

CONCENTRACIÓN DE NITRÓGENO Y CLOROFILA EN HOJAS DE CHILE DULCE HIDROPÓNICO EN INVERNADERO BAJO DIFERENTES ESTRATEGIAS DE MANEJO DEL RIEGO Y LA NUTRICIÓN

Freddy Soto-Bravo^{1/*}, María Alejandra Angulo-Guillén²

Palabras clave: sensores ópticos; reflectancia; fluorescencia; SPAD; índices de clorofila.

Keywords: optical sensors; reflectance; fluorescence; SPAD; chlorophyll index.

Recibido: 11/06/23

Aceptado: 07/08/23


RESUMEN

Introducción. El nitrógeno (N) es un elemento esencial para el proceso de fotosíntesis, y por tanto, determinante en el rendimiento. El uso de sensores ópticos para determinar índices de transmitancia (SPAD, CCI), reflectancia (NDVI) y fluorescencia ($F_v.F_m^{-1}$) relacionados con el estado del N foliar, permite un adecuado manejo a partir del monitoreo “in situ” no destructivo. **Objetivo.** Evaluar el efecto de diferentes estrategias de manejo del fertiriego sobre las concentraciones de nitrógeno y clorofila en hoja; y la relación entre i- concentración de N y de Clorofila (Cl) en hoja, ii- concentración de N y de Cl en hoja con el rendimiento y iii- concentración de N y de Cl en hoja con índices SPAD, CCI, NDVI y $F_v.F_m^{-1}$. **Materiales y métodos.** Se evaluaron 6 tratamientos en un diseño irrestricto al azar con arreglo factorial 2 x 3, que combinaron 2 estrategias de riego (E_1 : bajo volumen y de mayor frecuencia y E_2 : alto volumen y menor frecuencia) y


3 niveles de nutrición: bajo (NB), medio (NM) y alto (NA). Las medidas directas de N y Cl en hoja se determinaron con el método Kjeldahl y por extracción con etanol, respectivamente. **Resultados.** El nivel de nutrición afectó el contenido de N, donde los tratamientos NM y NA fueron similares, aunque superiores a NB. El modelo de regresión mostró poca capacidad para estimar N y rendimiento a partir del contenido de Cl en hoja. La estimación de Cl en hoja a partir de los índices CCI (R^2 : 0,71) y SPAD (R^2 : 0,75) resultaron prometedores solamente en NB. Para estimar N foliar, la regresión con $F_v.F_m^{-1}$ mostró valores de R^2 de 0,89 en NB y 0,69 en NM; mientras que para NDVI los valores R^2 fueron 0,61 en NB y 0,47 en NM. **Conclusión.** Los índices SPAD, CCI, NDVI y $F_v.F_m^{-1}$ presentaron potencial para estimar la concentración de clorofila y de N en hoja con aportes bajo y medio de nutrientes, y con limitaciones en los tratamientos con altos aportes de nutrición.

* Autor para correspondencia. Correo electrónico: freddy.sotobravo@ucr.ac.cr

1 Universidad de Costa Rica, Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno, Costa Rica.

 0000-0003-1959-9597.

2 Instituto Nacional de Aprendizaje, Costa Rica.

 0000-0001-8700-4845.

ABSTRACT

Nitrogen and chlorophyll concentration in leaves of hydroponic sweet pepper in greenhouse under different irrigation and nutrition management strategies.

Introduction. Nitrogen (N) is an essential element for the photosynthesis process, and therefore, a determining factor in yield. The use of optical sensors to determine transmittance indices (SPAD, CCI), reflectance (NDVI) and fluorescence (F_v/F_m^{-1}) related to the state of foliar N, allows adequate management based on non-destructive “in situ” monitoring. **Objective.** To evaluate the effect of different fertigation management strategies on nitrogen and chlorophyll concentration in the leaf; and the relationship between i- N and Cl concentration in leaf, ii- N and Cl concentration in leaf with yield and iii- N and Cl concentration in leaf with SPAD, CCI, NDVI and F_v/F_m^{-1} indices. **Materials and methods.** Six treatments were evaluated in an unrestricted randomized design

with a 2 x 3 factorial arrangement, which combined 2 irrigation strategies (E_1 : low volume and more frequent and E_2 : high volume and less frequent) and 3 levels of nutrition: low (NB), medium (NM) and high (NA). The direct measurements of N and Cl in the leaf were determined with the Kjeldahl method and by ethanol extraction, respectively. **Results.** Nutrition level affected N content, where the NM and NA treatments were similar, although higher than NB. The regression model showed little ability to estimate N and yield from the Cl content in the leaf. Estimation of Cl in the leaf from the CCI (R^2 : 0.71) and SPAD (R^2 : 0.75) indices were only promising in NB. To estimate foliar N, the regression with F_v/F_m^{-1} showed R^2 values of 0.89 in NB and 0.69 in NM; while for NDVI the R^2 values were 0.61 in NB and 0.47 in NM. **Conclusion.** SPAD, CCI, NDVI and F_v/F_m^{-1} indices showed potential to estimate chlorophyll and N concentration in the leaf with low and medium nutrient inputs, and with limitations in treatments with high nutrient inputs.

INTRODUCCIÓN

El chile dulce (*Capsicum annum*), cultivado principalmente en sistema convencional a campo abierto, representa una de las principales hortalizas a nivel mundial. Sin embargo, en los últimos años ha incrementado el cultivo hidropónico con riego por goteo bajo invernadero. En este sistema, el buen manejo del N es fundamental, ya que es un elemento esencial que está estrechamente relacionado con el metabolismo del carbono (Kraiser *et al.* 2011) mediante el proceso de fotosíntesis (Leghari *et al.* 2016). Por tanto, el déficit de N se manifiesta en disminución del crecimiento y la producción; mientras que el exceso disminuye el rendimiento y calidad de fruto (Leghari *et al.* 2016) producto del desbalance entre fuente y sumidero. Además, el exceso de N favorece el ataque de fitopatógenos y contribuye al efecto invernadero y a la contaminación de las aguas con

amonio, amoníaco, nitritos, óxido nitroso, nitratos, entre otros (Byrnes 1990, SCU 2013).

Recientemente, se han empleado metodologías para monitorear el estado del N foliar en los cultivos principalmente a campo abierto, por medio de medidas indirectas del contenido de clorofila en hoja con sensores ópticos de transmitancia, reflectancia y fluorescencia (Padilla *et al.* 2018a). La determinación indirecta “in situ” del estado del N en el cultivo con sensores ópticos, presenta la ventaja de que no es necesario eliminar tejido productivo y no hay plazos de espera por los resultados. Esto permite actuar de manera inmediata ante una deficiencia o un exceso de N, lo que resulta en una mejora de la productividad del cultivo. Sin embargo, su aplicabilidad al manejo del N ha reportado resultados variables debido a que se ven afectados por una serie de factores como el clima, el genotipo, métodos de

muestreo y prácticas de manejo agronómico tales como el riego y la fertilización.

En otro sentido, el mal manejo del riego induce a aplicaciones excesivas que provocan cierre estomático y disminución en la absorción mineral por muerte de raíces por hipoxia (Pardos 2004); mientras que el déficit hídrico induce a una disminución en la tasa fotosintética, aborto y daño de frutos, marchitez y muerte de la planta (Quesada 2015).

Por tanto, surge la necesidad de investigar el uso de estas herramientas para una correcta aplicación según las condiciones específicas de cultivo. Gran parte de los estudios acerca de la relación entre los contenidos de clorofila y de N en hoja, han sido realizados mayoritariamente en cultivos convencionales a campo abierto tales como tomate y maíz; mientras que hay pocos estudios en cultivos hidropónicos bajo invernadero.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de diferentes estrategias de manejo del fertiriego sobre los contenidos de nitrógeno y clorofila en hoja y el rendimiento; y la regresión entre i- contenidos de N y de Cl en hoja, ii- contenidos de N y de Cl en hoja con el rendimiento y iii- contenidos de N y de Cl en hoja con los índices de Cl medidos con sensores ópticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental. La investigación fue realizada entre junio y noviembre del 2019, en la Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno, Alajuela, Costa Rica (10° 01' N y 84° 16' O, 840 msnm), con valores promedio anual de temperatura y humedad relativa y precipitación acumulada de 22°C, 78% y 1940 mm, respectivamente. Se utilizó un invernadero multitúnel de hierro galvanizado, con cubierta de polietileno transparente (200 μm) y malla anti-insectos (43 mesh) en las paredes, formado por módulos de 9,75 m de ancho y 50 m de largo, altura de 6 m al centro del túnel y 4 m a la canoa y orientado en dirección este-oeste. La ventilación fue pasiva en paredes laterales combinada

con apertura automatizada de ventanas cenitales según la velocidad del viento e intensidad de lluvia.

Condiciones climáticas. Durante el experimento se monitoreó la radiación solar global (Piranómetro LI-COR Mod. LI-200SA), la temperatura y la humedad relativa (VAISALA Mod. HMP-35C). Al final del estudio la integral de radiación solar varió entre 8 y 16,5 MJ.m⁻². día⁻¹ con un promedio de 10,8 MJ.m⁻². día⁻¹. Los promedios globales máximos, mínimos y promedios, fueron en el mismo orden, 32,8; 19,7 y 24,7°C para temperatura y de 98,2; 46,5 y 81,2% para humedad relativa.

Sistema de cultivo. Se utilizó un sistema de cultivo hidropónico en sustrato de fibra de coco en tablas comprimidas con cobertura plástica color blanco, las cuales fueron hidratadas con riegos cortos y frecuentes hasta alcanzar un volumen de 28,8 L. Finalmente, se realizaron 3 cortes al plástico cobertor en el borde inferior de la tabla, para drenar el exceso de agua.

Las características físicas del sustrato (Tabla 1) fueron determinadas mediante la metodología UNE-EN-13041-2007 (2007). Los contenidos de humedad volumétrica (θ) en la fibra de coco fueron determinados en muestras sometidas a potenciales mátricos (ψ_m) de 1, 5 y 10 kPa en la caja de arena (Eikelkamp, mod. 08.01). Se asumió que la θ a 1 y a 10 kPa correspondieron a la capacidad de contenedor ($\theta_{CC} = 77,8\%$) y al punto de marchitez permanente ($\theta_{PMP} = 52,4\%$), respectivamente. A partir de los porcentajes de θ en el sustrato para cada ψ_m se estimaron los porcentajes de agua fácilmente disponible, agua de reserva y agua total disponible. Además, se determinó los porcentajes de aireación, porosidad total y partículas sólidas en el sustrato.

El material genético utilizado fue el híbrido “Dulcítico” de crecimiento indeterminado, con un inicio de cosecha entre 75 y 90 días después de siembra, frutos de forma cónica color verde-rojizo, alto grado brix y un rendimiento de hasta 12,8 kg.m⁻² (Soto-Bravo *et al.* 2020).

La siembra se realizó por trasplante de plántulas con 35 días de edad con 5 a 6 hojas

verdaderas, producidas en bandejas plásticas de 98 celdas con turba (peat moss). Se sembraron 3 plantas por tabla de fibra de coco con distancias

de 33,3 cm entre plantas y de 1,5 m entre hileras, para una densidad de 2 plantas.m⁻².

Tabla 1. Características físicas de la fibra de coco utilizada como sustrato para el cultivo de chile dulce hidropónico en invernadero.

Parámetro	Rangos óptimos ¹		Valor
	Máximo	Mínimo	
Partículas < 1 mm = índice de grosor (%)			83,00
Partículas entre 1 y 4 mm (%)			58,00
Partículas > 4 mm (%)			25,00
Densidad aparente (g.cm ⁻³)		>0,15	0,095
Densidad real (g.cm ⁻³)	<1,0	1,0	1,80
Porosidad total (%)	>85%	--	94,70
Partículas sólidas (%)	15%	--	5,30
Humedad volumétrica a 1 kPa (%v.v ⁻¹)	55	70	77,80
Humedad volumétrica a 5 kPa (%v.v ⁻¹)	30	40	55,05
Humedad volumétrica a 10 kPa (%v.v ⁻¹)	25	30	52,44
Capacidad de aireación a 1 kPa (%)	30	15	17,00
Agua fácilmente disponible	20	30	22,71
Agua de reserva	5	10	2,61
Agua total disponible	25	40	25,32

¹ Adaptado de Ansorena (1994).

En prácticas de cultivo se realizaron podas sanitarias de hojas senescentes y tallos dañados, eliminación de frutos dañados y de brotes vegetativos por debajo de la primera bifurcación de la planta. El entutorado se realizó al colocar 2 cuerdas de nylon desde la primera bifurcación, que guiaban 2 tallos principales hasta un cable acerado en la parte superior. Todas las ramas emergentes se sujetaron con hilos de nylon a anillos colocados en las 2 cuerdas principales. Para el manejo de plagas y enfermedades se realizaron monitoreos semanales, con el fin de determinar la necesidad de realizar aplicaciones fitosanitarias de productos biológicos, preventivos o erradicantes.

Descripción de los tratamientos. Se evaluaron 6 tratamientos que combinaron 3 niveles de nutrición con 2 estrategias de manejo del riego (Tabla 2).

Para el manejo de riego, se utilizó un sistema por goteo autocompensado y antidrenante (2 L.h⁻¹). En las estrategias de riego (E) se establecieron 2 porcentajes de agotamiento del ATD: de 10% para E₁ y 30% para E₂, equivalentes a valores de consigna de θ en el sustrato para la activación del riego de 70 y 57%, respectivamente.

El control del riego se realizó por medio de una bandeja de riego a la demanda (BRD), que consistió en una canoa de madera impermeabilizada con plástico color negro, sobre la cual se colocó una tabla de fibra de coco sembrada

con 3 plantas del cultivo. Estaba compuesta por un caudalímetro, un pluviómetro (ECRN-100) y un sensor de θ (Decagon, Mod. GS3) para monitorear en tiempo real los volúmenes de riego y de drenaje y la θ en el sustrato. Según

las condiciones climáticas del día y la etapa fenológica del cultivo, conforme incrementaba la demanda de ET_c y consecuentemente disminuía la θ en el sustrato, se activaba el riego cuando se alcanzaban los valores de θ de consigna.

Tabla 2. Tratamientos combinados de 2 estrategias de manejo del riego con 3 niveles de concentración de nutrientes en solución nutritiva de chile dulce en fibra de coco bajo invernadero.

Identificación	Manejo de riego		Manejo nutricional		
	Estrategia	Volumen (L)	Frecuencia (hh:mm)	Contratación	CE (dS.m ⁻¹)
NBE ₁	Menor volumen y mayor frecuencia (E ₁)	0,53	2:58	Baja concentración (NB)	0,85
NBE ₂	Mayor volumen y menor frecuencia (E ₂)	1,74	3:38		
NME ₁	Menor volumen y mayor frecuencia (E ₁)	0,53	2:58	Media concentración (NM)	1,70
NME ₂	Mayor volumen y menor frecuencia (E ₂)	1,74	3:38		
NAE ₁	Menor volumen y mayor frecuencia (E ₁)	0,53	2:58	Alta concentración (NA)	2,55
NAE ₂	Mayor volumen y menor frecuencia (E ₂)	1,74	3:38		

El tiempo de riego para reponer el volumen de agua necesario para los agotamientos en las estrategias E₁ y E₂, fue calculado a partir del número de goteros por tabla (3 goteros), del caudal por gotero (2 L.h⁻¹) y el volumen de sustrato/tabla (28,8 L).

La concentración de nutrientes en los tratamientos fue ajustada por conductividad eléctrica (CE) a partir de una solución nutritiva para el cultivo de chile dulce (Soto-Bravo *et al.* 2020) para el nivel de nutrición media (NM), cuya CE se redujo un 50% para NB y se incrementó un 50% para NA (Tabla 3).

Tabla 3. Concentración de nutrientes y conductividad eléctrica (CE) de las soluciones nutritivas utilizadas en cada tratamiento de nutrición del cultivo de chile dulce hidropónico en invernadero.

Concentración de nutrientes	Macronutrientes (mg.L ⁻¹)						Micronutrientes (mg.L ⁻¹)						CE (dS.m ⁻¹)
	N	P	K	Mg	Ca	S	Fe	Cu	Mn	Zn	B	Mo	
Baja (NB)	58	19	119	18	74	43	1,00	0,05	0,20	0,20	0,20	0,10	1,0
Media (NM)	117	38	237	36	149	86	2,10	0,09	0,40	0,40	0,40	0,20	2,0
Alta (NA)	175	57	356	54	223	129	3,10	0,14	0,70	0,60	0,60	0,40	3,0

Para preparar las soluciones nutritivas se utilizó ácido nítrico, fosfato monopotásico, nitrato de potasio, sulfato de potasio, sulfato de

magnesio, nitrato de calcio, ácido bórico, molibdeno y quelatos (EDDHA) de hierro, cobre, manganeso y zinc.

Para cada nivel de nutrición, durante el periodo del estudio se monitoreó la conductividad

eléctrica (CE) en el sustrato (Figura 1) por el método de pasta saturada (Ansorena 1994).

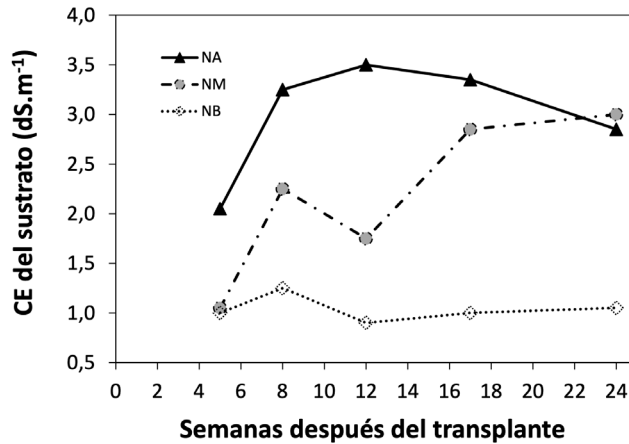


Figura 1. Evolución semanal de la conductividad eléctrica (CE) del sustrato de fibra de coco por el método de pasta saturada, según nivel de nutrición baja (NB), media (NM) y alta (NA). Alajuela, Costa Rica, 2019.

Diseño experimental. Se utilizó un diseño experimental irrestricto al azar con arreglo bifactorial (3 X 2). Cada tratamiento tuvo 3 repeticiones conformadas por 3 hileras con 5 tablas/hilera y 3 plantas por tabla (45 plantas/repeticón), para un total de 135 plantas por tratamiento. Las 2 hileras externas de cada repeticón funcionaron como cultivo de borde y la hilera central para muestreos.

Variables de respuesta. A partir de 15 días después de iniciar los tratamientos se determinó la concentración de clorofila y de nitrógeno (N) en hoja, en 5 evaluaciones durante el ciclo del cultivo. La determinación de clorofila se realizó según metodologías de Ni *et al.* (2009), Lichtenthaler y Wellburn (1995), Caesar *et al.* (2018). Se muestrearon 3 discos con un área de 6,16 cm², para un total 9 discos por unidad experimental. Se pesaron los discos de la hoja y se colocaron en tubos Falcon forrados con papel aluminio, y secuencialmente se agregó N líquido, luego se trituroó con ayuda de un mortero, se agregó 2 ml de etanol (95%) y se agitó

en el vortex. Posteriormente, la muestra se llevó a baño ultrasónico por 35 minutos e inmediatamente se centrifugó (3000 rpm) por 10 minutos a 4°C. El extracto se aforó a 6 ml con etanol (95%), del cual se tomó 1 ml que se diluyó en 7 ml de etanol al 95%.

Para determinar el contenido de clorofila, se midió la densidad óptica en 665 nm para la clorofila a y en 649 nm para la clorofila b, el blanco se llenó con etanol y cada muestra se midió por triplicado. Posteriormente, se anotaron las absorbancias y se determinó la cantidad (μg) de clorofila a ($13,95 (A_{665}) - 6,88 (A_{649}) \times \text{FD} \times \text{S}$); clorofila b ($24,96 (A_{649}) - 7,32 (A_{665}) \times \text{FD} \times \text{S}$) y clorofila total (clorofila a + clorofila b); donde A correspondió a la absorbancia del extracto de clorofila leída a la longitud de onda indicada en el subíndice, FD es el factor de dilución y S es la cantidad de solvente (ml). Los valores de clorofila fueron expresados $\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$ según la ecuación: Clorofila a + b ($\text{mg} \cdot \text{m}^{-2}$) = clorofila a + b/ $A_1 \times 1000$; donde A_1 es el área del disco (m^2). El contenido de N foliar se determinó por

el método Kjeldahl (1883) con la utilización de las mismas hojas muestreadas para determinar clorofila en hoja con etanol y con los sensores ópticos.

Con los sensores ópticos se determinaron índices de transmitancia, reflectancia y fluorescencia, los cuales están relacionados con el contenido de clorofila en hoja. En transmitancia se determinaron los índices SPAD (SPAD-502) e índice de clorofila (CCI; Apogee MC-100). En reflectancia se determinó el índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI) con GreenSeeker (NTech, modelo RT100). Finalmente, con Fluorómetro se determinó el índice de fluorescencia $F_v \cdot F_m^{-1}$ (Opti-Sciences 2012).

Para las determinaciones de dichos índices se seleccionaron al azar 3 plantas por repetición, en las cuales se seleccionó la hoja más nueva totalmente expandida y se midió con los sensores ópticos entre las 8 a.m. y 11 a.m. en el centro de la lámina foliar, parte adaxial y a un costado de la vena central según Padilla *et al.* (2018b). Todas las mediciones para los 4 sensores ópticos se realizaron en la misma hoja y en la misma planta.

El contenido relativo de clorofila en unidades SPAD, se determinó en un área foliar de 6 mm² con longitudes de onda de 650 y 940 nm. El CCI ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}$) se determinó en un área foliar de 71,22 mm², como el cociente entre los porcentajes de transmitancia obtenidos a 931 nm (radiación infrarroja cercana) y a 653 nm (radiación roja), según recomendación de AI (2018).

Con el GreenSeeker se determinó el NDVI en 2 rangos de longitud de onda: el infrarrojo (IR) comprendido entre 570 y 680 nm y el infrarrojo cercano (NIR) ubicado entre 725 y 1020 nm. Para esto, se recorría con el equipo 5 m a lo largo de una hilera de cada unidad experimental a una distancia del cultivo entre 80-120 cm según Gutiérrez *et al.* (2011).

El índice de fluorescencia $F_v \cdot F_m^{-1}$ se obtuvo como el cociente entre la fluorescencia variable (F_v) y la fluorescencia máxima (F_m). La hoja evaluada se adaptó a la oscuridad para alcanzar un estado donde el fotosistema II detiene su actividad. Posteriormente, el fluorómetro emitió una

radiación fotosintéticamente activa (PAR) por debajo de 1 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ para determinar el mínimo nivel de fluorescencia (F_0). Para determinar la F_m se expuso la hoja adaptada a oscuridad a una radiación fotosintéticamente activa (PAR) de varios miles de $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ por un tiempo menor a 1 segundo. A partir de la diferencia entre F_0 y F_m se obtuvo F_v , lo que permitió determinar el cociente $F_v \cdot F_m^{-1}$ y de esta forma la eficiencia del fotosistema II.

Para medir con el fluorómetro, se colocó un clip en la parte adaxial de la hoja en el centro de la lámina foliar y a un costado de la vena principal, para adaptar la hoja a oscuridad durante 30 minutos (Opti-Sciences 2012).

Finalmente, durante el periodo de cosechas, en cada tratamiento y en 10 plantas por repetición, se cuantificó el rendimiento comercial que incluyó los frutos clasificados según peso del fruto en primera (> 119 g), segunda (86-118 g) y tercera (< 85 g) calidad.

Análisis estadístico. Cuando se cumplieran los supuestos de normalidad y homocedasticidad, los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA). Cuando hubo interacción entre los niveles de nutrición y las estrategias de riego ($p < 0,05$), se analizaron los efectos simples de los tratamientos mediante la comparación múltiple de medias según Tukey ($p < 0,05$). Cuando no hubo interacción ($p > 0,05$) se analizaron los efectos principales, al agrupar los datos por nivel del factor que fue estadísticamente significativo ($p < 0,05$). Adicionalmente, se realizaron análisis de regresión entre i- contenidos de N y de Cl en hoja, ii- contenidos de N y de Cl en hoja con respecto al rendimiento y iii- contenidos de N y de Cl en hoja y los índices de transmitancia, reflectancia y fluorescencia medidos con sensores ópticos. Para todos los análisis se utilizó el programa estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.* 2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto sobre la concentración de nitrógeno y clorofila en hoja. En el presente estudio,

no hubo interacción entre la estrategia de riego y el nivel de nutrición ($p > 0,05$). Independientemente de la estrategia de riego, el nivel de nutrición afectó ($p < 0,05$) el contenido de nitrógeno, mientras que no hubo efecto ($p > 0,05$) sobre el contenido de Cl (Tabla 4). En la presente investigación no hubo diferencias en el contenido de

Cl cuando la dosis de N fue superior a 58 mg.L^{-1} . Coincidentemente, estudios realizados por De Ávila Silva *et al.* (2019) demostraron en plantas del género *Capsicum* que cuando las concentraciones de N fueron superiores a 50 mg.L^{-1} no hubo efecto sobre la concentración de clorofila (mg.g^{-1}) en hoja.

Tabla 4. Comparación de medias de los contenidos de nitrógeno (%N) y de clorofila en el cultivo de chile dulce (var. Dulcítico) hidropónico en invernadero, con Baja, Media y Alta concentración de nutrientes en solución nutritiva. Alajuela, Costa Rica, 2019.

Variable	Tratamiento	Media	n	E.E	
Clorofila mg.g^{-1}	Baja	0,95	30	0,11	A
	Media	1,00	30	0,11	A
	Alta	1,23	30	0,11	A
N (%)	Baja	4,80	10	0,16	A
	Media	5,36	10	0,16	B
	Alta	5,47	10	0,16	B

A, B: Letras distintas indican presencia de diferencias significativas entre tratamientos según prueba de Tukey ($p < 0,05$). E.E = error estándar.

Al comparar los tratamientos NA y NM, un mayor aporte de N en NA no se tradujo en incrementos en el contenido de N foliar. Dicho comportamiento ha sido observado en diversos estudios con dosis crecientes de N. Por ejemplo, De Ávila Silva *et al.* (2019) en 2 cultivares de chile obtuvieron una disminución en el peso del fruto y consecuentemente en el rendimiento, al incrementar la dosificación de N.

Aunque algunos estudios han demostrado que el aumento en los aportes de N está relacionado con mayores rendimientos, existe un nivel mínimo de N que permite alcanzar la máxima tasa de crecimiento. A partir de este nivel crítico (Greenwood 2001) se afecta el rendimiento, debido a un crecimiento foliar excesivo que favorece la incidencia de plagas y enfermedades y el desbalance entre fuente y sumidero de la planta. Al respecto, Yasuor *et al.* (2013), demostraron que no hubo efecto en la concentración de N foliar a

partir de concentraciones superiores a $56,2 \text{ mg.L}^{-1}$ en el cultivo de chile dulce.

Contenidos de nitrógeno y clorofila en hoja. La regresión entre contenidos de clorofila y de nitrógeno en hoja (Figura 2), obtuvo valores de R^2 relativamente bajos en todos los niveles de nutrición, con una tendencia ligeramente descendente conforme incrementó el nivel de nutrición en el tratamiento NB.

Los resultados obtenidos contrastan con estudios realizados por Padilla *et al.* (2018b), quienes reportaron valores de R^2 de 0,72, entre el N y clorofila foliar en chile dulce en suelo. Sin embargo, coincidente con el presente estudio, los autores observaron una tendencia a disminuir los valores de R^2 cuando el contenido de N foliar fue alto ($> 6\%$), debido a que los contenidos de clorofila a y b tienden a saturarse. Diversos factores tales como la especie, el genotipo, las condiciones climáticas (temperatura y radiación solar), y las prácticas de manejo (Medellín *et al.* 2011),

podieron afectar la capacidad de estimar los contenidos de N en función de la concentración de clorofila en hoja. Respecto al sistema de cultivo

en sustrato, el manejo del riego y la nutrición es distinto al suelo, debido a las diferencias intrínsecas entre ambos medios de cultivo.

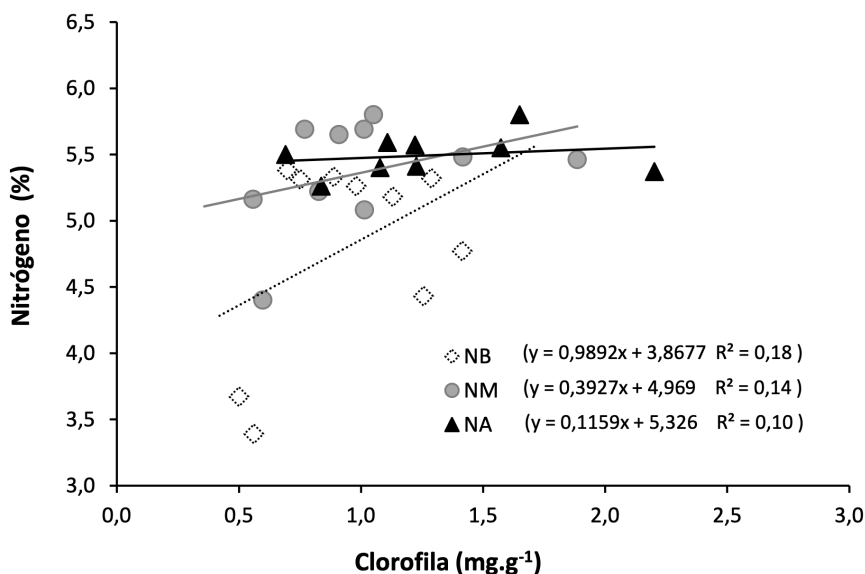


Figura 2. Análisis de regresión entre los contenidos de clorofila y de nitrógeno en hoja de plantas de chile dulce hidropónico bajo invernadero, con tratamientos de baja (\diamond NB), media (\bullet NM) y alta (\blacktriangle NA) concentración de nutrientes en solución nutritiva. Alajuela, Costa Rica, 2019.

Por otra parte, del total de N foliar, el 80% es almacenado en los cloroplastos, del cual el 50% se destina a la producción de proteínas fotosintéticas y tan solo entre 0,5 y 1,5% se destina a la síntesis de clorofila (Xiong *et al.* 2015). Por tanto, la relación entre el contenido de clorofila y de N en hoja puede cambiar por la distribución de N en la planta, según las condiciones lumínicas y el tipo de cultivo (Xiong *et al.* 2015).

Nitrógeno y clorofila en hoja respecto al rendimiento. La regresión entre el contenido de clorofila y el rendimiento presentó una tendencia

lineal negativa en todos los niveles de nutrición, donde los valores de R^2 disminuyeron conforme incrementó el nivel de nutrición desde 0,08 en NA hasta 0,45 en NB (Figura 3a). Por otra parte, la relación entre nitrógeno y rendimiento mostró una tendencia lineal negativa en el tratamiento con NA y una tendencia lineal positiva en los tratamientos NB y NM. La mayor capacidad para estimar el rendimiento a partir del contenido de N en hoja se presentó en el tratamiento NM (R^2 : 0,72; Figura 3b).

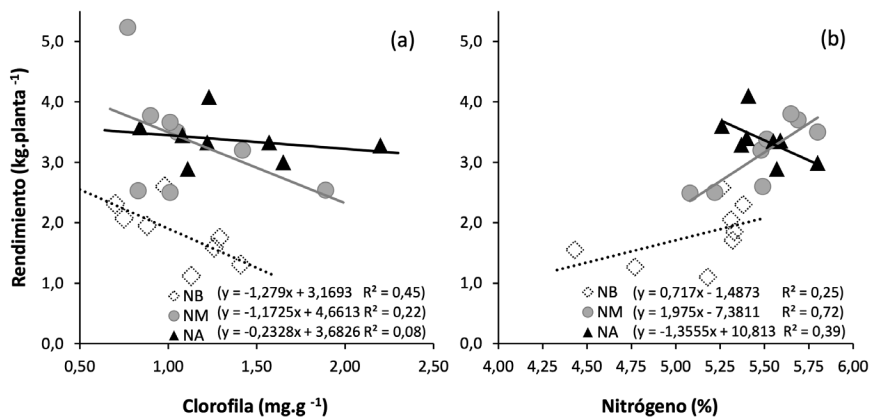


Figura 3. Regresión entre los contenidos de nitrógeno (a) y de clorofila (b) con el rendimiento en el cultivo de chile dulce hidropónico bajo invernadero con tratamientos de baja (◇ NB), media (● NM) y alta (▲ NA) concentración de nutrientes en solución nutritiva. Alajuela, Costa Rica, 2019.

El umbral óptimo de N foliar se determina por medio de la curva de N crítico, que se define como la mínima concentración de N en la cual se alcanza la máxima tasa de crecimiento del cultivo (Greenwood 2001). El N crítico es un parámetro muy utilizado para describir el proceso de dilución de N en la planta, ya que relaciona la producción de materia seca y la concentración de N durante el ciclo de cultivo C₃ y C₄ (Lemaire y Gastal 1997). Cuando la concentración de N en la planta es inferior al nivel de N crítico el crecimiento del cultivo disminuye, mientras que si es superior el crecimiento es excesivo.

En el presente estudio, el tratamiento NA obtuvo la mayor producción de biomasa con superior cantidad de hojas más grandes que los demás tratamientos (datos no presentados). Esto debido a que, ante altos aportes de N, ocurre un consumo de lujo de N, que se obtiene como el cociente entre la concentración máxima de N y el nivel de N crítico en hoja (Rahn *et al.* 2010). Dicho consumo se manifiesta en un crecimiento excesivo con mayor cantidad de hojas más grandes, lo cual disminuye la concentración de N por efecto de dilución (de Caram *et al.* 2007). Dicha dilución se debe a que la tasa de acumulación de

materia seca ocurre más rápido que la acumulación de nutrientes en la planta, por lo que a altas dosis de N se pueden presentar concentraciones foliares inferiores o similares a plantas con un aporte normal de N.

El comportamiento en el tratamiento NA fue coincidente con diferentes estudios (De Ávila Silva *et al.* 2019, Yasuor *et al.* 2013, Rambo *et al.* 2010) donde al aplicar dosis crecientes de N en chile dulce se obtuvo una disminución en el rendimiento con altas dosis de N. Esto debido a que existe un umbral de N foliar a partir del cual no hay incrementos en los rendimientos, debido a que altos aportes de N promueven un consumo de lujo que favorece el crecimiento excesivo que causa un desbalance entre el crecimiento vegetativo y generativo (fuente/sumidero). En estos casos las hojas actúan como un fuerte sumidero, lo que genera una competencia entre el crecimiento vegetativo y el reproductivo, repercute en la producción de flores y frutos, y por tanto, en el rendimiento (Sainju *et al.* 2019, De Ávila Silva *et al.* 2019).

Respecto a la relación entre el rendimiento y el contenido de clorofila, la literatura menciona que la deficiencia de algunos nutrientes como el

K, Mg, Ca y Fe, y su relación con el N, puede influir en el contenido de clorofila y consecuentemente en el rendimiento. En el presente estudio se presentó una relación lineal negativa entre la clorofila y el rendimiento, debido a que, durante el periodo de producción de frutos, se presentó una deficiencia de Fe en el cultivo debido a su precipitación en solución nutritiva. El hierro (Fe) participa en la síntesis de clorofila, en la estructura de cloroplastos (Briat *et al.* 2015) y afecta de manera indirecta la síntesis de porfirina que es precursor de la clorofila (Briat *et al.* 2015). Además, el contenido de clorofila afecta la tasa fotosintética y consecuentemente el rendimiento (Güler y Büyük 2007).

Por otra parte, la mayoría de los estudios reportados en la literatura, no especifican las proporciones entre nutrientes utilizadas en los distintos tratamientos, lo cual evidentemente puede afectar la relación entre los contenidos de N y clorofila en hoja. Al respecto, Güler y Büyük (2007), mencionan que la proporción entre el N y algunos nutrientes como el magnesio (Mg) y potasio (K) puede influir considerablemente en los contenidos de clorofila y de N foliar y consecuentemente en el rendimiento.

Análisis de regresión entre medidas directas e indirectas. El análisis de regresión entre medidas directas de N y de clorofila en hoja y las medidas indirectas obtenidas con equipos de transmitancia (SPAD, CCI), fluorescencia (F_v/F_m^{-1}) y reflectancia, se realizó únicamente para los niveles de nutrición, ya que fue el único factor que afectó ($p < 0,05$) el contenido de N en hoja y el rendimiento.

Los bajos valores de R^2 entre los índices de transmitancia, reflectancia y fluorescencia y los contenidos de N y de clorofila en hoja, pudo ser consecuencia de una serie de factores tales como el estado fenológico del cultivo, edad de la hoja, nutrición, riego, tipo de suelo, prácticas culturales, incidencia de insectos, patógenos, radiación solar y estado hídrico de la planta, entre otros. En la investigación realizada, hubo presencia de mosca blanca (*Bemisia tabaci*) que

favoreció la incidencia de fumagina (*Capnodium magniferar*). Asimismo, hubo incidencia del hongo *Leveillula taurica* y una deficiencia nutricional de hierro que afectó el índice de reflectancia (NDVI) ya que este es sensible a la pérdida de coloración verde del follaje.

Los factores señalados anteriormente, influyen en la morfofisiología, y por tanto, en las características ópticas de la hoja. Al respecto, Rambo *et al.* (2010) señalan que los índices de reflectancia en el espectro NIR (700 - 1300 nm) de la radiación solar, se ven influenciados por las propiedades ópticas del tejido foliar, tales como la estructura celular, las interfaces aire - pared celular - protoplastos - cloroplastos.

Nitrógeno y clorofila en hoja y medidas indirectas. Las ecuaciones generadas en la regresión entre los valores de N en hoja y los de transmitancia (CCI, SPAD), reflectancia (NDVI) y fluorescencia (F_v/F_m^{-1}), presentaron una mayor capacidad de predicción ($>R^2$) cuando los niveles de nutrición fueron bajos (NB > NM > NA). Esta tendencia ha sido observada en estudios realizados por Zhang *et al.* (2019).

Nitrógeno en hoja y transmitancia (CCI, SPAD). La regresión entre el contenido de N en hoja (%) y los índices CCI (Figura 4a) y SPAD (Figura 4b), presentaron un comportamiento lineal muy similar. En ambos índices, los tratamientos NM y NA mostraron una tendencia lineal estática con bajos valores de R^2 desde 0,10 a 0,18; mientras que en NB hubo una tendencia lineal creciente con valores de R^2 entre 0,26 y 0,40 (Figura 4). Al respecto, estudios realizados por Zhang *et al.* (2019) plantean que aportes crecientes de N no necesariamente reflejan aumentos en los valores de SPAD, CCI y fluorescencia, lo cual sugiere que altos aportes de N podría dificultar la estimación del contenido de N y clorofila en hoja.

Cuando el nivel de nutrición fue bajo (NB), el modelo de regresión para predecir los contenidos de N en hoja a partir de los índices SPAD y CCI, tuvo una tendencia lineal muy similar en ambos casos, con valores de R^2 de 0,26 para CCI

(Figura 4a) y de 0,40 para SPAD (Figura 4b). Estudios similares de regresión entre índices SPAD y N en hoja de maíz, reportaron valores intermedios

de R^2 desde 0,42 a 0,62 (Gabriel *et al.* 2019) y superiores a 0,64 (Medellín *et al.* 2011).

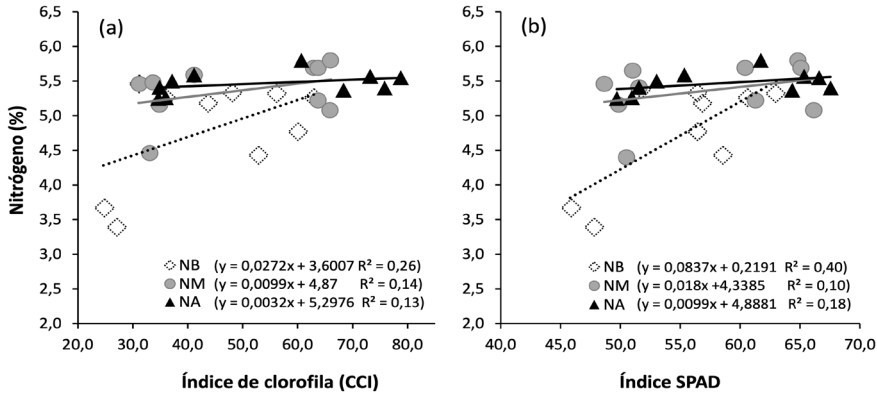


Figura 4. Regresión entre el contenido de nitrógeno (%) en hoja y los índices (a) de clorofila (CCI) y (b) de desarrollo de análisis de plantas y suelo (SPAD) en el cultivo de chile dulce hidropónico bajo invernadero, con tratamientos de baja (\diamond NB), media (\bullet NM) y alta (\blacktriangle NA) concentración de nutrientes en solución nutritiva. Alajuela, Costa Rica, 2019.

Los contenidos y distribución de N y Cl en los diferentes tejidos de la planta son afectados por condiciones de baja intensidad lumínica (Xiong *et al.* 2015) debido a una baja tasa de asimilación. Esto puede ser un factor condicionante, principalmente en épocas de baja radiación solar, debido al efecto difusor de luz de la cubierta plástica utilizada en el invernadero donde se realizó el presente estudio, el cual fue realizado en invierno donde se obtuvo una integral de radiación solar diaria (DLI) promedio de $10,8 \text{ MJ}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{día}^{-1}$. Esta es una condición limitante, ya que el chile dulce es una planta exigente en radiación solar, la cual, para obtener altos rendimientos, requiere valores superiores a $14 \text{ MJ}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{día}^{-1}$.

Asociado a dicha reducción lumínica, Medellín *et al.* (2011) señalan que la concentración de N y de Cl puede variar a lo largo de la lámina foliar, ya que no se distribuye equitativamente en toda la hoja. Además, el contenido de N y de Cl puede variar producto de la morfofisiología de la hoja (Zhang *et al.* 2019, Gabriel *et al.* 2019) la cual pudo ser afectada en condiciones de NB.

De acuerdo con lo expuesto anteriormente y con estudios realizados por Zhang *et al.* (2019) y Parry *et al.* (2014), para monitorear con mayor precisión el estado de N foliar en cultivos hidropónicos bajo invernadero, a partir de índices de transmitancia, reflectancia y florescencia con el uso de sensores ópticos, podría ser necesario estandarizar las metodologías de muestreo según etapa fenológica, hora del día, cantidad de muestras, sitio de muestreo en la hoja, así como aspectos de manejo agronómico, riego y nutrición, entre otros.

Clorofila en hoja y transmitancia (CCI, SPAD). Los modelos de regresión generados entre el contenido de clorofila en hoja y los índices de transmitancia (CCI y SPAD), presentaron mayor capacidad de estimación (R^2) cuando el nivel de nutrición fue NB, con valores de R^2 de 0,75 para CCI (Figura 5a) y de 0,71 para SPAD (Figura 5b), seguido por el tratamiento con NA con un R^2 de 0,40 para CCI (Figura 5a) y de 0,38 para SPAD (Figura 5b). En las plantas con niveles de nutrición medio (NM) se presentaron valores R^2 marginales entre 0,003 y 0,06 (Figura 5).

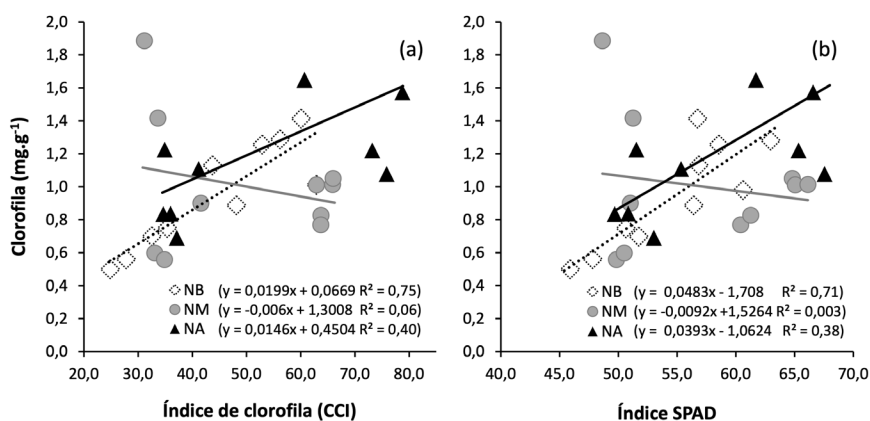


Figura 5. Regresión entre el contenido de clorofila en hoja y los índices (a) de clorofila (CCI) y (b) de desarrollo de análisis de plantas y suelo (SPAD) en el cultivo de chile dulce hidropónico bajo invernadero con tratamientos de baja (\diamond NB), media (\bullet NM) y alta (\blacktriangle NA) concentración de nutrientes en solución nutritiva. Alajuela, Costa Rica, 2019.

La capacidad para predecir el contenido el contenido de Cl en hoja a partir de los índices SPAD y CCI, tuvo un comportamiento lineal muy similar para ambas variables (Figura 5), probablemente debido a que estas determinan la transmitancia en longitudes de onda muy similares de radiaciones roja e infrarroja cercana (NIR). En NIR se utilizan longitudes de NIR 931 nm para CCI y de 940 nm para el SPAD; mientras que en radiación roja se utiliza 653 nm para CCI y 650 nm para SPAD (AI 2018, ST 2009, Taskos *et al.* 2015). Además, los valores de transmitancia dentro de longitudes de onda NIR se ven influenciados por factores que afectan la síntesis de clorofila, tal como sucedió con una ligera deficiencia de hierro presentada en este estudio.

El comportamiento de la relación entre el contenido de Cl y los índices de transmitancia (CCI, SPAD) en los tratamientos NM y NA, fueron contrastantes con estudios realizados por Padilla *et al.* (2018b) en el cultivo de chile dulce en suelo. En dicho estudio, al analizar la relación entre el contenido de clorofila en hoja y los índices de transmitancia, se obtuvieron valores de R² de 0,85 para SPAD y de 0,78 para CCI. Asimismo, se han reportado altos valores

de R² al utilizar las medidas de SPAD y CCI para predecir el contenido de Cl en hoja de cultivos en suelo a campo abierto, tales como canola, tomate, pepino y melón (Wu *et al.* 2012, Padilla *et al.* 2017, Azia y Stewart 2001, Zhu *et al.* 2012). Sin embargo, estos estudios han sido realizados en un sistema de cultivo en suelo, que podría conllevar a resultados diferentes a un sistema de cultivo sin suelo. De forma similar al N sería necesario estandarizar metodologías de muestreo según etapa fenológica, hora del día, cantidad de muestras, sitio de muestreo en la hoja, así como aspectos de manejo agronómico, riego y nutrición, entre otros.

Nitrógeno, clorofila y reflectancia (NDVI). Los modelos de regresión entre NDVI y los contenidos de N (Figura 6a) y de Cl (Figura 6b) en hoja, mostraron un comportamiento lineal positivo. Se observó que la capacidad de estimación del contenido de N (R²) incrementó conforme disminuyó el nivel de nutrición, con el mayor valor de R² (0,61) en el tratamiento NB (Figura 6a). En contraste, la regresión entre Cl y NDVI, presentó un comportamiento irregular, donde el mayor valor de R² (0,63) se obtuvo en NA (Figura 6b).

Estudios similares en otros cultivos como pastizales, de igual forma han mostrado resultados variables con valores de R^2 de entre 0,50 y

0,92, según la época de medición y del tipo de pasto (Bell *et al.* 2004).

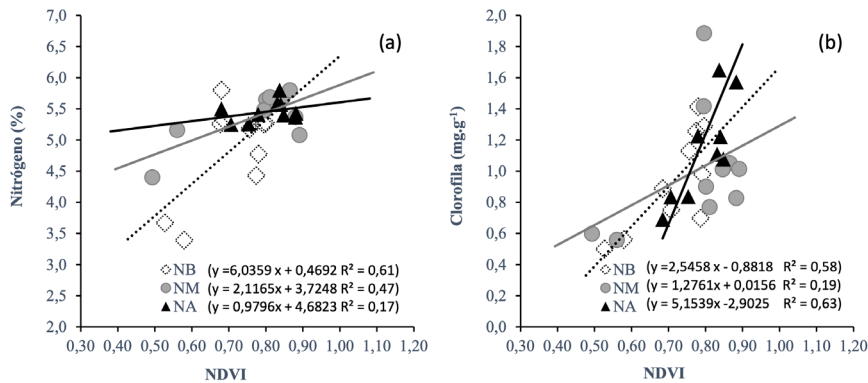


Figura 6. Regresión entre los índices de vegetación de diferencia normalizada (NDVI) y los contenidos de nitrógeno (a) y de clorofila (b) en hoja de plantas de chile dulce hidropónico bajo invernadero, con tratamientos de baja (\diamond NB), media (\bullet NM) y alta (\blacktriangle NA) concentración de nutrientes en solución nutritiva. Alajuela, Costa Rica, 2019.

Los resultados anteriormente descritos, contrastan con los hallazgos de Padilla *et al.* (2018b) en chile dulce, donde el modelo de regresión para estimar N a partir de NDVI obtuvo valores de R^2 superiores a 0,91. Asimismo, Rambo *et al.* (2010), al relacionar el NDVI con el contenido de N en el cultivo de maíz, consideraron que un R^2 de 0,59 representó un modelo de regresión aceptable para estimar N en hoja.

Los valores de NDVI es uno de los índices más utilizados para el manejo de N en los cultivos como cereales, pepino, tomate y brócoli, ya que se ha demostrado una fuerte relación con el contenido de Cl en hoja (Padilla *et al.* 2018c). Sin embargo, los valores de NDVI son muy sensibles a los síntomas de clorosis en hoja (Padilla *et al.* 2018c), debido a que son más sensibles a la reflectancia en el espectro de radiación verde y rojo.

Por otra parte, en el presente estudio, la cobertura del suelo fue “ground cover” color blanco, por lo cual la luz reflejada pudo afectar los valores de NDVI y consecuentemente su relación con los contenidos de N y de Cl en hoja. Esto

se evidenció principalmente en etapas tempranas del cultivo, donde la cobertura del suelo por el cultivo es baja. En este caso, la reflectancia desde el suelo es predominante, ya que las superficies blancas presentan valores de NDVI iguales a -1 (Gutiérrez *et al.* 2011). Consecuentemente, en etapas iniciales es posible que se enmascare los contenidos de N y de Cl; mientras que en etapas avanzadas la cobertura del cultivo incrementa, lo que reduce la influencia de la superficie del suelo sobre los valores de NDVI, que tendieron a aumentar.

Otro factor que pudo afectar el potencial del NDVI para estimar el contenido de N en hoja en condiciones de NA, es el hecho de que las mediciones con el Greenseeker pueden presentar saturación cuando la biomasa de la planta alcanza valores máximos en etapas fenológicas avanzadas, lo que resulta en datos poco representativos del estado nutricional de la planta (Muñoz *et al.* 2013). Esto plantea la necesidad de generar modelos para las distintas etapas fenológicas y considerar el efecto de la cobertura del suelo (Li *et al.* 2014). Por ejemplo, en el cultivo de algodón,

Ramirez *et al.* (2015) señalan que la validez del contenido de N en hoja mediante sensores ópticos, mostró resultados promisorios únicamente cuando el dosel del cultivo alcanzaba el 30% de cobertura.

Por otra parte, Gutiérrez *et al.* (2011) señalan que el Greenseeker se debe mantener a una distancia entre 80-120 cm con un ángulo definido respecto al cultivo. Sin embargo, en este estudio, la distancia entre hilera (1,5 m) junto a la densidad del follaje, dificultó la aplicación de dicha recomendación. Además, las longitudes de onda en el margen del espectro rojo penetran más dentro del dosel del cultivo, lo que hace que la reflectancia sea más medible, por lo que el uso de dichas bandas han demostrado ser indicadores confiables para al monitorear el estado del N y de Cl en hoja a partir de medidas del NDVI (Li *et al.* 2014, Padilla *et al.* 2018c).

Nitrógeno, clorofila y fluorescencia ($F_v \cdot F_m^{-1}$). Los resultados obtenidos en el presente estudio demostraron que la $F_v \cdot F_m^{-1}$ tiene gran

potencial para monitorear el contenido del N en hoja de plantas de chile dulce hidropónico bajo invernadero, cuando el nivel de N fue NB (R^2 : 0,89) o NM (R^2 : 0,69). Coincidente con lo anterior, Yang *et al.* (2016), reportaron valores de R^2 entre 0,70 y 0,90 para dichas variables. Sin embargo, la capacidad predictiva fue marginal (R^2 : 0,046; Figura 7a) cuando el nivel de N en hoja incrementó a valores de 5,5 a 5,8% en el tratamiento NA, debido a una mayor variabilidad en los datos de $F_v \cdot F_m^{-1}$. Esto sugiere que, con altos contenidos de N la $F_v \cdot F_m^{-1}$ no es un buen parámetro para estimar el contenido de N en hoja del cultivo de chile dulce.

Por otra parte, la regresión entre $F_v \cdot F_m^{-1}$ y el contenido de Cl en los distintos niveles de nutrición (Figura 7b), presentó un patrón similar al descrito anteriormente en la relación entre N y $F_v \cdot F_m^{-1}$. Sin embargo, en el caso de la Cl, los valores de R^2 fueron menores, donde el tratamiento NM obtuvo el mayor coeficiente de determinación (R^2 : 0,45; Figura 7b).

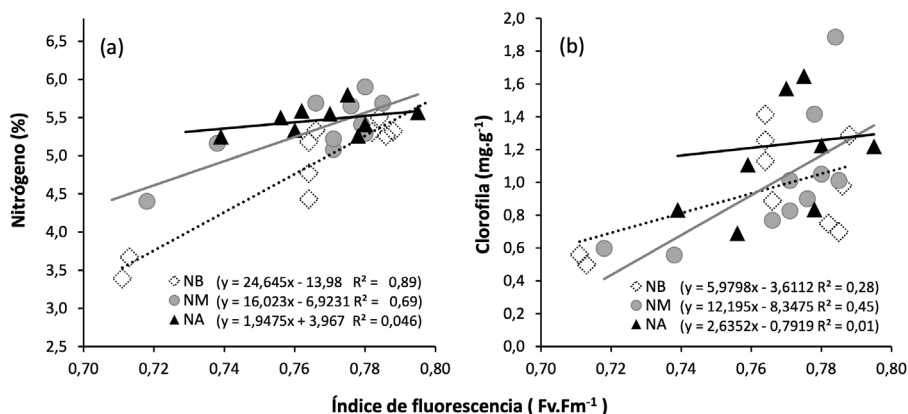


Figura 7. Regresión entre el índice de fluorescencias y los contenidos de nitrógeno (a) y de clorofila (b) en hoja de plantas de chile dulce chile hidropónico bajo invernadero con tratamientos de baja (\diamond NB), media (\bullet NM) y alta (\blacktriangle NA) concentración de nutrientes en solución nutritiva. Alajuela, Costa Rica, 2019.

La medición correcta de la fluorescencia conlleva una mayor complejidad, ya que involucra otros pigmentos fotosintéticos, que no contempla el fluorómetro utilizado en este estudio. La fluorescencia es un proceso que se da durante la fase I de la fotosíntesis, en el cual la clorofila y otros pigmentos se encargan de la absorción de radiación solar. Dicha absorción es afectada por la distribución y concentración de dichos pigmentos en la hoja, que a la vez dependen de diversos factores bióticos, abióticos, genéticos, manejo agronómico y específicamente de los aportes nutricionales. Ante una deficiencia o excesos de N, la planta modifica la concentración de clorofila, flavonoides y carotenoides, entre otros. Por ejemplo, la concentración de zeaxantina incrementa ante una limitación de N (Pérez-Molina *et al.* 2020, Rambo *et al.* 2010).

CONCLUSIONES

Los contenidos de nitrógeno y de clorofila en hoja de chile dulce hidropónico en invernadero, no fueron afectados por la interacción entre la estrategia de riego y la nutrición, únicamente hubo efecto del nivel de nutrición de los tratamientos. Los mayores rendimientos se obtuvieron en los tratamientos con nivel de nutrición medio ($3,54 \text{ kg.planta}^{-1}$) y alto ($3,56 \text{ kg.planta}^{-1}$), asociados con mayores contenidos de N en hoja, de 5,36% y 5,47, respectivamente.

El modelo de regresión demostró poca capacidad para estimar N a partir del contenido de Cl en hoja; mientras que para estimar rendimiento a partir de los contenidos de N y de Cl en hoja, mostró el mayor potencial en los tratamientos NM ($R^2: 0,50$) y NB ($R^2: 0,47$).

Respecto a los índices de transmitancia, reflectancia y fluorescencia obtenidos con sensores ópticos, en general no mostraron una buena relación con los contenidos de N y de Cl en hoja en los tratamientos con altos aportes de nutrición. Los índices de transmitancia SPAD y CCI presentaron buen potencial para estimar el contenido de clorofila únicamente cuando el nivel de N fue bajo (NB), con valores de R^2 de 0,71 y 0,75,

respectivamente. Los índices de fluorescencia $F_v.F_m^{-1}$ y de reflectancia NDVI mostraron buena capacidad para estimar el contenido de N foliar en hoja cuando el nivel de nutrición fue medio y bajo, con valores de R^2 de 0,89 en NB y 0,69 en NM para $F_v.F_m^{-1}$; y de 0,61 en NB y 0,47 en NM para NDVI.

LITERATURA CITADA

- AI (Apogee Instruments). 2018. Chlorophyll concentration meter (en línea). Utah, USA. Consultado feb. 2019. Disponible en <https://www.apogeeinstruments.com/content/MC-100-manual.pdf>
- Ansorena, M.J. 1994. Sustratos. Propiedades y caracterización. Madrid, España, Mundi Prensa. 167 p.
- Azia, F; Stewart, K.A. 2001. Relationships between extractable chlorophyll and SPAD values in muskmelon leaves. *Journal of Plant Nutrition* 24(6):961-966.
- Bell, GE; Howell, BM; Johnson, GV; Raun, WR; Solie, JB; Stone, ML. 2004. Optical sensing of turfgrass chlorophyll content and tissue nitrogen. *HortScience* 39(5):1130-1132.
- Briat, JF; Dubos, C; Gaymard, F. 2015. Iron nutrition, biomass production, and plant product quality. *Trends in Plant Science* 20(1):33-40.
- Byrnes, BH. 1990. Environmental effects of N fertilizer use. *Fertilizer research* 26(1-3):209-215.
- Caesar, J; Tamm, A; Ruckteschler, N; Leifke, AL; Weber, B. 2018. Revisiting chlorophyll extraction methods in biological soil crusts-methodology for determination of chlorophyll a and chlorophyll a + b as compared to previous methods. *Biogeosciences* 15:1415-1424.
- De Ávila Silva, L; Condori-Apfata, JA; Marcelino, MM; Tavares, ACA; Raimundi, SCJ; Martino, PB; Nunes-Nesi, A. 2019. Nitrogen differentially modulates photosynthesis, carbon allocation and yield related traits in two contrasting *Capsicum chinense* cultivars. *Plant Science* 283:224-237.
- De Caram, GA; Angeloni, P; Prause, J. 2007. Determinación de la curva de dilución de nitrógeno en diferentes fases fenológicas del girasol. *Agricultura Técnica* 67(2):189-195.
- Di Rienzo, JA; Macciavelli, RE; Casanoves, F. 2012. Modelos lineales mixtos: aplicaciones en InfoStat. Córdoba, Argentina, Universidad de Córdoba. 193 p.
- Gabriel, JL; Quemada, M; Alonso-Ayuso, M; Lizaso, JI; Martín-Lammerding, D. 2019. Predicting N status in maize with clips sensors: choosing sensor, leaf sampling point, and timing. *Sensors* 19(18):3881.
- Greenwood, DJ. 2001. Modeling N-response of field vegetable crops grown under diverse conditions

- with N_{ABLE}: a review. *Journal of Plant Nutrition* 24:1799-1815.
- Güler, S; Büyük, G. 2007. Relationships among chlorophyll-meter reading value, leaf N and yield of cucumber and tomatoes. *Acta Horti* 729:307-311.
- Gutiérrez, MV; Cadet, E; Rodríguez, W; Araya, JM. 2011. El Greenseeker y el diagnóstico del estado de salud de los cultivos. *Agronomía Mesoamericana* 22(2):397-403.
- Kjeldahl, JG. 1883. Neue methode zur bestimmung des stickstoffs in organischen körnern. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 22(1):366-382.
- Kraiser, T; Gras, DE; Gutiérrez, AG; González, B; Gutiérrez, RA. 2011. A holistic view of nitrogen acquisition in plants. *Journal of Experimental Botany* 62(4):1455-1466.
- Leghari, SJ; Wahocho, NA; Laghari, MG; Laghari, AH; Bhabhan, MG; Talpur, KH; Bhutto, TA; Wahocho, SA; Lashari, AA. 2016. Role of nitrogen for plant growth and development: A review. *Advances in Environmental Biology* 10(9):209-218.
- Lemaire, G; Gastal, F. 1997. N uptake and distribution in plant canopies. In Lemaire, G (ed.). *Diagnosis of Nitrogen Status in Crops*. Berlin, Springer-Verlag. p. 3-41.
- Li, F; Miao, Y; Feng, G; Yuan, F; Yue, S; Gao, X; Chen, X. 2014. Improving estimation of summer maize nitrogen status with red edge-based spectral vegetation indices. *Field Crops Research* 157:111-123.
- Lichtenthaler, HK; Wellburn, AR. 1995. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11:591-592.
- Medellín, LAC; Rozo, AM; Trujillo, MM. 2011. Ensayo preliminar sobre la utilización de un medidor portátil de clorofila para estimar el nitrógeno foliar en orégano (*Origanum vulgare* L.). *Revista Facultad de Ciencias Básicas* 7(2):150-165.
- Muñoz-Huerta, RF; Guevara-Gonzalez, RG; Contreras-Medina, LM; Torres-Pacheco, I; Prado-Olivarez, J; Ocampo-Velazquez, RV. 2013. A review of methods for sensing the nitrogen status in plants: advantages, disadvantages and recent advances. *Sensors* 13(8):10823-10843.
- Ni, Z; Kim, ED; Chen, ZF. 2009. Chlorophyll and starch assays: Protocol exchange. Texas, USA. p. 1-3. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.12>
- Opti-Sciences. 2012. OS-30p+ Chlorophyll fluorometer: Field portable handheld instrument designed for Fv/FM, Fv/F0, and advanced OJIP measurements (en línea). Consultado oct. 2019. Disponible en <https://www.optisci.com/os30p.html>
- Padilla, FM; De Souza, R; Peña, MT; Gallardo, M; Giménez, C; Thompson, RB. 2018b. Different responses of various chlorophyll meters to increasing nitrogen supply in sweet pepper. *Frontiers in Plant Science* 9:1752.
- Padilla, FM; Gallardo, M; Peña, MT; De Souza, R; Thompson, RB. 2018a. Proximal optical sensors for nitrogen management of vegetable crops: a review. *Sensors* 18(7):1-23. DOI: <https://doi.org/10.3390/s18072083>
- Padilla, FM; Peña, MT; Gallardo, M; Giménez, C; Thompson, RB. 2017. Derivation of sufficiency values of a chlorophyll meter to estimate cucumber nitrogen status and yield. *Computers and Electronics in Agriculture* 141:54-64.
- Padilla, FM; Thompson, RB; Peña, MT; Gallardo, M. 2018c. Reference values for phenological phases of chlorophyll meter readings and reflectance indices for optimal N nutrition of fertigated tomato. *Acta Horticulturae* 1192:65-72.
- Pardos, JA. 2004. Respuestas de las plantas al anegamiento del suelo. *Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales* 13(1):101-107.
- Parry, C; Blonquist JR; Bugbee, B. 2014. In situ measurement of leaf chlorophyll concentration: analysis of the optical/absolute relationship. *Plant, cell & environment* 37(11):2508-2520.
- Pérez-Molina, JP; Castro Lara, R; Portuguez Brenes, I; Araya Trejos, V; Quesada Traña, A. 2020. Chlorophyll fluorescence and biomass partitioning within light and nitrogen deficiency: An example of the use of the R programming language for teaching. *Cuadernos de Investigación UNED* 12(1):92-105.
- Quesada, G. 2015. Producción de chile dulce en invernadero bajo diferentes niveles de agotamiento en la humedad del sustrato. *Agronomía Costarricense* 39(1):25-36.
- Rahn, CR; Zhang, K; Lill Ywhite, R; Ramos, C; Doltra, J; De Paz, JM; Doltra, J; Riley, H; Fink, M; Nendel, C; Thorup-Kristensen, K; Pedersen, A; Piro, F; Venezia, A; Firth, C; Schmutz, U; Rayns, F; Strohmeier, K. 2010. EU-Rotate_N - A decision support system - to predict environmental and economic consequences of the management of nitrogen fertiliser in crop rotations. *European Journal of Horticultural Science* 75(1):20-32.
- Rambo, L; Ma, BL; Xiong, I; Silva, PRF. 2010. DA. Leaf and canopy optical characteristics as crop-N-status indicators for field nitrogen management in corn. *Journal Plant Nutrient Soil Science* 173(3):434-443.
- Ramirez, MB; Allen, PB; Freeland, RS; Wilkerson, JB. 2015. Ground-based NDVI sensing: separating the ground surface from the cotton canopy. *Transactions of the ASABE* 58(3):597-605.
- Sainju, UM; Ghimire, R; Pradhan, GP. 2019. Nitrogen Fertilization I: Impact on Crop, Soil, and Environment. In Rigobelo, EC; Serra, AP (eds.). *Nitrogen fixation*. Intech Open, London. p. 1-20. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.86028>

- SCU (Science Communication Unit). 2013. Nitrogen pollution and the European environment. University of the West of England (en línea). Consultado oct. 2019. Disponible en https://ec.europa.eu/environment/integration/research/newsalert/pdf/IR6_en.pdf
- Soto-Bravo, F; Araya-Cubero, E; Echandi-Gurdian, C. 2020. Efecto de la densidad de siembra y volumen de sustrato sobre parámetros de riego y rendimiento de chile dulce ‘dulcítico’, en hidroponía bajo invernadero. *Agronomía Costarricense* 44(1):43-64.
- ST (Spectrum Technologies). 2009. SPAD 502 Plus Chlorophyll meter: Product manual (en línea). Consultado feb. 2019. Disponible en <https://www.specmeters.com>
- Taskos, DG; Koundouras, S; Stamatiadis, S; Zioziou, E; Nikolaou, N; Karakioulakis, K; Theodorou, N. 2015. Using active canopy sensors and chlorophyll meters to estimate grapevine nitrogen status and productivity. *Precision Agriculture* 16(1):77-98.
- UNE-EN (Una Norma Española-European Norm) 13041. 2007. Mejoradores de suelo y sustratos de cultivo: Determinación de propiedades físicas. Densidad aparente seca, volumen de aire, de agua, valor de contracción y porosidad total. Madrid, España, Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR). 25 p.
- Wu, X; Guo, J; Zhao, C; Chen, L; Zhang, Y; Fang, Z; Yang, YY. 2012. Research and application of non-destructive testing diagnosis technology of tomato. *Sensor Letters* 10(1-2):666-669.
- Xiong, D; Chen, J; Yu, T; Gao, W; Ling, X; Li, Y; Huang, J. 2015. SPAD-based leaf nitrogen estimation is impacted by environmental factors and crop leaf characteristics. *Scientific reports* 5(13389).
- Yang, J; Gong, W; Shi, S; Du, L; Sun, J; Song, S; Chen, B; Zhang, Z. 2016. Analyzing the performance of fluorescence parameters in the monitoring of leaf nitrogen content of paddy rice. *Scientific Report* 6:28787. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep28787>
- Yasuor, H; Ben-Gal, A; Yermiyahu, U; Beit-Yannai, E; Cohen, S. 2013. Nitrogen management of greenhouse pepper production: Agronomic, nutritional, and environmental implications. *HortScience* 48(10):1241-1249.
- Zhang, K; Liu, X; Ma, Y; Zhang, R; Cao, Q; Zhu, Y; Tian, Y. 2019. A comparative assessment of measures of leaf nitrogen in rice using two leaf-clip meters. *Sensors* 20(1):175.
- Zhu, J; Tremblay, N; Liang, Y. 2012. Comparing SPAD and at LEAF values for chlorophyll assessment in crop species. *Canadian Journal of Soil Science* 92(4):645-648.

