

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA

Escuela de Ingeniería Forestal



Proyecto final de graduación para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería
Forestal.

Utilización de la espectro radiometría para el estudio del estado nutricional y fisiológico en
plántulas de *Jatropha curcas* L. (tempate) a nivel de vivero

Meybell Carranza Solano

Profesor guía

Dagoberto Arias Aguilar Ph.D

Cartago, Costa Rica

I Semestre 2014

Constancia de Aprobación

Utilización de la espectro radiometría para el estudio del estado nutricional y fisiológico en plántulas de *Jatropha curcas L.* (tempate) a nivel de vivero

Proyecto final de graduación para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Forestal.

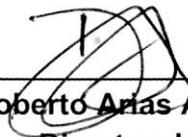
Jurado Examinador



Casia Soto Montoya, M. Sc



Lic. Heileen Aguilar Arias



Dagoberto Arias Aguilar, Ph.D.
Director de tesis

Dedicatoria

Le dedico esta tesis con todo mi amor a mis padres, Hernán y Lidieth, quienes me dieron la vida y con todo su esfuerzo día a día luchan por darme lo mejor.

Agradecimientos

Esta investigación se realizó con el financiamiento del Centro Nacional de Alta Tecnología (CeNAT), un agradecimiento especial a Heileen Y Lloyd por su gran ayuda en las mediciones de campo y a Heileen por la revisión del documento.

Al personal de la Estación Experimental Fabio Baudrit por permitir realizar el experimento en sus instalaciones, especialmente al Ing. Jesús Hernández y a German Pérez.

Al proyecto "Regulation of the flowering of *Jatropha curcas* to improve the sustainability of biofuel feedstock production by farmers in Latin America and the Caribbean" por facilitar las mediciones y ayuda con los trabajos de medición en el campo.

A Dagoberto Arias por ser el profesor guía de este proyecto y por su gran ayuda profesional.

A Elemer Briceño por su valiosa ayuda con las mediciones de campo.

A Casia Soto por la revisión del documento, por toda su ayuda profesional y sus buenos consejos.

A Andrés Arguedas por su gran ayuda en los trabajos de laboratorio.

A mi familia, Ángel, Daniela, Angie y Marleny por estar siempre a mi lado y motivarme a seguir adelante.

A Sebas por estar siempre conmigo y por sus valiosos consejos que me impulsan a ser mejor cada día y seguir siempre adelante.

A todos los que de alguna u otra manera estuvieron involucrados en la realización de este proyecto, gracias de corazón.

Índice General

Constancia de Aprobación

Dedicatoria

Agradecimientos

| | Página |
|---|---------------|
| CAPITULO I: Artículo Científico..... | 1 |
| Resumen..... | 2 |
| Palabras Clave..... | 3 |
| Abstract..... | 3 |
| Key Words..... | 4 |
| Introducción..... | 4 |
| Material y Métodos..... | 6 |
| Especie en estudio..... | 6 |
| Sitio..... | 6 |
| Diseño experimental..... | 6 |
| Análisis estadístico..... | 7 |
| Tratamientos..... | 7 |
| Medición de variables..... | 7 |
| Respuesta espectral..... | 8 |
| Determinación de clorofila con el SPAD..... | 8 |
| Medición de la concentración de elementos a nivel foliar..... | 8 |
| Determinación del área foliar específica..... | 9 |
| Resultados y Discusión..... | 9 |
| Respuesta espectral..... | 9 |
| Valores de clorofila con el SPAD..... | 14 |
| Análisis de suelos y foliar..... | 16 |

| | |
|---|----|
| Correlación de las variables..... | 20 |
| Valores del SPAD versus nitrógeno foliar..... | 20 |
| Valores del SPAD versus otros nutrientes..... | 21 |
| Valores del SPAD versus área foliar específica..... | 22 |
| Valores del SPAD versus NDVI..... | 22 |
| Valores NDVI versus nitrógeno foliar..... | 22 |
| NDVI versus otros nutrientes..... | 22 |
| Conclusiones..... | 23 |
| Recomendaciones..... | 24 |
| Agradecimientos..... | 25 |
| Referencias bibliográficas..... | 25 |

Índice de figuras

| | Página |
|---|---------------|
| Figura 1: Valor de la firma espectral de <i>Jatropha curcas</i> registrada en el mes de (a) octubre (b) noviembre y (c) diciembre, bajo diferentes tratamientos (sustratos)..... | 9 |
| Figura 2: Comportamiento del valor SPAD según el tratamiento durante los tres meses de medición..... | 15 |
| Figura 3: Diferencias estadísticas de los valores del SPAD para el mes de diciembre en <i>Jatropha curcas</i> , bajo diferentes condiciones de sustrato (barras verticales indican el error estándar)..... | 16 |
| Figura 4: Curvas de absorción de nutrientes de <i>Jatropha curcas</i> , bajo diferentes condiciones de fertilidad de sustrato..... | 18 |
| Figura 5: Valores del SPAD versus contenido de nitrógeno en las hojas de <i>Jatropha curcas</i> | 20 |
| Figura 6: Valores del SPAD versus contenido de (a) Fósforo y (b) Azufre en las hojas de <i>Jatropha curcas</i> | 21 |
| Figura 7: NDVI versus contenido de (a) Fósforo y (b) Zinc en las hojas de <i>Jatropha curcas</i> | 23 |

Índice de cuadros

| | Página |
|--|--------|
| Cuadro 1: Diferencias estadísticas de la firma espectral de <i>Jatropha curcas</i> entre tratamientos para el mes de octubre..... | 11 |
| Cuadro 2: Diferencias estadísticas de la firma espectral de <i>Jatropha curcas</i> entre bloques para el mes de noviembre..... | 12 |
| Cuadro 3: Diferencias estadísticas de la firma espectral de <i>Jatropha curcas</i> entre tratamientos para el mes de noviembre..... | 12 |
| Cuadro 4: Diferencias estadísticas de la firma espectral de <i>Jatropha curcas</i> entre bloques para el mes de diciembre..... | 13 |
| Cuadro 5: Diferencias estadísticas de la firma espectral de <i>Jatropha curcas</i> entre los meses de estudio | 14 |
| Cuadro 6: Resultados del análisis de varianza de los valores del SPAD registrados para <i>Jatropha curcas</i> , bajo diferentes tratamientos (sustratos)..... | 15 |
| Cuadro 7: Análisis químico de los tratamientos (sustratos) utilizados para el desarrollo de <i>Jatropha curcas</i> | 16 |

Capítulo 1

Artículo Científico

Utilización de la espectro radiometría para el estudio del estado nutricional y fisiológico en plántulas de *Jatropha curcas L.* (tempate) a nivel de vivero

Utilización de la espectro radiometría para el estudio del estado nutricional y fisiológico en plántulas de *Jatropha curcas* L. (tempate) a nivel de vivero

Meybell Carranza Solano

Resumen

El cultivo de *Jatropha curcas* (tempate) en Costa Rica ha tomado importancia en los últimos años debido a su gran potencial para la producción de biodiesel por la elevada cantidad de aceite que contienen sus semillas. Para lograr un adecuado manejo de la producción de este cultivo es necesario conocer todas las prácticas agronómicas y entre ellas su estado nutricional; tradicionalmente se ha utilizado diversas técnicas para decisiones sobre nutrición, pero la mayoría no son capaces de satisfacer las necesidades en tiempo real, de manera rápida y no destructiva. El presente trabajo propone la validación de la espectro radiometría para la detección de deficiencias nutricionales en *Jatropha curcas*. La investigación se llevó a cabo en la sede de investigación de la Universidad de Costa Rica “Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno”, donde se establecieron las plantas de tempate bajo un diseño experimental de bloques completos al azar, con cinco bloques, cada uno consistió de cuatro unidades experimentales de 16 árboles en macetas cada uno, de los cuales se tomaron como árboles efectivos para evaluaciones y mediciones fisiológicas los cuatro centrales, para un total de 80 árboles evaluados en todo el experimento durante tres períodos de medición (octubre, noviembre y diciembre). Para simular diferentes condiciones de nutrición, se utilizaron cuatro tratamientos que consistieron en distintos sustratos con propiedades físicas y químicas consideradas contrastantes, esto es de un sustrato de baja fertilidad al sustrato de mejor fertilidad. A los 80 árboles se les realizó la medida de respuesta espectral, la determinación de clorofila con el SPAD, la medición de la concentración de elementos a nivel foliar y el cálculo del área foliar específica, en las tres etapas de medición. Los datos se analizaron a través de un análisis de varianza y mediante pruebas de comparación múltiple usando Tukey ($\alpha=0,05$) y las relaciones entre las variables se hicieron a través de un análisis de correlación múltiple (en su mayoría utilizando el coeficiente de correlación de Pearson para relaciones lineales). Con respecto a la respuesta espectral, el mes de octubre presentó diferencias significativas entre tratamientos, en noviembre y en diciembre se presentaron diferencias tanto entre bloques como entre tratamientos. Los valores del SPAD mostraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos en el mes de diciembre. Se obtuvo una relación lineal positiva de las lecturas del SPAD con el contenido de nitrógeno foliar ($r=0,85$), con el azufre ($r=0,70$) y con el fósforo ($r=0,75$). No se encontró ninguna relación significativa del área foliar específica con los valores del SPAD ($r=0,13$) y el contenido de nitrógeno en las hojas ($r=0,42$), se encontraron bajas correlaciones entre el NDVI (Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada) con los valores SPAD ($r=0,53$) y con el contenido de nitrógeno ($r=0,53$). Por último se encontró una correlación positiva del NDVI con el fósforo ($r=0,75$) y el zinc ($r=0,80$) de las hojas. Por lo tanto se puede concluir que la utilización de técnicas espectrales es viable para la evaluación del estado nutricional y fisiológico de las plantas de

Jatropha curcas lo cual sugiere continuar las investigaciones mediante experimentos del elemento faltante y de mayor control de las deficiencias nutricionales para validar el uso de la espectro radiometría.

Palabras clave: *Jatropha curcas* L., Costa Rica, firma espectral, espectro radiometría, fotosíntesis, clorofila, SPAD, nutrientes foliares.

Abstract

In Costa Rica, cultivation of *Jatropha curcas* has become more important in recent years due to the great potential of the oil inside the seeds of this species for biodiesel production. For proper handling of this cultivation is necessary to become familiar with all the agronomic practices including the plant's nutritional status. Traditionally, different techniques have been used to make decisions about nutrition. However, most techniques are not able to quickly meet the needs in real time, and in a harmless way. This research proposes a validation of the spectral radiometry for the detection of nutritional deficiencies in *Jatropha curcas*. The study was held at the research center of the University of Costa Rica called *Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno*. In this experimental station, the *Jatropha curcas* plants were organized into an experimental design of five randomized complete blocks; each block had four experimental units, each unit with 16 trees in individual pots. For evaluations and physiological measurements, just the four central trees were considered effective. A total of 80 trees were evaluated throughout the experiment during three measurement periods (October, November, and December). In order to simulate different nutritional conditions, four treatments were implemented. Each treatment had different substrates, on a scale from the lowest fertility substrate to the higher fertility substrate, with contrasting physical and chemical properties. The measure of the spectral response, the chlorophyll determination through SPAD, the measurement of the concentration of elements in the leaves, and the determination of the specific leaf area were studied for all, 80, trees in the three stages of measurement. Data were analyzed through an Analysis of Variance (ANOVA) and a multiple comparison tests using Tukey's method ($\alpha=0,05$). Relationships between variables were created through a multiple correlation analysis (mostly using the Pearson correlation coefficient for linear relationships). Regarding the spectral response, October showed significant differences between treatments; November and December presented differences between both, blocks and treatments. In the statistics, the SPAD values showed important differences between treatments in December. A positive linear relationship could be seen between the SPAD readings and leaf nitrogen concentration ($r=0,85$), sulfur ($r=0,70$), and phosphorus ($r=0,75$). No significant relationship in the specific leaf area was found between the SPAD values ($r=0,13$) and the nitrogen concentration in the leaves ($r=0,42$). Low correlations were found between the Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) with SPAD values ($r=0,53$) and the nitrogen concentration ($r=0,53$). Lastly, a positive correlation was found between the NDVI and phosphorus ($r=0,75$) and zinc ($r=0,80$) in the leaves. Therefore the use of spectral techniques is viable for the assessment of nutritional and physiological status of the *Jatropha curcas* plants. This

conclusion suggests further research through experiments about the missing element and with better control of nutritional deficiencies to validate the use of spectral radiometry.

Key words: *Jatropha curcas L.*, Costa Rica, spectral signature, spectral radiometry, photosynthesis, chlorophyll, SPAD, foliar nutrients.

Introducción

La jatrofa o tempate (*Jatropha curcas L.*) es una especie nativa de Mesoamérica, actualmente se encuentra distribuida en los trópicos y subtrópicos de diversas regiones del mundo. La amplia distribución de esta especie se debe al rápido crecimiento que desarrolla, por lo que es utilizada en cercas vivas y como controladora de erosión debido a la habilidad que tiene para crecer en sitios marginales. Además, las semillas contienen un aceite de un 37% a 40% cada semilla, con el cual se puede producir un biodiesel de alta calidad (Loaiza *et al.* 2012).

Ante un escenario creciente de demanda energética, las proyecciones anticipan que para Costa Rica las fuentes tradicionales de energías limpias del país no podrán crecer más a partir del 2032; de aquí la importancia de la implementación de biocombustibles como fuente de energía. Los biocombustibles poseen además, una ventaja sobre los combustibles fósiles, como lo es, la posibilidad de generar energía carbono neutro. A nivel mundial existe una amplia variedad de especies vegetales para la producción de biocombustibles y en particular de biodiesel, pero presentan sus diferencias en cuanto a productividad, calidad del aceite, adaptación al cambio climático y la oferta de otros servicios ecosistémicos, por ejemplo la capacidad para el aumento y mantenimiento del secuestro de carbono (C) fijado en la biomasa y en el suelo (Arias 2013). Por tanto, se hace necesario el estudio y análisis de las diferentes especies potenciales para biocombustible especialmente en su producción y manejo de cosecha.

En las prácticas agronómicas para cualquier cultivo es de vital importancia conocer el estatus nutricional de la planta para optimizar su productividad. Tradicionalmente se ha recurrido a metodologías para tomar decisiones sobre el manejo de la fertilidad, tales como análisis de suelo, síntomas visuales de deficiencias nutricionales (Barbazán 1998), análisis de tejidos, curvas de absorción, muestreo de plantas en campo y ensayos analíticos en laboratorio, las cuales generan resultados relativamente fiables; sin embargo, no son capaces de satisfacer las necesidades en tiempo real (teledetección o uso de imágenes con capas hiper o multiespectrales), de manera rápida y no destructiva (Sims & Gamon 2002). Por esta razón, se han buscado nuevas técnicas indirectas para evaluar el estado nutricional de una planta.

Algunos instrumentos recientes como el SPAD fueron diseñados para estimar las concentraciones de nitrógeno a nivel foliar. Otras técnicas más avanzadas como la teledetección y el sensoramiento

remoto por medio de datos hiperespectrales permiten obtener información del estado fisiológico de una planta en tiempo real, lo que permite relacionar información espectral con la concentración de nitrógeno y contenido de clorofila (ASD 1999). Además, la medición de la reflectancia espectral proporciona un método rápido y no destructivo para la estimación de la concentración de otros pigmentos como los carotenoides (Sims y Gamon 2002) y constituye una herramienta útil para la identificación rápida y a bajo costo, por ejemplo de los distintos tipos de cobertura del suelo o su estado nutricional (Christian & Krishnappa 2008), de esta manera se puede lograr una agricultura de mayor precisión, con lo que se puede implementar el uso de nuevos cultivos en futuros mercados (ASD 1999).

Los datos hiperespectrales permiten la identificación y el modelado de parámetros biofísicos de la planta (Thenkabail *et al.* 2004), debido a que la reflectancia y las características de absorción en bandas estrechas están relacionadas con la relación suelo-agua-planta de los cultivos (Strachan *et al.* 2002), lo que permite la detección de estrés en las plantas (Carter 1998), así como su rendimiento. Por lo tanto se vuelve fundamental comprender la fisiología del cultivo y en especial sus características de pigmentación, de manera que se note el aspecto de una planta típica cuando la absorción de la clorofila empieza a disminuir, ya sea por senescencia o porque se encuentra bajo estrés.

Aproximadamente el 28% de la energía absorbida por la planta es utilizada en la fotosíntesis y en la conversión de compuestos orgánicos de alta energía. Las propiedades ópticas de las hojas en la región de la radiación fotosintéticamente activa depende de factores tales como condiciones de la radiación, especie, espesor de la hoja, estructura de la superficie de la hoja, clorofila, contenido de carotenoides, contenido de materia seca por unidad de área y estructura interna (Ross 1981).

Una herramienta sumamente eficiente para evaluar la nutrición de un cultivo es el análisis vegetal, debido a que el contenido de nutrientes en la planta es un valor que resulta de la interacción entre el cultivo, el ambiente y el manejo. Con esta herramienta se puede realizar un seguimiento y registro en etapas tempranas del ciclo de los cultivos, mediante el cual el agricultor puede determinar si se requiere de tratamientos correctivos de fertilización (Correndo y García 2012).

El presente trabajo busca validar el uso de la espectro radiometría para la detección de deficiencias nutricionales en plántulas de *Jatropha curcas* bajo diferentes condiciones de fertilidad de sustrato, a partir de la obtención de su firma espectral, la medición de las concentraciones de los elementos a nivel foliar y la determinación indirecta de clorofila con el SPAD.

Material y Métodos

Especie en estudio. El tempate (*Jatropha curcas*) pertenece a la familia de las euphorbiáceas, sus zonas óptimas de desarrollo son aquellas que presentan temperaturas medias entre los 20 y 28°C; sin embargo, en climas tropicales puede resistir hasta 35°C en siembra totalmente expuesta al sol, las precipitaciones ideales van de los 250 a los 600 mm anuales y es tolerante a periodos de sequía. El tempate usualmente se desarrolla en suelos áridos y semiáridos y es altamente susceptible a inundaciones, en sistemas de producción comercial requiere de suelos profundos, bien estructurados y con buen drenaje, para que el sistema radicular pueda desarrollarse y logre satisfacer las necesidades nutricionales. Además, se deben evitar suelos muy arcillosos (con más del 40% de arcilla), superficiales (menor a 20 cm), con humedad constante, pobre aireación y mal drenaje. Asimismo, se recomienda un pH entre seis y siete y se debe realizar un análisis previo al establecimiento de las plántulas para conocer las condiciones nutricionales del cultivo (Loaiza *et al.* 2012).

Sitio. La investigación se llevó a cabo en la sede de investigación de la Universidad de Costa Rica “Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno (EEAFB)”, ubicada en el Distrito San José de Alajuela (2 km oeste de la iglesia católica en Barrio San José, carretera hacia Atenas), a 840 m.s.n.m. El promedio de precipitación anual es de 1940 mm distribuidos de mayo a noviembre y el promedio anual de temperatura ambiente es de 22°C. En este lugar, se acondicionó un área de 25 metros cuadrados, ubicado en las coordenadas CRTM05 (x, y): (461476, 1112970), en el cual se establecieron las plántulas de tempate mediante propagación vegetativa por estacas en macetas de 20 cm de ancho y 20 cm de altura, distanciadas uniformemente para lo que se dejó un espacio de 20 cm entre cada unidad experimental. Cada maceta fue llenada con un volumen de suelo similar.

Diseño experimental. El diseño experimental utilizado fue un arreglo de bloques completos al azar. Se establecieron cinco bloques completos para probar el vigor de la especie *Jatropha curcas* en función de la calidad del sustrato, cada bloque consistió de cuatro unidades experimentales de 16 árboles cada uno, de los cuales se tomaron como árboles efectivos para evaluaciones los cuatro centrales, para un total de 80 árboles en el experimento. Todo el material fue preparado uniformemente para un estricto control experimental y durante el ensayo se llevó el control de la igualdad en las condiciones de manejo (mismo riego, control de malezas). La decisión de formar bloques obedeció a las condiciones de campo, considerando que en la cercanía había árboles de *Moringa oleífera* Lam. (moringa) los cuales por su rápido crecimiento podían ejercer un efecto de sombra no controlado.

Análisis estadístico. La base de datos de las mediciones fue evaluada mediante gráficos Box Plot para ver la consistencia de los valores. Los datos de respuesta espectral y mediciones de clorofila con el SPAD se analizaron a través de análisis de varianza y mediante pruebas de comparación múltiple usando Tukey ($\alpha=0,05$) para determinar diferencias entre bloques y entre tratamientos. Para el caso de la respuesta espectral, los datos se procesaron con el software View Spec Pro y posteriormente se realizó el análisis estadístico. Las relaciones entre las lecturas del SPAD y respuesta espectral (métodos indirectos), así como el análisis foliar (método directo) se analizaron junto con las variables de vigor a través de un análisis de correlación múltiple. Todos los datos fueron analizados mediante el programa estadístico InfoStat. En el caso de las correlaciones se evaluaron los supuestos de linealidad y uniformidad de residuos; y en el caso del ANDEVA se evaluó la homocedasticidad de las varianzas.

Tratamientos. La especie *Jatropha curcas* fue manejada bajo condiciones normales de producción de plantas en vivero. Los tratamientos consideraron la prueba de cuatro sustratos con características físicas y químicas contrastantes:

- 1) Sustrato proveniente de un suelo ultisol de Pérez Zeledón.
- 2) Sustrato proveniente de la Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit con apariencia de ser un sustrato con condiciones degradadas.
- 3) Sustrato normalmente utilizado en el vivero de la Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit, combinado con granza de arroz.
- 4) Combinación del 50% del sustrato utilizado en la Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit y 50% de lombri-compost.

Una muestra homogénea y representativa de cada sustrato fue enviada al Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica (CIA-UCR) para su correspondiente análisis químico completo, en el cual se utilizó KCI-Olsen Modificado como solución extractora. Este fue realizado entre el 14 y 24 de febrero del año 2014.

Medición de variables. Por razones de ganancia en tiempo se utilizó la técnica de propagación vegetativa por estacas para el establecimiento de las plántulas, estas fueron cortadas de una misma planta madre de tempate, de la accesión “Ecuador” (del Banco de Accesiones del Proyecto *Jatropha* c. en la EEAFB) y se les aplicó ácido indol butírico de la marca “Ever Green” con el fin de estimular un rápido crecimiento de las raíces. Drummond *et al.* (1984) sugieren una longitud de las estacas para *Jatropha curcas* de 30 a 40 cm, razón por la cual fueron cortadas de 30 cm lo cual asegura una cantidad suficiente de entrenudos de al menos siete. La siembra se realizó el 23 de agosto del año 2013. A partir del primer rebrote de hojas con buen desarrollo de la lámina foliar se realizaron las mediciones de las distintas variables. La respuesta espectral, la determinación de clorofila con el SPAD, la colecta de hojas para el análisis químico y la determinación de su área foliar, se realizaron

específicamente en las siguientes fechas: 22 de octubre, 12 de noviembre y 12 de diciembre del 2013. Para el período inicial se verificó la existencia de un sistema radical desarrollado en las plantas del ensayo.

Respuesta espectral: Esta medida se realizó durante los tres períodos de medición, en las fechas especificadas anteriormente, se utilizó el espectroradiómetro facilitado por el Centro Nacional de Alta Tecnología (CeNAT), modelo Field Spec Hand Held 2 de la marca ASD ®, el cual captura longitudes de onda desde los 325 nm hasta los 1075 nm. El espectroradiómetro fue ajustado con una fuente interna de luz, con el fin de garantizar una constancia lumínica y excluir la luz del ambiente. Las mediciones se efectuaron en cuatro hojas por planta para las cuatro plantas centrales en cada bloque.

La información generada con el espectroradiómetro fue procesada a través de índices. Según Bastiaanssen (1998) los índices de vegetación tratan de estimar el estado de crecimiento de un cultivo. Un índice de vegetación ampliamente utilizado en las aplicaciones de la técnica de sensores remotos es el NDVI (Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada) el cual se obtiene de la relación entre la banda del infrarrojo y la banda del rojo del espectro electromagnético, su definición es:

$$NDVI = \frac{(R800 - R680)}{(R800 + R680)} \quad (\text{Rouse } et al. 1974)$$

Determinación de clorofila con el SPAD: Esta medida se realizó durante tres meses, en las fechas ya indicadas, con el SPAD-502 (Konica Minolta ®) disponible en la Escuela de Ingeniería Forestal del ITCR. Se realizó la medición en una hoja de cada una de las cuatro plantas centrales en cada unidad experimental. Las mismas hojas fueron colectadas y cortadas a la mitad para el análisis de tejidos.

Medición de la concentración de elementos a nivel foliar: Se colectó una hoja por cada planta central de cada unidad experimental, luego fue cortada por la mitad. Estas hojas escogidas al azar se homogenizaron para obtener una muestra compuesta y fueron enviadas al laboratorio del CIA-UCR para el análisis completo de nutrientes en los tejidos. En total se obtuvieron cuatro muestras correspondientes a cada uno de los tratamientos (sustratos). Para el acondicionamiento de las muestras recolectadas, estas fueron guardadas en bolsas de papel rotuladas con el fin de favorecer la pérdida de humedad y evitar el deterioro antes de ser enviadas al laboratorio, lo anterior según lo recomendado por Campbell y Plank (2000).

Determinación del área foliar específica: En las fechas indicadas se tomó una maceta por parcela, todas las hojas de cada planta fueron cortadas y mediante el software WINFOLIA se determinó su área foliar. Posteriormente, fueron secadas en horno a 80°C durante 48 horas hasta

llegar a peso anhidro para determinar su peso seco. El área foliar se obtuvo mediante la siguiente

$$\text{fórmula: } AFE(\text{cm}^2/\text{g}) = \frac{\text{Área foliar (cm}^2\text{)}}{\text{Peso seco (g)}}$$

Resultados y discusión

Respuesta espectral

De acuerdo con Reynolds *et al.* (2013), la reflectancia espectral de las hojas a diferentes longitudes de onda produce una firma espectral única que es influenciada por las propiedades ópticas de la planta. En la figura 1 se muestran las curvas de las firmas espectrales registradas para la especie *Jatropha curcas* en los meses de octubre, noviembre y diciembre en cuatro tipos de sustrato. Se observa un comportamiento normal de la curva espectral para vegetación sana tal como lo reportan Chuvieco (2008), Gilbert *et al.* 1997, Sá *et al.* 1999, Kalaitzidis *et al.* 2008 y Araus *et al.* 2001. Además, se distingue que en octubre se dio un comportamiento uniforme de las curvas en el eje "y", por lo cual se puede deducir que no hay un desplazamiento notable en los distintos tratamientos. En noviembre se observó un desplazamiento en el eje "y" en los rangos del verde y el infrarrojo hasta mostrarse más distantes en el mes de diciembre para los mismos rangos. De acuerdo con Taiz y Zeiger (2002) los patrones de reflectancia varían durante el crecimiento del cultivo debido a que la misma es influenciada por la morfología de la hoja y por el índice del área foliar de la planta.

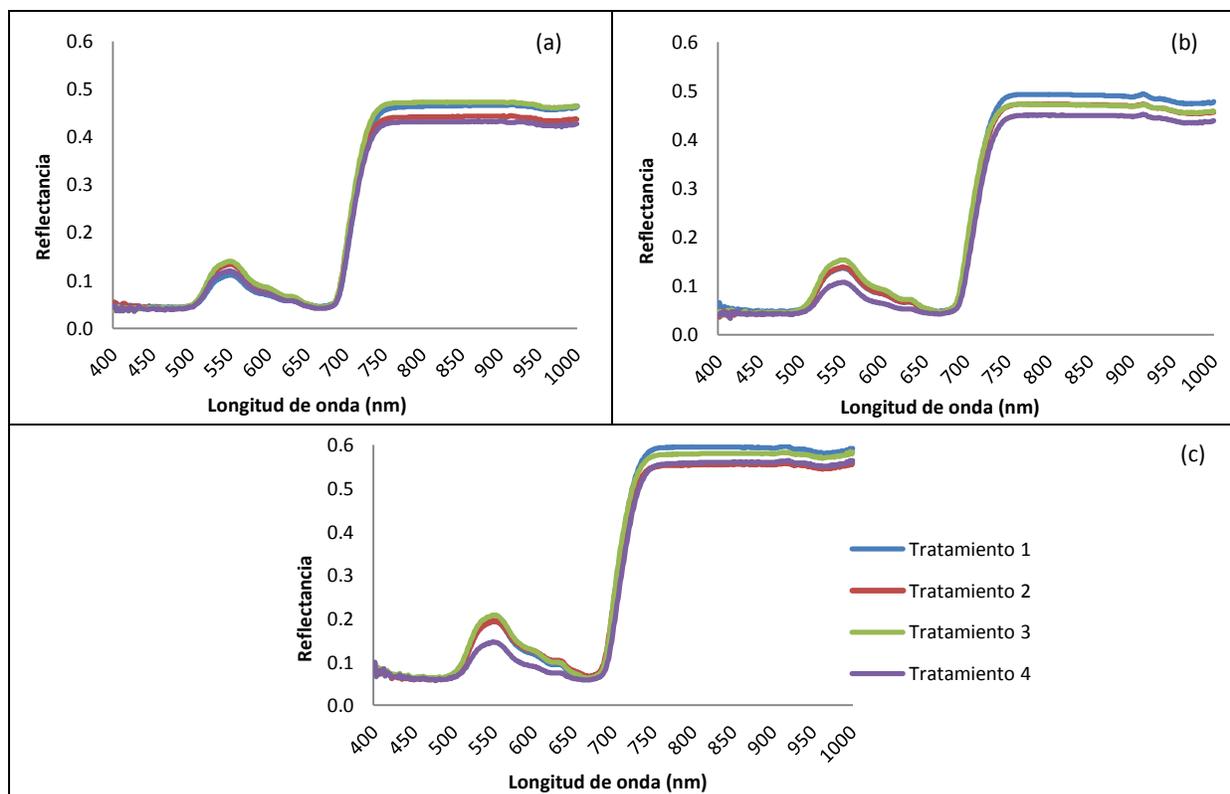


Figura 1. Valor de la firma espectral de *Jatropha curcas* registrada en el mes de (a) octubre (b) noviembre y (c) diciembre, bajo diferentes tratamientos (sustratos).

Dado que la reflectancia se mide en rangos de longitud de onda, se hizo una clasificación de los datos para facilitar el análisis estadístico de las firmas espectrales. Según Chuvieco (2008), los rangos de longitud de onda pueden dividirse en azul (400-500 nm), verde (500-600 nm), rojo (600-700 nm) e infrarrojo (700-1000 nm). La figura 1 muestra que el rango del azul presentó valores bajos de reflectancia durante todos los meses de estudio, debido a una fuerte absorción de la clorofila en los picos de absorción existentes alrededor de 420 y 490 nm (Meer y Jong 2002). Según los autores Sims y Gamon (2002), la reflectancia en este rango usualmente no se utiliza para estimar la concentración de clorofila, debido a que el pico de absorbancia azul de ésta coincide con la absorbancia de los carotenoides.

Así también, la figura 1 muestra que para los tres meses de medición los tratamientos 2 y 3 mantienen el valor más alto de reflectancia en el rango del verde y el rojo, mientras que el tratamiento 4 presenta los valores más bajos en esos mismos rangos. Según afirma Jensen (2007), se ha demostrado que cuando una planta se encuentra bajo tensión disminuye la producción de clorofila y por ende existe menor absorción en la banda azul; esta condición implicaría que las plantas tengan una reflectancia mucho mayor en el rango del verde y rojo del espectro.

Se ha demostrado que alrededor de los 550 nm existe una banda en donde se produce bajo efecto absorbente, por esta razón aparece un pico relativo de reflectividad que coincide con la banda verde del espectro visible, lo que causa el color con el que nuestros ojos perciben la vegetación sana (Chuvieco 2010). De acuerdo con los gráficos de la figura 1, para el mes de diciembre (figura 1c) se evidenció que los valores en el rango del verde son mayores que en los meses de octubre y noviembre, tal y como se observó en campo, donde se encontró menor cantidad de hojas y una decoloración de las mismas. Lo anterior concuerda con la postura de Gitelson y Merzlyak (1994), quienes argumentan que un aumento de la reflectancia en el verde podría relacionarse a una disminución de la clorofila cuando las plantas están bajo estrés o durante el proceso de la senescencia foliar.

Por último, la elevada reflectividad de las hojas en la banda del infrarrojo cercano se debe a la baja absorptividad de las clorofilas y a la estructura celular interna de la hoja (Gates *et al.* 1965). Como es bien sabido, la hoja se encuentra compuesta de cuatro capas, las dos primeras son la epidermis superior e inferior que juegan un papel importante en la regulación térmica de la planta y en la absorción de CO₂; la segunda capa es el parénquima en empalizada, encargado de albergar los cloroplastos y por último está el mesófilo esponjoso que es donde ocurren los intercambios gaseosos necesarios para la respiración de la planta. Éste último cuenta con cavidades de aire internas que dispersan la mayor parte de la radiación incidente en el rango del infrarrojo cercano (Gates *et al.* 1965 y Vogelmann 1993). Según afirma Chuvieco (2010), la hoja sana ofrece una alta reflectividad en la banda del infrarrojo cercano, tal como se puede observar en la figura 1, donde el

tratamiento 1 presenta los valores más altos en este rango, situación que se torna contrastante al tipo de suelo correspondiente a este tratamiento (ultisol).

Posteriormente, con la intención de llevar a cabo un análisis integral, se analizaron los datos de la reflectancia espectral según bloques y tratamientos mediante una prueba de Tukey ($\alpha=0,05$). Para los casos en que se encontraron diferencias estadísticas se muestra el cuadro correspondiente, con el promedio de reflectancia, su respectiva desviación estándar y su diferencia significativa; el análisis se presenta a continuación para cada uno de los meses en estudio.

El mes de octubre no presentó diferencias significativas entre bloques; sin embargo, presenta diferencias entre tratamientos en el rango del verde y del rojo, como lo muestra el cuadro 1.

Cuadro 1. Diferencias estadísticas de la firma espectral de *Jatropha curcas* entre tratamientos para el mes de octubre.

| Tratamiento | Rangos de longitud de onda (nm) | | | |
|-------------|---------------------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|
| | Azul (400-500) | Verde (500-600) | Rojo (600-700) | Infrarrojo (700-1000) |
| 1 | 0,0442 (0,003) a | 0,0851 (0,004) a | 0,0586 (0,003) ab | 0,4436 (0,027) a |
| 2 | 0,0442 (0,004) a | 0,1004 (0,006) bc | 0,0627 (0,004) ab | 0,4240 (0,044) a |
| 3 | 0,0419 (0,004) a | 0,1044 (0,010) c | 0,0646 (0,006) b | 0,4518 (0,015) a |
| 4 | 0,0405 (0,003) a | 0,0895 (0,005) ab | 0,0566 (0,003) a | 0,4123 (0,025) a |

Se considera relevante mencionar que la ausencia de diferencias significativas entre bloques puede deberse a que contiguo al área acondicionada para el experimento se contaba con árboles de *Moringa oleifera* (moringa), los cuales no superaron la altura de las plántulas del proyecto y por lo tanto no afectaron el desarrollo de las mismas; este fenómeno podría abordarse de manera más detallada en futuros proyectos similares.

Los autores Zhang *et al.* (2007) y Wang *et al.* (2007) demostraron que ligado al envejecimiento de la planta ocurren reducciones en el contenido de clorofilas, por lo que al realizar las mediciones iniciales a los primeros rebrotes de hojas (en el mes de octubre) se obtuvieron valores más bajos y uniformes entre tratamientos en el rango del azul (cuadro 1), debido a una mayor cantidad de clorofila, y por ende una mayor absorción de la misma.

Así también, el cuadro 1 muestra que existen diferencias significativas en los rangos del verde y el rojo. En el caso del verde se presenta diferencias del tratamiento 1 con respecto al 2 y al 3, así como entre los tratamientos 3 y 4, mientras que en el rango del rojo existen diferencias tan sólo entre los tratamientos 3 y 4, siendo el 3 el valor más alto y el 4 el valor más bajo de reflectancia. El tratamiento 3 cuenta con los valores más altos en ambos rangos, según Jensen (2007) una mayor

reflectividad en el rango del rojo podría deberse a una disminución de la clorofila lo que permite que los carotenos y otros elementos se vuelvan dominantes produciendo un amarillamiento en la planta.

Con respecto al mes de noviembre, el cuadro 2 muestra las diferencias estadísticas encontradas entre los bloques. Se observa que solamente existen diferencias en el rango del infrarrojo cercano (700-1000 nm) entre los bloques 1 y 3.

Cuadro 2. Diferencias estadísticas de la firma espectral de *Jatropha curcas* entre bloques para el mes de noviembre.

| Bloque | Rangos de longitud de onda (nm) | | | |
|--------|---------------------------------|-------------------|------------------|-----------------------|
| | Azul (400-500) | Verde (500-600) | Rojo (600-700) | Infrarrojo (700-1000) |
| 1 | 0,0475 (0,131) a | 0,1007 (0,126) a | 0,0651 (0,123) a | 0.4836 (0,230) b |
| 2 | 0,0478 (0,010) a | 0,1112 (0,027) a | 0,0707 (0,015) a | 0.4662 (0,067) ab |
| 3 | 0,0414 (0,002) a | 0,0964 (0,0197) a | 0,0603 (0,010) a | 0.4130 (0,012) a |
| 4 | 0,0466 (0,006) a | 0,1012 (0,013) a | 0,0632 (0,006) a | 0.4425 (0,004) ab |
| 5 | 0,0459 (0,003) a | 0,0950 (0,011) a | 0,0605 (0,005) a | 0.4386 (0,005) ab |

En el mes de noviembre, las plantas posiblemente sufrieron un cambio en su estructura celular interna, como se muestra en el cuadro 2, donde se observa una variación de los valores de reflectancia únicamente en el rango del infrarrojo cercano. Según argumenta Vogelmann (1993) la estructura de la hoja posee propiedades ópticas que determinan el comportamiento de la luz en su interior y la eficiencia con que ésta es almacenada y utilizada. Las plantas del bloque 1 presentan los valores más altos de reflectividad en el infrarrojo cercano, esto puede deberse a la poca absorción de clorofilas y su estructura celular interna (Gates *et al.* 1965), por lo que se puede deducir que sus hojas presentan una mejor estructura, y por ende no permite mucha entrada de luz a las mismas reflejando una mayor cantidad de energía.

Por otro lado, se obtuvieron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos para el mes de noviembre, tal como se muestra en el cuadro 3. Se observa que en el rango del verde el tratamiento 4 se diferencia de todos los demás y en el rojo existe diferencia entre los tratamientos 3 y 4.

Cuadro 3. Diferencias estadísticas de la firma espectral de *Jatropha curcas* entre tratamientos para el mes de noviembre.

| Tratamiento | Rangos de longitud de onda (nm) | | | |
|-------------|---------------------------------|------------------|-------------------|-----------------------|
| | Azul (400-500) | Verde (500-600) | Rojo (600-700) | Infrarrojo (700-1000) |
| 1 | 0,0500 (0,007) a | 0,1035 (0,017) b | 0,0662 (0,011) ab | 0,4679 (0,056) a |
| 2 | 0,0443 (0,005) a | 0,1043 (0,009) b | 0,0657 (0,006) ab | 0,4498 (0,030) a |
| 3 | 0,0461 (0,002) a | 0,1151 (0,012) b | 0,0701 (0,006) b | 0,4513 (0,021) a |
| 4 | 0,0429 (0,005) a | 0,0808 (0,008) a | 0,0538 (0,005) a | 0,4262 (0,032) a |

Se puede notar que se mantiene un comportamiento constante de los tratamientos durante octubre y noviembre, debido a que ambos presentan diferencias estadísticas dentro de los mismos rangos del espectro (verde y rojo). El cuadro 3 muestra que en ambos rangos el tratamiento 4 presenta los valores más bajos de reflectancia, y el tratamiento 3, al igual que el mes anterior, los valores más altos lo que podría justificar una menor absorción en el rango del azul, debido a una posible pérdida de clorofila (Jensen 2007).

Por otro lado, en el mes de diciembre no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, contrario a lo obtenido en los bloques donde sí se dieron éstas, como se muestra a continuación en el cuadro 4.

Cuadro 4. Diferencias estadísticas de la firma espectral de *Jatropha curcas* entre bloques para el mes de diciembre.

| Bloque | Rangos de longitud de onda (nm) | | | |
|--------|---------------------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|
| | Azul (400-500) | Verde (500-600) | Rojo (600-700) | Infrarrojo (700-1000) |
| 1 | 0,0704 (0,003) b | 0,1606 (0,030) bc | 0,1068 (0,027) b | 0,6361 (0,019) b |
| 2 | 0,0801 (0,002) bc | 0,1722 (0,025) c | 0,1097 (0,013) b | 0,6476 (0,015) b |
| 3 | 0,0869 (0,002) c | 0,1595 (0,026) bc | 0,0997 (0,013) ab | 0,6137 (0,018) b |
| 4 | 0,0475 (0,008) a | 0,1119 (0,028) ab | 0,0694 (0,016) a | 0,4209 (0,060) a |
| 5 | 0,0497 (0,003) a | 0,1030 (0,013) a | 0,0658 (0,006) a | 0,4317 (0,028) a |

Según el análisis del cuadro 4 se evidencian dos grupos: el primero es el conjunto de los bloques 1, 2 y 3 y el segundo corresponde a los bloques 4 y 5. Los árboles de *Moringa oleifera* que se encontraban junto al bloque 1, al momento de esta última medición tenían una altura aproximada de dos metros, por lo tanto proporcionaban sombra a los primeros bloques, dando como resultado hojas amarillas y plántulas más pequeñas. Los últimos bloques no se vieron afectados por la sombra de estos árboles. Este resultado es importante de tomar en cuenta porque muestra el efecto de la intensidad y calidad de la luz en las propiedades de absorción y reflectancia.

El cuadro 4 muestra que los bloques 4 y 5 presentan los valores más bajos de reflectancia en todos los rangos analizados (con valores muy similares estadísticamente) esto quiere decir que están absorbiendo mayor cantidad de clorofilas que los demás bloques, sin embargo la estructura celular interna de sus hojas no es la mejor lo cual se ve reflejado por su baja reflectividad en el rango del infrarrojo cercano (Gates *et al.* 1965).

Por último se realizó una comparación entre los meses correspondientes a cada medición mediante una prueba de Tukey ($\alpha=0,05$). El cuadro 5 muestra las diferencias estadísticas encontradas con su respectiva desviación estándar y diferencia significativa. Se observa que para todos los rangos del

espectro en estudio existen diferencias del mes de diciembre con respecto a los dos meses anteriores.

Cuadro 5. Diferencias estadísticas de la firma espectral de *Jatropha curcas* entre los meses de estudio.

| Mes | Rangos de longitud de onda (nm) | | | |
|-----------|---------------------------------|------------------|------------------|-----------------------|
| | Azul (400-500) | Verde (500-600) | Rojo (600-700) | Infrarrojo (700-1000) |
| Octubre | 0,0427 (0,003) a | 0,0949 (0,010) a | 0,0606 (0,005) a | 0,4329 (0,032) a |
| Noviembre | 0,0458 (0,005) a | 0,1009 (0,017) a | 0,0639 (0,009) a | 0,4488 (0,037) a |
| Diciembre | 0,0669 (0,017) b | 0,1414 (0,037) b | 0,0903 (0,024) b | 0,5410 (0,108) b |

El cuadro 5 muestra un comportamiento similar de la firma espectral de tempate en los meses de octubre y noviembre, presentando un aumento de los valores de reflectancia en todos los rangos para el mes de diciembre. Este cambio puede deberse a un conjunto de factores, debido a que el espectro de reflectividad de las hojas depende de la morfología, concentración de pigmentos, estructura celular y contenido de agua (Paz-Pellat *et al.* 2005). En las mediciones llevadas a cabo en diciembre se acumularon varios factores: mayor grado de madurez de las hojas, proximidad de la estación seca y mayor incidencia de viento, procesos de senescencia, mayor desarrollo foliar y agotamiento de la reserva de nutrientes de cada maceta. En resumen, el aumento de reflectancia está asociado a cambios en la estructura foliar y disminución del nitrógeno foliar y en consecuencia de clorofila.

Valores de clorofila con el SPAD

Según afirman Carter y Young (1993) el SPAD (*Soil Plant Analysis Development*) es utilizado como un método indirecto para estimar la clorofila. El instrumento mide la transmisión de la luz roja a 650 nm, en la que la clorofila absorbe la luz, y la transmisión de la luz infrarroja a 940 nm, donde no se produce absorción, y sobre la base de estos calcula un valor SPAD el cual se encuentra bastante correlacionado con el contenido de clorofila (Monge y Bugbee 1992). Según Markwell *et al.* (1995), el medidor de clorofila SPAD-502 calcula los valores indicados por el instrumento por medio de la siguiente ecuación:

$$M = \log [(I'_{940} / I_{940}) / (I'_{650} / I_{650})] = \log [(I'_{940} I_{650}) / (I'_{650} I_{940})]$$

Donde I_{650} y I_{940} son las intensidades producidas por la luz emitida del rojo y del infrarrojo, respectivamente, y I'_{650} y I'_{940} las intensidades de la transmitancia producida por la luz roja e infrarroja. El cuadro 6 muestra los valores del SPAD, con su respectiva desviación estándar, obtenidos en las mediciones de octubre, noviembre y diciembre para las plántulas de *Jatropha curcas*.

Cuadro 6. Resultados del análisis de varianza de los valores del SPAD registrados para *Jatropha curcas*, bajo diferentes tratamientos (sustratos).

| Tratamiento | Medición | | |
|-------------|------------------|------------------|-------------------|
| | Octubre | Noviembre | Diciembre |
| 1 | 39,195 (4,051) a | 37,380 (2,980) a | 33,305 (2,213) a |
| 2 | 32,985 (3,286) a | 35,075 (3,960) a | 29,010 (4,315) a |
| 3 | 34,880 (2,977) a | 35,165 (2,654) a | 28,360 (2,039) ab |
| 4 | 36,210 (4,684) a | 37,980 (2,437) a | 39,480 (4,547) b |

El contenido de clorofila en las hojas es uno de los parámetros más significativos relacionados con el estado fisiológico de las plantas y puede ser utilizado como un índice de estado nutricional (Berg y Perkins 2004; Moran *et al.* 2000). Los datos del cuadro 6 se ilustran en la figura 2, en ella se observa que todos los tratamientos (excepto el 4) presentan un comportamiento descendiente de los valores del SPAD, lo que puede deberse a la reducción de clorofila provocada por el envejecimiento de las hojas (Zhang *et al.* 2007 y Wang *et al.* 2007), según Silla *et al.* (2010) los parámetros estructurales de la hoja cambian según su edad lo que afecta las lecturas del SPAD.

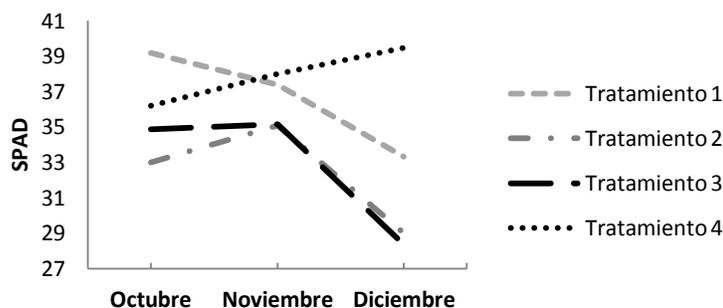


Figura 2. Comportamiento del valor SPAD según el tratamiento durante los tres meses de medición.

La cuantificación de los pigmentos fotosintéticos y el estudio de su dinámica a través del tiempo pueden contribuir a conocer mejor el comportamiento de las plantas durante su ciclo de desarrollo (Fortes *et al.* 2009). En la figura 2 se observa que el tratamiento 4 presenta un comportamiento creciente, esto puede deberse a lo que afirma Jensen (2007) de que la clorofila aumenta con el pasar del tiempo, lo cual podría indicar que las plantas que se desarrollaban sobre este tratamiento no presentaban condiciones de estrés, mostrando así características de vegetación saludable al absorber la mayor parte de la luz visible que incide sobre ella. Debemos recordar que el tratamiento 4 es el sustrato que reúne las mejores condiciones para el crecimiento de las plantas.

Los datos de clorofila fueron analizados según un análisis de varianza que consideró como fuentes de variación los bloques y los tratamientos, para determinar las diferencias entre tratamientos se

utilizó la prueba de comparación múltiple según Tukey ($\alpha=0,05$). La figura 3 muestra las diferencias estadísticas significativas encontradas en el mes de diciembre entre los distintos tratamientos.

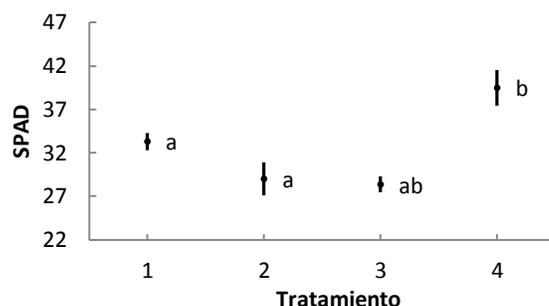


Figura 3. Diferencias estadísticas de los valores del SPAD para el mes de diciembre en *Jatropha curcas*, bajo diferentes condiciones de sustrato (barras verticales indican el error estándar).

Durante los tres meses de medición, los datos de clorofila presentaron diferencias estadísticas significativas solamente en el mes de diciembre, tal como se observa en la figura 3 donde el tratamiento 4 muestra una marcada diferencia con respecto a los demás tratamientos, según Fortes *et al.* (2009), valores de este tipo pueden estar influenciados por diversos factores tales como la utilización de la energía lumínica, del agua y de los nutrientes.

Análisis de suelos y foliar

La disponibilidad de elementos en el suelo depende de su fertilidad natural, de la humedad, de la precipitación, de la acidez y de la capacidad de extracción del cultivo (Mora 2008). Los cuatro tratamientos en estudio fueron analizados químicamente mediante la solución extractora KCl-Olsen Modificado, dicho análisis se muestra en el cuadro 7, donde los valores debajo de cada elemento corresponden a los niveles críticos generales para dicha solución, utilizados para determinar si existe deficiencia de algún nutriente. Es de gran importancia conocer la composición del suelo y la disponibilidad de nutrientes en él, debido a que estos parámetros afectan directamente el desarrollo y crecimiento del cultivo (Albéniz 2011).

Cuadro 7. Análisis químico de los tratamientos (sustratos) utilizados para el desarrollo de *Jatropha curcas*.

| Tratamiento | pH | | cmol(+)/L | | | | % | mg/L | | | | |
|-------------|------------------|--------|-----------|-------|------|-------|-----|------|-----|----|-----|----|
| | H ₂ O | ACIDEZ | Ca | Mg | K | CICE | SA | P | Zn | Cu | Fe | Mn |
| | 5,5 | 0,5 | 4 | 1 | 0,2 | 5 | | 10 | 3 | 1 | 10 | 5 |
| T1 | 5,7 | 0,26 | 11,19 | 10,33 | 0,12 | 21,90 | 1 | 1 | 2,2 | 12 | 52 | 59 |
| T2 | 6,0 | 0,23 | 6,77 | 2,67 | 0,46 | 10,13 | 2 | 2 | 3,2 | 28 | 136 | 10 |
| T3 | 6,5 | 0,17 | 11,02 | 1,92 | 0,58 | 13,69 | 1 | 8 | 7,1 | 29 | 92 | 10 |
| T4 | 6,1 | 0,16 | 12,89 | 3,05 | 1,83 | 17,93 | 0,9 | 18 | 6,3 | 21 | 244 | 25 |

En el cuadro 7 se observa una deficiencia de Fósforo en todos los tratamientos, excepto en el 4 que fue enriquecido con materia orgánica. Según argumenta Molieri (1979) éste elemento estimula la pronta formación de las raíces y el crecimiento de la planta, sin embargo según un estudio realizado por Garay y Echeverría (2010), sobre la propagación del tempate mediante estacas, se determinó que esta especie presenta una excelente capacidad de enraizamiento independientemente de la longitud de la estaca.

Además, el cuadro 7 muestra que el tratamiento 1 presenta el valor más alto de acidez y también presenta deficiencia en potasio y zinc. Potasio es un macro nutriente esencial para las plantas, el cual compone hasta un 10% del peso total seco de las mismas (Taiz and Zeiger 1991) asimismo cumple importantes funciones en el metabolismo, crecimiento, adaptación al estrés (Nieves-Cordones *et al.* 2012), y fisiología vegetal por ejemplo en la expansión celular limitada, lo que genera la reducción del crecimiento y mal desarrollo de la planta (Walker *et al.* 1996). Según afirman Bednarz *et al.* (1998) y Zhao *et al.* (2001) varios estudios han reportado que la deficiencia de potasio afecta negativamente la fotosíntesis. Con respecto al zinc, Gusmão *et al.* (2007) observaron que la ausencia de este elemento en tempate causa la reducción de entrenudos y mayor cantidad de hojas, por lo que la planta no presenta síntomas notables de deficiencia.

Por otra parte, en el cuadro 7 se observa que el pH se encuentra dentro de los valores recomendados por Loaiza *et al.* (2012) para *Jatropha curcas* con valores entre seis y siete, excepto en el tratamiento 1 que presentó un valor de 5,7, sin embargo se encuentra sobre el valor crítico del análisis (5,5). Cabe recalcar que el pH del suelo por sí mismo no ejerce influencia directa sobre las plantas, la principal influencia es biológica al afectar a los microorganismos del suelo, por lo tanto puede afectar la disponibilidad o fijación de algunos nutrimentos del suelo necesarios para las plantas (Núñez 2000).

El análisis de plantas es una herramienta que se basa en los mismos principios del análisis de suelos, asumiendo que la concentración de nutrientes en la planta está directamente relacionada con la habilidad del suelo para proporcionarlos (Correndo y García 2012). Además, según afirma Jain *et al.* (2007) los nutrientes vegetales constituyen las variables más importantes para la productividad de un cultivo, por lo que debe ser fundamental un suministro adecuado debido a que una mala administración de los mismos podría producir fuertes daños. Por esta razón se realizó un análisis de plantas de *Jatropha curcas* con el fin de conocer las necesidades nutrimentales de este cultivo y contribuir con información útil a productores interesados en mejorar el rendimiento de sus siembras.

Se elaboró la curva de absorción foliar de los principales nutrientes para las tres mediciones realizadas, tal como se observa en la figura 4. Los resultados de análisis foliar no cuentan con un

valor de referencia determinado, por lo tanto es imposible afirmar la deficiencia de algún nutriente. Es muy importante conocer el estado de disponibilidad de nutrientes en el suelo y confirmarlo con el análisis del tejido vegetal y la respuesta de la planta a la fertilización (Cid 2009), por lo que las curvas de la figura 4 se analizaron de acuerdo a lo observado en ellas y se relacionaron con el análisis químico de los sustratos.

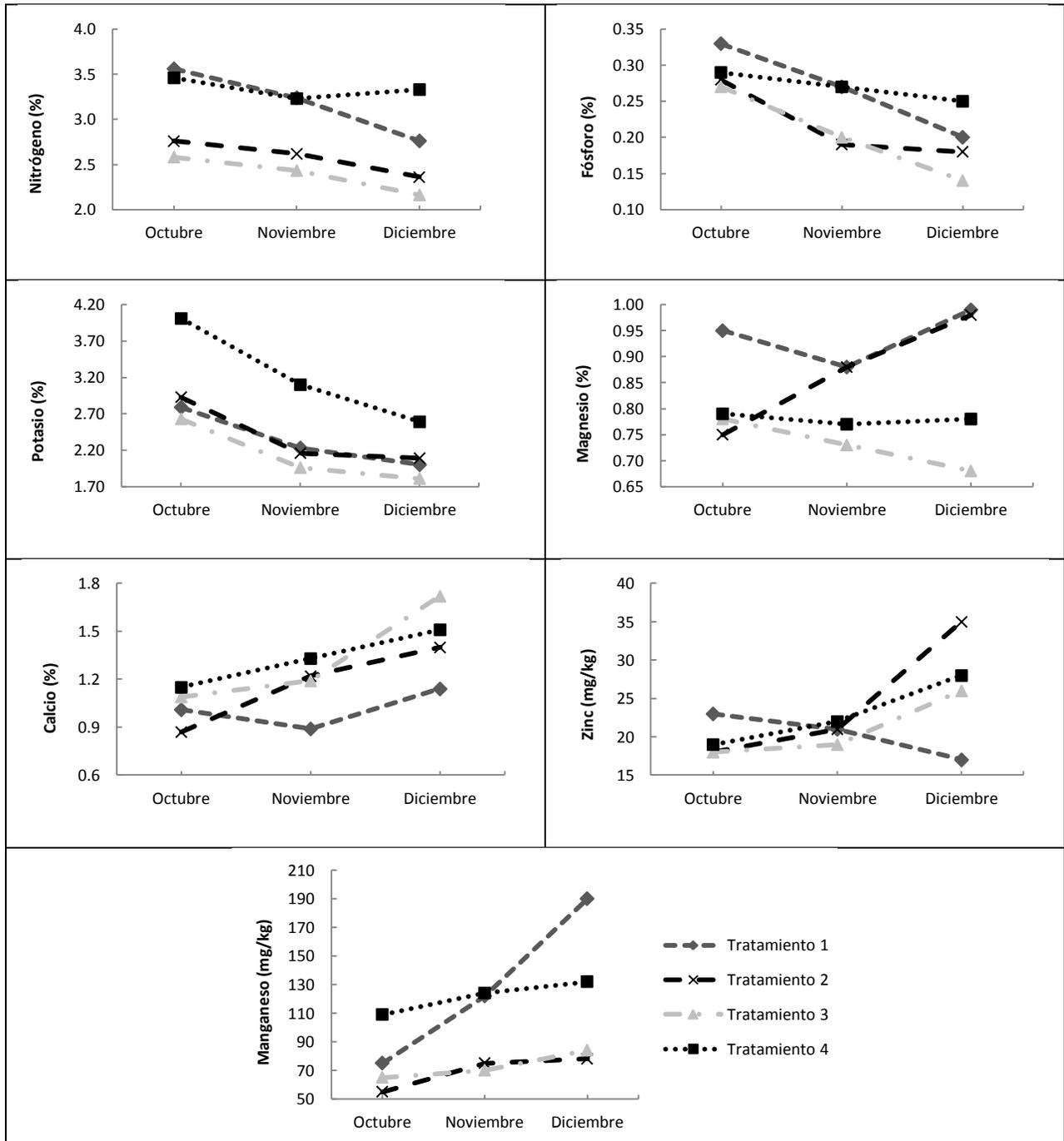


Figura 4. Curvas de absorción de nutrientes de *Jatropha curcas*, bajo diferentes condiciones de fertilidad de sustrato.

La figura 4 muestra que los tres elementos mayores (N, P, K) presentan una disminución de su concentración en las hojas, debido a que son absorbidos por la planta en altas cantidades (Mora 2008). Es fundamental conocer los niveles de nitrógeno de un cultivo, principalmente en la etapa inicial de su crecimiento, con el fin de permitir una detección temprana de este elemento, el cual es considerado como determinante en la productividad y calidad de los cultivos (Yao *et al.* 2010). Se observa un comportamiento parecido entre las curvas de nitrógeno y fósforo, debido a que en ambas se aprecia similitud entre el tratamiento 1 y 4 y entre el 2 y 3. Como se analizó anteriormente, existe una deficiencia de fósforo en la mayoría de los tratamientos (sustratos), lo que implica una reducción de la concentración de este elemento a nivel foliar, y por ende del nitrógeno, situación que puede ser explicada por la relación argumentada por Maschner (1995) de que a mayores concentraciones de nitrógeno existe una mejor absorción del fósforo. Por otra parte, la disminución de la concentración del potasio podría afectar negativamente el proceso de fotosíntesis (Bednarz *et al.* 1998 y Zhao *et al.* 2001).

En la figura 4 se puede apreciar que existen comportamientos contrastantes entre los tratamientos con respecto a la concentración de magnesio. El tratamiento 1 presenta una disminución de la concentración de este elemento en el mes de noviembre, incrementándose de nuevo en diciembre, el tratamiento 2 presenta un comportamiento creciente alcanzando un valor similar al tratamiento anterior en el mes de diciembre, por el contrario el tratamiento 3 disminuye la concentración conforme pasa el tiempo; por último el tratamiento 4 se mantiene prácticamente constante. Ericsson (1995) afirma que la deficiencia de magnesio afecta la tasa de fotosíntesis neta, disminuyendo así la concentración de clorofila (Natr 1972), debido a que el Mg forma parte integral de dicho pigmento (Sierra 2001).

Se observa un comportamiento similar, en la figura 4, del calcio entre los tratamientos 2 y 4 donde su curva se muestra creciente a través del tiempo, y entre el 1 y el 3, donde disminuye la concentración de este elemento en el mes de noviembre aumentando su valor en diciembre; sin embargo en todos existe una tendencia a aumentar según pasa el tiempo. Según Fuentes-Carvajal *et al.* (2006) los síntomas de deficiencias de calcio se manifiestan en las hojas nuevas de la planta, además es considerado como un nutriente inmóvil en el floema. Este elemento posee valores mayores a los niveles críticos en el análisis de sustratos, lo que puede explicar que se presente un aumento en la concentración foliar del mismo.

El tratamiento 1 presenta una reducción en la concentración de zinc, mientras que los demás tratamientos presentan un comportamiento ascendente (figura 4), esta situación puede ser explicada por el análisis de sustratos, donde se presentó una deficiencia de este elemento en el tratamiento 1, mientras que los demás tratamientos presentaron una concentración adecuada del mismo. Además, Sierra (2001) indica que un exceso de fósforo puede inducir a una deficiencia de

zinc, lo cual lo podemos ver reflejado en las curvas respectivas a estos dos elementos en el mes de octubre. Con respecto al manganeso se observa que este aumenta su concentración con el tiempo, esto puede relacionarse con el análisis de sustratos, los cuales registraron valores superiores a los niveles críticos, por lo tanto existe disponibilidad de este nutriente en el suelo para ser absorbido por la planta.

Correlación de las variables

Se muestran a continuación los resultados más significativos de los análisis de correlación entre las variables de interés. En las secciones siguientes se muestran los coeficientes de correlación y se indica que los mismos son significativos a un nivel de confiabilidad de ($\alpha < 0,05$).

Valores del SPAD versus nitrógeno foliar

Se realizó un análisis de correlación entre estas dos variables. Considerando de manera general todos los tratamientos y las lecturas en diferentes períodos de medición. En la figura 5 se puede observar que existe una relación lineal significativa y positiva entre lecturas del SPAD y el contenido de nitrógeno foliar ($r=0,85$; $n=12$).

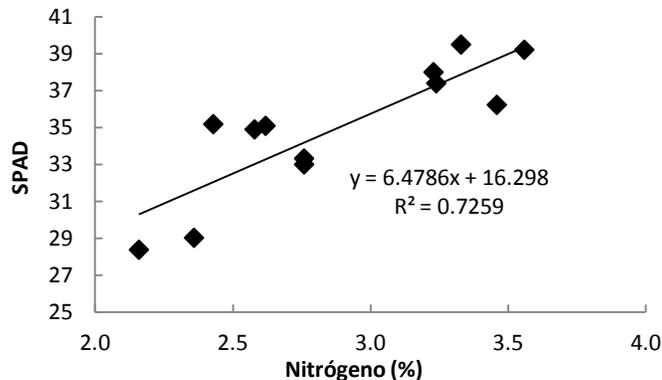


Figura 5. Valores del SPAD versus contenido de nitrógeno en las hojas de *Jatropha curcas*.

Un valor alto de lectura SPAD implica un alto contenido de clorofila en la hoja (Nyi *et al.* 2012). Según argumentan Gholizadeh *et al.* (2011) se ha demostrado la existencia de una relación significativa entre el valor del medidor de clorofila (SPAD) y el contenido foliar de nitrógeno, esta relación se debe a que un 70% del nitrógeno de la hoja se encuentra en los cloroplastos (Madakadze & Madakadze 1999), siendo la clorofila el principal pigmento fotosintético en las plantas (Curran 1989). En un estudio realizado por Nyi *et al.* (2012) en *Jatropha curcas* se obtuvo una excelente correlación entre la lectura del SPAD y la concentración total de nitrógeno con un R^2 de 0,99, asimismo Berg y Perkins (2004) observaron correlaciones significativas entre los mismos

elementos en la especie *Acer saccharum Marsh* con un R^2 de 0,76. Según lo anterior se puede deducir que el SPAD es funcional para relacionar contenidos de nitrógeno con contenidos de clorofila en las plantas de *Jatropha curcas*. En el presente estudio se obtuvieron valores de correlación cercanos a 0,85 debido a que los diferentes tratamientos inciden en los niveles de nitrógeno foliar.

Valores del SPAD versus otros nutrientes

Se realizó un análisis de correlación entre los valores SPAD y concentraciones de otros nutrientes a nivel foliar. El SPAD está calibrado para mediciones de clorofila y ésta ofrece estrecha correlación con la concentración de nitrógeno en el follaje de las plantas (Costa *et al.* 2001), a pesar de esto se encontró una correlación lineal positiva de los valores SPAD con el fósforo ($r= 0,75$) y el azufre ($r= 0,70$) de las hojas, tal como se muestra en la figura 6.

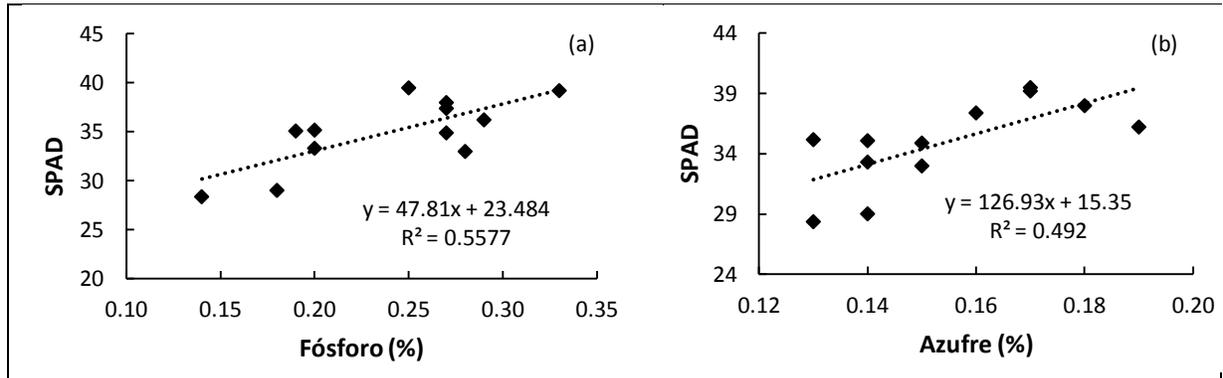


Figura 6. Valores del SPAD versus contenido de (a) Fósforo y (b) Azufre en las hojas de *Jatropha curcas*.

No era de esperar que existiera una relación significativa de los valores SPAD con el fósforo y el azufre, debido a que la calibración del SPAD fue hecha basándose en la relación de los contenidos de clorofila con el contenido de nitrógeno. Sin embargo, los requerimientos de una planta son muy parecidos en cuanto a la cantidad necesaria de P y S (Tisdale *et al.* 1990), además, el azufre es tan importante como el nitrógeno en la determinación de la cantidad y calidad de biomasa de un cultivo (Rennenberg 1984). Por otra parte, Rendig *et al.* (1976) y Reuveny *et al.* (1980) encontraron que existe una estrecha relación entre el estado nutricional del nitrógeno y del azufre, debido a que aproximadamente el 80% de estos elementos incorporados en compuestos orgánicos de las plantas lo hacen en las proteínas, cuando ambos se encuentran en proporciones adecuadas. Debido a las relaciones antes descritas del fósforo y el azufre con el nitrógeno es que se puede explicar la relación de estos elementos con los valores de clorofila. Los resultados sugieren realizar más estudios para comprobar el comportamiento de las relaciones nitrógeno-fósforo y azufre.

Valores del SPAD versus área foliar específica

Se efectuó un análisis de correlación entre los valores SPAD y área foliar específica. No se encontró ninguna relación significativa para estas variables ($r=0,13$). También se realizó el análisis entre área foliar específica y nitrógeno y tampoco se encontró una relación entre ambas variables ($r=0,42$). Resultados similares fueron encontrados por Domínguez *et al.* 2004 en 17 especies leñosas entre ellas *Fraxinus angustifolia*, *Salix atrocinere* y *Rubus ulmifolius* con un r de 0,38. Por lo tanto, se puede deducir que el área foliar específica no es una variable útil para ser relacionada con contenidos de clorofila y de nitrógeno.

Valores del SPAD versus NDVI

Al realizar un análisis de correlación entre estas variables se encontró que existe una relación positiva baja entre ambas ($r=0,53$). Se esperaba obtener una relación positiva más estrecha de estas variables debido a que la clorofila es medida por el SPAD en longitudes de onda específicamente en el rojo y el infrarrojo cercano (Markwell *et al.* 1995), valores con los cuales es calculado el NDVI. En este tipo de relaciones es determinante el tamaño de la muestra, se sugiere en futuros estudios aumentar el tamaño de la muestra.

Valores NDVI versus nitrógeno foliar

Se realizó una correlación entre estas variables y se obtuvo una relación negativa entre ellas ($r=0,53$). Resultados opuestos fueron encontrados por Christensen (2004) y Cho y Skidmore (2006) quienes afirman que existe una buena correlación entre la reflectancia espectral y el contenido de nitrógeno en las hojas.

NDVI versus otros nutrientes

Un aspecto medular del presente trabajo es demostrar la relación entre la información espectral y el estatus nutricional del cultivo. La correlación efectuada entre el índice NDVI y los demás nutrientes foliares respondió a una relación positiva con el Fósforo ($r=0,75$) y el Zinc ($r=0,80$), tal como se muestra en la figura 7.

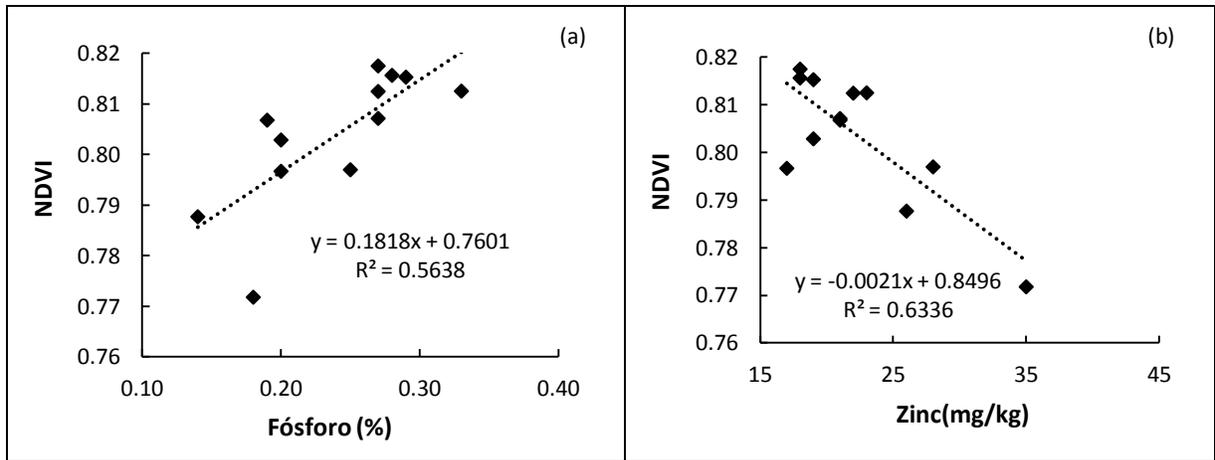


Figura 7. NDVI versus contenido de (a) Fósforo y (b) Zinc en las hojas de *Jatropha curcas*.

Según afirman Adams *et al.* (2000) los cambios en el espectro de reflectancia de las hojas sirven como indicadores de deficiencias nutricionales. En un estudio realizado por Osborne *et al.* (2002) se logró determinar la predicción de fósforo usando la reflectancia en la banda del azul y del infrarrojo cercano; asimismo, Zhao *et al.* (2005) encontraron que es posible detectar deficiencias nutricionales en fósforo mediante una alta correlación entre este elemento y la reflectancia espectral en hojas de maíz. Por otra parte, Adams *et al.* (2000) encontraron que las deficiencias de zinc no tienen mucha sensibilidad con las mediciones espectrales. Sin embargo, según lo observado en la figura 7 el zinc presenta el valor más alto de correlación con respecto a los demás nutrientes en las plantas de *Jatropha curcas*. Estos resultados sugieren que sí es posible utilizar la información sobre reflectancia para interpretar el estatus nutricional de un cultivo; sin embargo deben realizarse más estudios que consideren un mayor control del efecto de los contenidos de nutrientes a nivel foliar y la relación suelo-agua-planta.

Conclusiones

La espectro radiometría es una técnica útil para la detección de deficiencias nutricionales en *Jatropha curcas*, por lo que esta técnica podría tener múltiples aplicaciones en el campo de la fisiología vegetal y más directamente en el campo de la producción y ajustes de fertilización para la obtención de mejores cosechas.

La firma espectral obtenida para *Jatropha curcas* muestra un comportamiento normal esperado para una planta sana.

El desarrollo de un cultivo es afectado directamente por la disponibilidad de nutrientes en el suelo, de aquí la importancia de conocer su estado nutricional para poder optimizar la producción.

El tratamiento 4 reúne las condiciones de mejor fertilidad para el desarrollo y crecimiento adecuado de *Jatropha curcas*.

No es de utilidad relacionar el área foliar específica de las plantas de tempate con nitrógeno foliar.

Existe una relación estrecha entre el contenido de clorofila y nitrógeno foliar en las plantas de *Jatropha curcas*.

Las mediciones con el SPAD indicaron que éste es funcional para relacionar contenidos de clorofila con contenidos de nitrógeno, así como de fósforo y azufre en las plantas de *Jatropha curcas*. Además, se obtuvo que las lecturas del SPAD no son eficaces para relacionar área foliar con contenidos de clorofila.

Es importante conocer la fisiología y las características morfológicas de la especie en estudio con el fin de tomar las previsiones necesarias para realizar un manejo adecuado.

Recomendaciones

Desarrollar más estudios considerando todo el ciclo de producción anual del cultivo de tempate, para observar el comportamiento de las distintas variables y verificar la relación que pueda existir entre ellas, dando un mayor enfoque en los análisis nutricionales de las plantas e incorporar otras variables relacionadas con estrés hídrico y problemas fitosanitarios.

Este estudio se puede complementar con la evaluación del efecto que tiene la intensidad y calidad de la luz sobre el cultivo de *Jatropha curcas*.

En futuros estudios se recomienda un mayor control del efecto de los contenidos de nutrientes a nivel foliar, el entendimiento de la respuesta de la planta a las deficiencias por elemento y los balances entre nutrientes, el comportamiento de la reflectancia según las etapas de desarrollo del cultivo, el control de las condiciones ambientales diversas y la relación suelo-agua-planta.

Incorporar como variable de respuesta la determinación de clorofilas y carotenoides a nivel de laboratorio.

Promover el incremento de estudios en el ámbito de la teledetección en *Jatropha curcas* y los cultivos agronómicos de mayor importancia para Costa Rica.

Agradecimientos

Esta investigación se realizó con el financiamiento del Centro Nacional de Alta Tecnología (CeNAT), un agradecimiento especial a Heileen Y Lloyd por su gran ayuda en las mediciones de campo y a Heileen por la revisión del documento. Al personal de la EEFB por permitir realizar el experimento en sus instalaciones, especialmente al Ing. Jesús Hernández y a German Pérez. A Dagoberto Arias por ser el profesor guía de este proyecto y por su gran ayuda profesional. A Elemer Briceño por su valiosa ayuda con las mediciones de campo. A Cassia Soto por la revisión del documento y por toda su ayuda profesional. A Andrés Arguedas por su ayuda en los trabajos de laboratorio.

Referencias bibliográficas

- Adams, ML; Norvell, WA; Philpot, WD; Peverly, JH. 2000. Spectral Detection of Micronutrient Deficiency in Bragg Soybean. *Agronomy Journal*, 92: 261-274.
- Albéniz Larrauri, JM. 2011. Desarrollo de *Jatropha curcas L.* según los nutrientes del suelo. Tesis. Navarra, ES. Universidad pública de Navarra. 70 p.
- Araus, JL; Casadesus, J; Bort, J. 2001. Application of physiology in wheat breeding: Recent tools for the screening of physiological traits determining yield. Eds. Reynolds, MP; Ortiz-Monasterio, JI; McNab, México D.F, CIMMYT. 240 p.
- Arias Aguilar, D. 2013. Importancia del uso de biocombustibles en Costa Rica (entrevista). Cartago, CR, ITCR. (E-mail: darias@itcr.ac.cr).
- ASD (Analytical Spectral Devices). 1999. Technical Guide. Ed. DC Hatchell. 3^a ed. Colorado, US. p 5-12.
- Barbazán, M. 1998. Análisis de plantas y síntomas visuales de deficiencias de nutrientes. Montevideo, UY. 27 p.
- Bastiaanssen, WGM. 1998. Remote sensing in water resources management: The state of the art. International Water Management Institute. Colombo, LK. 119 p.
- Bednarz, CW; Oosterhuis, DM; Evans, RD. 1998. Leaf photosynthesis and carbon isotope discrimination of cotton in response to potassium deficiency. *Environmental and Experimental Botany*, 39: 131–139.

- Berg, AK van den; Perkins, TD. 2004. Evaluation of a portable chlorophyll meter to estimate chlorophyll and nitrogen contents in sugar maple (*Acer saccharum Marsh.*) leaves. *Forest Ecology and Management*, 200: 113–117.
- Campbell, CR; Plank, CO. 2000. *Foundation for practical application of plant analysis*. Ed. Campbell, CR. North Carolina, US. 122 p.
- Carter, GA. 1998. Reflectance Wavebands and Indices for Remote Estimation of Photosynthesis and Stomatal Conductance in Pine Canopies. *Remote Sensing of Environment*, 63 (1): 61–72.
- Carter, GA; Young, DR. 1993. Foliar spectral reflectance and plant stress on a barrier island. *International Journal of Plant Sciences*, 154: 298-305.
- Cho, MA; Skidmore, AK. 2006. A new technique for extracting the red edge position from hyperspectral data: The linear extrapolation method. *Remote Sensing of Environment*, 101:181-193.
- Christensen, LK. 2004. *NPK Deficiencies Discrimination by use of Spectral and Spatial Response*. Tesis Ph.D. DK, The Royal Veterinary and Agricultural University. Department of Agricultural Sciences. 42 p.
- Christian, B; Krishnayya, NSR. 2008. Discrimination of Floor Cover of Dry Deciduous Forest using Hyperion (EO-1) Data. *Journal of the Indian Society of Remote Sensing*, Vol. 36: 137-148.
- Chuvienco, E. 2008. *Teledetección ambiental: La observación de la Tierra desde el Espacio*. 3ª ed. Barcelona, ES, Editorial Ariel S.A. 592 p.
- Chuvienco, E. 2010. *Teledetección ambiental: La observación de la Tierra desde el espacio*. 4ª ed. Barcelona, ES, Editorial Ariel S.A. 528 p.
- Cid, JAM del. 2009. *Efecto de las deficiencias nutricionales en el cultivo de piñón (*Jatropha curcas*)*. Tesis Lic. Zamorano, HN, Escuela Agrícola Panamericana. 24 p.
- Correndo, AA; García, FO. 2012. *Concentración de nutrientes en planta como herramienta de diagnóstico: Cultivos extensivos*. IPNI. *Archivo Agronómico* N° 14: 1-8.

- Costa, C; Dwyer, LM; Dutilleul, P; Stewart, DW; Ma, BL; Smith, DL. 2001. Inter-relationships of applied nitrogen, SPAD and yield of leafy and non-leafy maize genotypes. *Journal of Plant Nutrition*, 24 (8): 1173-1194.
- Curran, PJ. 1989. Remote sensing of foliar chemistry. *Remote Sensing of Environment*, 30(3): 271-278.
- Domínguez, MT; Marañón, T; Murillo, JM; Hidalgo, JA; Madejón, P. 2004. Crecimiento y morfología foliar de especies leñosas en las reforestaciones del corredor verde del Guadamar (Sevilla). *Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 20: 173-179.
- Drummond, OA; Purcino, AA; Cunha, LH; Veloso, J. 1984. *Cultura do Pinhão manso*. Belo Horizonte, BR, EPAMIG. 99 p.
- Ericsson, T. 1995. Growth and shoot: root ratio of seedlings in relation to nutrient availability. *Plant Soil* 168-169: 205-214.
- Fortes, D; Herrera, RS; González, S; García, M; Romero, A; Cruz, AM. 2009. Comportamiento de los pigmentos fotosintéticos, según la edad de rebrote después del pastoreo de *Pennisetum purpureum* Vc. Cuba CT-115 en la estación poco lluviosa. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 43 (2): 183-186.
- Fuentes-Carvajal, A; Véliz, JA; Buiza, JI. 2006. Efecto de la deficiencia de macro nutrientes en el desarrollo vegetativo de *Aloe vera*. *Interciencia*, 31 (2): 116-122.
- Garay, CRE; Echeverría, FMC. 2010. Propagación vegetativa de *Jatropha curcas* L. por estacas. *Investigación Agraria*, 12 (2): 69-73.
- Gates, DM; Keegan, HJ; Schleter, JC; Weidner, VR. 1965. Spectral properties of plants. *Applied Optics*, 4 (1): 11-20.
- Gholizadeh, A; Amin, MSM; Anuar, AR; Aimrun, W; Saberioon, MM. 2011. Temporal Variability of SPAD Chlorophyll Meter Readings and its Relationship to Total Nitrogen in Leaves within a Malaysian Paddy Field. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5 (5): 236-245.
- Gilbert, MA; González-Piqueras, J; García-Haro, J. 1997. Acerca de los índices de vegetación. *Revista de Teledetección* N° 8: 1-10.

- Gitelson, A; Merzlyak, M. 1994. Spectral reflectance changes associated with autumn senescence of *Aesculus hippocastanum* L. and *Acer platanoides* L. leaves. Spectral features and relation to chlorophyll estimation. *Journal of Plant Physiology*, 143 (3): 286-292.
- Gusmão, CAG; Fernandes, LA; D'angelis, SJ; Souza, FFO; Vitorino, D; Leite, GLD. 2007. Modificações no crescimento e na área foliar de plântulas de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) ocasionadas por distúrbios nutricionais. *In* Congresso da rede brasileira de tecnologia de biodiesel, (2ª, 2007, Brasília, DF). MCT/ABIPTI.
- Jain, A; Vasconcelos, MJ; Raghothama, KG. 2007. Horticultural Reviews: Molecular mechanisms of plant adaptation to phosphate deficiency. Ed. J Janick. *Plant Breeding Reviews*. Vol. 29: 359-419.
- Jensen, JR. 2007. *Remote sensing of the Environment: An Earth Resource Perspective*. 2a ed. Upper Saddle River, US, Prentice-Hall. 592 p.
- Kalaitzidis, C; Caporn, SJM; Cutler, MEJ. 2008. Estimating Foliar Nitrogen Concentration of Heather (*Calluna vulgaris*) from Field and Laboratory Spectra. *Water, air and soil Pollution*, Vol. 194: 57-66.
- Loaiza Cárdenas, J; Arnáez Serrano, E; Moreira González, I; Herrera Murillo, F; Ureña Padilla, A; Hernández López, J. 2012. Guía técnica para el establecimiento y producción de *Jatropha curcas* (tempate) en Costa Rica. Cartago, CR, Editorial Tecnológica de Costa Rica. 92 p.
- Madakadze, IC; Madakadze, R. 1999. Field evaluation of the chlorophyll meter to predict yield and nitrogen concentration of switchgrass. *Journal of Plant Nutrition*, 22:1001-1010.
- Markwell, J; Osterman, JC; Mitchell, JL. 1995. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynthesis Research*, 46: 467– 472.
- Marshner, H. 1995. *Mineral nutrition of higher plants*. 2ª ed. Londres, UK, Elsevier. 889 p.
- Meer, F van der; Jong, SM de. 2002. *Imaging Spectrometry: Basic Principles and Prospective Applications*. Book series Remote Sensing and Digital Image Processing. SL, Dordrecht, Kluwe Academic Publishers. Vol. 4: 425 p.
- Molieri, E. 1979. *Importancia de la evaluación de fertilidad de los suelos en sistemas de cultivos*. Nicaragua.

- Monge OA; Bugbee, B. 1992. Inherent limitations of non destructive chlorophyll meters: a comparison of two types of meters. *HortScience*, 27 (1): 69–71.
- Mora, N. 2008. Agrocadena de café. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Dirección Regional Huetar Norte. 49 p.
- Moran, JA; Mitchell, AK; Goodmanson, G; Stockburguer, KA. 2000. Differentiation among effects of nitrogen fertilization treatments on conifer seedlings by foliar reflectance: a comparison of methods. *Tree Physiology*, 20: 1113–1120.
- Natr, L. 1972. Influence of mineral nutrients on photosynthesis of higher plants. *Photosynthetica*, 6: 80-99.
- Nieves-Cordones, M; Alemán, F; Fon, M; Martínez, V; Rubio, F. 2012. Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change: K+ Nutrition, Uptake, and Its Role in Environmental Stress in Plants. New York, US, Springer. 515 p.
- Núñez, J. 2000. Fundamentos de edafología. 2ª ed. San José, CR, EUNED. 188 p.
- Nyi, N; Sridokchan, W; Chai-arree, W; Srinives, P. 2012. Nondestructive Measurement of Photosynthetic Pigments and Nitrogen Status in *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) by Chlorophyll Meter. *The Philippine Agriculturist*, 95 (2): 139–145.
- Osborne, SL; Schepers, JS; Francis, DD; Schlemmer, MR. 2002. Detection of Phosphorus and Nitrogen Deficiencies in Corn Using Spectral Radiance Measurements. *Agronomy Journal*, 94(6): 1215 1221.
- Paz-Pellat, F; Palacios-Vélez, E; Mejía-Sáenz, E; Martínez-Menes, M; Palacios-Sánchez, LA. 2005. Análisis de los espacios espectrales de la reflectividad del follaje de los cultivos. Publicado como ENSAYO en *Agrociencia*, 39 (3): 293-301.
- Rendig, VV; Oputa, C; McComb, EA. 1976. Effects of sulfur deficiency on non-protein nitrogen, soluble sugars, and N/S ratios in young corn (*Zea mays* L.) plants. *Plant Soil*, 44: 423-437.
- Rennenberg, H. 1984. The fate of excess sulfur in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 35: 121-153.

- Reuveny, Z; Dougall, DK; Trinity, PM. 1980. Regulatory coupling of nitrate and sulfate assimilation pathways in cultured tobacco cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77: 6670-6672.
- Reynolds, MP; Pask, AJD; Mullan, DM; Chávez-Dulanto, PN. 2013. *Fitomejoramiento Fisiológico I: Enfoques Interdisciplinarios para mejorar la adaptación del cultivo*. México D.F, CIMMYT. 174 p.
- Ross, J. 1981. *The Radiation Regime and Architecture of Plants Stands*. Londres, UK. Dr W. Junk Publishers. 393 p.
- Rouse, JW; Haas, RH; Schell, JA; Deering, DW. 1974. Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS. *In Third ERTS-1 Symposium, (3th, 1973, Washington D.C, US)*. Eds. Fraden, SC; Marcanti, EP; Becker, MA. Symposium. NASA SP-351, Washington D.C NASA. p. 309-317.
- Sá, IB; Antonio, R; Almorox, JA. 1999. Congreso Nacional de Teledetección. (8^a, 1999, Albacete, ES). 1999. Aplicación de sensores remotos en la detección y evaluación de plagas y enfermedades en la vegetación. Eds. Castaño, S; Quintanilla, A. Albacete, ES. 4p.
- Sierra, C. 2001. Fertilización en vides de mesa. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Chile. Boletín INIA n°74. 56 p.
- Silla, F; González-Gil, A; González-Molina, ME; Mediavilla, S; Escudero, A. 2010. Estimation of chlorophyll in *Quercus* leaves using a portable chlorophyll meter: effects of species and leaf age. *Annals of Forest Science*, 67 (1): 1-7.
- Sims, DA; Gamon, JA. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sensing of Environment*, Vol. 81: 337-354.
- Strachan, I; Pattey, E; Boisvert, J. 2002. Impact of nitrogen and environmental conditions on corn as detected by hyperspectral reflectance. *Remote Sensing of Environment* 80 (2): 213–224.
- Taiz, L; Zeiger, E. 1991. *Fisiología vegetal*. 1^a ed. Redwood City, CA, Benjamin/Cummings Publishing Company Inc.
- Taiz, L; Zeiger, E. 2002. *Fisiología vegetal*. 3^a ed. Castellón de la Plana, Castellón, ES, Sinauer Associates, Inc. Vol. 1. 581 p.

- Thenkabail, PS; Enclona, EA; Ashton, MS; Van der Meer, B. 2004. Accuracy assessments of hyperspectral waveband performance for vegetation analysis applications. *Remote Sensing of Environment*, Vol. 91: 354–376.
- Tisdale, SL; Nelson, WL; Beaton, JD. 1990. *Soil Fertility and Fertilizers*. 5^a ed. New York, US. Macmillan Publishing Company.
- Vogelmann, TC. 1993. Plant tissue optics. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, (44): 231-251.
- Walker, DJ; Leigh, RA; Miller, AJ. 1996. Potassium homeostasis in vacuolate plant cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 93 (19): 10510-10514.
- Wang, JS; Xing, JS; Zhang, LR; Jia, L. 2007. A new principle photosynthesis capacity biosensor based on quantitative measurement of delayed fluorescence in vivo. *Biosensors and Bioelectronics*, 22 (12): 2861-2868.
- Yao, X; Zhu, Y; Tian, YC; Feng, W; Cao, WX. 2010. Exploring hyperspectral bands and estimation indices for leaf nitrogen accumulation in wheat. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 12 (2), 89-100.
- Zhang, L; Xing, D; Wang, J; Li, L. 2007. Rapid and non-invasive detection of plants senescence using a delayed fluorescence technique. *Photochemical and Photobiological Science*, 6 (6): 635-641.
- Zhao, D; Oosterhuis, DM; Bednarz, CW. 2001. Influence of potassium deficiency on photosynthesis, chlorophyll content, and chloroplast ultra structure of cotton plants. *Photosynthetica* 39 (1): 103–109.
- Zhao, D; Reddy, KR; Kakani, VG; Reddy, VR. 2005. Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum. *European Journal of Agronomy*, 22: 391-403.