

## Efecto del horario de medición, posición y porción de la hoja en los índices de clorofila en la papa

### *Effect of horary measurement, position and portion of leaf in the of chlorophyll in potato index*

Ricardo de Lima Vasconcelos<sup>1\*</sup>, Renato de Mello Prado<sup>1</sup>, Alfredo Reyes Hernández<sup>2</sup>,  
Gustavo Caione<sup>1</sup>

#### RESUMEN

La medición indirecta de la clorofila es un método de diagnóstico del nitrógeno en plantas y su precisión puede ser influenciada por la hora en que se hace la lectura, por la posición del foliolo en la planta y porción donde se realiza la lectura en el foliolo. El objetivo fue evaluar el efecto del horario de lectura, la posición terminal del foliolo en las hojas y la porción del foliolo en la estimación indirecta del Índice de contenido de clorofila (ICC) con el uso del clorofilómetro. El experimento se realizó con el cultivo de papa (*S. tuberosum* L.), variedad Ágata, en el municipio de Ituverava, estado de São Paulo, Brasil y constó de 27 tratamientos, en un esquema factorial 3 x 3 x 3 con cuatro repeticiones de 16 plantas cada una, con una distribución aleatoria. Los tratamientos fueron: tres horarios de evaluación (08:00 am, 12:00 pm y 16:00 pm), tres posiciones de folíolos en las hojas (tercera, cuarta y quinta) y tres porciones del foliolo (basal, medio y distal). La evaluación del ICC en las hojas de las plantas de papa debe realizarse en los folíolos de la tercera y cuarta hoja, independientemente de las áreas foliares utilizadas, en el horario de las 08:00 am y a los 60 días después de plantado el cultivo. La cuantificación indirecta de la clorofila representa una herramienta fiable y con potencial para guiar el manejo de fertilizante nitrogenado para el cultivo.

**Palabras clave:** nitrógeno, *Solanum tuberosum* L., clorofilómetro, diagnóstico nutricional alternativo.

#### ABSTRACT

*The indirect measurement of chlorophyll is a diagnostic method of nitrogen in plants and its accuracy can be influenced by hour at which the reading is taken, the position of the leaflets in the plant and the portion where it is done on the leaflet reading. The objective was to evaluate the effect of hour reading, the position of the terminal leaflet on the leaf and the portion of the leaflet in the indirect of estimation of chlorophyll content index (CCI) with the use of chlorophyll meter. The experiment was performed with the cultivation of potato (*S. tuberosum* L.), Agate variety in the county of Ituverava São Paulo state, Brazil and consisted of 27 treatments in a factorial scheme 3 x 3 x 3 with four replications of 16 plant each, with a random distribution. The treatments were: three assessment times (08:00 am, 12:00 pm and 4:00 p.m.), three positions of leaflets on leafs (third, fourth and fifth) and three portions of the leaflet (basal, middle and distal). The evaluation of the CCI in the leaves of potato plants should be done in the leaflets of the third and fourth branch from top to bottom, regardless of the portion used leaflets, the 8:00 a.m. hours and 60 days after planting the crop. Indirect quantification of chlorophyll is a reliable tool and with potential to guide management of nitrogen fertilizer for crop.*

**Key words:** nitrogen, *Solanum tuberosum* L., chlorophyll meter, alternative nutritional diagnosis.

#### Introducción

El cultivo de la papa (*S. tuberosum* L.) necesita de un adecuado suministro de nutrientes para que pueda rendir su máximo potencial productivo. El nitrógeno (N) es el que presenta mayor influencia en la productividad de la papa, pues tiene gran influencia

en los procesos de absorción iónica, fotosíntesis, respiración, síntesis en general, multiplicación y diferenciación celular (Malavolta, 2006).

Para suministrar cantidades adecuadas de nitrógeno durante todo el ciclo del cultivo se torna necesario monitorear y diagnosticar el estado nutricional, que tradicionalmente se realiza a partir del

<sup>1</sup> Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – FCAV/UNESP. Via de acesso Prof. Paulo Castellane, s/n., CEP. 14.884-900, Jaboticabal, SP, Brasil.

<sup>2</sup> Facultad Agropecuaria de Montaña del Escambray. Universidad de Sancti Spiritus. Cuba.

\* Corresponding author: ricardoagro@posgrad.fcav.unesp.br

diagnóstico foliar y posteriormente la interpretación de los resultados. No obstante, el uso del análisis foliar presenta limitaciones, como por ejemplo el tiempo que transcurre entre la toma de muestras y la obtención de los resultados.

Como alternativa, para evaluar el contenido de nitrógeno en la planta en tiempo real, se destaca el uso del clorofilómetro (CCM-200, fabricado por Opti-Sciences, USA), que mide el índice del contenido de clorofila (ICC) en las hojas, pues hay una significativa correlación entre los contenidos de clorofila con la concentración de nitrógeno en la hoja, entre 50 a 70% (Chapman y Barreto, 1997; Gil *et al.*, 2002; Botha *et al.*, 2006), además de eso, las clorofilas son pigmentos responsables por la conversión de radiación luminosa en energía, en la forma de ATP y NADPH, relacionadas con la eficiencia fotosintética de las plantas y, en consecuencia, a su crecimiento y adaptabilidad a diferentes ambientes, siendo constantemente sintetizadas y destruidas en procesos influenciados por factores internos y externos a las plantas, dentro de los últimos se tiene al N que actúa en reacciones que llevan a la síntesis de estos pigmentos (Taiz y Zeiger, 2004; Nogueira *et al.*, 2013).

La utilización del clorofilómetro representa un gran potencial, pues parte de la agricultura de precisión exige un monitoreo en tiempo real del estado nutricional de la planta, presentando bajo costo y rapidez.

La falta de una estandarización del diagnóstico foliar, el horario de lectura, la porción de la hoja que se debe tomar para la lectura y el estado de desarrollo del cultivo, tienden a dar valores contrastantes (Gil *et al.*, 2002; Coelho *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2011). Por tanto, es necesario minimizar el efecto de estos factores, con el fin de obtener una alta calidad en los resultados y utilizar esta herramienta para evaluar el estado nutricional del nitrógeno en plantas de papa en condiciones de campo.

Dentro de este contexto, el objetivo es determinar la mejor posición del foliolo en las hojas, la porción del foliolo a tomar y el horario de evaluación del ICC en las hojas del cultivo de la papa con el uso de un clorofilómetro portátil.

### Materiales y Métodos

El experimento se realizó en el municipio Ituverava, estado de São Paulo, Brasil (20°20'31" S, 47°46'07" O, 631 msnm), con clima del tipo

Aw (tropical con verano lluvioso e invierno seco), según la clasificación de Carrer y García (2007). El suelo se clasifica como oxisol de textura arcillosa, con un relieve llano a ondulado (Carvalho Filho *et al.*, 2009).

La plantación de los tubérculos de papa (*S. tuberosum* cv. Ágata) se realizó a 0,70 m entre líneas y 0,25 m entre plantas. El área destinada para el cultivo recibió riego, pero no coincidió con las fechas de evaluación. El cultivo recibió cuidados semanalmente de acuerdo con las necesidades. La fertilización nitrogenada fue realizada en el momento de la plantación y como cobertura, según lo indicado por Lorenzi *et al.* (1997). El suelo se caracterizó de acuerdo con:  $\text{pH}_{(\text{CaCl}_2)} = 5$ ; M.O. (materia orgánica) = 38 mg dm<sup>-3</sup>;  $\text{P}_{\text{resina}} = 62$  mg dm<sup>-3</sup>; K = 2,8 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca = 36 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg = 10 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H+Al = 40 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; SB (suma de bases cambiables) = 39 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; CTC (capacidad de intercambio catiónico) = 55 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> y valor V = 55%.

El experimento fue constituido por 27 tratamientos, siguiendo un esquema factorial 3 x 3 x 3 (tres horarios de lectura x tres posiciones de los foliolos en las hojas y tres porciones de foliolos), dispuestos en un ordenamiento completamente aliatorizado, con cuatro repeticiones, y cada una de ellas representada por 16 plantas. En la literatura se recomienda el muestreo de seis plantas en cuatro repeticiones (Gil *et al.*, 2002), pero Silva *et al.* (2011) encontraron resultados satisfactorios al evaluar dos foliolos en dos plantas por parcela en cuatro repeticiones.

El ICC de las hojas se evaluó con el equipo CCM-200, también se evaluaron las siguientes posiciones de foliolos en las hojas: foliolos terminales de la tercera, cuarta y quinta hoja a partir del ápice de la planta. Para la colecta de los foliolos de las hojas para la lectura se siguieron las recomendaciones de Gil *et al.*, (2002).

Las porciones de los foliolos se tomaron de las partes: basal, media y distal. El horario de evaluación fue a las: 08:00 am, 12:00 pm (del mediodía) y 16:00 pm, con 30 minutos como límite máximo admitido para evaluar con el clorofilómetro a cada hora. Las lecturas en las plantas se hicieron 60, 70 y 80 días después de la plantación (DDP), se sabe que a partir de los 50 DDP ocurre el máximo desarrollo vegetativo del cultivo de la papa, que se extiende hasta alrededor de los 80 DDP, que es cuando inicia la maduración de los tubérculos. De esta forma se

hace más objetivo el poder evaluar en el período de mayor absorción de nitrógeno y asimilación de CO<sub>2</sub> por el cultivo.

Los datos se organizaron en parcelas sub-subdivididas. Las parcelas correspondieron a los folíolos terminales de la tercera, cuarta y quinta hoja. Las subparcelas fueron las porciones basal, media y distal del folíolo terminal y las subsubparcelas correspondieron al horario en que se tomaron las evaluaciones (08:00 am, 12:00 pm y 16:00 pm). La variable (DDP) se usó para situar las fluctuaciones de los contenidos de clorofila en el transcurso del tiempo, de la misma manera que los estadios del cultivo, pues el delineamiento utilizado para el análisis estuvo conformado con un máximo de tres factores. Por lo tanto, para cada período evaluado (60, 70 y 80 DDP) hubo una lectura estimada del ICC en las hojas.

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza, y las causas de variaciones estadísticas fueron evaluadas por la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ), según Banzatto y Kronka (2006).

## Resultados y Discusión

A los 60 DDP la lectura del ICC de las hojas del cultivo de la papa presentó un efecto significativo para las interacciones entre los factores: folíolo y porción foliar y entre folíolo y horarios de medición, ya los 70 y 80 DDP el efecto significativo de las lecturas ocurrió solo en la interacción porción de folíolos y horarios de medición (Tabla 1). Se nota que las lecturas efectuadas a los 60 DDP presentaron los valores más estables, por presentar el menor coeficiente de variación.

Al analizar los resultados de la interacción entre folíolos y porción foliar a los 60 DDP se verificó que la lectura efectuada en diferentes porciones foliares no presentó diferencias significativas para los folíolos de la tercera y cuarta hoja (Tabla 2). De esta forma, los resultados sugieren que la lectura efectuada en los folíolos de la tercera y cuarta hoja tienen mayor estabilidad, siendo menos sensibles a las variaciones cuando el lugar de la lectura es la hoja. Estos resultados corroboran a Malavolta (1992) y Silva *et al.* (2011), que recomiendan la tercera hoja para el diagnóstico foliar, y Raij *et al.* (1997) y Gil *et al.* (2002), indican la cuarta hoja. Sin embargo, Silva *et al.* (2011) verificaron mayores índices de contenido de clorofila en la parte central de la cuarta hoja. No obstante, para los folíolos de

Tabla 1. Prueba de F para el Índice de contenido de clorofila (ICC) de las hojas, determinadas con el auxilio de un clorofilómetro (CCM-200), en función de los factores estudiados (folíolos, porción foliar y horario de evaluación) a los 60, 70 y 80 después de plantado el cultivo de la papa.

F.V.	Días después de la plantación		
	60	70	80
Folíolo (A)	*	**	**
Porción foliar (B)	NS	**	**
Horario de evaluación (C)	NS	NS	NS
A x B	**	NS	NS
A x C	**	NS	NS
B x C	NS	**	**
A x B x C	NS	NS	NS
ICC			
CV A (%)	18,04	26,09	26,07
CV B (%)	25,77	29,40	27,99
CV C (%)	27,99	29,99	27,26

F.V.: Fuente de variación. CV: Coeficiente de variación. \*\*: significativo ( $p < 0,01$ ); \*: significativo ( $p < 0,05$ ) y NS: no significativo.

la quinta hoja los mayores valores estaban en la porción distal. Con el desarrollo de la planta y el consecuente crecimiento foliar, aumenta el acúmulo de otros constituyentes en hoja, no proteicos, como las fibras, promoviendo variaciones en los índices del contenido de clorofila (Nobile *et al.*, 2012).

Para la interacción entre los folíolos analizados y horario de lectura se observó que a las 08:00 am los resultados fueron más estables, no existiendo diferencias significativas entre los folíolos analizados. Por eso, cuando se efectuó la lectura a las 12:00 pm y a las 16:00 pm ocurrieron las mayores variaciones. A las 12:00 pm los menores valores fueron obtenidos en el quinto folíolo y a las 16:00 pm los resultados se invierten, pues en el quinto folíolo se observaron los mayores valores, debido quizás a una mayor área de incidencia de los rayos solares por el ángulo de penetración de la luz, principalmente en la porción distal. Por tanto, la mayor estabilidad de los resultados ocurre a las 08:00 am.

Los resultados obtenidos en la lectura de las 08:00 am confirman las observaciones de Hall y Rao (1980), quienes sostienen que la intensidad de la luz incidente, en un día claro, proporciona una mayor reflectancia, ocurriendo así una estabilización de los procesos, por lo que ocurre una pérdida de energía absorbida en las formas de fluorescencia y fosforescencia.

Tabla 2. Promedios del Índice de contenido de clorofila (ICC) de las hojas del cultivo de papa, determinadas con la ayuda de un clorofilómetro (CCM-200), en función a las hojas y a la porción del foliolo y, en función de la hoja y el horario de evaluación a los 60 días después de plantado el cultivo.

Foliolo (A)	Porción foliar (B)		
	Basal (1)	Medio (2)	Distal (3)
ICC			
Tercera (1)	22,48 Aab	21,96 Aa	21,21 Ab
Cuarta (2)	23,84 Aa	23,68 Aa	21,98 Ab
Quinta (3)	21,07 Bb	21,93 Ba	24,88 Aa
Foliolo (A)	Horario de evaluación (C)		
	08:00 am (1)	12:00 pm (2)	16:00 pm (3)
ICC			
Tercera (1)	21,54 Aa	23,47 Aab	20,62 Bb
Cuarta (2)	21,88 Ba	25,13 Aa	22,48 Bab
Quinta (3)	23,25 Aa	21,35 Ab	23,28 Aa

Promedios seguidos con las mismas letras, minúsculas en las columnas y mayúsculas en las líneas, no difieren estadísticamente entre sí, para un nivel de 5% de probabilidad de error, para la prueba de Tukey.

Pero para Martínez y Guiamet (2004) las variaciones encontradas en el contenido de clorofila no deben atribuirse únicamente al horario de lectura, pero principalmente al contenido de agua en la hoja, y siendo también la influencia de la temperatura, ya que Breeuwer *et al.* (2008) observaron que durante todo el día ocurre aumento de concentración de N foliar en las plantas de *Sphagnum*, debido a aumentos en la temperatura, estimulando la mineralización del N en el suelo, por otra parte, también la cantidad y calidad de los residuos para ser mineralizada podrá influir en estos valores de la lectura (Barbosa Filho *et al.*, 2009).

Reis *et al.* (2006) indican que el mejor lugar para la lectura del ICC de las hojas de café es el tercio medio de la planta, ya que los valores de lecturas de

las hojas del ápice presentan valores sobrestimados, debido a que por ser más nuevas presentan mayor poder fotosintético, a lo que se agrega la influencia de las diversas dosis de fertilización y las hojas ubicadas basalmente (presentaron valores subestimados), por poseer menores cantidades de nitrógeno y clorofila. Además, el nitrógeno, debido a una alta movilidad en la planta, se podría movilizar a una hoja u otro órgano en crecimiento que tiene una alta demanda de este nutriente (Prado, 2008).

Para los desdoblamientos de las interacciones entre la porción de los foliolos y horarios de lectura a los 70 y 80 DDP se pudo verificar que hubo inestabilidad en la lectura solo a las 12:00 pm, siendo la porción mediana de los foliolos la que presentó los mayores valores (Tablas 3 y 4). A las 08:00 am y

Tabla 3. Promedios del Índice de contenido de clorofila (ICC) de las hojas en el cultivo de papa, determinadas con la ayuda de un clorofilómetro (CCM-200), en función a la porción de foliolo y el horario de evaluación a los 70 días después de plantado el cultivo.

Porción foliar (B)	Horarios de evaluación (C)		
	08:00 am (1)	12:00 pm (2)	16:00 pm (3)
ICC			
Basal (1)	18,60 Aa	18,06 Ab	19,49 Aa
Media (2)	20,90 ABa	23,50 Aa	18,86 Ba
Distal (3)	19,40 Aa	17,02 Ab	19,53 Aa

Promedios seguidos de las mismas letras minúsculas en las columnas y mayúsculas en las líneas, no difieren estadísticamente entre sí, para un nivel del 5% de probabilidad de error, por la prueba de Tukey.

Tabla 4. Promedios del Índice de contenido de clorofila (ICC) de las hojas del cultivo de la papa, determinadas con la ayuda de un clorofilómetro (CCM-200), en función a la porción de foliolo y el horario de evaluación a los 80 días después de plantado el cultivo.

Porción foliar (B)	Horarios de evaluación (C)		
	08:00 am (1)	12:00 pm (2)	16:00 pm (3)
ICC			
Basal (1)	15,39 Ab	15,06 Ab	16,78 Aab
Media (2)	19,81 ABa	21,88 Aa	18,56 Ba
Distal (3)	17,03 Ab	15,14 Ab	15,37 Ab

Promedios seguidos de las mismas letras minúsculas en las columnas y mayúsculas en las líneas, no difieren estadísticamente entre sí, para un nivel del 5% de probabilidad de error, por la prueba de Tukey.

16:00 pm las lecturas efectuadas tanto en la porción basal, media como distal presentaron valores estables, no existiendo diferencias significativas. Los valores decrecientes en el contenido de clorofila se pueden atribuir a la disminución en el metabolismo de la planta que cierra su ciclo de crecimiento vegetativo y comienza a entrar en la etapa de tuberización (Nobile *et al.*, 2012). Los valores más altos en la lectura obtenidos a las 12:00 pm en la parte media son respuestas posiblemente fisiológicas además de ser la porción que tiene una mayor área de la exposición a la luz solar y el ángulo favorable para esta captación, poseyendo menor presencia de fibras y mayor eficiencia fotosintética.

## Conclusiones

La lectura del ICC en las hojas de las plantas de papa debe hacerse en los folíolos de la tercera y cuarta hoja, independientemente de las porciones foliares utilizadas, en el horario de las 08:00 am y a los 60 días después de plantado el cultivo. La lectura indirecta de clorofila se proyecta como una herramienta segura y eficaz para evaluar el estado nutricional del cultivo en nitrógeno, siendo no destructiva, sensible a las condiciones de campo y con potencial para orientar el manejo de fertilizante en el cultivo.

## Literatura Citada

- Banzatto, D.A.; Kronka, S.N.  
2006. *Experimentação agrícola*. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP. 237 p.
- Barbosa Filho, M.P.; Cabucci, T.; Fageria, N.K.; Mendes, P.N.  
2009. Época de aplicação de nitrogênio no feijoeiro irrigado monitorada com auxílio de sensor portátil. *Ciência & Agrotecnologia*, 33: 425-431.
- Botha, E.J.; Zebbarth, B.J.; Leblon, B.  
2006. Non-destructive estimation of potato leaf chlorophyll and protein contents from hyperspectral measurements using the PROSPECT radiative transfer model. *Canadian Journal of Plant Science*, 86: 279-291.
- Breeuwer, A.; Heijmans, M.M.P.D.; Robroek, B.J.M.; Berendse, F.  
2008. The effect of temperature on growth and competition between *Sphagnum* species. *Oecologia*, 156: 155-167.
- Carrer, T.T.; Garcia, A.  
2007. Classificação climática para a cidade de Ituverava/SP. *Nucleus*, 4: 29-38.
- CCM-200 Chlorophyll Meter, User Guide-Opti-Sciences.  
2010. Disponible: <http://webh01.ua.ac.be/pleco/TECH/MANUALS/OPTI-SCIENCES/CCM-200.pdf>. Consultado: 30/jun/ 2010.
- Carvalho Filho, A.; Carvalho, L.C.C.; Centurion, J.F.; Beutler, A.N.; Cortez, J.W.; Ribon, A.A.  
2009. Qualidade física de um latossolo vermelho férreo sob sistemas de uso e manejo. *Bioscience Journal*, 25: 43-51.
- Chapman, S.C.; Barreto, H.J.  
1997. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. *Agronomy Journal*, 89: 557-562.
- Coelho, F.S.; Fontes, P.C.R.; Puiatti, M.; Neves, J.C.L.; Silva, M.C.C.  
2010. Dose de nitrogênio associada à produtividade de batata e índices do estado de nitrogênio na folha. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34: 1175-1183.
- Gil, P.T.; Fontes, P.C.R.; Cecon, P.R. y Ferreira, F.A.  
2002. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio e para o prognóstico da produtividade da batata. *Horticultura Brasileira*, 20: 611-615.
- Hall, D.O. y Rao, K.K.  
1980. *Fotossíntese*, Coleção Temas de Biologia. São Paulo. EPU, 10: 89 p.
- Lorenzi, J.O.; Monteiro, D.A.; Miranda Filho, H.S.; Raij, B.  
1997. Raízes e Tubérculos. In: *Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo*. Raij, B.; Cantarella, H.; Quaggio, J.A.; Furlani, A.M.C. (eds.). 2. ed. rev. Campinas: IAC, pp. 221-223. (Boletim Técnico, 100).

- Malavolta, E.  
1992. *ABC da análise de solos e folhas*. Agronômica Ceres, São Paulo, Brasil, 183 p.
- Malavolta, E.  
2006. *Manual de nutrição mineral de plantas*. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 638 p.
- Martínez, D.E.; Guiamet, J.J.  
2004. Distortion of the SPAD 502 chlorophyll meter readings by changes in irradiance and leaf water status. *Agronomie*, 24: 41-46.
- Nobile, F.O.; Prado, R.M.; Spadoni, T.B.  
2012. Adubação nitrogenada e critérios de amostragem foliar para a cultura da batata. *Comunicata Scientiae*, 3: 23-29.
- Nogueira, N.O.; Martins, L.D.; Tomaz, M.A.; Andrade, F.V.; Passos, R.R.  
2013. Teor de nitrogênio, clorofila e relação clorofila-carotenoide em café arábica em solo submetido a diferentes corretivos de acidez. *Agrária-Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 8: 390-395.
- Prado, R.M.  
2008. *Nutrição De Plantas*. Editora da Unesp, São Paulo, Brasil, 407 p.
- Reis, A. R.; Furlani Junior, E.; Buzetti, S. y Andreotti, M.  
2006. Diagnóstico da exigência do cafeeiro em nitrogênio pela utilização do medidor portátil de clorofila. *Bragantia*, 65: 163-171.
- Silva, M.C.C.; Coelho, F.S.; Braun, H.; Fontes, P.C.R.  
2011. Índice SPAD em função de diferentes horários e posições no folíolo da batata sob fertilização nitrogenada. *Revista Ciência Agronômica*, 42: 971-977.
- Taiz, L.; Zeiger, E.  
2004. *Fisiologia vegetal*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 719 p.