

## EVALUACIÓN DE UN INSTRUMENTO MEDIDOR DE CLOROFILA EN LA DETERMINACIÓN DE NIVELES DE NITRÓGENO FOLIAR EN MAÍZ<sup>1</sup>

Evaluation of a chlorophyll meter on the assessment of foliar nitrogen in corn

Rafael Novoa S.-A.<sup>2</sup> y Nicolás Villagrán A.<sup>2</sup>

### ABSTRACT

In order to evaluate the use of a chlorophyll meter (SPAD 502), as a tool to estimate the N content of corn (*Zea mays*) leaves, a field experiment of corn hybrid 'INIA 160' was sown at National Agricultural Research Institute (INIA), La Platina Experimental Station, Santiago, Chile. Four nitrogen treatments, 0, 100, 200, 400 kg N ha<sup>-1</sup>, using urea were applied in a completely randomized block design with four replicates. Half of the N was applied at sowing and half at the 6-7 leaf growth stage. The most recently mature leaves were sampled for each treatment. The chlorophyll levels of leaves were measured with the SPAD. Ten measurements were made per leaf: 5 on each side of the central vein for 3 plants per treatment. These same leaves were taken to the lab for N chemical analysis. Readings were taken at two stages, when the corn had 5-6 leaves and a few days after full tassel. According to the results, the SPAD 502 chlorophyll meter readings and foliar N percentage content were highly correlated. At the first and second reading dates,  $r^2$  was 0.88 and 0.81, respectively. In this case at the six-leaf stage, SPAD values of less than 35.3, equivalent to 1.84% N in the leaves, would indicate that it is necessary to apply N.

**Key words:** corn, foliar nitrogen, nitrogen use, SPAD 502.

### RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el uso de un instrumento medidor de clorofila (SPAD 502) como un indicador del contenido de N en hojas de maíz (*Zea mays*), se estableció un ensayo de campo en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación La Platina, Santiago, Chile. Se aplicaron cuatro tratamientos de fertilización nitrogenada usando urea, 0, 100, 200 y 400 kg de N ha<sup>-1</sup>, con cuatro repeticiones, dispuestas en bloques al azar. La mitad de la dosis se aplicó a la siembra y el resto se aplicó al estado de 6-7 hojas. Se muestrearon las hojas más recientemente maduras del maíz en cada tratamiento. A éstas se les determinaron los niveles de clorofila con el SPAD. Se hicieron diez mediciones por hoja, en el limbo, 5 a cada lado de la vena central, en 3 plantas por tratamiento. A esas mismas hojas se les midió el contenido de N en laboratorio. Las mediciones se hicieron en dos épocas, cuando el maíz tenía 5 a 6 hojas y poco después de la floración. De acuerdo a los resultados obtenidos, las mediciones de clorofila realizadas con el SPAD 502 y el análisis de porcentaje de N están altamente correlacionados. En la primera y segunda fecha se obtuvo un  $r^2$  de 0,88 y 0,81, respectivamente. En este caso y para la primera época, valores del SPAD inferiores a 35,3, equivalentes a un contenido de 1,84% de N en las hojas, estarían indicando que es necesario aplicar N.

**Palabras clave:** maíz, nitrógeno foliar, fertilización nitrogenada, SPAD 502.

<sup>1</sup>Recepción de originales: 14 de septiembre de 2000.

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación La Platina, Casilla 439-3, Santiago, Chile. E-mail: rnovoa@platina.inia.cl; nicovillagran@usa.net

## INTRODUCCIÓN

Es un hecho conocido desde hace años, que el maíz (*Zea mays* L.) es un cultivo muy exigente en N y que la fracción de recuperación del N que se le aplica es baja, normalmente inferior al 50% (Novoa y Loomis, 1981). En Chile las estimaciones más recientes de la eficiencia de uso del N para maíz van de 27 a 38% (Fernández, 1995). Por otra parte la creciente necesidad de reducir costos, de mejorar la eficiencia en el uso de los fertilizantes nitrogenados, y evitar la contaminación con nitratos, hace necesario el uso de nuevas herramientas de medición de la condición nutricional de los cultivos y, mejor aún, si ello se logra con mediciones no destructivas de las plantas.

En este sentido, lo ideal es poder hacer un seguimiento de los niveles foliares de N durante el período de desarrollo del cultivo, en que es aún posible corregir las deficiencias para obtener efectos positivos en los rendimientos. En Estados Unidos (Wood *et al.*, 1992; Peterson *et al.*, 1993; Blackmer *et al.*, 1994; Piekielek *et al.*, 1997) y en otros países, se ha propuesto usar un medidor portátil de clorofila (SPAD 502) como un instrumento que cumple con los requisitos de entregar medidas rápidas, precisas, de bajo costo una vez adquirido el medidor, fácil de usar, no destructivas de hojas, y altamente correlaciona-

das con el contenido de N de ellas. En Chile, Melinao *et al.* (1999) lo evaluaron en trigo.

El objetivo central de este trabajo fue hacer una evaluación del uso de este medidor en maíz para grano como una herramienta que permita medir el contenido de nitrógeno en las hojas del cultivo, y al mismo tiempo avanzar en el establecimiento de un nivel crítico que indique si hay o no deficiencia de N y oriente al potencial usuario del instrumento.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Con el objetivo de evaluar el uso de un medidor portátil de clorofila, el SPAD 502 (Minolta, Spectrun Technologies Inc., Illinois, USA), se estableció un ensayo de maíz, cultivar INIA 160, en el Centro Regional de Investigación La Platina, Santiago, Chile (33°34' lat. Sur, 71°38' long. Oeste). El suelo donde se sembró el ensayo era un Mollisol, serie Maipo. Un análisis de suelo efectuado previo a la siembra, mostró que el suelo tenía niveles bajos de N (12,3 ppm) y medios de P (11,4 ppm) y K (84 ppm) (Cuadro 1). Además, el pH fue 7,9, la materia orgánica 2,1%, y la conductividad eléctrica 1,1 mS cm<sup>-1</sup>. Para asegurar un buen nivel de P y K se aplicó a la siembra a toda la superficie del ensayo, 169,78 kg ha<sup>-1</sup> de super fosfato triple y 100 kg ha<sup>-1</sup> de sulfato de potasio.

**Cuadro 1. Resultados del análisis de suelos por repetición. Promedio de 4 repeticiones**  
**Table 1. Results of soil analysis per block. Average of four replicates**

Block	pH	MO <sup>a</sup> %	CE <sup>b</sup> mS cm <sup>-1</sup>	N ppm	P ppm	K ppm
1	7,9	2,1	1,2	13,8	12,3	83,0
2	7,9	2,1	1,1	13,5	11,5	87,0
3	7,9	2,1	1,2	9,5	10,3	82,0
4	7,9	2,2	1,1	12,3	11,5	84,0
Promedios	7,9	2,1	1,1	12,3	11,4	84,0

<sup>a</sup>MO: materia orgánica.

<sup>b</sup>CE: conductividad eléctrica.

Para obtener contenidos variables de N en las hojas se aplicaron cuatro tratamientos de fertilización nitrogenada a la forma de urea: 0, 100, 200 y 400 kg de N ha<sup>-1</sup>, con cuatro repeticiones, dispuestas en un diseño de bloques al azar. La mitad de la dosis se aplicó a la siembra y el resto al estado de 6-7 hojas.

En dos fechas, el 14 de diciembre de 1998 y el 21 de enero de 1999, se tomaron muestras de hojas. En la primera fecha el maíz estaba en estado fenológico de 6 hojas, estado en que normalmente se decide la aplicación de la segunda dosis de N, y en la segunda época, poco después de floración. Estas fechas se eligieron porque en la primera es aún tiempo para corregir una eventual deficiencia de N que reduzca los rendimientos, y en la segunda fecha, porque aplicaciones de N podrían aumentar la proteína del grano si así se deseara, aunque sin aumentar los rendimientos. Se tomaron muestras de las hojas más recientemente maduras del maíz de cada tratamiento, esto es la primera hoja desde el ápice cuyo "collar" aparece completo. A las hojas muestreadas se les determinaron los niveles de clorofila con el medidor de clorofila SPAD 502.

Se hicieron diez mediciones con el SPAD, en el limbo de cada hoja, 5 a cada lado de la vena central, en 3 plantas por tratamiento. Además, a las

mismas hojas anteriores se les midió el contenido foliar de N en laboratorio, por el método de Kjeldahl (1883).

A la cosecha se hizo análisis de Zn, Cu, Fe, Mg y Mn en hojas, para comprobar que no se produjeron efectos de otras deficiencias en los niveles de clorofila. Estos análisis dieron contenidos superiores a los niveles críticos para los elementos analizados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 2 se presenta un resumen de los datos obtenidos. Estos datos muestran, en términos generales, que hay una relación clara entre los valores obtenidos por el medidor de clorofila y las aplicaciones de N hechas a las parcelas. El análisis de varianza dio un F altamente significativo para el efecto de los tratamientos de N, en el valor SPAD, en el contenido de N en hojas y significativo para los rendimientos.

Esta relación aparece más nitida en la Figura 1, en la que se dibujaron los 16 pares de mediciones efectuadas. Se puede apreciar que los valores de N y de SPAD están muy correlacionados. El análisis de regresión indica que el coeficiente de correlación es 0,93 y que el coeficiente de determinación es altamente significativo, alcanzando

**Cuadro 2. Valores de las mediciones entregadas por el medidor de clorofila (SPAD), porcentaje de N en la biomasa de hojas de maíz en dos estados fenológicos y rendimientos en granos, bajo cuatro niveles de fertilización nitrogenada. Promedio de 4 repeticiones**

**Table 2. Chlorophyll meter (SPAD) values and N percentage of corn leaves at two phenological stages and grain yield, under four N fertilization levels. Averages of four replicates**

Fecha	Estado maíz	Medición	N-0	N-100	N-200	N-400
14-dic-98	6 hojas	SPAD	31,45	33,05	34,83	37,23
		N, %	1,59	1,57	1,80	2,09
21-ene-99	Poco después de floración	SPAD	24,80	34,00	53,35	58,83
		N, %	0,93	1,11	2,08	2,36
Rendimientos, t ha <sup>-1</sup> a 15% humedad			2,9	7,4	8,3	8,6

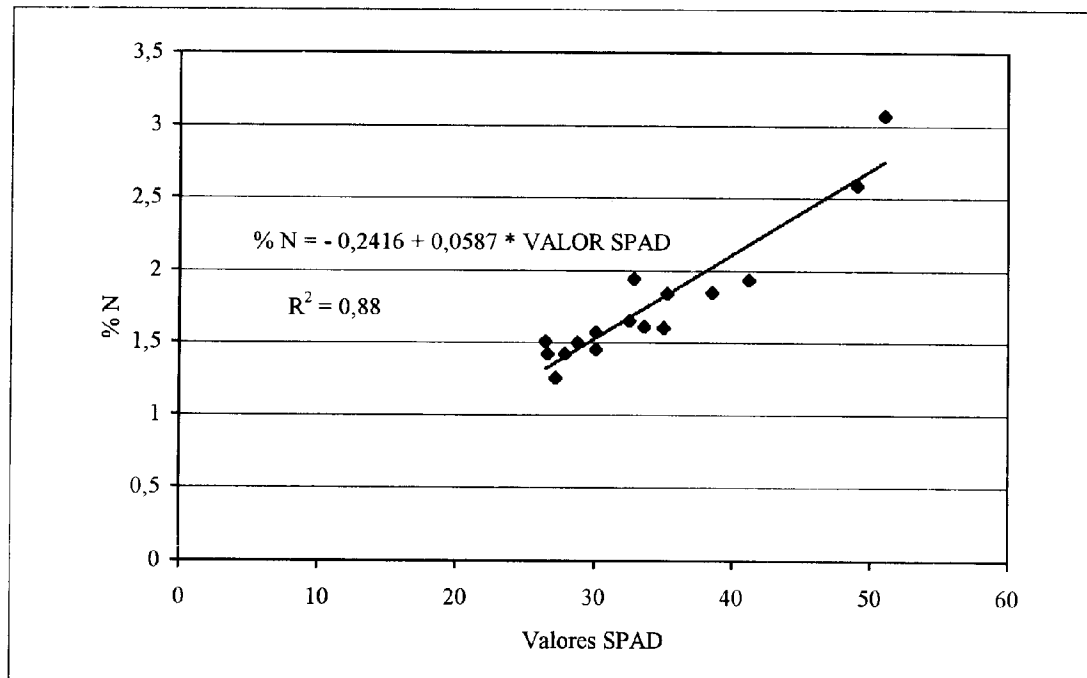


Figura 1. Relación entre porcentaje de N y valores SPAD en hojas de maíz al estado de seis hojas.

Figure 1. Relation between N percentage of and SPAD values on corn leaves at the six leaf growth stage.

a 0,88, lo que implica que para este estado la mayor parte de la variación del N queda explicada por el valor obtenido con el SPAD.

Para interpretar el significado de las lecturas SPAD se ha sugerido usar valores relativos entre sectores que se consideran con N adecuado y aquellos con deficiencia (Peterson *et al.*, 1993). Estos últimos serían los que presentan menos de un 95% del valor adecuado. En nuestro caso y para la primera época, valores de SPAD inferiores a 35,3, equivalentes a un contenido de N de 1,83% en las hojas, estarían indicando que es necesario aplicar N. Esta conclusión nace de aplicar el criterio de 95% del valor promedio de SPAD, 37,2, medido en hojas que recibieron 400 kg de N ha<sup>-1</sup> y con contenidos de 2% de N ver (Cuadro 1), y aplicar a ese valor (35,34) la ecuación de regresión para estimar el contenido de N que corresponde. Otra alternativa de definición es considerar que se requiere aplicar más N

cuando su nivel foliar es inferior al necesario para lograr un rendimiento equivalente a un 90% del máximo posible. De acuerdo a este criterio, y usando una regresión cuadrática entre rendimientos y valores SPAD ( $\text{Rendimiento} = a + b * \text{SPAD} + C \text{SPAD}^2$ ) de los valores que se muestran en el Cuadro 2, se llega a que el valor crítico sería 33,7, equivalente a un contenido de N de 1,7%. Sin embargo, dado que esta regresión, aunque altamente significativa se fundamenta en pocos puntos, se prefiere conservar el primer criterio. La principal ventaja de definir un valor crítico en este estado de desarrollo del maíz, deriva de que todavía es posible aplicar N al cultivo e influir en los rendimientos.

Es útil detectar que las plantas están sufriendo falta de N, pero no es suficiente, ya que ello no da información sobre la dosis que sería necesario aplicar para corregir el problema. Una posibilidad es hacer mediciones semanales con el SPAD,

entre el estado de 6 hojas y 20 días después de aparición de los pistilos o "pelos", y aplicar dosis entre 20 y 40 kg N ha<sup>-1</sup> en el riego si se detecta falta de N, como lo propusieron Peterson *et al.* (1993). Otra alternativa es usar el método propuesto por Piekielek *et al.* (1997), pero éste da valores muy bajos de N a aplicar; si se aplica a los datos de este ensayo, del orden de 100 kg ha<sup>-1</sup> y, por lo tanto, no parece adecuado a las condiciones chilenas.

En la Figura 2 se puede apreciar que en la segunda época se mantiene una buena relación entre valores SPAD y el porcentaje de N, pero menos estrecha que en la primera. El coeficiente de correlación es 0,9 y el de determinación, 0,81. Usando en esta época el mismo sistema anterior para determinar el valor crítico, se encontró que lecturas SPAD inferiores a 56, equivalentes a 2,3% de N, serían críticas. Este último valor es algo superior al dado para maíz por la Soil

Science Society of America (1967), de 1,95% de N al estado de panoja total. Sin embargo, a ese grado de desarrollo de las plantas ya no es posible mejorar los rendimientos aplicando N.

Los rendimientos obtenidos en este ensayo fueron bajos, ya que el objetivo era evaluar cuan bien este instrumento predecía los niveles de N en hojas de maíz y no los rendimientos. Así, para niveles adecuados de N pueden presentarse rendimientos bajos si se presenta un ataque de alguna plaga, o enfermedad o un estrés hídrico. Más aún, podría darse el caso de tener buen contenido de N en el estado de 6 hojas y deficiencias antes de antésis. Esto significa que se debe hacer mediciones periódicas, hasta antésis. Aplicaciones de N posteriores a ella no aumentan el rendimiento sólo incrementan el N del grano. En este ensayo se logró tener una gama de valores de N y de mediciones del SPAD, en las mismas hojas, adecuados para su calibración. Consideramos necesario

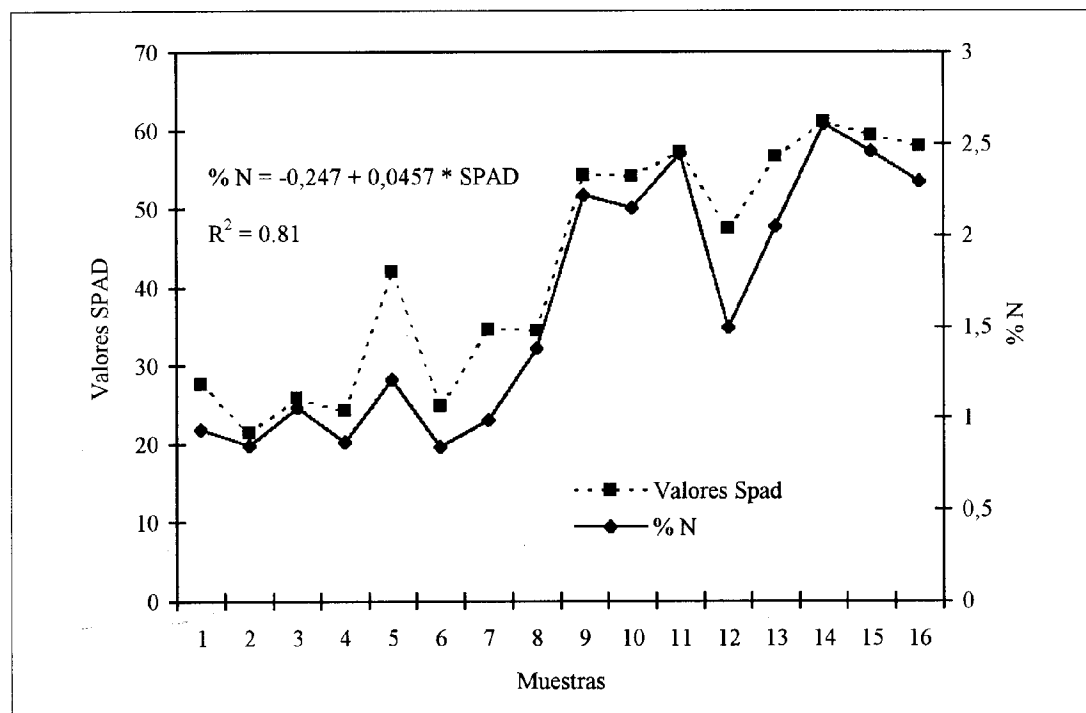


Figura 2. Relación entre valores SPAD y porcentaje de N en hojas de maíz poco después de floración.  
Figure 2. Relation between SPAD values and N percentage of maize leaves a few days after flowering.

más investigaciones con este aparato para afinar los resultados y para aplicaciones en otros cultivos.

### CONCLUSIONES

1. En las condiciones del presente ensayos, los valores del medidor de clorofila están altamente correlacionados con el contenido de N.
2. Los resultados de este experimento muestran que el medidor de clorofila puede ser una herramienta fácil de usar para detectar en el campo niveles críticos de N en hojas de maíz.
3. Para una mejor y más completa aplicación práctica de este medidor se debe desarrollar un sistema que permita estimar la dosis de N a aplicar cuando el valor medido sea menor al crítico.

### LITERATURA CITADA

- Blackmer, T.M., J.S. Schepers, and G.E. Varvel. 1994. Light reflectance compared with other nitrogen stress measurements in corn leaves. *Agron. J.* 86:934-938.
- Fernández, M. 1995. Fertilización nitrogenada y su eficiencia en maíz de grano. *Simiente* 65:122-132.
- Kjeldahl, J. 1883. Neue Methode zur Bestimmung des stickstoffs in organischen Körpern. *Z. Anal. Chem.* 22:366-382.
- Novoa, R., y R.S. Loomis. 1981. Nitrogen and plant production. p. 177-204. *In* J. Monteith and C. Webb (eds.) *Soil Water and Nitrogen in Mediterranean-type Environments*. Martinus Nijhoff/Dr., W. Junk Publishers, The Hague, The Netherlands.
- Melinao, J.A., J.L. Rouanet, Mora, M.L., y E. Von Bacr. 1999. Uso de un clorofilómetro como herramienta para evaluar el nivel de nitrógeno en un trigo invernal en la IX Región. p. 735 (Resumen). *In* Resúmenes 14º Congreso Latino Americano de la Ciencia del Suelo, 50º Congreso Sociedad Agronómica de Chile y 9º Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo, 8-12 de noviembre, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.
- Peterson, T.A., T.M. Blackmer, D.D. Francis, and J.S. Schepers. 1993. Using a chlorophyll meter to improve N management. Nebguide G93-117-A. 4 p. Cooperative Extension Service, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska, Lincoln, USA.
- Piekielek, W., D. Lingenfelter, D. Beegle, and R. Fox. 1997. The Early-Season Chlorophyll Meter Test for Corn. *Agronomy Facts* 53. College of Agricultural Sciences, Penn. State Cooperative Extension. The Pennsylvania State University, Pennsylvania, USA.
- Soil Science Society of America. 1967. *Soil Testing and Plant Analysis. Part II. Plant Analysis*. 114 p. Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin, USA.
- Wood, C.W., D.W. Reeves, R.R. Duffield, and K.L. Edmisten. 1992. Field chlorophyll measurements for evaluation of corn nitrogen status. *J. Plant Nutr.* 15:487-500.