del tallo, de 10 a 25 cm por arriba del suelo (Binford *et al.*, 1990) y se recolectaron ocho fracciones por unidad experimental. El criterio para la elección de las plantas muestreadas fue que estuvieran en los surcos contiguos a los centrales, presentaran competencia completa, y ubicadas cerca de los extremos de la unidad experimental.

La obtención de muestras de la nervadura y de la base de tallo se hizo entre las 8:00 y 10:00 am, y se guardaron en bolsas plásticas a 5 °C para transportarlas al laboratorio. Tanto las nervaduras centrales como las bases del tallo se comprimieron con una prensa manual (Cadahía-López, 2008) para obtener el extracto celular concentrado. Este se diluyó en agua destilada (1:10) para disminuir el riesgo de interferencias de iones extraños y moléculas orgánicas presentes en él

(Di Gioia *et al.*, 2010). Acto seguido, las muestras se homogeneizaron con un aparato vórtex antes de medir la concentración de N-NO₃ con un equipo portátil LAQUAtwin® NO3-11 (Horiba Kyoto, Japón) que opera con base en un principio electroquímico. Las determinaciones se realizaron por triplicado, que se repetía cuando el coeficiente de variación resultaba mayor a 15%. La concentración final de las tres muestras leídas se promedió y se multiplicó por el factor de dilución (x10). Cada dos series de triplicados el equipo de medición de N-NO₃ se calibró con soluciones recomendadas por el fabricante (150 y 2000 mg L⁻¹ de NO₃), y la celda sensible se reemplazó tras 350 determinaciones.

Parcelas comerciales. De forma paralela al experimento descrito más arriba, se realizó un muestreo en ocho parcelas comerciales ubicadas en diferentes localidades de la misma región productora de maíz, sembradas con distintos híbridos al del ensayo. De estos cultivos se obtuvo muestras de nervadura central de la hoja que envolvía al jilote, justo cuando la planta se encontraba en la etapa R1, para determinar la concentración de N-NO₃ en el extracto celular. Se recabó información acerca de la fertilización de N que se practicó (Comunicación personal, 2019, del representante comercial de Aspros® en Guanajuato), así como del rendimiento de grano obtenido por lote, como referencia comparativa. Los predios considerados estaban en un sistema de rotación de cultivos de maíz – garbanzo/jícama o maíz – hortaliza.

Monitoreo de la concentración de N-NO₃ de la materia seca de la base del tallo

Para determinar el contenido de N-NO₃ en la materia seca de la base del tallo (N-NO₃ de MS de BT), en cada una de las etapas fenológicas V7, V12, R1 y R4 se colectaron entre 8 y 10 fracciones de la base del tallo (Binford *et al.*, 1990) por unidad experimental. Después de ser identificada, la muestra compuesta se transportó al laboratorio para su secado con aire forzado a

70 °C, hasta un peso constante. Posteriormente, el material vegetal se molió y se tamizó con una malla con aperturas de 0.42 mm y se le determinó la concentración de NO₃ (Cataldo *et al.*, 1975).

Monitoreo de unidades SPAD en hojas recientemente maduras

En la etapa fenológica V7 se eligieron 15 plantas con competencia completa, ubicadas en los surcos centrales de cada unidad experimental y fueron señaladas (etiquetadas). En estas mismas plantas se realizaron mediciones de las unidades SPAD en cada oportunidad de muestreo (V7, V10, V12, R1). Con el aparato portátil MC-100® (Apoge Instruments USA) se midieron las unidades SPAD que indican la concentración relativa de clorofila. Este aparato se programó para tomar cada lectura cuando los datos por unidad experimental tuvieran un coeficiente de variación menor a 15%; sí lo anterior no se cumplía, las mediciones debían repetirse. En las etapas fenológicas V7, V10, y V12 la medición de SPAD se hizo en la parte central de la hoja recientemente madura y a un costado de la nervadura; en la etapa R1 la medición fue en la hoja del jilote. El valor promedio de lecturas de cada unidad experimental fue el que se registró.

Índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI)

La medición NDVI se hizo con el dispositivo manual GreenSeeker ® (Trimble USA), en las etapas fenológicas V7, V10, V12 y R1, en plantas de surcos centrales (se evitó el efecto orilla). El dispositivo se colocó a 0.60 m sobre el dosel vegetal, y se activó durante un recorrido en la línea recta a una velocidad de 0.5 m·s⁻¹. Esta operación se repitió tres veces por unidad experimental. El valor registrado corresponde al promedio de las tres lecturas.

Análisis de nitrógeno foliar

En las etapas fenológicas V7, V12, R1 y R3 se recolectó, por cada unidad experimental, los tercios medios de las hojas recientemente madura para determinar el contenido de N total con un analizador elemental FlashEA 1112® (Thermo Fisher Scientific, USA), que emplea el método de Dumas (AOAC, 2005).

Cosecha

Cuando el maíz llegó a madurez fisiológica (R6), se cosecharon de forma manual todas las plantas ubicadas en 1.52 m², que incluía los dos surcos centrales de la UE. Las mazorcas se desgranaron para medir tanto el rendimiento de grano, el rendimiento se ajustó a 155 kg de humedad por tonelada de grano (15.5%) (CIMMYT, 2012).

Análisis estadísticos

Con los datos de rendimiento de grano se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si había diferencias significativas entre los tratamientos de fertilización con N, y luego se hizo una comparación de medias con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$). Ambos procedimientos del análisis se gestionaron en el programa SAS ver. 9.1, con el procedimiento comando GLM (SAS Institute Inc, 2002).

El registro del rendimiento de cada unidad experimental se relativizó en porcentaje respecto al 100% del rendimiento obtenido en ensayo. Se consideró 100% al rendimiento promedio obtenido en el tratamiento de 480 kg de N·ha⁻¹ (Ecuación 1).

$$RR = \left(\frac{\text{Rendimiento de grano de la parcela experimental}}{\text{Rendimiento de grano promedio del tratamiento de 480 kg de N}\cdot\text{ha}^{-1}} \right) 100 \dots \text{Ecuación 1}$$

Concentración crítica

Para estimar la concentración crítica resultante de la aplicación de cada método de diagnóstico y etapa fenológica, se hizo un ajuste de funciones segmentadas con un modelo nombrado “meseta-lineal” (Sprent, 1961), que relacionó los datos registrados de cada medición por método, con el rendimiento de grano relativizado. Este modelo permite obtener una relación lineal ascendente y luego una meseta o “plateau” que indica la estabilización de la variable de respuesta en el eje de las “Y” con respecto al incremento de la variable experimental dispuesta en el eje de la “X”, que en este caso la variable “Y” corresponde al rendimiento relativo y la variable “X” corresponde al valor de la medición (N-NO₃, NDVI, SPAD, N total). El punto donde la curva presenta la inflexión y se hace paralela al eje de la X, se levanta una normal, el cruce de dicha normal con la concentración de N-NO₃ se le conoce como concentración crítica (CC) o valor crítico (VC) de la variable en estudio.

En los casos donde no se logró ajustar el comportamiento de los datos modelo de Linear-meseta, se empleó una regresión lineal simple y la concentración crítica del eje de las “X” se estableció arbitrariamente en el punto que coincidió con 90% del rendimiento relativo (en el eje de las “Y”). En los casos de mediciones realizadas en etapas reproductivas avanzadas (R4 y R5) los datos se ajustaron mejor al modelo propuesto por Cate y Nelson la concentración crítica se estimó en función de la mínima suma de cuadrados (Cate y Nelson, 1971). Este procedimiento clasifica a la variable del eje de las “Y” en dos cuadrantes con el mínimo error; es un procedimiento análogo del modelo estadístico “probit”.

A los valores y concentraciones críticas, se les calculó arbitrariamente el ($\pm 5\%$) de su valor y a este porcentaje se le consideró el límite de tolerancia de ese valor.

Todos los análisis de ajustes y sus representaciones gráficas se gestionaron con el programa estadístico R versión 3.5.1 (The R Foundation for Statistical Computing, 2018).

Los coeficientes de correlación que se presentan en las figuras 1-6 corresponden a la parte lineal de la función linear-meseta, es decir, a la parte ascendente del modelo de relación.

Porcentaje de sobre/subestimación del rendimiento relativo por método diagnóstico

Se revisó el registro de mediciones realizadas con cada método de diagnóstico, así como el rendimiento relativo por unidad experimental. En cada caso se contó el número de mediciones que:

- sobrestimaban al rendimiento relativo, es decir, cuando el valor de la medición era mayor al valor de referencia (concentración crítica o valor crítico) pero el rendimiento fue menor a 90%;
- mediciones que subestimaron al rendimiento relativo, o sea, valores de medición menores al valor de referencia pero que se asociaban con un RR superior al 90 por ciento.

Los resultados del conteo se convirtieron a términos porcentuales considerando como base 100% al total de mediciones de cada método.

Evaluación de métodos de diagnóstico semicuantitativos

En tres etapas fenológicas (V7, V12, R1) se relacionaron las mediciones de cada método por dosis de N aplicado ($\text{kg de N}\cdot\text{ha}^{-1}$) y se ajustaron con diferentes modelos, se calculó el coeficiente de determinación (R^2). En las mismas etapas fenológicas (V7, V12, R1) se correlacionaron los resultados de la concentración del nitrógeno foliar con las mediciones de cada método semicuantitativo y se determinó el coeficiente de asociación (r). Este análisis se realizó en tres oportunidades (V7, V12, R1) que se consideran clave en el patrón de la acumulación del N en el cultivo de maíz, tal como lo ha documentado Castellanos *et al.* (2019). Estos autores indican que en V7 la absorción de N comienza a acelerarse, pero más adelante, cuando el cultivo alcanza

la etapa V12, comienza la absorción más acelerada de N de todo el ciclo; y, finalmente, en R1, aunque el ritmo de adsorción comienza a disminuir ligeramente, el cultivo ya ha absorbido 66 por ciento de la demanda total del nitrógeno.

III. RESULTADOS

Los límites inferiores de las concentraciones críticas determinadas para cada método de diagnóstico y cada etapa fenológica, se muestran en el Cuadro1. Más adelante se presentan los pormenores de cada resultado.

Cuadro 1. Concentraciones críticas estimadas con diferentes métodos de diagnóstico por etapa fenológica de contenido de N, en 9 etapas fenológicas.

Método de diagnóstico	Unidad de medición	V4	V7	V10	V12	V15	R1	R3	R4	R5
N-NO ₃ en EC de NC [‡]	mg·L ⁻¹	2600	700	800	430	450 [¥]	230*	-	-	-
N-NO ₃ de EC de BT [‡]	mg·L ⁻¹	-	330	-	450	-	350	-	-	350 [†]
N-NO ₃ de MS de BT [‡]	mg·Kg ⁻¹	-	8000	-	8000	-	7000	-	2650 [†]	-
Unidades NDVI	NDVI	-	81	84	83	-	80	-	-	-
Unidades SPAD	SPAD	-	43	44 [¥]	39	-	47*	-	-	-
N total foliar [‡]	%N·kg MS	-	3.4	-	2.2	-	2.6*	1.9*	-	-

*Muestras provenientes de la hoja que envuelve al jilote; [¥]Estimación por regresión lineal; [†]Ajuste con la metodología Cate y Nelson; [‡]Se fijaron rangos de concentración arbitrariamente considerando $\pm 5\%$ de cada concentración crítica estimada.

Concentración de N-NO₃ en el extracto celular de la nervadura central

La concentración de N-NO₃ en el extracto celular de la nervadura central de las hojas recientemente maduras, medida en distintas etapas fenológicas de la planta (V4, V7, V10, V12, V15, R1), se asoció con el rendimiento relativo con un coeficiente correlación (r) mayor a 0.80, en todas las etapas con excepción de la etapa fenológica V15, donde el valor de r fue de 0.56 (Figura 1).

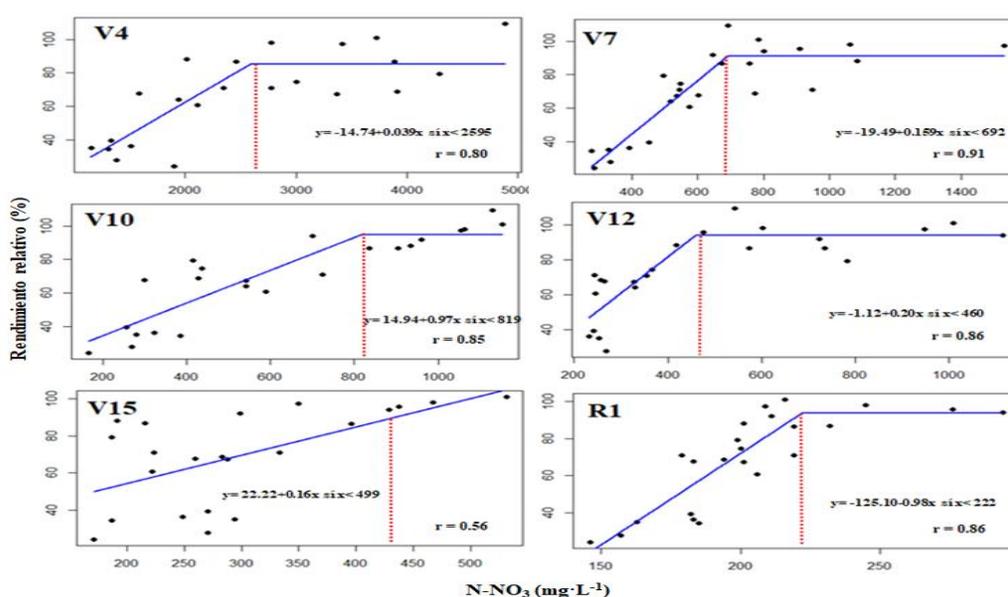


Figura 1. Modelación de la concentración de N-NO₃ en el extracto celular de la nervadura central de la hoja recientemente madura y su relación con el rendimiento relativo por etapas fenológicas V4, V7, V10, V12, V15 y R1*. *Nervadura central de la hoja que envuelve al jilote. Las ecuaciones que se presentan por etapa fenológica corresponden a la función lineal ascendente.

El rango de la concentración crítica en las etapas V4 y V7 se estimó entre 2500 ± 130 y 700 ± 35 mg·L⁻¹ de N-NO₃, respectivamente. En tanto que para las etapas V10, V12 y V15 las concentraciones críticas fueron 800 ± 40 , 410 ± 22 y 430 ± 23 mg·L⁻¹ de N-NO₃, respectivamente. Al inicio de la etapa reproductiva R1, se estimó una concentración crítica que se ubicó en el rango de 230 ± 12 mg·L⁻¹ de N-NO₃. El porcentaje de diagnósticos que sobreestimaron al rendimiento

relativo fue 14% de las mediciones, en tanto que las mediciones que lo subestimaron corresponden a 12%, por lo que 74% de los diagnósticos fue acertado.

Parcelas comerciales. Las parcelas comerciales muestreadas recibieron una dosis media de N de 304 kg ha⁻¹ con un coeficiente de variación (CV) de 10 por ciento. En la etapa fenológica de R1, cuando se realizó la única medición, la concentración media de N-NO₃ en el extracto de la nervadura central de la hoja que envolvía al jilote fue de 390 mg·L⁻¹, con un CV de 12% y el rendimiento medio de grano en esos sitios fue de 15.6 Mg·ha⁻¹ (CV = 8%). Este rendimiento fue muy parecido al logrado en las parcelas experimentales con la dosis 360 kg ha⁻¹ de N (15.7 Mg·ha⁻¹ y un CV de 10.4%); donde la concentración crítica estimada para el N-NO₃ en el extracto celular de la nervadura central que se fijó de 230 ± 12 miligramos por litro.

Concentración de N-NO₃ en el extracto celular de la base del tallo

En la Figura 2 se presenta la concentración de N-NO₃ en el extracto de la base del tallo de maíz (N-NO₃ de EC de BT), medida en diferentes estados fenológicos (V7, V12, R1, R5). Estos valores se asociaron de forma positiva ($r > 0.83$) con el rendimiento relativo en la parte lineal del modelo lineal-meseta. En el estado R5 la concentración crítica se definió con el uso de la técnica de Cate y Nelson. La concentración crítica (CC) en la etapa V7 se ubicó entre 330 ± 17 mg·L⁻¹ de N-NO₃. En etapas más avanzadas (V12 y R1) las CC estimada fue de 450 ± 23 y 350 ± 18 mg·L⁻¹ de N-NO₃, respectivamente. Finalmente, cuando se el cultivo alcanzó R5, la CC se estimó en 350 ± 18 mg·L⁻¹ de N-NO₃. El porcentaje de diagnósticos que sobreestimaron al rendimiento relativo fue 13% de las mediciones, por el contrario, las mediciones que subestimaron a este corresponden a 12 por ciento, por lo que 75 por ciento de los diagnósticos fue acertado.

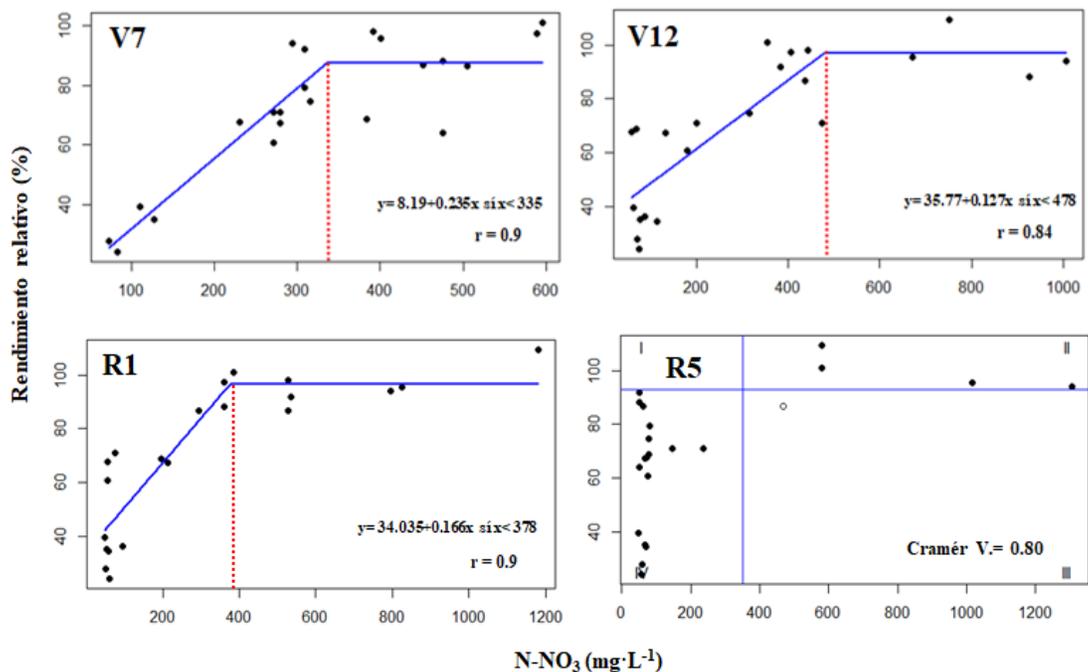


Figura 2. Modelación de la concentración de N-NO₃ en el extracto celular de la base del tallo y su relación con el rendimiento relativo para las etapas fenológicas V7, V12, R1 y R5.

Concentración de N-NO₃ en la materia seca de la base de tallo

La concentración de N-NO₃ en la materia seca de la base del tallo (N-NO₃ de MS de BT), en las etapas V7, V12 y R1, medida por un método químico de laboratorio, se asoció en la parte lineal de la función lineal-meseta con el rendimiento relativo (Figura 3). El coeficiente de correlación correspondiente a las etapas V7 y V12 fue de 0.87 y 0.80, respectivamente, pero menor $r = 0.64$ en la etapa R1. En la etapa R4 la concentración crítica se tuvo que definir mediante el empleo de la técnica Cate-Nelson. Las concentraciones críticas (CC) correspondientes a los estados V7 y V12, fueron similares: 8000 ± 400 mg·kg⁻¹ de N-NO₃. La CC en la etapa R1 se estimó en 7000 ± 350 mg·kg⁻¹ de N-NO₃, mientras que en R4 disminuyó drásticamente a 2647 ± 133 mg·kg⁻¹ de N-NO₃. Los diagnósticos realizados con este procedimiento sobrestimaron el

rendimiento relativo en 13%, mientras que 11% de los casos lo subestimaron, por lo que se logró 76% de diagnósticos acertados.

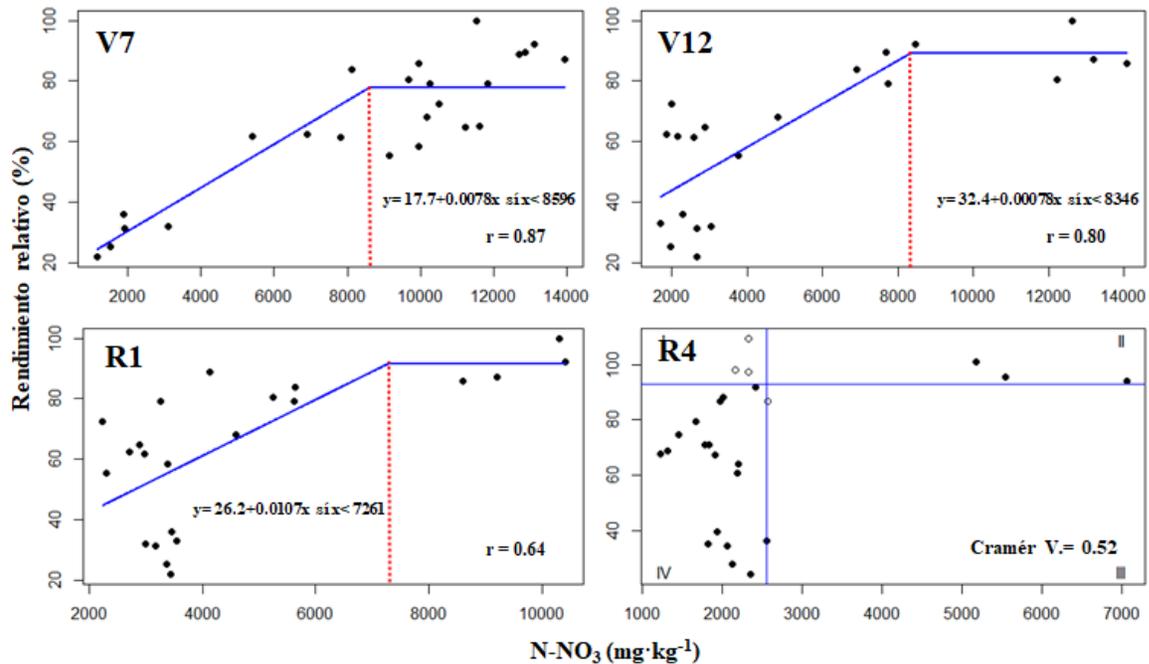


Figura 3. Modelación de la concentración de N-NO₃ en la materia seca de la base del tallo y su relación con el rendimiento relativo por etapas fenológicas (V7, V12, R1 y R4).

Índice de vegetación de diferencia normalizada

La medición del NDVI sobre el dosel de maíz, que se hizo en las etapas fenológicas V7, V10, V12, R1, se asociaron con el rendimiento relativo usando el modelo linear meseta; el coeficiente de correlación (r) de la componente lineal del modelo fue superior a 0.70 (Figura 4). En el presente caso no podemos hablar de concentración crítica, porque este instrumento tiene una base física, por lo que lo referiremos como valor crítico (VC) de NDVI, que estima el verdor y de la concentración de N en la planta. En las etapas V7 y V10 el VC del NDVI fue 81 ± 4 y 84 ± 4 unidades, respectivamente. Mientras que en las etapas V12 y R1 los VC de NDVI fueron de $83 \pm$

4 y 80 ± 4 unidades, en el mismo orden. El porcentaje de diagnósticos que sobrestimaron el rendimiento relativo fue 29%, en tanto que las mediciones que lo subestimaron correspondieron a 8%, por lo que 63% de los diagnósticos fue acertado.

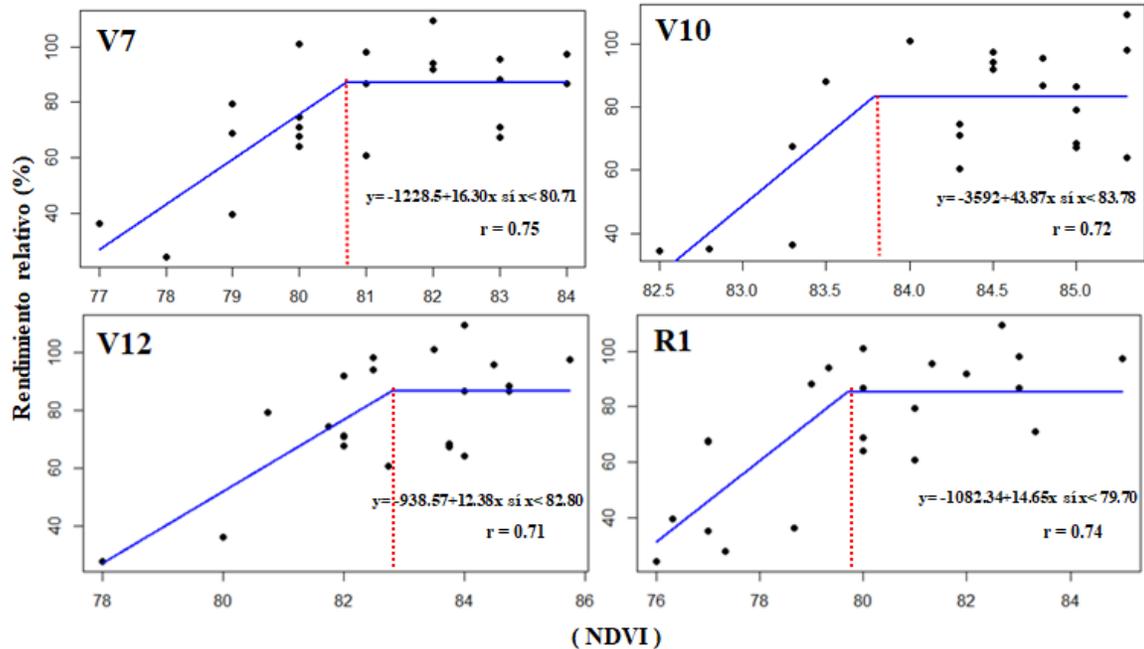


Figura 4. Relación de unidades NDVI con el rendimiento relativo en etapas fenológicas V7, V10, V12 y R1.

Unidades SPAD en hoja recientemente madura

En diferentes etapas fenológicas de la planta (V7, V10, V12, R1) las mediciones de unidades SPAD hechas en la hoja recientemente madura se asociaron con el rendimiento relativo ajustándose en un modelo lineal-plateau con excepción de V10 en que hubo de emplearse un modelo regresión lineal (Figura 5). El coeficiente de ajuste de las regresiones (R^2) fue mayor a 0.56 en todos los casos, de donde se dedujo que los coeficientes de la correlación fueron mayores a $r = 0.75$.

El valor crítico en la etapa V7 se estimó en 43 ± 2 unidades SPAD, en tanto que en la etapa V10 fue de 44 ± 2 unidades SPAD. En las etapas V12 y R1, el valor crítico fue 39 ± 1.9 y 47 ± 2.3 unidades SPAD respectivamente. El porcentaje de diagnósticos que sobrestimaron al RR fue 19%, mientras que 12% lo subestimaron, esto quiere decir que 69% de los diagnósticos fue acertado.

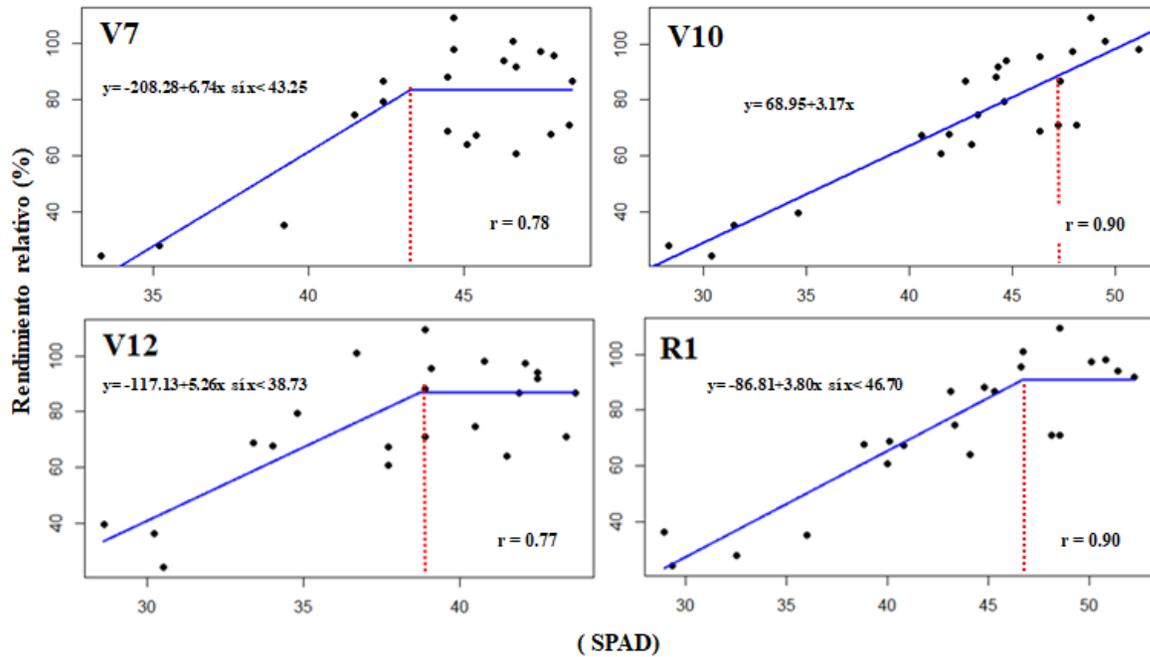


Figura 5. Relación de unidades SPAD con el rendimiento relativo en las etapas fenológicas V7, V10, V12 y R1* (*lectura tomada en la hoja envolvente jilote).

Nitrógeno total foliar

La concentración de N total en hojas recientemente maduras recolectadas en las etapas fenológicas V7, V12, R1, R3 de la planta de maíz, se asoció con el rendimiento relativo. En todas las etapas el coeficiente de correlación fue superior a 0.85 con excepción de la etapa V12 en la cual el coeficiente r fue 0.7 (Figura 6). La concentración crítica en las etapas V7 y V12 se estimó en 3.4 ± 0.17 y $2.2 \pm 0.11\%$ de N por kg de MS, respectivamente. En tanto para las etapas R1 y R3 fue menor, 2.6 ± 0.13 y $1.9 \pm 0.9\%$ de N por kg de MS respectivamente. Los diagnósticos que

sobrestimaron al rendimiento fueron 15% y sólo 4% lo subestimó, es decir 81% de los diagnósticos fue acertado.

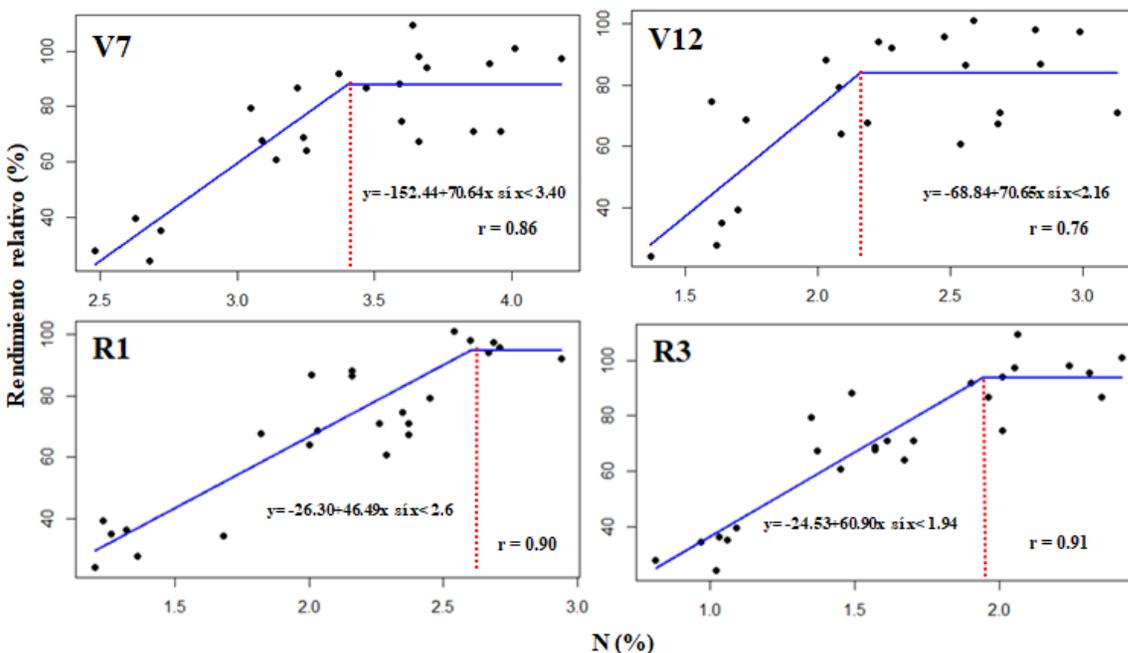


Figura 6. Relación entre nitrógeno total foliar y el rendimiento relativo, en las etapas fenológicas V7, V12, R1 y R3. En R1 y R3, la muestra se extrajo de la hoja envoltura de la flor femenina.

Evaluación de métodos de diagnóstico semicuantitativos

Los métodos de diagnóstico semicuantitativos probados en el presente trabajo, que se relacionaron en un primer momento con el rendimiento de grano para determinar valores o concentraciones críticas, son métodos que miden indirectamente el abasto del nitrógeno. A continuación se muestran resultados de: a) la relación entre las mediciones de cada método semicuantitativo y las dosis de nitrógeno aplicadas al suelo; b) relación de las mediciones con el contenido de nitrógeno foliar.

Nitrógeno foliar total. En la etapa V7 las concentraciones de N total de hojas maduras se relacionaron en forma directamente proporcional con la dosis de nitrógeno aplicado al suelo, ya que dicha relación se ajustó a un modelo lineal con un coeficiente de determinación (R^2) de 0.97. En V12 y R1 las medidas de N foliar se ajustaron a modelos cuadráticos con $R^2 = 0.91$ y 0.93 , respectivamente. Es decir, en V7 la concentración de N en hojas maduras más jóvenes (como órganos indicadores) aumentó conforme se incrementó la dosis del nutriente (N) aplicado al suelo. También en la etapa V12 la curva mostró que a mayor dosis de N hubo una mayor concentración en el órgano indicador, pero solamente hasta a dosis 360 y 480 kg de N ha^{-1} ya que en dosis mayores no hubo cambio en la concentración de N en la hoja. En la etapa R1, de igual forma se observó una estabilización en la concentración del N en el tejido cuando la dosis fue igual o mayor a 240 kg de N ha^{-1} (Figura 7).

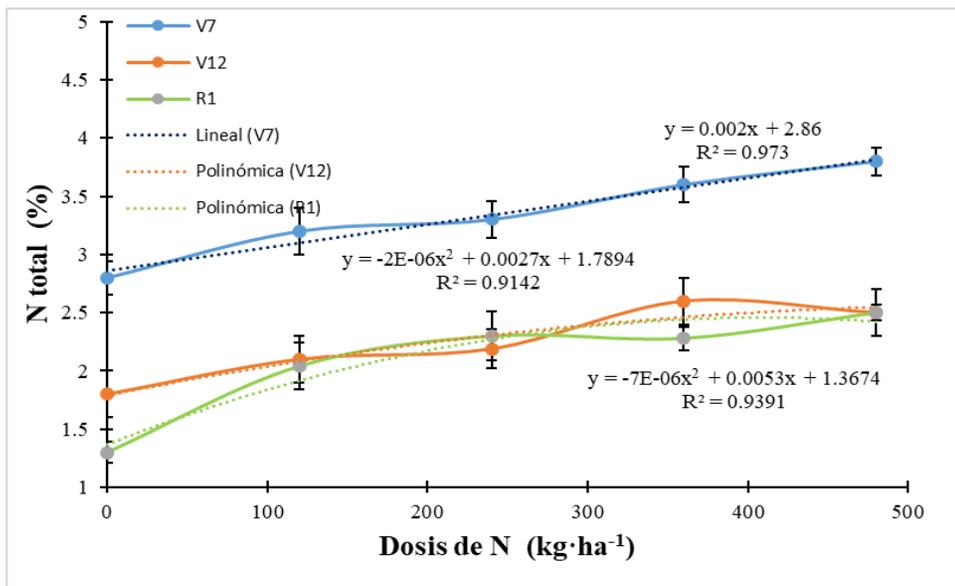


Figura 7. Relación de la concentración de nitrógeno foliar y dosis de fertilización de nitrógeno en tres etapas fenológicas (V7, V12, R1).

El análisis de N foliar es el método de diagnóstico con más soporte de literatura científica, y por esta razón los otros métodos de diagnóstico probados en este experimento se correlacionaron con los resultados de N foliar (Cuadro 2).

Cuadro 2. Correlación del nitrógeno total en hoja madura con otras mediciones para el diagnóstico de nitrógeno.

Método de diagnóstico	V7		V12		R1	
	r	Sig. [†]	r	Sig.	r	Sig.
N-NO ₃ en EC de NC [‡]	0.75	**	0.30	-	0.60	**
N-NO ₃ de EC de BT	0.70	**	0.20	-	0.60	*
N-NO ₃ de MS de BT	0.85	**	0.20	-	0.40	-
Unidades NDVI	0.69	**	0.59	**	0.63	**
Unidades SPAD [‡]	0.65	**	0.70	**	0.83	**
N total foliar [‡]	1	-	1	-	1	-

[†]Significancia; **0.01; *0.05; [‡]Muestra proviene de hoja recientemente madura, y en R1 de la hoja del jilote.

Concentración de N-NO₃ en el extracto celular de la nervadura central. La concentración media de N-NO₃ del extracto celular de la nervadura central y las dosis de N aplicado al suelo se relacionaron del siguiente modo: en V7 con un modelo lineal y un alto coeficiente de determinación (R²) de 0.97; en V12 la asociación se dio con un modelo cuadrático y una R² de 0.92; y en R1 fue con un modelo lineal y una R² de 0.71 (Figura 8).

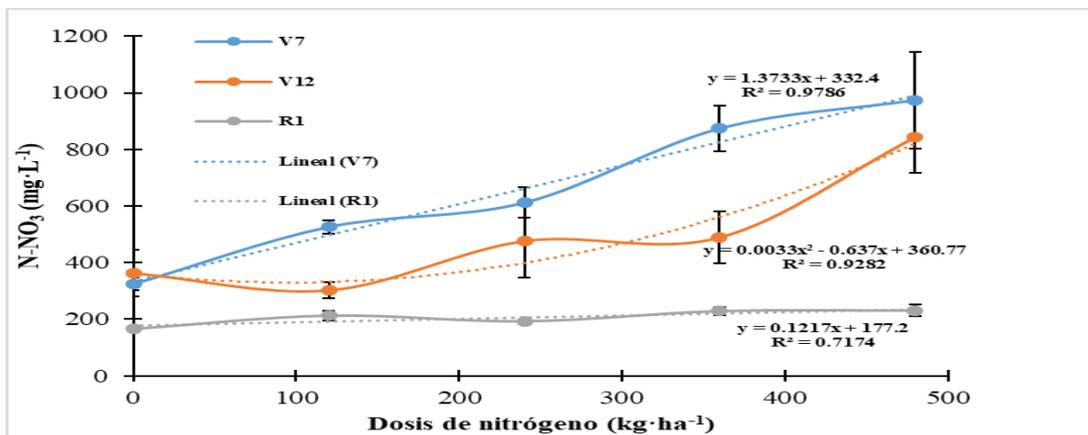
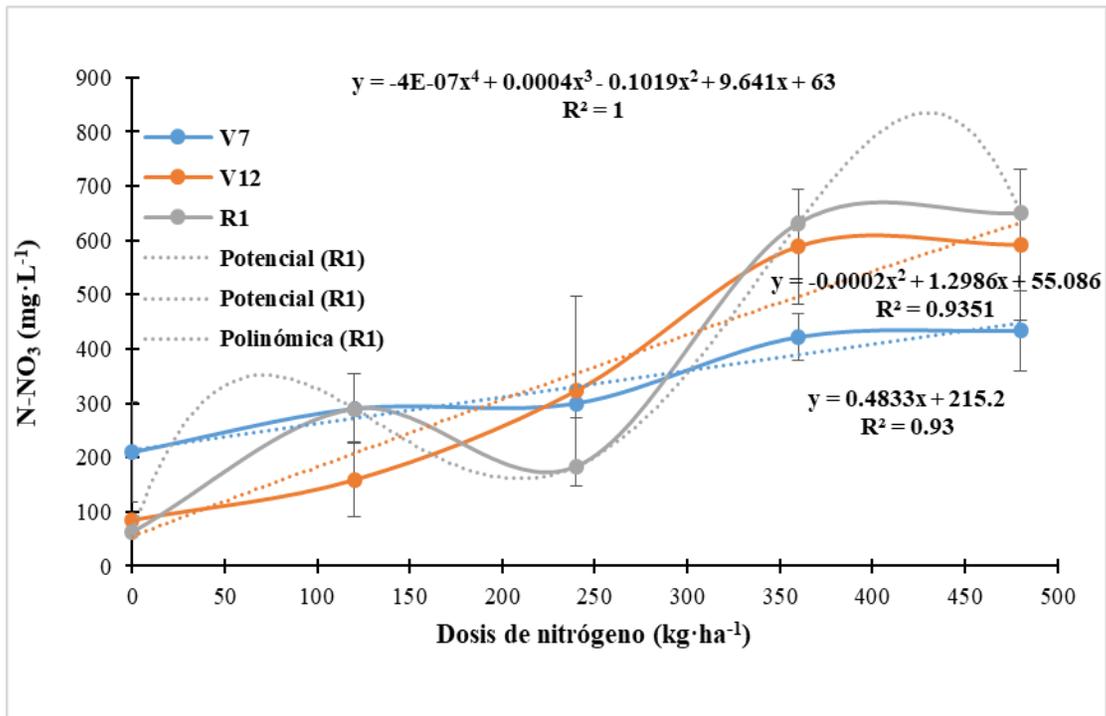


Figura 8. Concentración de N-NO₃ en el extracto celular de hojas recientemente maduras en diferentes etapas fenológicas (V7, V12, R1) y su relación con la dosis de nitrógeno aplicado.

Por otro lado, la concentración del nitrógeno total foliar de hoja recientemente maduras se correlacionó con el N-NO₃ del extracto celular de la nervadura central en V7 con un coeficiente de correlación (r) de 0.75, mientras que en V12 la r fue de 0.30, y en R1 de 0.60 (Cuadro 2).

A partir de los resultados se deduce que la cuantificación del N-NO₃ del extracto celular de la nervadura central realizado en V7 reflejó mejor la condición nutrimental del N del cultivo en función de la dosis aplicada ($R^2 = 0.97$), seguida muy de cerca ($R^2 = 0.71$) por el mismo método aplicado en R1 en ambas etapas con modelos lineales y su interpretación es sencilla, la concentración del N-NO₃ aumento proporcionalmente conforme se aumentó la dosis de fertilización de N. En cambio, la medición en V12 resultó menos confiable, los datos se ajustaron a un modelo cuadrático y, ello implica una interpretación no directa; la curva muestra un incremento desacelerado entre las dosis menores (0, 120, 240 kg de N·ha⁻¹) y en dosis altas (360 y 480 kg de N·ha⁻¹) se incrementó rápidamente la concentración de N-NO₃ del extracto celular.

Concentración de N-NO₃ de extracto celular de la base del tallo. En las tres etapas fenológicas evaluadas del cultivo, la concentración de N-NO₃ del extracto celular de la base del tallo se relacionó con la dosis de fertilización de N, sobre todo en V7 donde se obtuvo un buen ajuste con un modelo lineal ($R^2 = 0.92$) que indica alta sensibilidad del método en V7 por ser una relación directamente proporcional. En la etapa V12 los datos se ajustaron a un modelo cuadrático ($R^2 = 0.98$), y en la etapa R1 se ajustó un modelo polinómico de cuarto orden ($R^2 = 1$). En las tres etapas fenológicas se observó que en dosis de fertilización altas (360 y 480 kg N ha⁻¹) la concentración



de N-NO₃ se estabilizó; es decir, la hoja no detectó las dosis más altas de fertilización. En el caso particular de la curva que corresponde a R1, se aprecia una depresión en la dosis de 240 kg de N·ha⁻¹ (Figura 9), que tal vez podría indicar que en esas dosis la hoja exporta más N.

Figura 9. Concentración de N-NO₃ en el extracto celular de la base del tallo en diferentes etapas fenológicas (V7, V12, R1) y su relación con la dosis de nitrógeno aplicado.

Las concentraciones medias de N-NO₃ del extracto celular de la base del tallo en las etapas V7 y R1 se relacionaron con el N foliar con coeficientes de determinación (R²) de 0.70 y 0.60, respectivamente (Cuadro 2).

Por lo anterior, se puede considerar que la medición de N-NO₃ en el extracto celular de la BT del tallo permite un adecuado diagnóstico en las etapas V7 y V12; en el primer caso, el incremento de estas concentraciones fue lineal respecto a la dosis de N, y la medición del N-NO₃ se correlaciono con el N total (R² = 0.70). En la etapa V12 la curva dibujó una sigmoide, que permite identificar que a mayor fertilización de N se consigue un incremento en la concentración de N-NO₃ en el extracto celular, pero el incremento de la concentración no es linear; sin embargo, al igual que en V7, se apreció una estabilización de la concentración a dosis iguales o mayores a 360 kg de Nitrógeno.

Concentración de N-NO₃ en la materia seca de la base del tallo. Al relacionar la concentración del N-NO₃ en la materia seca de la base del tallo con las dosis de N aplicadas al suelo, en V7 se encontró un modelo linear con un coeficiente de determinación (R²) de 0.92; en V12 los datos se asociaron con un modelo cuadrático y una (R²) de 0.84, y en R1 los cambios en la concentración de N-NO₃ de la materia seca en respuesta a la dosis de fertilización de nitrógeno se ajustaron a un modelo cúbico con un coeficiente de determinación de 0.89. En las tres etapas de muestreo se observa que la concentración del N-NO₃ se mantuvo constante en dosis desde 360 kg de N ha⁻¹. Las tres curvas resultaron similares a las obtenidas en el caso de N-NO₃ del extracto celular de la base del tallo (Figura 10), pero con más variaciones en la MS que en el extracto celular. Por tanto, el método basado en el EC parece ser un método más estable y más confiable que el basado en la MS, en ambos casos de la base del tallo.

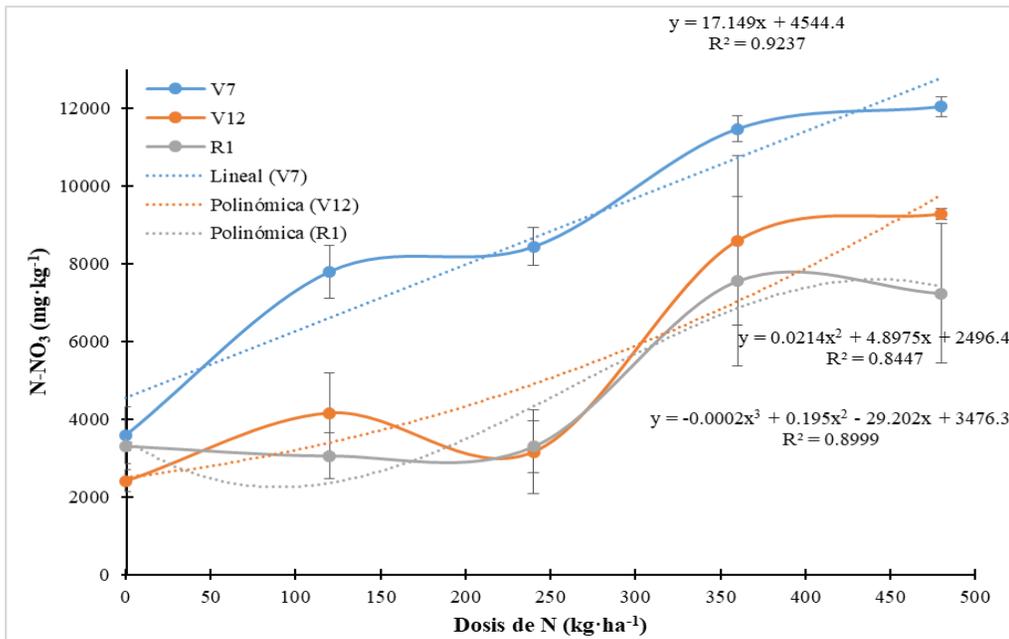


Figura 10. Concentración de N-NO₃ en la materia seca de la base del tallo en diferentes etapas fenológicas (V7, V12, R1) y su relación con la dosis de nitrógeno aplicado.

La concentración de N-NO₃ de la materia seca y su relación con el N total de hojas recientemente maduras tuvo un coeficiente de asociación (r) de 0.85 en el caso de V7, pero al inicio de la etapa reproductiva (R1) esta relación bajó a 0.40 (Cuadro 2).

Los resultados obtenidos permiten inferir que este método de medir N-NO₃ en la materia seca en respuesta a la fertilización, se asoció mejor con el nitrógeno total (r) = 0.85 cuantificado en la etapa V7. En las etapas V12 y R1 hubo altas desviaciones estándar en las medias de la concentración de N-NO₃ por tratamiento, lo que indica más variación y menor precisión, y en consecuencia este método semicuantitativo presentó una baja asociación con el N total r = 0.20 y 0.40, para V12 y R1.

Índice de diferencia de vegetación normalizada. Las unidades NDVI de tres etapas fenológicas se asociaron con las dosis de N; en V7 y V12 mediante modelos cuadráticos con R^2 de 0.91 y 0.89 respectivamente, mientras que en R1 los datos se relacionaron más estrechamente con un modelo lineal con $R^2 = 0.98$. Las curvas que corresponden a V7 y V12 mostraron tendencias paralelas, con valores superiores en V12; en ellas se aprecian dos picos en la dosis de N de 120 y 360 kg N ha⁻¹, y una caída en las dosis de 240 y 460 kg ha⁻¹. En la etapa R1 las unidades NDVI aumentaron en forma lineal (proporcional) conforme se incrementó el abasto de nitrógeno (Figura 11), lo que hace que el método NDVI da mejor resultado en R1 que en plantas más jóvenes.

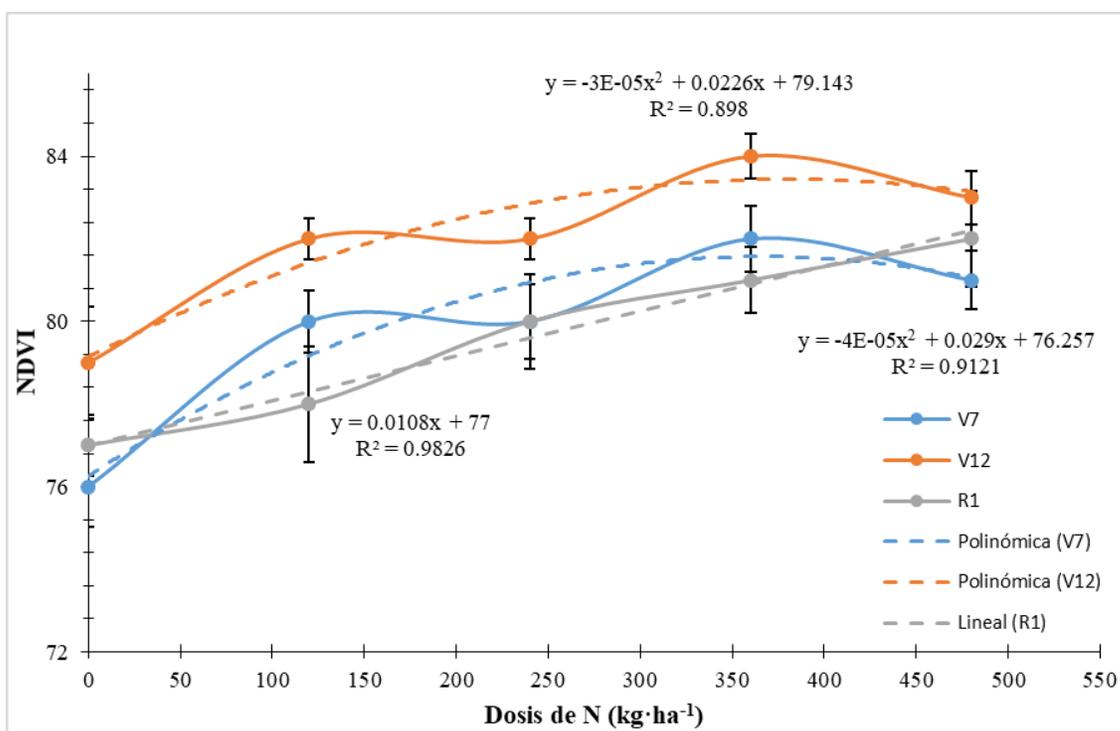


Figura 11. Unidades NDVI en diferentes etapas fenológicas (V7, V12, R1) y su relación con la dosis de nitrógeno aplicado.

Los valores de NDVI y el N total foliar se asociaron significativamente ($\alpha = 0.01$) en las tres oportunidades de muestreo (V7, V12, R1), con coeficientes de correlación (r) de 0.69, 0.59, 0.63 respectivamente. Con lo anterior se puede considerar que las mediciones NDVI en R1 generan

un mejor y más confiable diagnóstico del estado nutricional de la planta, que en etapas anteriores de V7 y V12.

Mediciones de SPAD. Los valores SPAD registrados en tres etapas fenológicas del maíz mostraron curvas parecidas a las registradas con el método NDVI, en respuesta a las dosis de N aplicada. En V7 y V12 las curvas se ajustaron a un modelo cuadrático ($R^2 = 0.97$ y 0.89 , respectivamente). En R1 el comportamiento de los datos se ajustó a un modelo lineal $R^2 = 0.99$. En V7 los valores SPAD se mantuvieron constantes en dosis iguales o mayores $240 \text{ kg de N ha}^{-1}$. En V12 la curva presentó un pico en $120 \text{ kg de N ha}^{-1}$ y otro en la dosis de 360 kg N ha^{-1} . En cambio, en R1 se observó un incremento lineal de los valores SPAD respecto a la dosis de nitrógeno (Figura 12), lo que indica la mejor sensibilidad a los niveles de fertilización nitrogenada.

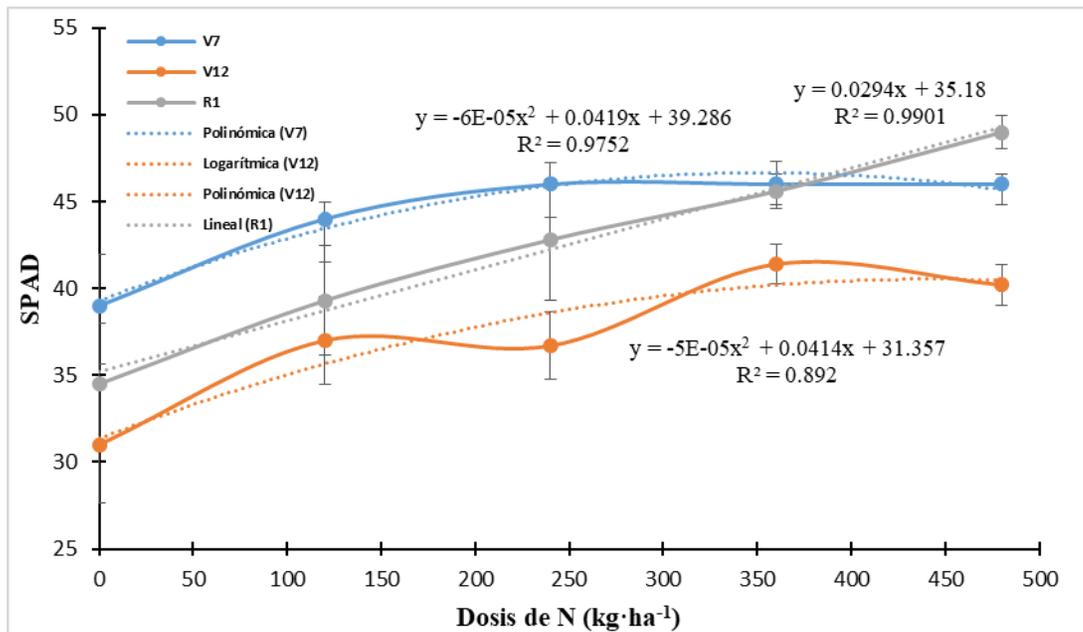


Figura 12. Valores SPAD en diferentes etapas fenológicas (V7, V12, R1) y su relación con la dosis de nitrógeno aplicado.

Los valores SPAD y su relación con el N foliar en las tres oportunidades de muestreo (V7, V12, R1) se asociaron con coeficientes de correlación (r) de 0.65, 0.70 y 0.83 respectivamente (Cuadro 2).

Con estos resultados se puede considerar que el método SPAD permitió medir la respuesta del cultivo a la fertilización de N en las tres etapas fenológicas, sobre todo en la etapa R1 en la que se logró la mayor precisión de la respuesta, seguido de la etapa V12 en donde el método SPAD solo pudo diferenciar entre dosis fertilización menores a 360 kg de N·ha⁻¹ (pero no en mayores). En la etapa V7 el método solo identificó respuestas a la fertilización con dosis menores a 240 kg de N.

Rendimiento de grano

El maíz respondió significativamente ($P < 0.001$) en lo que a rendimiento de grano se refiere, a la aplicación de dosis crecientes de fertilización nitrogenada. La comparación de medias muestra que el incremento del rendimiento de grano de maíz en las parcelas experimentales fue cuadrático: 5.8, 11.2, 13.9, 15.7 y 18.3 Mg·ha⁻¹ con 0, 120, 240, 360 y 480 kg·ha⁻¹ de N (Cuadro 3).

Cuadro 3. Comparación de medias del rendimiento de grano por tratamiento de Nitrógeno.

Tratamiento ¹	Rendimiento ^{2*}
N (kg·ha ⁻¹)	Mg·ha ⁻¹
0	5.8 D
120	11.2 C
240	13.9 BC
360	15.7 AB
480	18.3 A
DMS	3.1

Comparación de medias mediante el método de Tukey (α al 0.05).* Los errores siguen una distribución normal, no existe evidencia de que las varianzas sean heterogéneas, no existe interacción tratamiento*bloque. ²15.5% de humedad; DMS: diferencia mínima significativa.

La relación entre dosis de fertilización nitrogenada y el rendimiento de grano, se ajustó mediante una función cuadrática ($P < 0.001$) con un coeficiente de ajuste de $R^2 = 0.87$ (Figura 13).

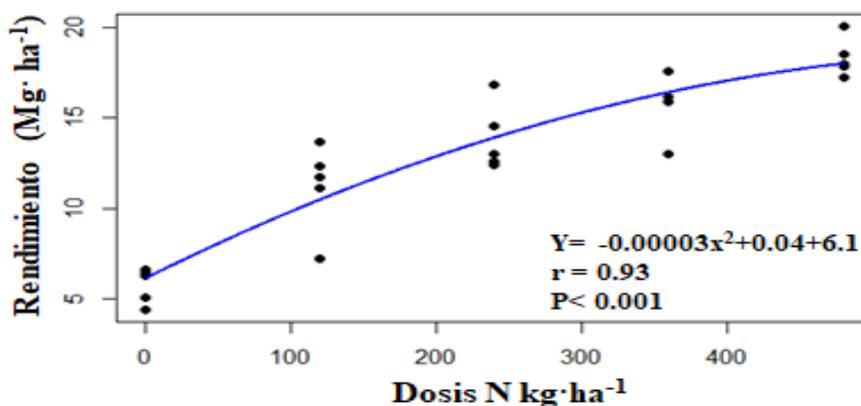


Figura 13. Relación de la dosis de nitrógeno con el rendimiento de grano (humedad del grano 15.5%).

IV. DISCUSIÓN

Concentración de N-NO₃ en el extracto celular de la nervadura central

La concentración de N-NO₃ en el extracto celular de la nervadura central disminuyó a medida que avanzó el ciclo del cultivo. Lo anterior coincide con lo señalado por Plénet y Lemaire, (1999) quienes concluyeron que el cambio de concentración de N, cuando se emplean las hojas como órganos indicadores del estado nutrimental de un cultivo, se debe a un efecto de dilución por la acumulación de la biomasa. En el maíz cuando se presenta la etapa fenológica V7, aproximadamente 20% del total de iones nitrato presentes la planta se encuentra en la nervadura central de las hojas (Reed y Hageman, 1980 b). La concentración crítica de N-NO₃ en esta etapa fenológica, coincide con la concentración crítica (CC) propuesta de Tyson *et al.* (1996) para un rendimiento de 15 t de elote fresco.

En la etapa V10, la CC fue superior a la estimada en V7 esto pudo deberse por diferencias de distribución del N en el suelo, que crearon un patrón de heterogeneidad de esta distribución mayor que de costumbre, y en consecuencia la concentración crítica fue mayor en V10. Lemaire (1997) monitoreó la translocación de nitrato marcado (¹⁵NO₃) desde la raíz hasta meristemas de crecimiento y encontró que la adición de fertilizante nitrogenado provocaba un pico en la concentración de N en el extracto celular de las plantas y, posteriormente la concentración del nitrato disminuye de forma gradual en un lapso de 72 horas. En R1 el rango alrededor de la concentración crítica (220 a 240 mg·L⁻¹ de N-NO₃) contrasta con la concentración sugerida por Reisenauer (1978), de 500 mg·L⁻¹ para la misma etapa fenológica y hoja de muestreo (envolvente del jilote principal) de un maíz dulce esta diferencia puede deberse a que los maíces dulces acumulan menos biomasa y por ello se presenta menor dilución del N a diferencia de los maíces

blancos que son de porte alto (el híbrido usado en este experimento tuvo una altura promedio de $2.80 \text{ m} \pm 0.08$ cuando el cultivo presento el inicio de la etapa reproductiva). También las diferencias en las concentraciones críticas pueden deberse a que el N-NO₃ en la nervadura está ligada a presencia de la actividad enzima reductasa presente en las hojas, y tiene una relación inversa, a mayor actividad de esta enzima se acumula menor cantidad de N-NO₃ en la nervadura central en etapas vegetativas y esta condición es particular de cada híbrido (Reed y Hageman, 1980).

Análisis en parcelas comerciales. Al comparar los resultados de concentración crítica del experimento con dosis crecientes de fertilizante nitrogenado, con los que se obtuvieron en las parcelas comerciales se observó que en estos últimos (con un historial de intensa actividad agrícola), la concentración de N-NO₃ en el extracto celular al menos en R1, fue mayor. Lo cual podría ser explicado por el N edáfico, especialmente el proveniente de la mineralización de la materia orgánica residual de los cultivos previos. Hay que recordar que el suelo de las parcelas experimentales se sometió a blanqueo al año previo al establecimiento del maíz. El resultado de este estudio complementario ofrece la posibilidad de monitorear N-NO₃ y compararlo con una concentración crítica establecida para ayudar a definir la dosis de N que debería aplicarse a un sitio específico. Conclusiones similares fueron propuestas por Justes *et al.* (1997) y su sistema de diagnóstico denominado “JUBIL”, validado en Francia para trigo y maíz.

Concentración de N-NO₃ en el extracto celular de la base del tallo

La cantidad de N-NO₃ absorbido y su flujo es independiente del N-NO₃ almacenado diferentes órganos (Reed y Hageman, 1980). Solo una parte del N-NO₃ absorbido será reducido, (~30 al ~62%) el resto se acumula en el tallo (Loussaert *et al.*, 2018). Cuando el cultivo se

encuentra en V7, aproximadamente 50% del nitrato total de la planta se encuentra en el tallo (Reed y Hageman, 1980 b).

Justes *et al.* (1997) reportaron la relación entre el índice de nutrición de nitrógeno (NNI) (este índice es un valor de adimensional entre 0 y 1.8 que se obtiene al dividir una concentración de N total de un cultivo entre la concentración crítica de N total determinada previamente en modelos de una curva de dilución como el propuesto por Plénet y Lemaire, (1999) para el cultivo de maíz) y las concentraciones de N-NO₃ de extracto celular de la base del tallo mediante un ajuste de Cate y Nelson para determinar una concentración crítica de 337 mg·L⁻¹ N-NO₃, esta representa la concentración mínima para obtener un NNI igual a 1. La concentración anterior coincidió con la concentración crítica de N-NO₃ en el extracto celular de la base del tallo estimado en las etapas V7, V12, R1 y R5 de 330 a 500 mg·L⁻¹ de N-NO₃ en el presente experimento. Los resultados preliminares mostraron que el método puede usarse como una herramienta complementaria para el ajuste fino de la dosis final de N con la ventaja de usar un solo rango para etapas vegetativas mayores a V7 y hasta R5, no obstante este rango debe validarse.

Concentración de N-NO₃ en la materia seca de la base de tallo

El interés de calibrar un método de diagnóstico de N-NO₃ empleando la materia seca de la base del tallo radica en que 40% del N de la planta de maíz se aloja en el tallo durante el periodo vegetativo, 45% de este se moviliza hacia el jilote. La actividad de la enzima nitrato reductasa en el tallo decae drásticamente poco antes del inicio de la antesis y se suprime completamente después de la floración (Ta, 1991). Lo anterior puede ser la razón por la que se acumula N-NO₃ en la base del tallo al final del ciclo (Loussaert *et al.*, 2018). El rango de N-NO₃ en el entorno de la concentración crítica, estimada para la etapa fenológica V7 coincidió con los resultados reportados

para V6 por Echeverria *et al.* (2001), quien obtuvo en un cultivo con un rendimiento máximo de grano de $12 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ pero contrastaron con el rango que sugirió Reuter *et al.* (1997) de 9000 a $17800 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de N-NO₃ para un rendimiento relativo de 95 por ciento. En V12 se estimó un rango adecuado de N-NO₃ similar al de la etapa V7., pero en la etapa R1 el rango fue mayor 2.5 veces al que propuso Iversen *et al.* (1989) de 2500 a $2700 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. La concentración crítica que se estimó para R1 coincidió con la concentración propuesta por Heckman *et al.* (2002), sin embargo esta coincidencia debe tomarse con reserva pues la estimación de estos autores se realizó en etapas fenológicas más avanzadas (R2 a R3) para un maíz dulce cosechado en fresco. Luego de comparar las concentraciones críticas de otros autores con las estimadas en el presente trabajo, se encontraron similitudes y divergencias. Las plantas de maíz, según su disposición genética y la condición edafoclimática en que se desarrollan, tienen preferencia por diferentes formas de ion nitrógeno (NH₄ o NO₃) y esta puede ser opuesta entre híbridos como documentó Dechorgnat *et al.*, (2018), quienes evaluaron diferencias en la absorción y uso del N en dos híbridos de líneas contrastantes: uno desarrollado en suelos arenosos y el otro desarrollado en un Molisol. Fox *et al.* (1989) reportaron que en etapas vegetativas V5-V6 la concentración de N-NO₃ de la materia seca en la base del tallo era influenciada por la cantidad de radiación solar y la humedad del suelo que imperaban previo al muestreo, por lo que descartó la posibilidad de definir un rango de concentración adecuada, tras considerar 87 sitios y 4 años de evaluación con un ajuste como el propuesto por Cate y Nelson. Con base en esta conclusión, vale la pena retomar la acotación de Echeverria *et al.* (2001) quienes observaron que en tres años de calibración del método, la concentración crítica estimada resultó diferente. Por lo anterior, se debe considerar a los resultados del presente experimento como preliminares y deben validarse, además de considerar la siguiente hipótesis: las calibraciones de este método sólo son extrapolables y funcionan para zonas inter

predio o predios circunvecinos. (Lo anterior solo aplica para las etapas vegetativas y el inicio de la floración).

De forma independiente a los resultados anteriores, Binford *et al.*, 1990 propuso el análisis de N-NO₃ de la materia seca de la base del tallo cuando el cultivo estuviera próximo a la etapa R6 (madurez fisiológica). El objetivo de esta variante es valorar, al final del ciclo vegetativo, si la aplicación de N que se realizó fue moderada o excesiva. Esta información sirve como referencia para continuar o modificar a la fertilización del próximo ciclo. La medición de N-NO₃ en la base del tallo ha cobrado relevancia y se ha calibrado para diferentes regiones pedoclimáticas: norte de China (Huang, 2013); Sureste de Buenos Aires Argentina (Echeverría *et al.* (2001); Pensylvania EUA (Fox *et al.* (2001); Iowa EUA (Binford *et al.* (1990); por mencionar algunos. Con respecto a los resultados del experimento, en la etapa R4 se estimó una concentración de 2647 mg·kg⁻¹ N-NO₃ que correspondió con un rendimiento relativo de 95 por ciento. Es posible que este valor corresponda al límite superior de la concentración óptima, pues las CC estimadas por otros autores (Blackmer y Mallarino, 1996; Isla y Blackmer, 2007; Beegle y Rotz, 2009) se sitúan en un rango de entre ~700 a ~2000 mg·kg⁻¹ de N-NO₃. Por otro lado, Hooker y Morris, (1999); Fox et al. (2001); Beegle y Rotz, 2009 indagaron la factibilidad de realizar este análisis antes de lo sugerido por otros autores (cerca de R6) en pro de evaluar la fertilización de N sobre cultivos de maíz para silo, y concluyeron que el muestreo se puede realizar cuando el cultivo se encuentra en R4, pues en esta etapa la concentración de N-NO₃ en la base del tallo ya es estable y practicamente no cambia hasta R6. Por esta razón el muestreo de experimento se realizó en R4 y se comparó con los reportes de concentraciones de etapas cercanas a madurez fisiológica.

Índice de vegetación de diferencia normalizada

Las unidades NDVI registradas mostraron una tendencia a ser mayores conforme avanzó el ciclo del cultivo, esto coincide con la acumulación del dosel vegetal para interceptar mayor cantidad de luz roja visible y reflejar mayor cantidad de cercano infrarojo (Maddonni *et al.*, 2001). Santillano-Cázares *et al.*, (2013) y Tagarakis *et al.*, (2017) sugieren hacer una normalización de los valores de las unidades NDVI para el diagnóstico de N en el cultivo de maíz y trigo. La normalización consiste en dividir los valores NDVI de sitios del cultivo con diferente régimen de fertilización entre las unidades térmicas o grados días de desarrollo (GDD°) para cada etapa fenológica. Los GDD° son aquellos que le corresponden al muestreo para obtener unidades “INSEY” (INSEY= NDVI/GDD°) (Raun *et al.*, 2002) y posteriormente modelar una ecuación exponencial predictora del rendimiento o de contenido de N en tejido. Los resultados obtenidos en la presente investigación no fueron normalizados. En cambio, las mediciones NDVI se asociaron directamente con el RR y se obtuvo valor crítico por cada etapa V7, V10, V12, R1. Los valores críticos permiten una interpretación sencilla y práctica para valorar el abasto de N en el cultivo de maíz. Sin embargo, no se descarta, que más adelante conforme se obtenga un mayor número de mediciones de otros híbridos y sitios con diferentes respuesta a la fertilización nitrogenada, se pueda realizar una validación empleando unidades INSEY y obtener una sola ecuación predictora del rendimiento. El valor crítico de 81 NDVI estimado en V7 en el presente experimento, fue menor que el propuesto por Xinhua y McClure (2013) de 83 NDVI. Los mismos autores estimaron el valor crítico en las etapas V10 y V12 en 80 NDVI, por su parte Woli *et al.*, (2016) estimó un valor crítico de 75 NDVI para V10. Los valores críticos estimados en la presente investigación resultaron mayores que los anteriormente mencionados. La discrepancia en los resultados coincide con lo señalado por Inman *et al.*, (2007) y por Colaço y Bramley (2018), quienes encontraron que

las mediciones NDVI presentaban variación entre años y sitios repuesta, características propias de cada híbrido (Hatfield *et al.*, 2008), densidad de población y el espacio entre hilos de plantación (Maddoni *et al.*, 2001). Finalmente, nuestros resultados mostraron que los valores NDVI explicaban en promedio solo el 53% de la variabilidad del RR, porcentaje que contrasta con los resultados reportados por Raun *et al.*, (2001) y Santillano-Cázares *et al.*, (2013) quienes trabajaron con trigo y sus mediciones de NDVI explicaron el ~ 83 de la variabilidad del rendimiento.

Sensor SPAD

A diferencia de reportes científicos de calibración del aparatos medidores de unidades SPAD para diagnosticar el estado que guarda el N en el cultivo de maíz que se encuentran en la literatura (Schepers *et al.*, 1992; Shapiro, 1999; González-Torres *et al.*, 2009; Sawyer, 2011), nuestros resultados no fueron normalizados ó convertidos en unidades relativas (la normalización consiste en dividir el valor promedio de mediciones SPAD de un sitio a diagnosticar entre el valor medio de las mediciones obtenidas de un sitio de referencia que se ha fertilizado la dosis óptima). La asociación directa de valores SPAD con el rendimiento relativo, permite una interpretación sencilla, que además es extrapolable a la misma región pedoclimática, pero no para todos los híbridos. El no haber normalizado los valores SPAD permitio la comparación de los resultados de valores críticos con reportes de otros autores; Por ejemplo, Edalat *et al.* (2019) estimaron un valor crítico de 48 y 55 unidades SPAD (SPAD), respectivamente, en la etapas V7 y V10, mientras que Woli *et al.*, (2016) señalan 54 unidades SPAD en híbridos modernos (del 2000 al 2016) para la etapa V10. En etapas más avanzadas del cultivo (V12) Edalat *et al.* (2019) estimó un valore crítico de 51 y para R1 Shapiro *et al.*, (2016) determinó un valor crítico de 57 SPAD; todos los valores anteriores contrastaron con los del presente trabajo 43,44, 39, 47 estimados para V7, V10, V12, R1 (en el mismo orden). Estas disparidades refuerzan la conclusión de los reportes (Schepers *et*

al., 1992; Xiong *et al.*, 2015) donde se documenta, que la mediciones SPAD son una medida indirecta del abasto del N afectada por factores medio ambientales como: cambios en la intensidad de luz en periodos cortos, las características de verdor específicos de cada híbrido y el régimen de fertilización de N.

N total foliar

El análisis foliar es el método con mayor soporte científico para el diagnóstico del estado que guarda la nutrición nitrogenada en maíz. La concentración crítica en V7 se estimó en 3.5% de N por kg de materia seca y coincidió con la concentración crítica que reportan Plénet y Lemaire (1999), Baker *et al.* (2013), Sánchez-García *et al.* (2016) y Castellanos *et al.* (2019). Sin embargo, en V12 la concentración crítica calculada con los datos del presente ensayo, resultó inferior a las reportadas por Mill y Jones (1996), que se ubicaron en el rango de 3.3 a 4.3% de N y las publicadas por Castellanos *et al.* (2019) que comprendían el intervalo de 2.5 a 3.5% de N. Las diferencias se pueden atribuir a tres factores: a) habilidad del híbrido para adquirir N, que depende de la competencia (densidad de población, características intrínsecas de desarrollo del sistema radical y las condiciones del suelo en que se establecieron; b) ha sido reportado por Mallarino y Blackmer (1992) que el modelo linear meseta estima valores críticos menores en comparación con otros modelos como los de meseta cuadrática y Misterlich); c) otros autores han estimado las concentraciones críticas usando meta datos y emplearon modelos distintos lo que influyó en que se tuviesen mayores rangos de concentración. La concentración crítica estimada en R1 (2.6% de N) coincidió con el rango de 2.5 a 3.5% que propuso Castellanos *et al.*, (2019) para el estado R1 y es ligeramente inferior a la concentración crítica de 2.7% de N de Plénet y Lemaire (1999), aunque bastante menor al rango de 3 a 3.3% de Reuter *et al.* (1997).

Métodos de diagnóstico semicuantitativos

Medición de N-NO₃ de extracto celular de la nervadura central. En este estudio la correlación entre el contenido de nitrógeno total de la hoja con el N-NO₃ de la nervadura central en V7 y R1 fue de nivel regular ($R^2 = 0.75$ y 0.60). Estos resultados contrastaron con el reporte de Rangel-Lucio *et al.* (2002) quienes encontraron que el N-NO₃ del extracto celular de la nervadura de hojas bandera correlaciona con el contenido de N total con una R^2 de 0.91, para el cultivo de sorgo en etapa cercana a la madurez fisiológica.

Medición de N-NO₃ del extracto celular de la base del tallo. Las curvas de la relación entre las dosis de nitrógeno adicionado al suelo y el N-NO₃ del extracto celular de la base del tallo en las etapas V12 y R1 tienen un común denominador, y es la parte de las curvas que corresponden a dosis altas de N (360 y 480 kg de N ha⁻¹), en ambas, se observa una estabilización en la parte alta de la curva, y la distancia entre ambas curvas forma un intervalo pequeño (menor a 100 mg·L⁻¹). El comportamiento anterior coincide con el reporte de Justes *et al.*, (1997), quienes definieron una concentración crítica única y funcional para diagnosticar la concentración del N-NO₃ del extracto celular de la base del tallo en maíces de entre las etapas de V10 y hasta R1; la estimación de este valor crítico la obtuvieron asociando a las concentraciones de N-NO₃ con el N foliar. De forma complementaria, sí se observa la Figura 3 e imaginariamente se traza una línea perpendicular al eje de las “Y” a la altura de 350 mg·L⁻¹ (promedio de concentraciones críticas estimadas para ese método (V7, V12, R1) en la primera sección de la tesis), línea se intercepta con las curvas en valores muy cercanos a dosis de N (eje “X”) de 300 kg de N·ha⁻¹, esta dosis coincide con la cantidad promedio del fertilizante de nitrógeno aplicado en las parcelas comerciales que se monitorearon en el presente trabajo.

Medición del N-NO₃ de la materia seca de la base del tallo. El N-NO₃ de la materia seca de la base del tallo y su relación con la dosis de N (kg·ha⁻¹) en V7 se ajustó a un modelo lineal, lo cual

implica que en esta etapa el método permite identificar la respuesta del cultivo a la fertilización de nitrógeno de forma clara. Además, estas mediciones tuvieron una relación fuerte con el N total ($r = 0.85$). Los resultados anteriores coinciden con los de Iversen *et al.* (1985) quien encontró correlaciones (r) de 0.94 entre la concentración N-NO₃ de la materia seca de la base del tallo y el N total absorbido, en dos años de estudio en el cultivo de maíz. Por otro lado, las curvas de V12 y R1 tuvieron una correlación alta con las mediciones de N-NO₃ del extracto celular de la base del tallo con coeficientes de correlación (r) de 0.88 y 0.82 respectivamente, lo que indica que es posible determinar a partir de del extracto celular la concentración de N-NO₃ en la materia seca, considerando que las mediciones en EC son más económicas (con un precio cercano a los \$10.00 pesos mexicanos) y de resultados rápidos frente a las segundas que son de costo intermedio (precio por determinación en un laboratorio comercial \$210.00 pesos mexicanos) y tiempo de entrega de los resultados de una semana.

Índice de vegetación de diferencia normalizada. Las unidades NDVI y su relación con la dosis de N en las etapas V12 se ajustó en un modelo cuadrático y R1 con un modelo lineal con coeficientes de determinación de $R^2 = 0.91$ y 0.98 , respectivamente. Lo anterior coincide con otros reportes previos en los que emplearon a las unidades NDVI para identificar la respuesta a la fertilización de nitrógeno en el cultivo del maíz en V10, V12 y en menor frecuencia en R1 (Liu y Wiatrak, 2012; Xinhua y McClure, 2013; Woli *et al.*, 2016).

Sensor SPAD. La curva que se forma al relacionar las mediciones de unidades SPAD con la dosis de N ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) en la etapa fenológica V7 que se ajustó a un cuadrático ($R^2 = 0.97$), permitió inferir que el método fue sensible para detectar la respuesta a la fertilización de nitrógeno en plantas de maíz en dosis de hasta $240 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, luego se presentó una estabilización en la curva. Pero en R1, el desempeño ajustado con el modelo lineal ($R^2 = 0.99$) indica que al menos en esta etapa

fenológica el método identificó cambios en todas las dosis, incluso en las mayores a 240 y 360 kg de N ha⁻¹. Los ajustes mencionados arriba (SPAD/dosis de N), se distinguen por su ajuste casi perfecto, y esto ayuda a explicar el por qué en otros reportes científicos se han usado el método SPAD para evaluar la respuesta del cultivo a la fertilización nitrogenada en las mencionadas etapas fenológicas (V7, R1), por mencionar algunas referencias (Fox *et al.*, 2001; Liu y Wiatrak, 2012; Shapiro *et al.*, 2016; Edalat *et al.*, 2019).

V. CONCLUSIONES

Los métodos aquí comparados para diagnosticar el estado nutrimental del N a través de diferentes etapas fenológicas de plantas de maíz, pudieron calibrarse con relativo éxito fue posible estimar la concentración crítica de N o variables asociadas a este en diversas etapas fenológicas, aunque la sensibilidad y precisión varió entre métodos y entre etapas fenológicas. Las técnicas de diagnóstico basadas en la determinación de N-NO₃ en extracto celular en la nervadura central (V4, V7, V10, V12, R1) y en la base del tallo (V7, V12, R1, R5), así como técnica de determinación N-NO₃ de la materia seca de la base del tallo (V7, V12, R4), se asociaron con el RR de grano recolectado a la cosecha, con coeficientes de correlación ($r > 0.80$). Los métodos de diagnóstico con base en sensores ópticos (SPAD y GreenSeeker) se mostraron aptos para diagnosticar el estado nutrimental del maíz en el inicio de la etapa reproductiva (R1), en etapas fenológicas vegetativas sobrestimaron el rendimiento relativo. Las concentraciones críticas de N total medidas en las etapas fenológicas (V7, R1) coincidieron con las sugeridas en diversos estudios similares, por lo que no se rechaza la hipótesis planteada.

Áreas de oportunidad

Se requieren más estudios para confirmar las concentraciones críticas establecidas e identificar la existencia de variaciones entre años, ambientes e híbridos comerciales de maíz. Con los modelos obtenidos en este trabajo para diferentes mediciones se debe probar, validar, comprobar si funcionan correctamente para predecir el rendimiento de grano de maíz en años subsecuentes.

VI. LITERATURA CITADA

- Alcántar-González, Gabriel, and Manuel Sandoval-Villa. 1999. "Interpretación Resultados Del Análisis." In *Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal*, 1st ed., 107–38. Socieada Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, México.
- Ali, M. M., Ahmed Al-Ani, Derek Eamus, and Daniel K.Y. Tan. 2017. "Leaf Nitrogen Determination Using Non-Destructive Techniques—A Review." *Journal of Plant Nutrition* 40 (7): 928–53. <https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1143954>.
- Association of Official Agricultural Chemists. 2005. *Dumas Method*. Edited by Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 15th ed. Washington DC, USA.
- Baker, W.H., P.F. Bell, C.R. Campbell, F.R. Cox, S.J. Donohue, G.J. Gascho, E.A. Hanlon, et al. 2013. "Reference Sufficiency Ranges for Plant Analysis in the Southern Region of the United States. Southern Cooperative Series Bulletin #394." Vol. 1040. North Carolina. www.ncagr.gov/agronomi/saaesd/scsb394.pdf.
- Beegle, Douglas, and Jonathan Rotz. 2009. "Late Season Cornstalk Nitrate Test." *Agronomy Facts* 70: 1–4.
- Benson, Sidney W. 2017. "La Ecuación de Nernst." In *Cálculos Químicos*, 235–37. Limusa.
- Binford, G. D., A. M. Blackmer, and N. M. El-Hout. 1990. "Tissue Test for Excess Nitrogen during Corn Production." *Agronomy Journal* 82 (1): 124–29. <https://doi.org/10.2134/agronj1990.00021962008200010027x>.
- Blackmer, A M, and Antonio P Mallarino. 1996. "Cornstalk Testing to Evaluate Nitrogen Management." *Iowa State University - University Extension*.
- Cadahía-López, Carlos. 2008. "Procesamiento de Muestras." In *La Savia Como Índice de Fertilización*, edited by Carlos Cadahia-López, 40–45. Barcelona: Mundi-Prensa.

- Castellanos, Javier. 2000. *Manual de Interpretación de Análisis de Suelos y Aguas. Manual de Interpretación de Análisis de Suelos y Aguas*. 2da ed. Intagri S.C.
- Castellanos, Z. Javier, Jorge D. Etchevers-Barra, Miguel Peña-Datoli, Sara Huerta-García, Iván Ortiz-Monasterio, Andrés Arango-González, Jaime Macías-Cervantes, and César Venegas-Villaroel. 2019. *¿Cómo Crece y Se Nutre Una Planta de Maíz?* 1er ed. Celaya Gto.: Fertilab.
- Cataldo, D. A., M. Maroon, L. E. Schrader, and V. L. Youngs. 1975. "Rapid Colorimetric Determination of Nitrate in Plant Tissue by Nitration of Salicylic Acid." *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 6 (1): 71–80. <https://doi.org/10.1080/00103627509366547>.
- Cate, Robert B., and A. Larry Nelson. 1971. "A Simple Statistical Procedure for Partitioning Soil Test Correlation Data into Two Classes." *Soil Science Society of America Journal* 35: 658–60.
- CIMMYT. 2012. "Manual de Determinación de Rendimiento." Distrito Federal: CIMMYT. <https://repository.cimmyt.org/bitstream/handle/10883/18249/48867.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Colaço, A. F., and R. G.V. Bramley. 2018. "Do Crop Sensors Promote Improved Nitrogen Management in Grain Crops?" *Field Crops Research*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.01.007>.
- Dechorgnat, Julie, Karen L. Francis, Kanwarpal S. Dhugga, J. A. Rafalski, Stephen D. Tyerman, and Brent N. Kaiser. 2018. "Root Ideotype Influences Nitrogen Transport and Assimilation in Maize." *Frontiers in Plant Science* 9 (April). <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00531>.
- Dobermann, A. 2005. "Nitrogen Use Efficiency – State of the Art." *IFA International Workshop on Enhanced-Efficiency Fertilizers* 1 (June): 28–30.
- Edalat, Mohsen, Ruhollah Naderi, and Todd P. Egan. 2019. "Corn Nitrogen Management Using NDVI and SPAD Sensor-Based Data under Conventional vs. Reduced Tillage Systems." *Journal of Plant Nutrition* 42 (18): 2310–22. <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1648686>.
- Etchevers, Jorge-D. 1999. "Técnicas de diagnóstico útiles en la medición de la fertilidad del suelo y el estado nutricional de los cultivos". *Terra Latinoamericana [En Línea]* 17 (3): 209–219. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57317305>.
- Evans, John R. 1989. "Photosynthesis and Nitrogen Relationships in Leaves of C3 Plants." *Oecologia* 78 (1): 9–19. <https://doi.org/10.1007/BF00377192>.
- Fox, R. H., W. P. Piekielek, and K. E. Macneal. 2001. "Comparison of Late-Season Diagnostic Tests for Predicting Nitrogen Status of Corn." *Agronomy Journal* 93 (3): 590–97. <https://doi.org/10.2134/agronj2001.933590x>.

- Fox, R. H., G. W. Roth, K. V. Iversen, and W. P. Piekielek. 1989. "Soil and Tissue Nitrate Tests Compared for Predicting Soil Nitrogen Availability to Corn." *Agronomy Journal* 81 (6): 971. <https://doi.org/10.2134/agronj1989.00021962008100060025x>.
- Gioia, Francesco Di, Eric H. Simonne, Maria Gonnella, Pietro Santamaria, Aparna Gazula, and Zenyth Sheppard. 2010. "Assessment of Ionic Interferences to Nitrate and Potassium Analyses with Ion-Selective Electrodes." *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 41 (14): 1750–68. <https://doi.org/10.1080/00103624.2010.489138>.
- González-Torres, Anselmo, Uriel Figueroa-Viramontes, Jorge A. Delgado, Gregorio Núñez-Hernández, José A. Cueto-Wong, Pablo Preciado-Rangel, and Arturo Palomo-Gil. 2009. "Calibración Del SPAD-502 Para Evaluar Requerimientos de Nitrógeno En Maíz Forrajero." *Terra Latinoamericana* 27 (4): 303–9. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792009000400004.
- Halvin, John L., Samuel L. Tisdale, James D. Beanton, and Werner L. Nelson. 2005. "The N Cycle." In *Soil Fertility and Fertilizers*, 7th ed., 97–99.
- Hatfield, J. L., A. A. Gitelson, J. S. Schepers, and C. L. Walthall. 2008. "Application of Spectral Remote Sensing for Agronomic Decisions." *Agronomy Journal* 100 (S3): 117–31. <https://doi.org/10.2134/agronj2006.0370c>.
- Heckman, Joseph R., Ray Samulis, and Peter Nitzsche. 2002. "Sweet Corn Crop Nitrogen Status Evaluation by Stalk Testing." *HortScience* 37 (5): 783–86. <https://doi.org/10.21273/hortsci.37.5.783>.
- Hooker, B. A., and T. F. Morris. 1999. "End of Season Corn Stalk Test for Excess Nitrogen in Silage Corn." *Journal of Production Agriculture* 12 (2).
- Huang, Guangwei. 2013. "Validation of Late Season Cornstalk Nitrate Test under Different Natural and Social Environments for Better Fertilizer Management in China." *Oriental Journal of Chemistry* 29 (4): 1381–89. <https://doi.org/10.13005/ojc/290413>.
- Inman, D., R. Khosla, R. M. Reich, and D. G. Westfall. 2007. "Active Remote Sensing and Grain Yield in Irrigated Maize." *Precision Agriculture* 8 (4–5): 241–52. <https://doi.org/10.1007/s11119-007-9043-z>.
- IPNI. 2013. *4R de La Producción de Plantas*. Norcross GA.
- Isla, Ramón, and Alfred M. Blackmer. 2007. "A Simplified Test of Cornstalk Nitrate for Better N Management." *Agronomy for Sustainable Development* 27 (3): 237–41. <https://doi.org/10.1051/agro:2007013>.
- IUUS Working Group WRB. 2015. *Base Referencial Mundial Del Recurso Suelo 2014, Actualización 2015. Actualización 2015. Sistema Internacional de Clasificación de Suelos Para La Nomenclatura de Suelos y La Creación de Leyendas de Mapas de Suelos. Informes Sobre Recursos Mundiales de Suelo 106*. <http://www.fao.org/3/i3794es/I3794es.pdf>.

- Iversen, K. V., R. H. Fox, and W. P. Piekielek. 1985. "The Relationships of Nitrate Concentrations in Young Corn Stalks to Soil Nitrogen Availability and Grain Yields1." *Agronomy Journal* 77 (6): 927. <https://doi.org/10.2134/agronj1985.00021962007700060022x>.
- Justes, E., J. M. Meynard, B. Mary, and D. Plénet. 1997. *Diagnosis Using Stem Base Extract: JUBIL Method*. Edited by Gilles Lemaire. *Diagnosis of the Nitrogen Status in Crops*. 1st ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-60684-7>.
- Lemaire, Giles. 1997. *Diagnosis of the Nitrogen Status in Crops*. Edited by Gilles Lemaire. 1st ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-60684-7>.
- Liu, Kesi, and Pawel Wiatrak. 2012. "Corn Production Response to Tillage and Nitrogen Application in Dry-Land Environment." *Soil and Tillage Research* 124 (August): 138–43. <https://doi.org/10.1016/j.still.2012.05.017>.
- Loussaert, Dale, Josh Clapp, Nick Mongar, Dennis O'Neill, and Bo Shen. 2018. "Nitrate Assimilation Limits Nitrogen Use Efficiency (NUE) in Maize (*Zea Mays* L.)." *Agronomy* 8 (7): 110. <https://doi.org/10.3390/agronomy8070110>.
- Maddonni, G. A., María E. Otegui, and A. G. Cirilo. 2001. "Plant Population Density, Row Spacing and Hybrid Effects on Maize Canopy Architecture and Light Attenuation." *Field Crops Research* 71 (3): 183–93. [https://doi.org/DOI:10.1016/S0378-4290\(01\)00158-7](https://doi.org/DOI:10.1016/S0378-4290(01)00158-7).
- Mills, Harry A., and Benton J. Jr. Jones. 1996. "Part II: Utilization of Plant Tissue Analysis." In *Plant Analysis Handbook II*, MicroMacro, 415. Athens, Georgia: MicroMacro Publishing, Inc.
- Muñoz-Huerta, Rafael F., Ramon G. Guevara-Gonzalez, Luis M. Contreras-Medina, Irineo Torres-Pacheco, Juan Prado-Olivarez, and Rosalia V. Ocampo-Velazquez. 2013. "A Review of Methods for Sensing the Nitrogen Status in Plants: Advantages, Disadvantages and Recent Advances." *Sensors (Switzerland)* 13 (8): 10823–43. <https://doi.org/10.3390/s130810823>.
- Plénet, Daniel, and Gilles Lemaire. 1999. "Relationships between Dynamics of Nitrogen Uptake and Dry Matter Accumulation in Maize Crops. Determination of Critical N Concentration." *Plant and Soil* 216 (1–2): 65–82. <https://doi.org/10.1023/A:1004783431055>.
- Rangel-Lucio, J. A., G. Alcántar-González, Z. J. Castellanos, E. Garcia-Moya, C. Trejo-López, and H. Vaquera-Huerta. 2002. "Comparison of Two Tests for Nitrogen Diagnostic in Sorghum." *Terra Latinoamericana* 20: 383–90.
- Raun, W. R., J. B. Solie, G. V. Johnson, M. L. Stone, E. V. Lukina, W. E. Thomason, and J. S. Schepers. 2001. "In-Season Prediction of Potential Grain Yield in Winter Wheat Using Canopy Reflectance." *Agronomy Journal* 93 (1): 131–38. <https://doi.org/10.2134/agronj2001.931131x>.

- Raun, William R, John B Solie, Gordon V Ohnson, Marvin L Stone, Robert W Mullen, Kyle W Freeman, Wade E Thomason, and Erna V Lukina. 2002. "Improving Nitrogen Use Efficiency in Cereal Grain Production with Optical Sensing and Variable Rate Application." *Agronomy Journal* 94: 815–20. <https://pdfs.semanticscholar.org/35cb/ebe34ada1fda615a100f77ae6b7821942e90.pdf>.
- Rauschkolb, R. S., A. L. Brown, J. D. Prato, and F R Kegel. 1974. "Rapid Tissue Testing for Evaluating Nitrogen Nutricional Status of Corn and Sorghum." *California Agriculture*, no. I: 10–12.
- Reed, Andrew J., and Richard H. Hageman. 1980. "Relationship between Nitrate Uptake, Flux, and Reduction and the Accumulation of Reduced Nitrogen in Maize (*Zea Mays* L.) ." *Plant Physiology* 66 (6): 1184–89. <https://doi.org/10.1104/pp.66.6.1184>.
- Reuter, D. J., J. B. Robinson, and C. Dutkiewicz. 1997. *Plant Analysis an Interpretation Manual*. 2nd ed. Collingwood, Australia: CSRIO.
- Roux, X. Le, H. Sinoquet, and M. Vandame. 1999. "Spatial Distribution of Leaf Dry Weight per Area and Leaf Nitrogen Concentration in Relation to Local Radiation Regime within an Isolated Tree Crown." *Tree Physiology* 19 (3): 181–88. <https://doi.org/10.1093/TREEPHYS/19.3.181>.
- Sainz Rozas, H.R., H.E. Echeverria, E. Herfurth, and G.A. Studdert. 2001. "Basal Stalk Nitrate of Maize. II Diagnosis of Nitrogen Nutrition." *Ciencia Del Suelo* 19 (2).
- Sánchez-García, Prometo, Christiane Molinos-da-Silva, Gabriel Alcántar-González, and Manuel Sandoval-Villa. 2016. "Diagnóstico Nutrimental En Plantas." In *Nutrición de Cultivos*, edited by Gabriel Alcantar-Gonzáles, Libia I. Trejo-Téllez, and Fernando C. Gómez-Marino, 2da ed., 185–216. Texcoco, estado de México.
- Santillano-Cázares, Jesús, Ángel López-López, Iván Ortiz-Monasterio, and W R Raun. 2013. "Uso de sensores óticos para la fertilización de trigo (*Triticum Aestivum* L.)." *Terra Latinoamericana* 31: 95–103. <http://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v31n2/2395-8030-tl-31-02-00095.pdf>.
- SAS Institute Inc. 2002. "SAS 9.0." Cary, NC, USA.
- Sawyer, John. 2011. "Sensing Nitrogen Stress in Corn."
- Schepers, J. S., D. D. Francis, M. Vigil, and F. E. Below. 1992. "Comparison of Corn Leaf Nitrogen Concentration and Chlorophyll Meter Readings." *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 23 (17–20): 2173–87. <https://doi.org/10.1080/00103629209368733>.
- Shapiro, Charles A. 1999. "Using a Chlorophyll Meter to Manage Nitrogen Applications to Corn with High Nitrate Irrigation Water." *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 30 (7–8): 1037–49. <https://doi.org/10.1080/00103629909370266>.

- Shapiro, Charles, Ahmed Attia, Santiago Ulloa, and Michael Mainz. 2016. "Use of Five Nitrogen Source and Placement Systems for Improved Nitrogen Management of Irrigated Corn." *Soil Science Society of America Journal* 80 (6): 1663–74. <https://doi.org/10.2136/sssaj2015.10.0363>.
- Sharma, Lakesh K., Honggang Bu, Anne Denton, and David W. Franzen. 2015. "Active-Optical Sensors Using Red NDVI Compared to Red Edge NDVI for Prediction of Corn Grain Yield in North Dakota, U.S.A." *Sensors (Switzerland)* 15 (11): 27832–53. <https://doi.org/10.3390/s151127832>.
- Smith, F. W., and J. F. Loneragan. 1997. "Interpretation of Plant Analysis: Concepts and Principles." In *Plant Analysis and Interpretation Manual*, edited by D. J. Reuters, J. B. Robison, and C. Dutkiewicz, 2nd ed., 1–27. CSRIO.
- Sprent, P. 1961. "Some Hypotheses Concerning Two Phase Regression Lines." *Biometrics* 17 (4): 634. <https://doi.org/10.2307/2527862>.
- Ta, Chanh T. 1991. "Nitrogen Metabolism in the Stalk Tissue of Maize." *Plant Physiology* 97 (4): 1375–80. <https://doi.org/10.1104/pp.97.4.1375>.
- Tagarakis, Aristotelis C., and Quirine M. Ketterings. 2017. "In-Season Estimation of Corn Yield Potential Using Proximal Sensing." *Agronomy Journal* 109 (4): 1323–30. <https://doi.org/10.2134/agronj2016.12.0732>.
- The R Foundation for Statistical Computing. 2018. "R 3.5.1." <https://www.r-project.org/>.
- Verhulst, Nele, and Bram Govaerts. 2010. "The Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) GreenSeeker TM Handheld Sensor: Toward the Integrated Evaluation of Crop Management Part A: Concepts and Case Studies." Mexico, D.F. <https://repository.cimmyt.org/bitstream/handle/10883/550/94192.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Withe, J. M., R. V. Tyson, E. A. Hanlon, G. J. Hochmuth, and C. A. Neal. 1996. "Plant Petiole Sap Testing for Nitrogen and Potassium in Sweet Corn Grown on Mineral Soil." *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 109 (0): 149–50. <http://journals.fcla.edu/fshs/article/view/91847/88042>.
- Withers, N. J. 1982. "Sap tests for measuring nitrogen status of cereals". *Proceedings Agronomy Society of N.Z.* 12: 41–44.
- Woli, Krishna P., Matthew J. Boyer, Roger W. Elmore, John E. Sawyer, Lori J. Abendroth, and Daniel W. Barker. 2016. "Corn Era Hybrid Response to Nitrogen Fertilization." *Agronomy Journal* 108 (2): 473–86. <https://doi.org/10.2134/agronj2015.0314>.
- Xinhua, Yin, and Angela McClure. 2013. "Relationship of Corn Yield, Biomass, and Leaf Nitrogen with Normalized Difference Vegetation Index and Plant Height." *Agronomy Journal* 105 (4): 1005–16. <https://doi.org/10.2134/agronj2012.0206>.

Xiong, Dongliang, Jia Chen, Tingting Yu, Wanlin Gao, Xiaoxia Ling, Yong Li, Shaobing Peng, and Jianliang Huang. 2015. "SPAD-Based Leaf Nitrogen Estimation Is Impacted by Environmental Factors and Crop Leaf Characteristics." *Scientific Reports* 5 (1): 13389. <https://doi.org/10.1038/srep13389>.

ANEXOS

ANEXO 1

Descripción de un dispositivo para obtener extracto celular de material vegetal

Introducción. En este documento se encuentran las especificaciones técnicas para la fabricación de un dispositivo extractor de jugo celular JC de material vegetal (Figura 1). Se denomina JC al material acuoso proveniente de tejidos vegetales obtenido por presión, de tejidos de tejidos suculentos: tallos principales, nervaduras centrales, peciolo, etc. Las matrices de JC pueden ser analizadas para determinar concentraciones de analitos mediante diferentes técnicas químicas.

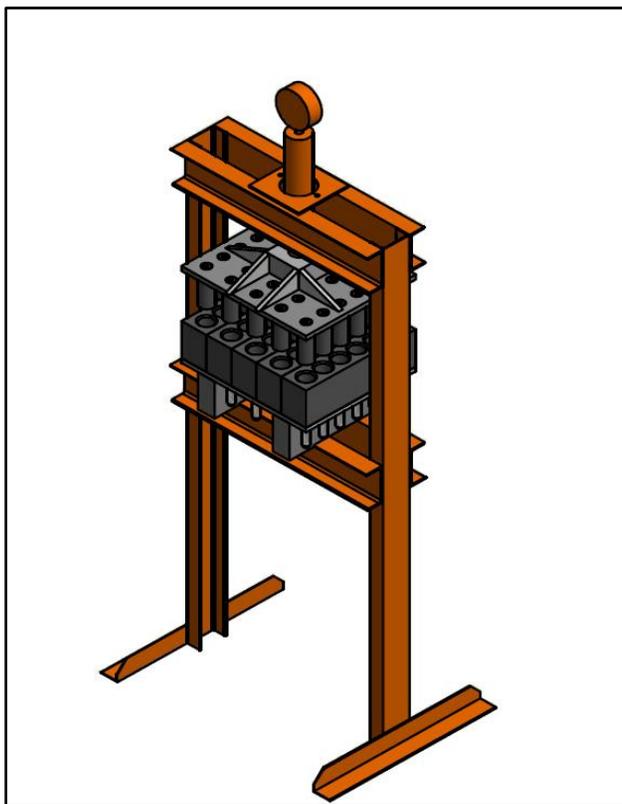


Figura 1. Vista general de extractor montado sobre una prensa tipo “H”.

Consideraciones generales. El sistema de extracción de JC puede ser montado sobre en una prensa hidráulica tipo “H” de 8 o 12 toneladas accionada mediante una bomba. Sin importar la capacidad de la prensa, la extracción de JC se realiza a una presión máxima de 5 toneladas.

Especificaciones de los elementos del dispositivo. El dispositivo contiene 30 émbolos fabricados de una barra redonda de Nylamid 6/6 SL de 1.5” de diámetro y una longitud de 100 mm, color gris

oscuro (Figura 2). Estos están montados sobre una placa rectangular de acero ASTM A36 de $\frac{1}{2}$ " de espesor con dimensiones de 330 x 375 mm, sujetos con tornillos de acero inoxidable T304 (Figura 3).

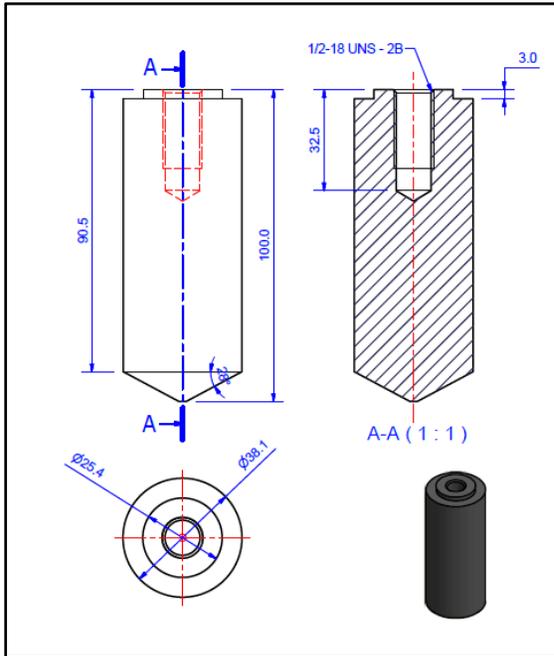


Figura 2. Émbolos vista lateral y superior.

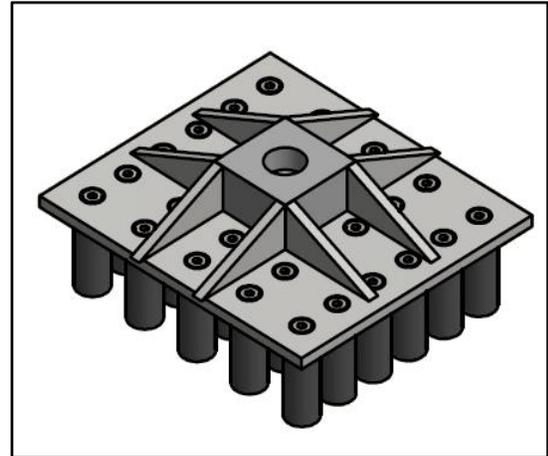


Figura 3. Placa rectangular de acero.

La placa de acero está unida al pistón de la prensa hidráulica mediante una brida preparada con cartabones, los cuales ayudan a distribuir la fuerza del pistón de manera uniforme en toda la placa al momento de accionar la bomba de la prensa (Figura 4). De esta manera, la placa ejerce la misma fuerza sobre cada uno de los émbolos, facilitando la extracción del JC.

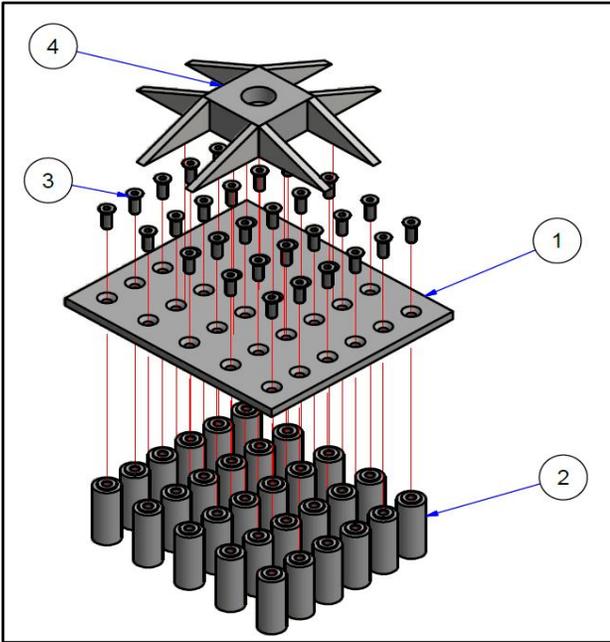


Figura 4. Vista desglosada de parte superior del dispositivo: émbolos, placa de acero, tornillos, cartabones.

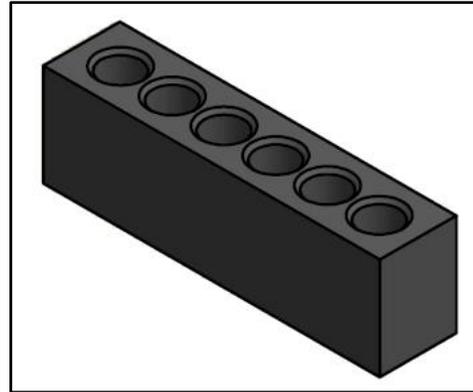


Figura 5. Bloque con seis cavidades para depósito de material vegetal.

Cuadro 1. Elementos de Figura 4.

1	1 Placa de acero ASTM A36
2	30 Émbolos de Nylamid 6/6 SL
3	30 Tornillos de acero inoxidable T304 de ½"-13 NC
4	Brida con cartabones de acero ASTM A36

Otro elemento importante en este sistema es un bloque con 6 cavidades, en el que se introduce el material vegetal para su prensado para obtener el JC (Figura 5). El dispositivo permite 5 bloques de cavidades y se fabricaron a partir de una placa de nylamid 6/6 SL de 4" de espesor, las especificaciones se observan en (Figura 6).

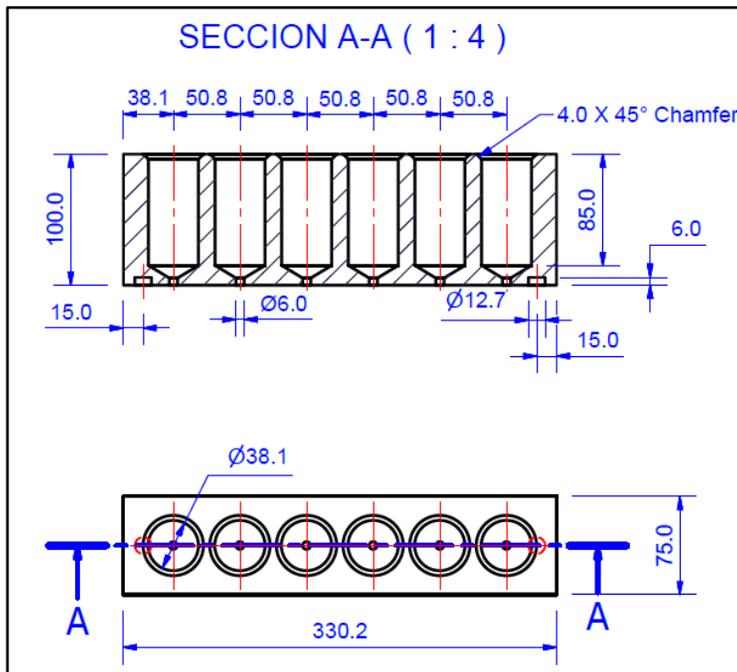


Figura 6. Vista lateral y superior con especificaciones para construcción de bloques con cavidades para colocación de material vegetal.

Los bloques en el fondo de cada cavidad tienen acoplado un tramo de 20 mm de manguera de poliuretano con el fin de hacer que el jugo caiga directamente en el receptáculo, y también se

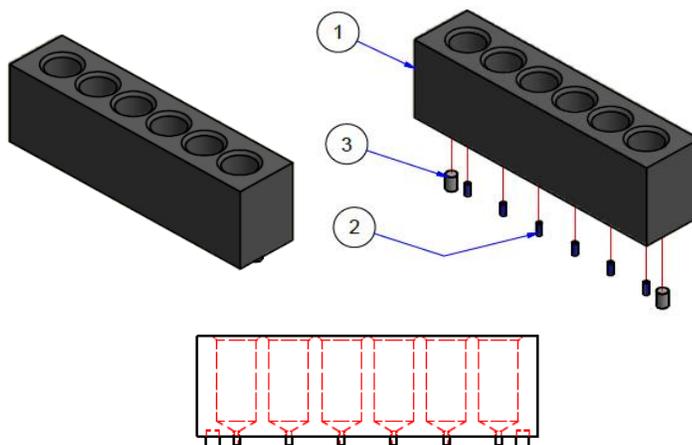


Figura 7. Bloque con cavidades, pernos extremos y manguera en parte inferior.

le colocaron dos pernos guía para garantizar que cada cavidad coincidiera con cada uno de dichos receptáculos (Figura 7).

Cuadro 2. Elementos de Figura 7.

1	Bloque multicilindros de Nylamid 6/6 SL
2	6 tramos de manguera de poliuretano de 6 mm
3	2 Pernos guía

El receptáculo del JC, es un tubo de ensayo, de vidrio tipo Pyrex de 18 mm de diámetro y 100 mm de longitud. El dispositivo permite la obtención de 30 muestras de JC (Figura 8).

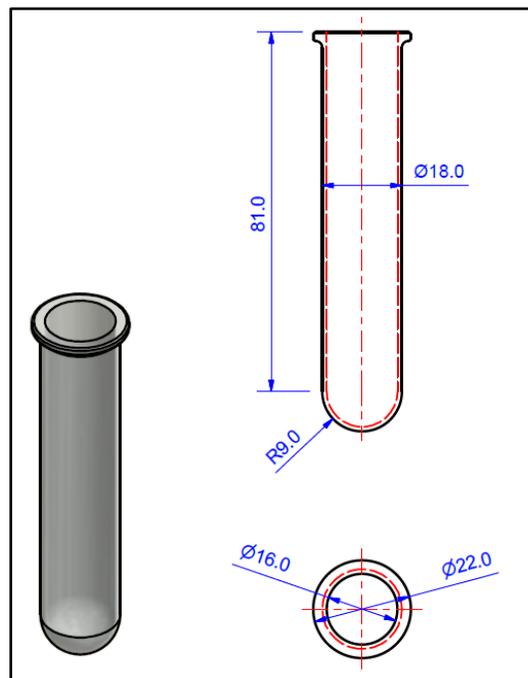


Figura 8. Vista de tubo de ensayo y especificaciones.

Los 5 bloques con cavidades y los 30 tubos de ensayo, se colocaron sobre una placa rectangular de acero ASTM A36 de ½” de espesor (330 x 375 mm) (Figuras 9 y 10).

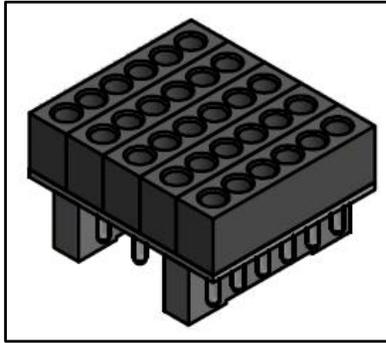


Figura 9. Bloques y tubos de ensayo sobre placa de acero.

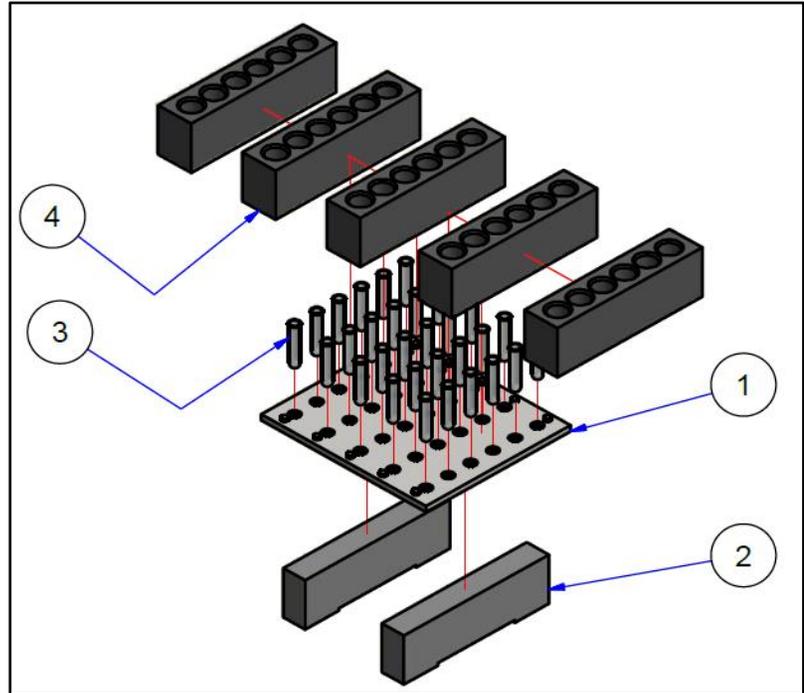


Figura 10. Ensamble de bloques, tubos de ensayo y placa de acero.

Cuadro 3. Elementos Figura 10

1	Placa de acero ASTM A36
2	2 Riel soporte de Nylamid 6/6 SL
3	30 Tubos de ensayo de vidrio tipo Pyrex
4	5 Bloque multicilindro

Descripción y especificaciones técnicas de los materiales empleados para construcción del dispositivo:

-Nylamid 6/6 SL. Gris marmoleado Extruido y cargado con disulfuro de molibdeno.

-Acero ASTM A36. El acero A36 (norma ASTM A36) es un acero estructural de carbono popular, tiene contenido máximo de carbono de 0.29%, se considera acero suave.

-Vidrio tipo Pyrex. Es un vidrio de borosilicato con una resistencia a ácidos con excepción de ácido fluorhídrico, ácido fosfórico caliente, soluciones alcalinas. Otra propiedad del vidrio Pyrex es su resistencia a altas temperaturas, no se deforma por debajo de 550 °C.

ANEXO 2

Validación de mediciones de NO₃⁻ con electrodos portátiles

E. E. Roacho¹, M. López R^{1†}, J. D. Etchvers, R¹

¹ Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. 56230. Km. 36.5, Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco. Estado de México. †rosal@colpos.mx

INTRODUCCIÓN

Uso de ISE's para diagnóstico nutrimental de cultivos

La cuantificación de los iones de nitrato y potasio en matrices acuosas obtenidas de tejidos vegetales frescos nombrado en adelante extracto celular (EC), se puede realizar con aparatos portátiles de principio electroquímico (Lemaire et al., 2008), nombrados electrodos lectores de iones específicos (Di Gioia et al., 2010) su funcionamiento se basa en la ecuación de Nernst (Benson, 2017). Su uso aplicado para determinaciones analíticas comenzó en 1932 (Radu et al., 2013). En la actualidad existen en el mercado aparatos portátiles de costo intermedio para gestionar *in situ* análisis de pH, Na⁺, Cl⁻, K⁺, NO₃⁻, Ca⁺ en matrices acuosas diversas: aguas marinas, miel, leche, solución nutritiva, extracto celular vegetal, extractos de saturación de suelos, por mencionar algunos. En agricultura se ha hecho uso de esta tecnología como método semicuantitativo para el diagnóstico del estado que guarda el NO₃⁻ en diferentes cultivos hortícolas y frutícolas, cereales y cultivos industriales. Existen reportes de la calibración de métodos basados en el uso de estos dispositivos para el diagnóstico de la condición nutrimental de nitratos y potasio (Hochmuth, 1994, MacKerron et al., 1995, Alcántar et al., 2002, Rangel-Lucio et al., 2002, Mackown et al., 2004, Rodrigues 2005, Ott-Borrelli et al., 2009, Gangaiah et al., 2016, Stevens et al., 2016).

Validación de métodos

Los resultados analíticos de cualquier medición deben cumplir con un control de calidad. La calidad de un análisis se mide por la exactitud y precisión de la prueba; la metrología define exactitud como: la proximidad existente entre un valor medido y un valor mensurado. En tanto, la precisión se define como: la dispersión de medidas repetidas, ambos términos son el origen de la validación de un método. La validación de un método consiste en documentar el comportamiento de las mediciones en parámetros de repetibilidad, linealidad y robustez entre otras (Valdiviezo et al., 2017).

Conocer el comportamiento de un método permite la modificación, el ajuste y el acotamiento de un protocolo o alguna parte de los procedimientos involucrados en el método y también permite saber bajo qué condiciones es posible para obtener resultados aceptables. Los resultados de cualquier determinación de laboratorio tiene implicaciones más adelante en procesos aplicados por ejemplo en agronomía, la interpretación de un análisis químico de suelo, agua, o planta modifica el plan de fertilización de un cultivo (Alcántar-González y Sandoval-Villa, 1999; Sánchez-García *et al.*, 2016).

La falta de información sobre la validación de métodos para determinar NO_3^- con equipos portátiles de principio electroquímico resta severidad a los trabajos publicados de calibración que proponen el uso de este método para el diagnóstico nutrimental de cultivos. Por lo anterior el objetivo del presente trabajo fue validar un método para determinar el NO_3^- en soluciones acuosas y en el extracto celular, con un aparato de medición de principio electroquímico. Esta validación es un preámbulo para una posterior calibración del método para el diagnóstico de NO_3^- en el EC de diferentes órganos de la planta del maíz.

MATERIALES Y METODOS

Reactivos: Se preparó una solución madre de 12000 mg·L⁻¹ de NO₃⁻. Para lo anterior se secó nitrato de potasio KNO₃ RA en una estufa a 110° C durante 3 horas, se pesaron 4.89 gramos de la sal con una balanza analítica con una precisión de 0.1 mg (MS104TS/00 Mettler Toledo) y, se disolvió en agua destilada en un matraz aforado de 250 mL. De la solución madre, se tomaron diferentes alícuotas, considerando que el peso es igual al volumen, y se disolvieron en matraces aforados de 25 mL para obtener soluciones de distintas concentraciones (Cuadro 1).

Cuadro 1. Soluciones preparadas de NO₃⁻.

Concentración solución Stock	Alícuota	Concentración de la dilución	Factor dilución
mg·L ⁻¹	g	mg·L ⁻¹	
12000	20	9610	12
	16	7689	16
	12.5	6009	20
	8.3	3981	30
3981	12.5	1941	4
	3.1	500	8

*Alícuotas diluidas en 25 mL de agua destilada.

Muestras de extracto celular. Las muestras de EC se obtuvieron de la nervadura central de hojas de maíz que se colocaron en una prensa manual, se consideró una muestra compuesta de 12 nervaduras centrales (Cadahía-López, 2008).

Determinaciones. Con un equipo LaquaTwin-NO3-11® (Horiba Kyoto, Japón) se realizó un análisis de concentración de NO₃⁻ a las muestras de extracto celular. El aparato funciona por el principio electroquímico de la Ecuación de Nernst (Benson, 2017). Los rangos de lectura de equipo son desde 6 a hasta 9900 mg·L⁻¹ de NO₃⁻ (<https://n9.cl/tjnz>).

Evaluación de la repetibilidad. Se midió la concentración de soluciones con diferente concentración (1940.48, 608.64, 9610.84 mg·L⁻¹) para las diferentes soluciones se repitió la determinación en cinco ocasiones. A los resultados se les estimó: la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

Evaluación de exactitud. A una muestra de extracto celular (~40 mL) previamente homogenizada en un vortex, se le cuantificó la concentración de NO₃⁻ (n = 5), y se tomaron tres alícuotas de 5 mL por muestra que se colocaron en tubos de ensayo (20 mL), a cada tubo se les agregó 5 mL de diferente solución de nitrato (500, 5000, 1000 mg·L⁻¹), las muestras compuestas fueron homogeneizadas y en cinco ocasiones a cada una se les cuantifico la concentración de NO₃⁻. A los resultados se les cálculo el promedio, la desviación estándar y el porcentaje de recuperación del método (Ecuación 1).

$$\text{Recuperación (\%)} = \frac{\text{Concentración de muestra compuesta}}{\text{Concentración de EC+Concdetración de solución adicionado}} \times 100 \quad \dots \text{Ecuación 1}$$

Linealidad. A cada solución (Cuadro 1) se le realizó la determinación de NO₃⁻ con cinco repeticiones. A los resultados se les calculo su promedio y desviación estándar y se realizó una regresión para determinar si existe linealidad en la mediciones.

Robustez. Se prensó una muestra compuesta de nervaduras centrales para obtener 40 mL de extracto celular y se homogeneizo, inmediatamente se cuantifico la concentración de NO₃⁻ (cinco repeticiones), los resultados se registraron como tiempo cero (T0). La muestra de EC se dividió en dos partes, cada parte se colocó en tubos de ensayo de 20 mL, uno fue conservado en refrigeración (5 °C) y el otro se guardó a temperatura ambiente (~ 25 °C), transcurridas 24 horas las muestras se homogenizaron nuevamente (la muestra refrigerada se ambiente con 20 minutos de anticipación) y se les analizo la concentración de NO₃⁻ con cinco repeticiones. Este mismo procedimiento se

repitió después del transcurso 48 horas respecto del T0 y 72 horas. Las concentraciones medias con su desviación estándar se graficaron en una línea de tiempo.

RESULTADOS

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de ensayos de validación del método. *Repetibilidad.* Los resultados indicaron que los aparatos cuantificaron concentraciones menores a las concentraciones calculadas por peso volumen. Sobre la replicación del análisis de una misma muestra, en las tres concentraciones evaluadas se obtuvo con CV de 2.3 a 3.1% (Cuadro 2).

Cuadro 2. Evaluación de valores repetibilidad de método NO₃⁻.

Concentración solución teórica	Valor de lectura promedio	Alícuota	Aforo	Promedio NO ₃ ⁻	D. E. (±)	CV %
mg·L ⁻¹		mL		mg·L ⁻¹		
499	38.4	1	10	384	4.5	2.3
1940	168	1	10	1680	22.4	2.7
6009	578	1	10	5780	89.4	3.1

(n = 5).

Exactitud: Las determinaciones de la concentración muestras compuestas (extracto celular + solución de diferente concentración), mostraron una recuperación de 87.8%. La recuperación más baja se observó cuando al jugo celular se le agregó una solución con concentración 1680 mg·L⁻¹. Todas las determinaciones se realizaron en matrices diluidas 1:10. La información resumida se presenta en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Evaluación exactitud método NO₃⁻.

Concentración solución	Concentración JC+Sol	Alícuota	Aforo	Promedio NO ₃ ⁻	% Recuperación	D. E. (±)	CV %
mg·L ⁻¹		mL					
	*120	1	10	1200	-	7.0	1.18
5780	376	1	10	3760	91.9	2.0	4.45
1680	172	1	10	1720	84.3	1.0	2.6
3740	268	1	10	2680	87.2	1.3	3.12

* Corresponde al valor de nitrato medido en jugo celular (JC).

Linealidad: Al medirse soluciones con concentración creciente se obtuvo una recta y esto implica que la medición del aparato aumenta de forma lineal en proporción a la concentración de la matriz analizada. Lo anterior se verificó mediante el cálculo del coeficiente de correlación ($r = 0.9986$) (Cuadro 4 y Figura 1).

Cuadro 4. Evaluación Linealidad de NO₃⁻.

Concentración solución mg·L ⁻¹	Valor lectura ISE	Alícuota mL	Aforo	NO ₃ ⁻ en solución mg·L ⁻¹	D.E. (±)	C. V. %
499	38.4	1	10	384	4.00	2.1
1940	168	1	10	1680	20.00	2.4
3981	374	1	10	3740	40.00	2.1
6008	578	1	10	5780	80.00	2.8
7689	776	1	10	7760	50.99	1.3
9610	992	1	10	9920	50.99	1.2

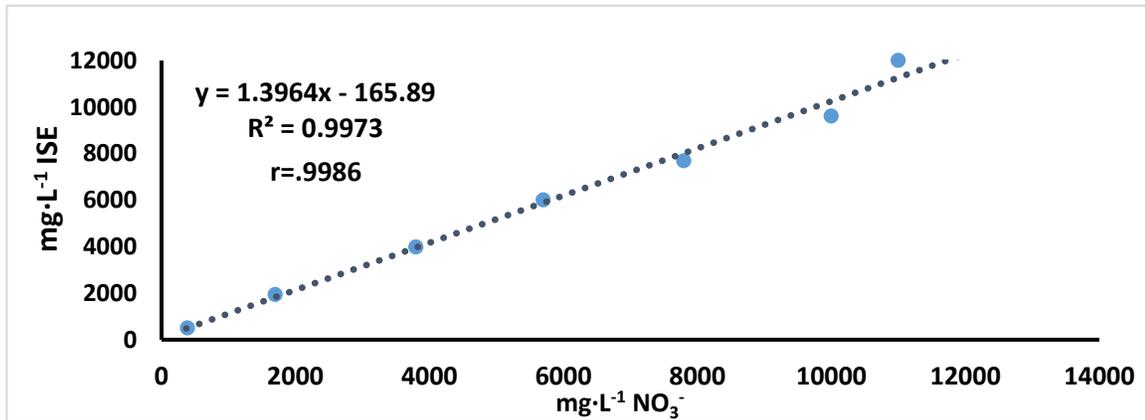


Figura 1. Linealidad en determinaciones de NO₃⁻ cuantificado con el medidor portátil LaquaTwin-NO3-11®.

Robustez: Los resultados indicaron que solo las muestras de extracto celular preservadas a (5 °C) en un lapso de 24 horas, arrojaron valores de concentración similares a la concentración obtenida en un T0. Por el contrario, a las muestras preservadas 24 horas en temperatura ambiente (~ 25 °C) se les sobrestimo en 30% su concentración respecto al T0. Las muestras analizadas tras 48 horas de preservación bajo refrigeración registraron concentraciones 30% más altas en comparación al T0. Finalmente las muestras a las que se les determinó la concentración de NO_3^- luego haber sido preservadas 72 horas en refrigeración y a temperatura ambiente, resultaron con una concentración media mayor (38.8%) respecto a concentración media de la muestra del T0 (Figura 2).

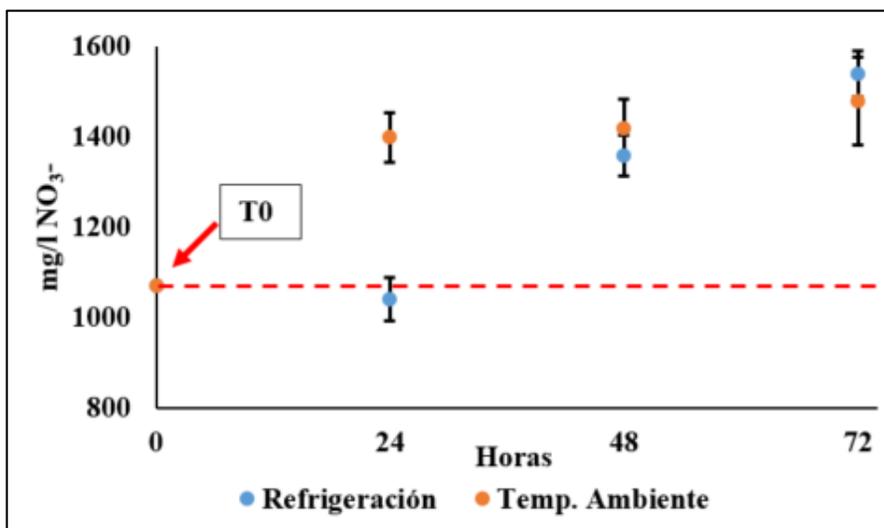


Figura 2. Robustez de muestras de jugo celular para determinaciones de nitratos (n = 5).

CONCLUSIONES

La repetibilidad del análisis para muestras acuosas se mostró aceptable al presentar un CV menor al 5%. La exactitud de las determinaciones del método electroquímico arrojó porcentajes de recuperación superiores al 70%. El método de determinación fue lineal en el análisis de

soluciones de concentraciones creciente de un rango de 499 hasta 9610 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) con un coeficiente asociación (r) de 0.9973, pero estas fueron analizadas diluidas (1:10) lo que represento que las concentraciones de las muestras analizadas no salieran por encima de la curva de calibración del aparato ($2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). El análisis de muestras conservadas 24 horas a temperatura ambiente y las también las conservadas en refrigeración, resultaron con una mayor concentración respecto al T0, lo que indicó que tras la extracción del extracto celular, la muestra es viable para analizarse, si se mantiene en refrigeración en un periodo corto (< 24 horas).

ANEXO 3

Base de datos mediciones de diferentes métodos en diferentes etapas fenológicas.

Cuadro 1. Determinaciones de N-NO₃ en el extracto celular de la nervadura central para la etapa fenológica V4

Bloque	Tratamiento	N-NO ₃ mg·L ⁻¹
1	0	1379
2	0	1153
3	0	1898
4	0	1311
5	0	1514
1	120	1333
2	120	3367
3	120	1944
4	120	3006
5	120	2113
1	240	1582
2	240	3910
3	240	1514
4	240	4294
5	240	2350
1	360	1537
2	360	2463
3	360	2011
4	360	3887
5	360	2780
1	480	1220
2	480	3413
3	480	3729
4	480	4882
5	480	2780

Cuadro 2. Determinaciones por método de diagnóstico para la etapa fenológica V7.

Bloque	Tratamiento	EC de NC N-NO3	EC de BT N-NO3	MS de BT N-NO3	N-Total	SPAD	NDVI	Altura	IAF
		mg·L ⁻¹	mg·L ⁻¹	mg·kg ⁻¹	%	-	-	cm	-
1	0	334.5	73	1514	2.48	35.2	77	80.0	1.35
2	0	331.5	128	3099	2.72	39.2	77	81.7	1.39
3	0	287.0	84	1153	2.68	33.3	78	100.0	1.19
4	0	277.2	256	1922	3.1	46.3	77	84.0	1.40
5	0	391.7	512	10220	3.18	45.6	73	97.0	1.42
1	120	452.0	111	1888	2.63	43.7	79	91.7	2.32
2	120	537.9	279	7813	3.66	45.4	83	101.3	1.95
3	120	518.3	475	9946	3.25	45.1	80	103.0	1.98
4	120	549.2	316	10163	3.6	41.5	80	83.3	1.27
5	120	576.3	271	9139	3.14	46.7	81	92.3	1.26
1	240	601.2	231	5406	3.09	47.8	80	99.0	2.57
2	240	774.4	384	6905	3.24	44.5	79	123.0	2.43
3	240	644.9	309	8116	3.37	46.7	82	97.7	2.56
4	240	494.9	309	10508	3.05	42.4	79	106.0	2.96
5	240	544.7	271	11215	3.86	48.4	83	116.3	2.02
1	360	909.7	401	13939	3.92	47.9	83	79.0	1.87
2	360	673.5	505	11849	3.47	48.5	84	98.7	2.21
3	360	1084.8	475	9672	3.59	44.5	83	106.7	1.87
4	360	757.1	452	10249	3.22	42.4	81	128.3	2.03
5	360	949.2	279	11618	3.96	48.4	80	116.3	2.23
1	480	800.6	294	9961	3.69	46.3	82	102.7	2.42
2	480	1531.2	588	12685	4.18	47.5	84	102.3	3.44
3	480	784.2	595	13103	4.01	46.6	80	94.3	1.63
4	480	691.6	305	11546	3.64	44.7	82	110.3	2.41
5	480	1062.2	392	12873	3.66	44.7	81	113.7	1.92

EC: extracto celular; NC: nervadura central; BT: base del tallo; MS: materia seca; N-total: nitrógeno total; IAF: índice de área foliar.

Cuadro 3. Determinaciones por método de diagnóstico para la etapa fenológica V10.

Bloque	Tratamiento	EC de NC N-NO₃	SPAD	NDVI	Altura	IAF
		mg·L⁻¹	-	-	cm	-
1	0	269.7	28.3	75.5	97.7	2.03
2	0	279.1	31.5	82.75	93.3	3.3
3	0	165	30.4	79.5	113	1.53
4	0	384.2	44.8	82.5	106.3	2.03
5	0	322.1	42.7	83.25	126.3	1.53
1	120	256.5	34.6	81.25	124.3	2.87
2	120	542.4	40.6	85	130	2.11
3	120	542.4	43	85.25	129.3	2.97
4	120	435.4	43.3	84.25	107.3	2.87
5	120	587.6	41.5	84.25	116.7	2.11
1	240	298.3	41.9	83.25	138	2.11
2	240	427.9	46.3	85	147.3	3.18
3	240	960.5	44.3	84.5	143.3	3.05
4	240	414.7	44.6	85	135	2.11
5	240	723.2	47.2	84.25	145.7	3.05
1	360	319.8	46.3	84.75	114.3	2.7
2	360	904	42.7	85	127	2.82
3	360	934.1	44.2	83.5	143.7	3.32
4	360	836.2	47.3	84.75	148	2.7
5	360	949.2	48.1	84.25	145.7	2.82
1	480	700.6	44.7	84.5	148	2.85
2	480	1054.7	47.9	84.5	147.7	2.84
3	480	1152.6	49.5	84	116.7	2.85
4	480	1130	48.8	85.25	139	2.84
5	480	1062.2	51.1	85.25	141.3	2.84

EC: extracto celular; NC: nervadura central; IAF: índice de área foliar.

Cuadro 4. Determinaciones por método de diagnóstico para la etapa fenológica V12.

Bloque	Tratamiento	EC de NC N-NO ₃ mg·L ⁻¹	EC de BT N-NO ₃ mg·L ⁻¹	MS de BT N-NO ₃ mg·kg ⁻¹	N-total %	SPAD -	NDVI -	Altura cm	IAF -
1	0	268	72	1955	1.62	23.4	78	115.33	2.21
2	0	253	77	3028	1.64	33.6	80.75	110.67	2.25
3	0	603	75	2675	1.37	30.5	75.25	108	1.7
4	0	460	115	2675	2.47	41	82.5	123	2.4
5	0	231	87	1690	1.9	30.2	80	118.33	2.84
1	120	242	63	2278	1.7	28.6	82	115.67	3.47
2	120	328	133	2572	2.68	37.7	83.75	154.33	2.86
3	120	330	927	7348	2.09	41.5	84	143	4.64
4	120	366	316	4821	1.6	40.5	81.75	143.67	2.8
5	120	246	179	3762	2.54	37.7	82.75	151.67	3.21
1	240	264	58	2160	2.19	34	82	154.33	3.68
2	240	256	70	1852	1.73	33.4	83.75	151.33	4.25
3	240	723	384	6907	2.28	42.5	82	148	3.81
4	240	783	83	1984	2.08	34.8	80.75	167.67	2.87
5	240	354	201	2881	2.69	38.9	82	158	3.64
1	360	475	672	13183	2.48	39.1	84.5	166.33	3.59
2	360	573	437	7730	2.56	41.9	84	149.33	3.92
3	360	419	927	12213	2.03	38.9	84.75	135.33	4.87
4	360	735	437	2293	2.84	43.7	84.75	172.67	3.14
5	360	244	475	7525	3.13	43.4	82	158	4.65
1	480	1115	1006	14065	2.23	42.5	82.5	173.67	4.43
2	480	949	407	3571	2.99	42.1	85.75	167.67	2.6
3	480	1009	354	8451	2.59	36.7	83.5	143.33	2.85
4	480	542	751	12624	1.96	38.9	84	164.67	3.83
5	480	603	444	7672	2.82	40.8	82.5	164.33	3.99

EC: extracto celular; NC: nervadura central; BT: base del tallo; MS: materia seca; N-total: nitrógeno total; IAF: índice de área foliar.

Cuadro 5. Determinaciones por método de diagnóstico para la etapa fenológica V15.

Bloque	Tratamiento	EC de NC N-NO ₃ mg·L ⁻¹	***
1	0	271	
2	0	294	
3	0	171	
4	0	187	
5	0	249	
1	120	271	
2	120	288	
3	120	527	
4	120	159	
5	120	222	
1	240	260	
2	240	283	
3	240	299	
4	240	187	
5	240	224	
1	360	437	
2	360	396	
3	360	192	
4	360	216	
5	360	333	
1	480	429	
2	480	350	
3	480	531	
4	480	288	
5	480	467	

EC: extracto celular; NC: nervadura central; IAF: índice de área foliar. ***En esta etapa no se midieron NDVI, SPAD, IAF, por exceso de lluvia en el lote experimental.

Cuadro 6. Determinaciones por método de diagnóstico para la etapa fenológica V17.

Bloque	Tratamiento	EC de NC N-NO₃ mg·L⁻¹	SPAD	NDVI	Altura cm	IAF
1	0	165	23.8	81.00	233	3.75
2	0	157	28.8	83.00	224	3.40
3	0	312	26	77.00	271	3.44
4	0	341	35.2	84.00	283	5.10
5	0	238	26	83.67	234	3.49
1	120	160	28.2	82.67	256	3.61
2	120	180	37.3	84.33	282	5.24
3	120	289	37	84.67	290	5.44
4	120	390	34.4	85.33	262	4.67
5	120	184	37.7	84.67	249	2.95
1	240	175	31.9	84.00	264	4.46
2	240	209	36.4	84.33	269	5.02
3	240	396	41.1	84.67	276	5.27
4	240	251	35.5	85.33	273	4.56
5	240	273	39.7	84.67	279	4.79
1	360	246	37.6	83.33	275	4.34
2	360	214	39.2	85.33	278	5.45
3	360	333	41.3	85.33	291	5.47
4	360	241	37.3	85.67	279	5.48
5	360	250	38.1	84.67	279	4.40
1	480	189	38.7	86.00	286	5.23
2	480	214	37.9	82.00	281	5.08
3	480	420	44.1	83.00	272	4.85
4	480	273	39.7	86.00	277	4.85
5	480	175	37.1	85.67	230	4.54

EC: extracto celular; NC: nervadura central; IAF: índice de área foliar.

Cuadro 7. Determinaciones por método de diagnóstico para la etapa fenológica R1.

Bloque	Trat	EC de NC N-NO ₃ mg·L ⁻¹	EC de BT N-NO ₃ mg·L ⁻¹	MS de BT N-NO ₃ mg·kg ⁻¹	N-Total %	SPAD -	NDVI -	Altura cm	IAF -
1	0	157	50	3365	1.36	32.5	77.3	239.0	3.32
2	0	163	53	3000	1.26	36.0	77.0	251.3	3.63
3	0	146	60	3435	1.2	29.3	76.0	245.7	3.90
4	0	185	58	3168	1.68	46.0	80.0	269.3	3.77
5	0	183	94	3547	1.32	28.9	78.7	278.0	4.08
1	120	182	47	3463	1.23	28.3	76.3	264.3	4.53
2	120	201	213	1486	2.37	40.8	77.0	280.0	5.27
3	120	276	362	3393	2	44.1	80.0	284.3	4.62
4	120	200	776	4599	2.35	43.3	76.0	263.3	4.80
5	120	206	56	2313	2.29	40.0	81.0	274.7	4.36
1	240	183	55	2972	1.82	38.8	77.0	249.0	5.02
2	240	194	196	2706	2.03	40.1	80.0	264.3	5.35
3	240	211	535	5636	2.94	52.2	82.0	283.7	4.96
4	240	199	61	2229	2.45	35.0	81.0	258.3	4.65
5	240	179	75	2888	2.26	48.1	83.3	275.3	4.99
1	360	276	825	9211	2.71	46.6	81.3	282.0	5.33
2	360	219	294	3267	2.16	45.3	80.0	286.7	5.50
3	360	201	362	5257	2.16	44.8	79.0	271.3	5.31
4	360	232	527	5622	2.01	43.1	83.0	266.3	5.43
5	360	219	1153	14356	2.37	48.5	83.3	275.3	5.09
1	480	294	797	8608	2.67	51.4	79.3	286.3	5.99
2	480	209	362	4136	2.69	50.1	85.0	272.7	5.75
3	480	216	384	10403	2.54	46.7	80.0	284.3	4.85
4	480	192	1181	10305	2.34	48.5	82.7	267.7	5.07
5	480	245	527	2692	2.6	50.8	83.0	273.0	5.08

EC: extracto celular; NC: nervadura central; BT: base del tallo; MS: materia seca; N-total: nitrógeno total; IAF: índice de área foliar.

Cuadro 8. Determinaciones de N total para la etapa fenológica R3.

Tratamiento	Bloque	N total
		%
0	1	0.81
0	2	1.06
0	3	1.02
0	4	0.97
0	5	1.03
120	1	1.09
120	2	1.37
120	3	1.67
120	4	2.01
120	5	1.45
240	1	1.57
240	2	1.57
240	3	1.9
240	4	1.35
240	5	1.61
360	1	2.31
360	2	1.96
360	3	1.49
360	4	2.35
360	5	1.7
480	1	2.01
480	2	2.05
480	3	2.42
480	4	2.06
480	5	2.24

N-total: nitrógeno total.

Cuadro 9. Determinaciones de N-NO₃ de la materia seca de la base del tallo para la etapa fenológica R4.

Tratamiento	Bloque	MS de BT N-NO ₃ mg·kg ⁻¹
0	1	2118
0	2	1813
0	3	2353
0	4	2062
0	5	2547
120	1	1938
120	2	1910
120	3	2201
120	4	1453
120	5	2187
240	1	1218
240	2	1315
240	3	2408
240	4	1661
240	5	1785
360	1	5536
360	2	1965
360	3	2007
360	4	2561
360	5	1827
480	1	7059
480	2	2325
480	3	5177
480	4	2325
480	5	2159

BT: base del tallo; MS: materia seca.

Cuadro 10. Determinaciones de N-NO₃ de la materia seca y el extracto celular de la base del tallo para la etapa fenológica R5.

Tratamiento	Bloque	N total	MS de BT	
			N-NO ₃	EC de BT NO ₃
		%	mg·kg ⁻¹	mg·L ⁻¹
0	1	0.83	2162	60
0	2	1.02	1578	66
0	3	1.57	935	57
0	4	1.34	1914	70
0	5	1.24	1651	224
120	1	0.92	1972	47
120	2	0.96	1549	66
120	3	1.73	1403	52
120	4	1.94	1782	78
120	5	1.35	1271	75
240	1	0.93	2031	72
240	2	0.98	1695	78
240	3	0.8	2133	50
240	4	1.19	1782	80
240	5	1.31	1169	236
360	1	1.72	1987	1017
360	2	1.78	1826	467
360	3	1.42	1461	52
360	4	1.83	1622	61
360	5	1.61	1724	145
480	1	2.13	1593	1305
480	2	1.93	1826	85
480	3	0.82	3356	580
480	4	2.19	1958	580
480	5	1.43	862	88

EC: extracto celular; BT: base del tallo; MS: materia seca; N-total: nitrógeno total.

BIBLIOGRAFIA

- Alcántar-González, G., & Sandoval-Villa, M. (1999). Interpretación resultados del análisis. In *Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal* (1st ed., pp. 107–138). Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, México.
- Alcántar, G., Sandoval, M., Castellanos, J. Z., Méndez, F., Sánchez, P., & Rodríguez, M. N. (2002). Diagnostic methods to evaluate nutrient status of garlic, onion, and broccoli. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33(15–18), 2585–2598. <https://doi.org/10.1081/CSS-120014466>
- Benson, S. W. (2017). La ecuación de Nernst. In *Cálculos Químicos* (pp. 235–237). Limusa.
- Cadahía-López, C. (2008). Procesamiento de muestras. In C. Cadahia-López (Ed.), *La savia como índice de fertilización* (pp. 40–45). Barcelona: Mundi-Prensa.
- Di Gioia, F., Simonne, E. H., Gonnella, M., Santamaria, P., Gazula, A., & Sheppard, Z. (2010). Assessment of ionic interferences to nitrate and potassium analyses with ion-selective electrodes. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 41(14), 1750–1768. <https://doi.org/10.1080/00103624.2010.489138>
- Gangaiah, C., Ahmad, A. A., Nguyen, H. V., & Radovich, T. J. K. (2016). A Correlation of Rapid Cardy Meter Sap Test and ICP Spectrometry of Dry Tissue for Measuring Potassium (K+) Concentrations in Pak Choi (Brassica Rapa Chinensis Group). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 47(17), 2046–2052. <https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1208752>
- Hochmuth, G. J. (1994). Efficiency ranges for nitrate-nitrogen and potassium for vegetable petiole sap quick tests. *HortTechnology*, 4(3), 218–222.
- MacKerron, D. K. L., Young, M. Y., & Davies, H. V. (1995). A critical assessment of the value of petiole sap analysis in optimizing the nitrogen nutrition of the potato crop. *Plant and Soil*, 172, 247–260.
- Mackown, C. T., & Wek, J. C. (2004). Forage and grazing lands: Comparison of Laboratory and Quick-Test Methods for Forage Nitrate. *Crop Science Society of America*, 44(218–226).
- Ott-Borrelli, K. A., Koenig, R. T., & Miles, C. A. (2009). A comparison of rapid potentiometric and colorimetric methods for measuring tissue nitrate concentrations in leafy green vegetables. *HortTechnology*, 19(2), 439–444. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-68049143126&partnerID=40&md5=acf4b2eb2568626ac75b15bc305554af>
- Radu, A., Radu, T., McGraw, C., Dillingham, P., Anastasova-Ivanova, S., & Diamond, D. (2013). Ion selective electrodes in environmental analysis. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 78(11), 1729–1761. <https://doi.org/10.2298/JSC130829098R>

- Rangel-Lucio, J. A., Alcántar-González, G., Castellanos, Z. J., Garcia-Moya, E., Trejo-López, C., & Vaquera-Huerta, H. (2002). Comparison of Two Tests for Nitrogen Diagnostic in Sorghum. *Terra Latinoamericana*, 20, 383–390.
- Rodrigues, M. Â. (2005). Establishment of Continuous Critical Levels for Indices of Plant and Presidedress Soil Nitrogen Status in the Potato Crop. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 35(13–14), 2067–2085. <https://doi.org/10.1081/LCSS-200026837>
- Sánchez-García, P., Molino da Silva, C., Alcántar- González, G., Sandoval Villa, M., Molinos da Silva, C., Alcántar-González, G., & Sandoval-Villa, M. (2016). Diagnóstico nutrimental en plantas. In G. Alcántar-González, L. I. Trejo-Téllez, & F. C. Gómez-Merino (Eds.), *Nutrición de Cultivos* (2da ed., pp. 277–297). Montecillo, Edo. México: BBA.
- Stevens, G., Rhine, M., Straatmann, Z., & Dunn, D. (2016). Measuring Soil and Tissue Potassium with a Portable Ion-Specific Electrode in Cotton. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 47(18), 2148–2155. <https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1228944>
- Valdiviezo, J., Lapo, B., Fernandez, L., Carrera, P., Carchi, T., & Muñoz, G. (2017). Validación de método electroanalítico para determinación in-situ de cadmio y plomo en agua potable. *Cumbres*, 3(1), 47–53. Retrieved from <http://investigacion.utmachala.edu.ec/revistas/index.php/Cumbres/article/view/82/52>