

MEDIDOR DE CLOROFILA

Bases Teóricas y su Aplicación para la Fertilización Nitrogenada en Cultivos

Dunixe Villar Z.
dvillar@puc.cl
Rodrigo Ortega B.
raortega@puc.cl
Centro de Agricultura de Precisión
Departamento de Ciencias Vegetales

El consumo de fertilizantes es uno de los indicadores claves de la intensificación y desarrollo agrícola. En los últimos 30 años, a nivel mundial, el aumento en el uso de fertilizantes ha estado estrechamente ligado al incremento en la productividad de los cultivos. Dentro de los fertilizantes comúnmente utilizados en agricultura el más usado es el nitrógeno, ya que este afecta directamente los rendimientos y, en la mayoría de los casos, se relaciona con una mejor calidad de los productos.

Para que el nitrógeno proveniente de la materia orgánica quede disponible para la planta, debe sufrir el pro-

ceso de mineralización, a través del cual se forma amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-), que además corresponden a las formas de nitrógeno disponibles en los fertilizantes químicos, las que pueden ser absorbidas por las plantas. El nitrógeno puede perderse por lixiviación en forma de nitrato (NO_3^-), por volatilización en forma de amoníaco (NH_3), y por desnitrificación en las formas de óxidos nitrosos (NO_2 , NO). Estas pérdidas pueden causar daños ambientales y a la salud humana.

Una forma de disminuir las pérdidas de N, es aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno (EUN), es decir, la proporción del nitrógeno aplicado recuperada por el cultivo, con lo que se contribuye, además, a incrementar la rentabilidad del negocio. Una de las herramientas disponibles para conocer el nivel de nitrógeno de la planta es el análisis de tejido (análisis foliar), en el cual se determina el contenido

de N total. Si bien esta técnica provee resultados certeros, su mayor dificultad radica en la demora necesaria para la obtención de los resultados del análisis de laboratorio, lo que muchas veces la hace poco eficiente para cultivos anuales. Una herramienta alternativa al análisis foliar es el uso del medidor de clorofila (Figura 1), el que entrega valores correspondientes al contenido relativo de clorofila en las hojas y como se verá a continuación, se puede utilizar para estimar el estatus de nitrógeno en la planta.

Cómo opera el medidor de clorofila

El medidor de clorofila es una herramienta de diagnóstico portátil, que estima en forma instantánea el contenido relativo de este compuesto en las hojas, sin destruir el tejido. Este valor se calcula en base a la cantidad de luz transmitida por la hoja en dos longitudes de onda, en las cuales la absorbancia de luz (que es inversamente proporcional a la reflectancia) es diferente.

La máxima absorbancia, que corresponde a la mínima reflectancia, se produce en las regiones del azul y del rojo, con poca absorbancia en la región verde (mayor reflectancia) y prácticamente nula en la región del infrarrojo, donde la reflectancia es máxima (Figura 2). Por esta razón, las longitudes de onda utilizadas para medición, son las que corresponden al rojo (alta absorbancia y no afectada por caroteno) y al infrarrojo.

La luz emitida por el aparato (LED, *light-emitting diode*) corresponde a luz roja (650 nm de longitud de onda) y a luz infrarroja (940 nm de



Figura 1. Medidor de clorofila (Minolta SPAD 502) conectado a un almacenador de datos (*logger*) en funcionamiento.

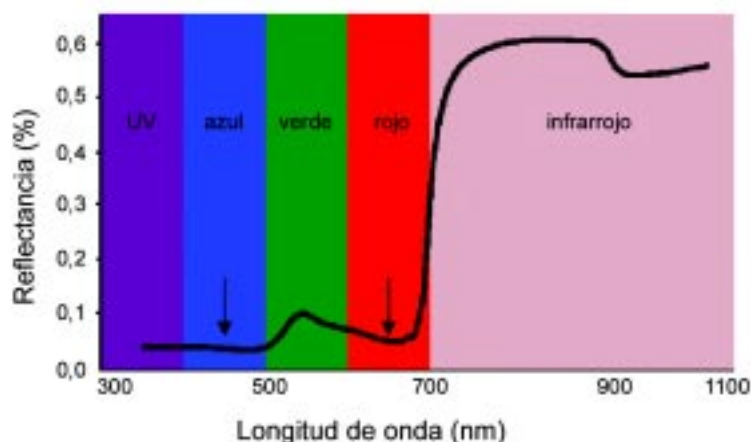


Figura 2. Firma espectral de maíz. Se observa una mayor reflectancia, que corresponde a una menor absorción, en la zona del verde y del infrarrojo. Las flechas indican una alta absorción en el azul y el rojo.

longitud de onda) (Figura 2). Esta pasa a través de la hoja, llega a un receptor SPD (*silicon photodiode*), convirtiendo la luz transmitida en una señal eléctrica. La señal es llevada a un amplificador y de ahí se convierte en una señal digital, la que es usada por un microprocesador para calcular un valor denominado SPAD, que corresponde al contenido relativo de clorofila. El valor es entregado a través de la pantalla del medidor.

El instrumento tiene la capacidad de guardar un máximo de 30 lecturas, pero es posible conectarlo a un almacenador de datos (*logger*) (Figura 1), con lo que la capacidad de almacenamiento aumenta hasta 4000 mediciones.

Clorofila y contenido de nitrógeno en la hoja

Existe una relación directa entre la lectura SPAD y el contenido de nitrógeno de la planta, ya que este último es necesario para la síntesis de clorofila y, por lo tanto, determina el nivel de verdor de las hojas y la eficiencia de los procesos fotosintéticos que se realizan en ellas. Plantas adecuadamente fertilizadas con nitrógeno presentan un color más verde en sus hojas, en comparación con aquellas sometidas a una fertilización deficiente. De hecho, la deficiencia de nitrógeno se manifiesta al comienzo, con un amarillamiento de las hojas más viejas (hojas basales), síntoma

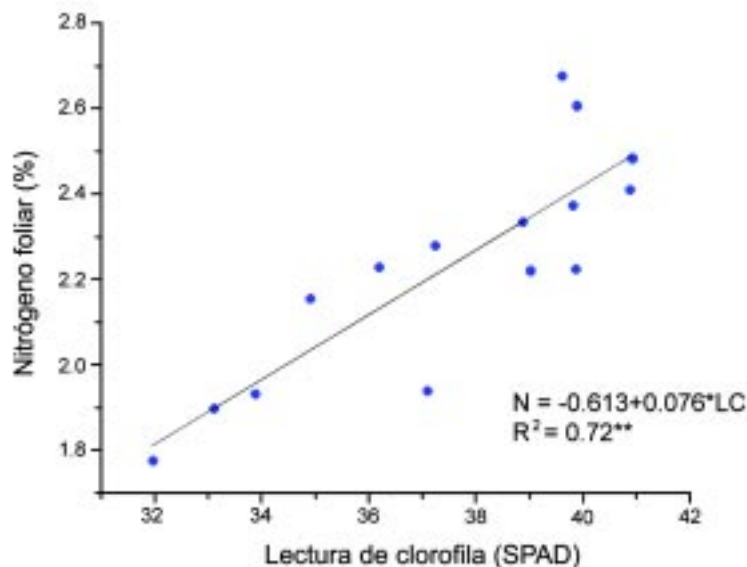


Figura 3. Relación entre lecturas de clorofila (SPAD) medidas en estado de octava hoja y contenido de nitrógeno foliar (%), Molina, 2002.

que se hace masivo cuando esta es generalizada.

Dada esta base fisiológica es posible inferir que, al medir el contenido de clorofila, se puede estimar el contenido de nitrógeno en la planta y con esto conocer el estado nutricional del cultivo, para decidir si éste requiere o no de aplicación de fertilizante nitrogenado. En un trabajo realizado por el Centro de Agricultura de Precisión de la Pontificia Universidad Católica de Chile (CAPUC), en conjunto con las empresas Huertos de Iansa y Soquimich Comercial S.A., en un cultivo de maíz dulce, en la temporada 2001-2002, se establecieron tratamientos con distintos niveles de N y se realizaron mediciones del contenido de clorofila en distintos estados vegetativos, además de muestreos de hojas, que fueron analizadas para N total, para establecer la relación existente entre ambas variables. Se determinó que al estado de octava hoja expandida, en el que normalmente se aplica la segunda dosis de N, la relación fue lineal, observándose un incremento en los niveles de N, con el aumento de la lectura de clorofila y viceversa (Figura 3). Esta relación puede ser utilizada, como se verá más adelante, para recomendar las dosis de N correspondientes a la segunda aplicación.

Ventajas del medidor de clorofila

Como una forma de revelar el potencial de esta herramienta, se presentan a continuación las ventajas de ésta:

- El medidor de clorofila es más rápido en estimar el contenido de nitrógeno que el análisis foliar tradicional.
- No rompe tejidos ni se necesita tomar muestras de hojas.
- Las muestras pueden ser tomadas frecuentemente y se pueden repetir las veces necesarias si existieran dudas respecto a los valores obtenidos.
- El contenido de clorofila puede ser medido en cualquier momento para estimar el estatus de N en la planta.
- El medidor de clorofila es una

herramienta fina en el manejo de N, reduciendo el riesgo de sobre- o subfertilizar.

- Además es una herramienta compacta y liviana, se puede ocupar bajo la lluvia, consume pocas baterías y dado que su área de medición es pequeña se puede utilizar en hojas de tamaño pequeño.

De todas maneras se considera que el medidor de clorofila es una herramienta complementaria, pues no reemplaza otros aspectos de manejo de la fertilización nitrogenada.

Factores que afectan el valor SPAD

Las lecturas entregadas por el medidor pueden ser alteradas por:

- Factores genéticos: las variedades o híbridos pueden tener por definición genética, distintos tonos de verdes, más oscuros o más claros, lo que afecta las mediciones.

- Estado de crecimiento: las plantas presentan distintas tonalidades de color verde a lo largo de su crecimiento, por lo que el efectuar las mediciones en un estado o en otro no es indiferente.

- Factores de estrés: como por ejemplo estrés hídrico, presencia de enfermedades, deficiencias nutricionales, etc., afectan los valores obtenidos.

- Factores ambientales: como temperatura, humedad, luminosidad,

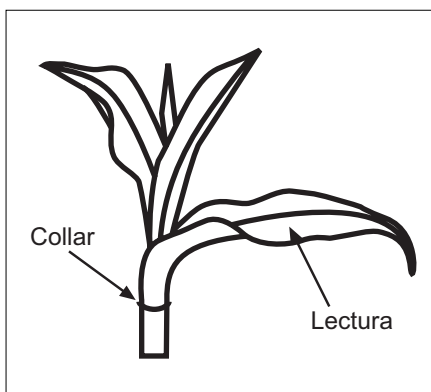


Figura 4. Cuando la octava hoja presente su collar visible, se debe muestrear en la zona indicada (adaptado de Peterson, T., T. Blackmer, D. Francis, J. Schepers. 1996. Using a chlorophyll meter to improve N management. Institute of agriculture and natural resources. Soil Resource management. Electronic version May 1996. University of Nebraska Lincoln. EEUU).

tipo de suelo, inciden en el verdor de las hojas.

Es por lo anterior que el medidor de clorofila debe ser calibrado para la especie y variedad en que se quiera utilizar y en condiciones medioambientales similares a las que el productor se enfrentará.

Cuándo se debe realizar el muestreo de clorofila

Para efectuar el muestreo de lecturas de clorofila, en plantas de maíz, se recomienda hacerlo en estado de seis a ocho hojas. La hoja a muestrear debe presentar el collar completo con una línea blanca, la que

corresponderá a una hoja madura y de buen color. No se recomienda realizar las mediciones en estados más inmaduros porque las plantas son pequeñas y todavía pueden presentar respuesta a la fertilización inicial. Por otra parte, estados más avanzados (más de seis a ocho hojas), no son utilizados porque resultan en recomendaciones de fertilización mayores, ya que se produce una subestimación de los valores de N. Además, desde el punto de vista práctico, la última aplicación de N en maíz se hace al estado de octava hoja. La zona de la hoja en que se debe tomar la lectura es la mitad en sentido longitudinal y transversal; esto es la mitad desde de la punta de la hoja al collar y, transversalmente, la mitad entre el margen de la hoja y la nervadura central, tal como muestra la Figura 4. Para otros cultivos como trigo, el tejido a muestrear es la hoja en el estado 5 de la escala de Feekes. En arroz, el muestreo se hace cada siete a diez días, comenzando aproximadamente tres semanas después de la siembra, en las hojas recientemente maduras. En remolacha se debe realizar el muestreo cuando la planta se encuentre en estado de roseta.

En el trabajo realizado por el CAPUC en maíz dulce, se efectuaron mediciones en estado de octava hoja expandida, emisión de panoja, floración y finalmente en cosecha. La mayor correlación entre nitrógeno y clorofila se determinó al estado de cosecha, pero en la práctica, ese valor no es útil, pues ya es tarde para hacer recomendaciones de fertilización. En cambio en estado de octava hoja expandida todavía es temprano en la temporada para corregir deficiencias nutricionales, por lo que conociendo el contenido de nitrógeno foliar y utilizando distintas aproximaciones, que se verán más adelante, se puede ajustar la dosis de fertilización nitrogenada.

Cómo se debe realizar el muestreo

La forma de realizar el muestreo de clorofila variará dependiendo del objetivo de las mediciones. Existen

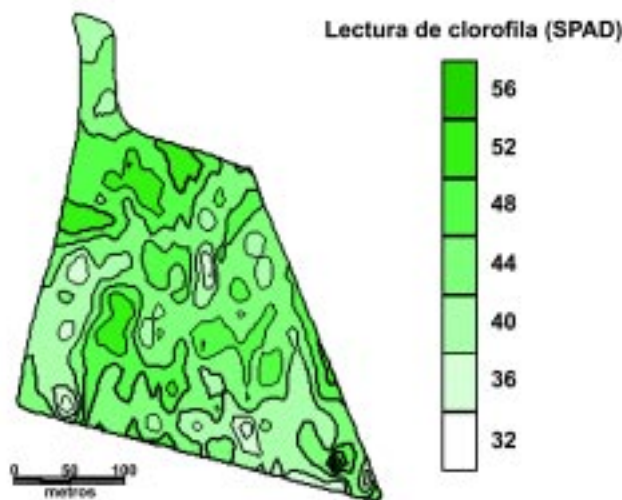


Figura 5. Variabilidad espacial del contenido de clorofila en un cultivo de maíz grano, Sagrada Familia, 2002.

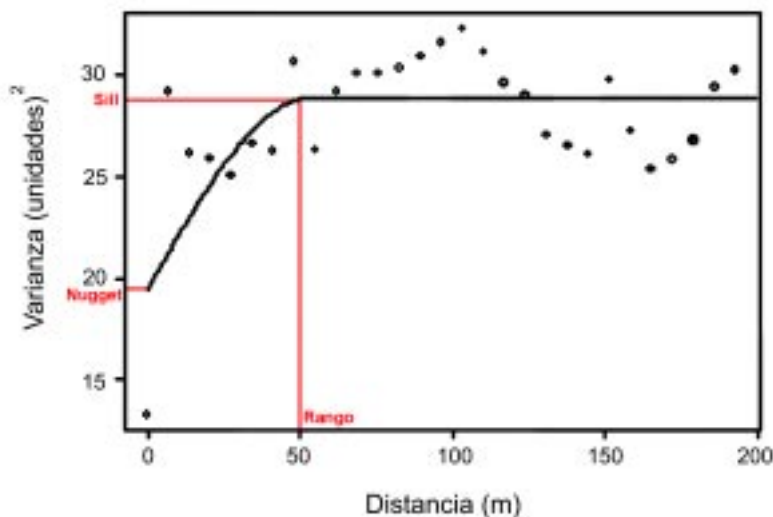


Figura 6. Variograma obtenido del análisis de dependencia espacial de clorofila en maíz grano. El punto en que se alcanza máxima varianza (*sill*) corresponde a la distancia (*rango*) bajo el cual existe dependencia espacial. La distancia usada para definir la intensidad de muestreo corresponde a la mitad del rango.

dos alternativas:

1. *Construir mapas de lecturas de clorofila:* es posible realizar un mapa con las lecturas de clorofila. Para esto el medidor de clorofila debe ser conectado a un sistema de posicionamiento global (GPS), con lo que cada lectura posee una coordenada geográfica asociada. Luego, utilizando un programa de sistema de información geográfica (SIG), se construye un mapa y se determina la variabilidad que presentan las lecturas de clorofila dentro del área de producción, lo que refleja como consecuencia, la variabilidad que presenta el nitrógeno en el cultivo. De esta manera se pueden identificar sectores subfertilizados y otros posiblemente sobrefertilizados. En la Figura 5 se muestra la variabilidad espacial de los valores de clorofila obtenidos de un estudio de campo realizado por el CAPUC.

La intensidad de muestreo necesaria para mapear las lecturas de clorofila depende de su dependencia espacial. Esta última podría definirse

como la distancia a la cual, aún existe cierta relación (parecido) entre los valores de clorofila observados en las plantas muestreadas. Dicho de otra manera, si se toman muestras separadas por pocos metros, se espera que los valores de clorofila obtenidos sean más parecidos que aquellos observados en muestras separadas por distancias mayores. Cuando existe dependencia espacial entre los valores de clorofila es posible interpolarlos para obtener datos en aquellos puntos no muestreados. Pero, ¿hasta qué distancia se podrían tomar muestras para que estas tengan relación y se pueda interpolar?, esa distancia es la que indica la dependencia espacial. Por ejemplo, en maíz para grano, se determinó que la dependencia espacial era de 20 m, lo que indicaría que se deben tomar alrededor de 25 muestras por hectárea si se desea mapear.

En la Figura 6, se presenta un variograma, es decir la relación entre la distancia entre muestras y la varianza entre lecturas de clorofila a la

octava hoja, en maíz para grano. En este gráfico se pueden identificar tres componentes que ayudan a interpretar el variograma. Uno es el *nugget*, que corresponde a la varianza existente a una distancia entre muestras de cero. A medida que la distancia entre los puntos muestreados aumenta, la diferencia o varianza entre las lecturas de clorofila aumenta, hasta llegar a un punto en que se alcanza un máximo de varianza. A ese punto se le llama *sill*, y la distancia a la cual se alcanza ese punto se denomina *rango*. El rango indica la distancia máxima a la cual se alcanza dependencia espacial. Cuando una variable presenta dependencia espacial, es posible hacer una interpolación de los datos por el método de *kriging*, obteniéndose mapas, como el presentado en la Figura 5.

2. *Obtener promedios de lecturas de clorofila:* si este es el objetivo, no es necesario conectar el medidor de clorofila a un GPS. El muestreo se debe hacer a más de 20 m entre muestras, para que los datos sean independientes. Se recomienda recorrer el potrero en forma de zig-zag o en equis, tomando una muestra de al menos 30 lecturas.

Cómo utilizar el valor obtenido

Los valores de clorofila por si solos no permiten tomar ninguna decisión de fertilización, por lo cual existen dos aproximaciones para realizar una recomendación de fertilización nitrogenada en base a las lecturas SPAD obtenidas :

1. *Franjas de referencia:* Esta metodología consiste en establecer franjas o áreas pequeñas de referencia en que se aplica una alta dosis de nitrógeno a las plantas, para desarrollar el máximo de concentración de clorofila (Figura 7).

Estas deben disponerse en sectores representativos del terreno y lo más homogéneos posibles, para eliminar factores ambientales que pudiesen alterar el contenido de clorofila en las hojas, como lo son las zonas de pobre o mal drenaje, bajos, pendiente exce-



Figura 7. Establecimiento del cultivo con franjas de referencia y sectores con "partidor".

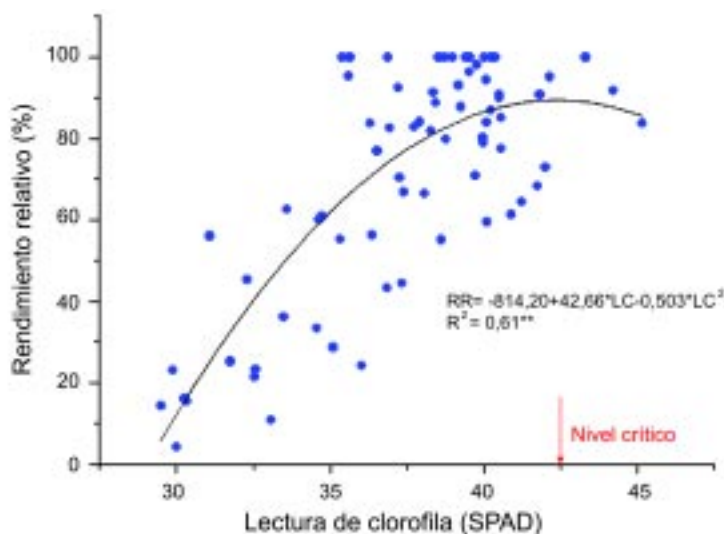


Figura 8. Relación entre lectura de clorofila a la 8ª hoja y rendimiento relativo en maíz dulce. El máximo rendimiento obtenido correspondió a un 100%. La flecha indica el nivel crítico (NC), que corresponde a 42.

siva, etc. El resto del cultivo debe ser fertilizado con una dosis de N baja al momento de la siembra (“partidor”), normalmente un 20 a 30 % de la dosis total planificada para la temporada, y aplicaciones parcializadas posteriores, en función de las lecturas de clorofila. El número de parcialidades dependerá de los requerimientos del cul-

tivo y la disponibilidad de equipos para realizar las aplicaciones en los momentos requeridos. Se recomienda tomar 30 lecturas de cada sector, es decir, 30 en las franjas de referencia y 30 en el resto del campo. Con esto se obtienen dos promedios, los cuales son utilizados para calcular el índice de suficiencia (Ecuación 1).

Ecuación 1

$$\text{Índice de suficiencia} = \frac{\text{Promedio lecturas de campo}}{\text{Promedio lecturas franjas de referencia}} * 100$$

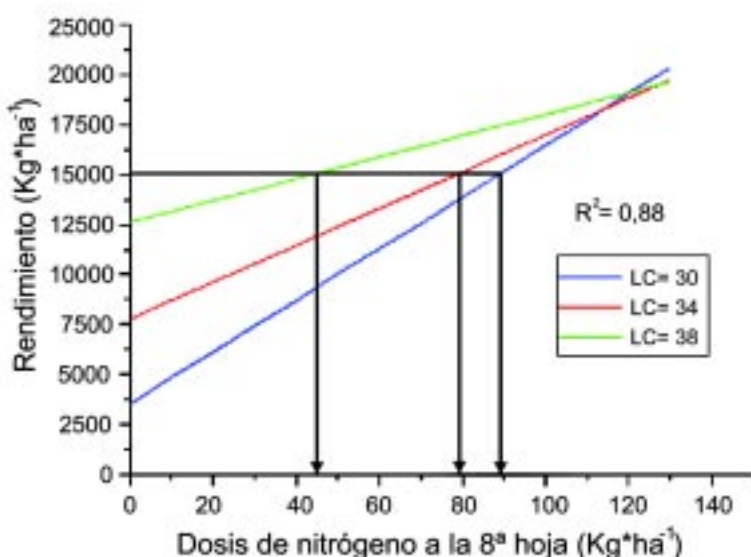


Figura 9. Modelo para la determinación de la segunda dosis de N a la octava hoja en maíz dulce en función del rendimiento esperado y las lecturas de clorofila. Por ejemplo, para alcanzar un rendimiento de 15.000 kg, las dosis de N, varían en función de los contenidos de clorofila.

La literatura señala que el obtener un índice de suficiencia menor a 95% indica que hay deficiencia de nitrógeno, por lo que se debe hacer una aplicación equivalente a un tercio o un cuarto de la dosis total, dependiendo del número de parcialidades establecidas. Después de 4 a 6 días de la fertilización se debe realizar otro muestreo para asegurarse de que no exista déficit de nitrógeno.

2. Nivel Crítico: Esta metodología se basa en la estimación de un nivel crítico (NC) de clorofila en la hoja utilizando diversos procedimientos. El nivel crítico separa las plantas en dos grupos: a) aquellas que presentan valores SPAD menores al NC, en que la probabilidad de respuesta a la aplicación de N es alta y b) aquellas que presentan valores de clorofila superiores al NC, en que la probabilidad de respuesta al N es baja (Figura 8). En este caso, ajustando un modelo de regresión del tipo cuadrático se procedió a calcular el nivel crítico de clorofila a la 8ª hoja, para maíz dulce, determinándose que su valor era de 42 unidades SPAD.

Para lecturas de clorofila menores al valor crítico será necesario entonces aplicar nitrógeno. Para esto es posible utilizar un modelo similar al presentado en la Figura 9, que estima la segunda dosis de fertilizante nitrogenado a aplicar, en base al rendimiento esperado y al promedio de lecturas de clorofila medidos en el estado de octava hoja.

Comentarios finales

El medidor de clorofila es una herramienta de mucho potencial para alcanzar una mayor eficiencia productiva y un mejor cuidado de los recursos naturales. Al aplicar sólo la cantidad de nitrógeno que el cultivo demanda, en el momento adecuado, se reducen las pérdidas de este elemento del sistema suelo-planta, disminuyendo la contaminación de las aguas subterráneas y superficiales y la acidificación de suelos, aumentando la eficiencia de uso de nitrógeno, lo que permite obtener una mayor eficiencia productiva y mejores rendimientos. **AF**