

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS
ÁREA DE CIENCIAS NATURALES
MEDELLÍN

DETERMINACIÓN DEL NIVEL FOLIAR DE
NUTRIENTES MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE
REFLECTANCIA

por

JUAN MANUEL BOTERO HERRERA
Ingeniero Agrónomo

Trabajo para optar por el título de Magíster en Geomorfología
y Suelos

Directores
LUIS NORBERTO PARRA SÁNCHEZ, PhD
KENNETH ROY CABRERA TORRES, MSc

2009

Índice general

1. RESUMEN	8
2. INTRODUCCIÓN	10
3. ESPECTROMETRÍA	12
3.1. Bases Teóricas	12
3.2. La Espectrometría en el Campo Agrícola	13
3.2.1. Espectrometría y Suelos	16
3.2.2. Espectrometría y Sanidad Vegetal	18
3.2.3. Espectrometría y Humedad	19
3.2.4. Espectrometría y Nutrición Vegetal	19
3.3. Líneas y Regiones Útiles en Agricultura	24
3.4. La Espectrometría Agrícola en Colombia	28
3.5. Ventajas de Espectrometría	28
3.6. Incertidumbre Espectral	29
4. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	31
4.1. Objetivo general	31
4.2. Objetivos específicos	31
4.3. Hipótesis	31
5. LOCALIZACIÓN	33
6. METODOLOGÍA	34
6.1. Métodos	34
6.1.1. Los Métodos espectrométricos	34
6.1.2. Calibración Quimiométrica	34
6.1.3. Métodos de Selección de Variables	40
6.1.4. Transformaciones y Pretratamientos	40
6.1.5. Otras metodologías de manejo de datos espectrales	47
6.2. Materiales y Experimentos	48

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	2
6.2.1. Experimento No. 1	49
6.2.2. Experimento No. 2	52
6.3. Análisis de datos	52
6.3.1. Análisis exploratorios	53
6.3.2. Pretratamientos espectrales	53
6.3.3. Calibración PLS	61
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	63
7.1. Experimento No 1	65
7.2. Experimento No 2	88
7.3. Coincidencias con la literatura.	97
8. CONCLUSIONES	100
9. RECOMENDACIONES	101

Índice de figuras

6.1. Espectro de reflectancia crudo de una muestra foliar preparada de plantas de banano (Muestra No 10).	54
6.2. Espectro de reflectancia de una muestra foliar de banano, tratado con la transformación MSC (Muestra No 10)	55
6.3. Espectro de reflectancia de la muestra No 10 (foliar banano) con pre tratamiento SNV.	56
6.4. Espectro de reflectancia con la transformación matemática Log (1/R) para una muestra foliar preparada de banano (Muestra No 10).	57
6.5. Primera derivada del espectro de reflectancia de la muestra foliar de banano No 10, calculada mediante el filtro de Savitsky y Golay.	58
6.6. Segunda derivada del espectro de reflectancia de la muestra foliar de banano No 10, calculada mediante el filtro de Savitsky y Golay.	59
6.7. Espectro de reflectancia de la muestra foliar de banano No 10, corregido mediante DOSC	60
7.1. Algunas repeticiones de espectros de reflectancia de hojas secas (abajo) y frescas (arriba) de plantas de rábano que presentaron problemas en la lectura.	64
7.2. Biplot de primera y segunda componente para el grupo de variables fisiológicas y de productividad de plantas de rábano sometidas a 4 concentraciones de solución fertilizante.	67
7.3. Biplot de primera y segunda componente para la concentración foliar de algunos nutrientes en plantas de r abano fertirrigadas con solución Hoagland modificada al 100 % y 50 %.	68
7.4. Espectros de reflectancia crudos promedio de hojas frescas de rábano sometidas a diferentes concentraciones de solución de ferti irrigación	69

7.5. Espectros de reflectancia crudos promedio de hojas secas de rábano sometidas a diferentes concentraciones de solución de ferti irrigación.	73
7.6. Validación cruzada del modelo de predicción para la variable P _{fhm} de reflectancia de hojas frescas (izquierda) y secas (derecha) transformadas como DOSC.	74
7.7. Modelos de predicción para P _{shm} mediante datos espectrales de hojas frescas (izquierda) y hojas secas (derecha) pre tratadas con DOSC en ambos casos.	75
7.8. Validación cruzada para los modelos de predicción del porcentaje de humedad de la hoja medida espectralmente desde datos de reflectancia de hojas frescas (izquierda) transformados SG 1 y de hojas secas (derecha) sin transformar.	75
7.9. Validación de modelos de predicción para el peso fresco del rábano con datos de reflectancia de hojas frescas (izquierda) y secas (derecha), pretratados con DOSC en ambos casos . . .	76
7.10. Validación de modelos para estimar espectralmente el peso seco de rábanos mediante la reflectancia de una hoja fresca (izquierda) o seca (derecha), pre tratando los datos espectrales con DOSC.	77
7.11. Validación de dos modelos para la predicción del contenido de humedad en rábanos mediante reflectancia de hojas frescas (izquierda) y secas (derecha), con datos espectrales transformados respectivamente MSC y DOSC.	77
7.12. Validación cruzada de modelos para estimar el área de una hoja mediante su reflectancia en fresco (izquierda) o después de seca (derecha), después de transformar los datos espectrales con DOSC.	78
7.13. Modelos validados para predecir el área foliar de plantas de rábano en base a la reflectancia de la hojas mas joven totalmente desarrollada en fresco (izquierda) o seca (derecha) pre tratando los datos espectrales con DOSC.	79
7.14. Validación cruzada para dos modelos de predicción de la variable peso fresco de la parte aérea, mediante la reflectancia de una hoja fresca (izquierda) y seca (derecha) pre tratadas con DOSC.	79
7.15. Validación de dos modelos para la predicción del peso seco de la parte aérea de plantas de rábano en base a la reflectancia de una hoja en fresco (izquierda) o seca (derecha), transformada con DOSC.	80

7.16. Dos modelos validados para la predicción del contenido de humedad en la parte aérea de plantas de rábano mediante reflectancia de hojas frescas (izquierda) y secas (derecha), con transformación MSC y DOSC respectivamente.	81
7.17. Validación de dos modelos de predicción de la biomasa de plantas de rábano por medio de datos espectrales transformados con DOSC para hojas frescas (izquierda) y secas (derecha). . .	81
7.18. Validación de dos modelos para la predicción de la materia seca total de plantas de rábano mediante datos de reflectancia transformados con DOSC para hojas frescas(izquierda) y secas (derecha) respectivamente.	82
7.19. Validación de modelos para la predicción del contenido foliar de fósforo en plantas de rábano en base a la reflectancia de una hoja fresca (izquierda) y seca (derecha) con transformación DOSC.	83
7.20. Validación de dos modelos para la predicción de la concentración de calcio en muestras foliares de plantas de rábano con reflectancia de hojas frescas (izquierda) y secas (derecha) sometidas a transformación DOSC.	83
7.21. Validación de dos modelos para la predicción del contenido foliar de magnesio en plantas de rábano mediante reflectancia de hojas frescas (izquierda) y secas (derecha) sometidas al pretratamiento DOSC.	84
7.22. Validación de dos modelos para la predicción del contenido de potasio en tejido foliar de plantas de rábano mediante la reflectancia de hojas frescas (izquierda) y secas (derecha), tratada con DOSC.	85
7.23. Modelos de predicción validados para la concentración de hierro foliar en plantas de rábano en base a la reflectancia de la hoja mas joven totalmente desarrollada fresca (izquierda) y seca (derecha), pre tratadas en los dos casos con DOSC. . . .	85
7.24. Validación de dos modelos para la predicción de la concentración de manganeso en tejido foliar de rábano, con base en la reflectancia espectral hojas frescas (izquierdas) y secas (derecha) corregida con DOSC.	86
7.25. Validación de modelos para la predicción de boro foliar en plantas de rábano por medio de reflectancia espectral de hojas secas (derecha) y frescas (izquierda), con pre tratamiento espectral SG1 y DOSC respectivamente.	87
7.26. Biplot de primera y segunda componente para el grupo de contenido foliar de nutrientes en muestras foliares de banano .	88

7.27. Biplot de primera y tercera componente(izquierda) y segunda y tercera componente(derecha) para el contenido foliar de nutrientes en muestras foliares de banano.	90
7.28. Validación de modelos para la predicción de Nitrógeno (izquierda) y fósforo (derecha) foliar en muestras de banano por medio de reflectancia espectral y datos pre tratados con DOSC. . . .	91
7.29. Validación de modelos para la predicción de azufre (izquierda) y calcio (derecha) foliar en muestras de banano por medio de reflectancia espectral y datos pretratados con DOSC.	91
7.30. Validación de modelos para la predicción de magnesio (izquierda) y potasio (derecha) foliar en muestras de banano por medio de reflectancia espectral y datos pretratados con DOSC. . . .	92
7.31. Validación de modelos para la predicción de hierro (izquierda) y manganeso (derecha) foliar en muestras de banano por medio de reflectancia espectral y datos pretratados con DOSC. . . .	93
7.32. Validación de modelos para la predicción de cobre (izquierda) y zinc (derecha) foliar en muestras de banano por medio de reflectancia espectral y datos pretratados con DOSC.	93
7.33. Validación de modelos para la predicción de boro foliar en muestras de banano por medio de reflectancia espectral y datos pretratados con DOSC.	94

Índice de cuadros

6.1.	Concentración de los tratamientos utilizados en la fertilización de plantas de rábano para generar diferentes estados nutricionales	49
6.2.	Concentración de nutrientes de la solución fertilizante al 100 % como base para fertilizar plantas de rábano	49
7.1.	Características de modelos construidos mediante PLSR y diferentes pretratamientos espectrales, para determinar la concentración foliar de algunos nutrientes en plantas de rábano ferti irrigadas con 4 niveles de solución Hoagland modificada.	70
7.2.	Características de modelos construidos mediante PLSR y diferentes pretratamientos espectrales, para las variables morfo fisiológicas y productivas de plantas de rabano ferti irrigadas con 4 niveles de solucion Hoagland modificada.	71
7.3.	Continuación de características de modelos construidos mediante PLSR y diferentes pretratamientos espectrales, para las variables morfo fisiológicas y productivas de plantas de rábano ferti irrigadas con 4 niveles de solución Hoagland modificada.	72
7.4.	Características de modelos construidos mediante PLSR y diferentes pretratamientos espectrales, para la concentración de algunos nutrientes en muestras foliares de banano	89
7.5.	Tabla comparativa de variables que comparten longitudes de onda en los modelos de predicción.	95

Capítulo 1

RESUMEN

En el siguiente trabajo se desarrollan dos experimentos con el fin de utilizar la espectrometría, como herramienta que facilite la determinación o predicción de algunas características en plantas cultivadas. El primer experimento se hizo con plantas de rábano cultivadas en arena y fertilizadas con una solución hidropónica para inducir diferentes estados de nutrición como tratamientos, al final del ciclo de cultivo se tomó la reflectancia entre 400 y 1050 nm de la hoja mas joven totalmente desarrollada, en fresco y en seco, en el momento de la cosecha se midieron algunas variables fisiológicas, morfológicas y se realizó un análisis foliar completo. En el segundo experimento se trabajó con 60 muestras foliares de banano provenientes de la zona Bananera de Uraba, las cuales se prepararon y se les midió su reflectancia espectral en el mismo rango que el experimento anterior. En cada uno de los experimentos se correlacionaron las variables medidas con la reflectancia espectral de las diferentes muestras por medio de calibración PLSR y utilizando algunos pretratamientos espectrales con el fin de mejorar la capacidad de predicción de los modelos construidos. Como resultado se encontró que con esta técnica es posible estimar todas las variables que se estudiaron con precisiones en la determinación, la mayoría de las veces iguales a las de los métodos de referencia, a excepcion de los contenidos de humedad de algunas partes de la planta, resaltando que el mejor pretratamiento utilizado fue DOSC (correccion ortogonal directa de la señal) que permitió construir modelos con errores de tan solo décimas (en ocasiones centésimas y milésimas) de las unidades utilizadas y ajustes superiores al 90 % en la mayoría de los casos. Se destaca de este trabajo la factibilidad de reemplazar algunas de las determinaciones de laboratorio realizadas por vía húmeda y la posibilidad de realizar calibraciones que permitan la utilización de estos equipos como laboratorios de determinación de nutrimentos en explotaciones agropecuarias comerciales, ya que con esta metodología se logran tener resultados de forma instantánea

que pueden ser entregados al productor en muy corto tiempo, sin afectar la precisión de la determinación, sin necesidad de reactivos ni instrumentos adicionales y a bajos costos.

Capítulo 2

INTRODUCCIÓN

La espectroscopía es una técnica que se ha utilizado desde hace mucho tiempo en diferentes campos de la química, para hacer caracterización de muchas propiedades de una gran cantidad de tipos de muestras, este tipo de análisis ha demostrado tener una gran cantidad de ventajas a través de los años, no solamente por la precisión de sus determinaciones sino también por la rapidez en que se hacen, no tener que realizar preparación de las muestras, no tener que utilizar reactivos costosos y nocivos para el medio ambiente y la salud humana, el bajo costo de las determinaciones, entre muchas otras ventajas que se evidencian a lo largo del texto.

Pero la simple percepción o medición de los datos espectrales no es suficiente para constituirse en una metodología de análisis, para esto es necesario llevar a cabo un proceso de calibración de los datos, que consiste en pocas palabras en relacionar los datos espectrales con la o las variables que se están estudiando, para lo cual la estadística y sobre todo la estadística multivariada han desarrollado una gran cantidad de metodologías que permiten producir modelos de predicción en base a estos datos. Adicional a esto algunos autores encontraron la necesidad de depurar los espectros adquiridos por los equipos de medición y de alguna forma eliminar la información irrelevante que éste pueda contener, para lo cual se han desarrollado una gran cantidad de pre-tratamientos y transformaciones de los datos espectrales con el fin de conferir mayor robustez a los modelos de predicción, haciéndolos más tolerantes al ruido, a los cambios de las condiciones de medición, y muchos otros factores que afectan las mediciones espectroscópicas.

Con la metodología bien desarrollada y equipos de medición cada vez más económicos y precisos, que son de fácil acceso no solo a los investigadores sino también a los productores, muchos investigadores se han planteado la

necesidad de aplicar estas metodologías en la agricultura y a los procesos que pueden llevarla a ser mas precisa, rentable y amigable con el medio ambiente. A pesar de que a nivel mundial se han realizado muchas investigaciones en espectroscopía aplicada al campo agrícola, no se reporta aun ninguna investigación de este tipo en nuestro país, lo cual es la principal razón para desarrollar este trabajo, simplemente para incursionar en un campo de la ciencia totalmente desconocido para el sector agropecuario colombiano, y de esta forma abrir nuevas fronteras a la investigación y ofrecer alternativas a las metodologías tradicionales de análisis vegetal. Por la actual situación mundial de los fertilizantes, de escasez y altos costo, y la necesidad de formular planes de nutrición vegetal precisos eficientes, se desarrolló este trabajo con el objetivo de poder obtener un gran número de resultados de análisis químicos foliares en poco tiempo, a bajo costo y con una precisión adecuada para la formulación de programas de fertilización, en este sentido se planteó una investigación en la cual se obtuviera como resultado final el poder determinar la concentración foliar de algunos nutrientes, a partir de hojas frescas, hojas secas y muestras foliares como se tratan tradicionalmente en un análisis de laboratorio

Es asi que en este trabajo se estudiaron los temas fundamentales para poder llevar a cabo una calibración quimiométrica de datos espectrales de reflectancia con respecto a algunas variables de crecimiento y producción de la planta, pero principalmente con la concentración de nutrientes en el tejido foliar, y se validaron en dos especies cultivadas.

Capítulo 3

ESPECTROMETRÍA

La radiación infrarroja (IR, Infra Red) fue descubierta por Friedric Wilhelm Herschel en el año 1800, y por convención comprende el rango del espectro electromagnético entre 780 nm y 2500 nm. (Roggo *et al* [84] Nicolai *et al*[73]. La primera vez que se utilizó espectroscopia NIR (Near Infra Red, Infrarrojo Cercano) en la agricultura fue en 1964, con el fin de determinar el contenido de humedad en cereales, desde entonces se viene utilizando por ser una metodología de análisis precisa y rápida, en la determinación de humedad, proteína y grasa, cantidad de sólidos solubles y cantidad de materia seca en diversos alimentos y productos agrícolas (Nicolai *et al* [73]).

3.1. Bases Teóricas

EL principio fundamental de la espectroscopía es que la radiación sufre modificaciones observables y medibles al interactuar con las sustancias y lo cual depende de la composición química del objeto y/o de sus atributos físicos y estructurales (Nicolai *et al* [73]) (Armenta *et al* [6]). Respecto a la composición química varios autores afirman que la luz incidente en los objetos causa vibración en las moléculas, la cual absorbe un tipo de energía (o longitud de onda) y refleja otras, reflejando así un espectro que permite estimar la cantidad de unas y otras moléculas presentes en el objeto o muestra, generalmente las que presentan enlaces muy fuertes entre átomos relativamente livianos, entre estos los grupos funcionales C-H, O-H, N-H y S-H (Christy [23], Dawson *et al*[27], Roggo *et al*[84], He *et al*[40],Xie *et al*[98]), Ejemplo de lo anterior son dos valles en el espectro de absorción en 740 y 840 nm, correspondientes a los enlaces C-H y C-C, asociados a la grasa de la leche, reportados por Kawasaki *et al*[50]. En cuanto a la parte física y estructural,

el principal efecto es el de dispersión de la energía que se ve afectada por el tamaño de partícula, efectos ópticos y/o formas cristalinas en la muestra (Roggo *et al*[84]). Los principales elementos de dispersión de la radiación en las frutas y vegetales son las interfaces de las paredes celulares, ya que estas inducen cambios abruptos en los índices de refracción, así como las partículas suspendidas, como almidón, cloroplastos y mitocondrias, que inducen también dispersión por tener índices de refracción en su superficie diferentes de las partículas que las rodean Nicolai *et al*[73]. Un claro ejemplo de esto fue lo que encontraron Rodrigues *et al*[83] durante la producción de antibióticos con materiales particulados o burbujas de aire ocluidas que producen dispersión de la luz y se asocian con una deriva de la línea base en los métodos de calibración. La espectroscopia es ideal para determinar cantidades de N, C y agua. (Christy [23]) y es útil para determinar parámetros como firmeza, daño interno y algunos atributos sensoriales en frutas y vegetales. (Nicolai *et al*[73])

3.2. La Espectrometría en el Campo Agrícola

A continuación se muestran algunos casos en los que la espectroscopia se ha utilizado con resultados muy buenos.

Dawson *et al*[27] desarrollaron el modelo LIBERTY (Leaf Incorporating Biochemistry Exhibiting Reflectance and Transmittance Yields) basado en mediciones hechas en acículas de pino secas y frescas, y coeficientes de absorción conocidos de los compuestos puros de las hojas, extraídos por separado. Los resultados demuestran que el modelo es capaz de predecir con precisión la respuesta espectral de acículas de pino, y por consiguiente es útil mediante técnicas de minimización para determinar la concentración de compuestos bioquímicos mediante lecturas espectrales del dosel de las plantas.

La espectroscopia NIR ha sido utilizada a través del tiempo en la industria de cereales para determinar muchas propiedades, como proteína, humedad, fibra, dureza del trigo, entre otros, basados principalmente en PLSR o MLR, que se basa prácticamente en la correlación que existe entre la información espectral y la concentración de la molécula objeto de estudio. Bello *et al*[14]

En la industria frutícola la técnica de calibración VIS NIR se ha utilizado para determinar algunos parámetros de calidad, además si se calibran adecuadamente los modelos y los instrumentos, estos se pueden utilizar de forma

continúa durante días o meses para realizar análisis de grandes cantidades de fruta a relativos bajos costos. Shao *et al*[88] . Esta metodología ha sido utilizada en líneas industrializadas de empaque de manzana, cítricos, peras y duraznos para hacer selección por su dulzura, desde mediados de 1990 en Japón y posteriormente en otros países. Esta metodología permite al cliente escoger el producto deseado pagando por la calidad obtenida, con lo cual se transfieren mejores precios a la empresa empacadora seleccionadora y al productor. (Cayuela [17])

Por ejemplo en cítricos Tewari *et al*[93] encontraron que con la combinación de algoritmos genéticos, análisis discriminante, PLSR y espectroscopia NIR, podían determinar el origen y/o variedad, y estimar la cantidad de sucrosa, glucosa y fructosa, en las frutas, y todo de forma simultánea, proponiendo esta herramienta para la automatización de líneas de empaque o inspección de calidad. De otro lado Cayuela [17] realizó calibración quimiométrica mediante regresión PLS con datos de espectroscopia NIR para determinar la concentración de sólidos solubles, pH y acidez total, en naranjas variedad Valencia, encontrando muy buena precisión en la determinación de sólidos solubles, pero inaceptable para la acidez total y el pH.

En el caso de Peras se han logrado encontrar regiones del espectro en el NIR que permiten la predicción de características internas de los frutos sin necesidad de muestras destructivas, con muy buenos resultados Ying y Liu [102] . En la misma fruta Liu *et al*[60] encontraron que mediante calibración PLSR de datos espectrales transformados como $\log_{10} 1/R$, tomados de la posición ecuatorial de la fruta intacta, se logra determinar la cantidad de sólidos solubles y su firmeza, de forma rápida y eficiente.

Para el caso de las manzanas también se han realizado varias investigaciones, para determinar la cantidad de sólidos solubles Xiaobo *et al*[97] construyeron un modelo exitoso para la variedad Fuji con la precisión requerida para tal aspecto. En el mismo parámetro y misma variedad trabajaron Yan-de *et al*[101] y como resultado obtuvieron igualmente un modelo preciso para la selección de frutas por su dulzura con metodologías no invasivas ni destructivas. Alamar *et al*[5] trabajaron con el mismo parámetro pero haciendo énfasis no en la construcción de los modelos de predicción sino en la posibilidad de transferir dichos modelos entre diferentes espectrómetros que para el caso fueron un FT NIR y uno de arreglo de diodos, ya que al confirmarse su utilidad es necesario poder llevar esta tecnología a la industria.

Uno de los frutos más consumidos en el mundo es el tomate, por lo cual

se han desarrollado muchas investigaciones en el campo de la espectroscopia con este fruto, Xie *et al*[98] utilizaron la técnica de calibración quimiométrica con transmitancia en frutos de tomate, para determinar si estos son o no transgénicos, para lo cual utilizaron análisis de componentes principales, modelamiento independiente suave de clases análogas (SIMCA) y discriminación por mínimos cuadrados (DPLS), con datos espectrales pretratados mediante MSC, primera o segunda derivada de Savitzky Golay, encontrando que después de pretratar los datos espectrales, mediante la segunda derivada, se puede obtener una excelente clasificación de los frutos con un 100% de efectividad, concluyendo que esta es una herramienta muy útil y aplicable comercialmente, reduciendo costos y ahorrando tiempo en los análisis. Shao *et al*[88] Utilizaron calibración con datos VIS NIR para determinar algunas características de calidad en tomates de la variedad Heatwave, de la cual obtuvieron los mejores modelos mediante PLSR y PCR, obteniendo gran precisión para el contenido de sólidos solubles y menos para pH, fuerza de compresión y fuerza de punctura, siendo ligeramente mejor la calibración mediante PLSR, pretratando el espectro con MSC. Con este mismo fruto pero ya en productos industrializados Pedro y Ferreira [78] realizaron una investigación para determinar simultáneamente sólidos, azúcares (glucosa, fructosa y azúcar total) y acidez en diferentes productos, mediante espectroscopia NIR, realizando pretratamiento de los datos espectrales suavizado medio, filtro de fourier, seguido por corrección de señal multiplicativa (MSC) o derivadas, encontrando muy buenas precisiones en la determinación de dichas propiedades.

En la producción de uva roja también se ha utilizado esta herramienta, la cual utilizaron Janik *et al*[47] para determinar la cantidad de antocianinas comparando PLSR y redes neuronales artificiales (ANN) con los scores del análisis de componentes principales produciendo como resultado modelos mas lineales y precisos, que parecen no requerir la recalibración del modelo, entendido esto como la inclusión de mas muestras cuando se van a evaluar ejemplares de lugares diferentes o a los que se hizo la calibración inicial, o por fuera del rango inicial, o de otra temporada de cosecha. En conclusión encontraron que al utilizar ANN, se obtiene un modelo mas robusto, lineal y preciso, que con PLS, además con una pendiente de la linea de regresión cercana a la unidad y bajo sesgo en la predicción, además que muestra necesitar menos la recalibración del modelo cada nueva temporada de cosecha. En cuanto al procesamiento de esta fruta en el campo de la producción y análisis de vinos Liu *et al*[59] utilizaron la calibración quimiométrica con espectrometría VIS NIR, con el fin de determinar el origen de vinos riesling, de diferentes países (Australia, Nueva Zelanda, Francia y Alemania), emple-

ando Análisis de componentes principales (PCA), Análisis discriminante con mínimos cuadrados parciales (PLS DA) y Análisis discriminante lineal por pasos (SLDA), con los datos espectrales tomados como $\log(1T)$, encontrando que la información espectral de los vinos contiene información que permite discriminar su país de origen de forma efectiva

En productos alimenticios por ejemplo Moros *et al*[68] realizaron calibración PLSR basada en la primera derivada de los datos espectrales de reflectancia, evaluando dos pre tratamientos al espectro, MSC y SNV, en polvo de paprica roja, sin ningún tratamiento, con el fin de determinar la concentración o el contenido de arsénico, encontrando los mejores resultados después de realizar SNV a los datos espectrales, resultando un método rápido, de bajo costo, simple, amigable con el ambiente y efectivo para este fin, sin necesidad de utilizar equipos costosos y sofisticados, o metodologías complicadas de digestión de muestras, lo que indica que es muy útil sobre todo para que laboratorios pequeños puedan prestar este tipo de determinaciones.

En el campo agrícola Christensen [22] utilizó la regresión PLS para encontrar la correlación existente entre la respuesta en reflectancia de las hojas y el contenido foliar de nitrógeno y fósforo, y utilizó la regresión multi vía NPLS, para discriminar los diferentes tipos de estrés nutricional, incluyendo información espacial de la hoja (base, mitad y extremo de la hoja) obteniendo excelentes resultados

3.2.1. Espectrometría y Suelos

La espectroscopia de reflectancia proporciona un método alternativo a los análisis de suelos, químicos y físicos de laboratorio tradicionales, para estimar un gran número de propiedades en el suelo. (Gómez *et al*[38]), es así que Henriksen *et al*[41] afirman que la espectroscopia NIR de reflectancia es una metodología muy útil para la determinación de muchos elementos, entre ellos afirma que es muy útil para determinar la concentración de N y C en materiales de origen vegetal, siendo una técnica muy eficiente desde el punto de vista de costos. Por lo anterior en la actualidad la espectroscopia de reflectancia se está usando en la operación normal de los laboratorios de suelos como una metodología fácil, rápida, precisa y económica para determinar gran cantidad de propiedades físicas y químicas de las muestras preparadas de suelo, así como también se viene utilizando para el mapeo de algunas de estas propiedades. Lagacherie *et al*[53]

En este sentido una gran cantidad de investigaciones se han desarrollado en este campo. Stevens *et al*[90] estudiaron la determinación de carbono orgánico en el suelo, encontrando que los espectrómetros de laboratorio y portátiles de campo, presentan precisiones similares cuando las condiciones de campo son de poca variabilidad, (rugosidad, humedad superficial del suelo y ausencia de vegetación), mientras que los sensores aéreos no presentan condiciones aceptables de precisión en la determinación de este parámetro, encontrando que los sensores espectrales de laboratorio y campo, dan estimaciones con precisiones similares a las que brindan los análisis de laboratorio de rutina como el método de Walkley y Black. Es así que ya se han montado sensores de este tipo sobre tractores como insumo para procesos de agricultura de precisión, y para el mapeo de diferentes características del suelo. De igual forma Bartholomeus [12] evaluó la reflectancia del suelo en el visible e infrarrojo cercano, concluyendo que mediante calibración PLS es posible determinar con esta metodología el contenido de carbón orgánico del suelo con buena precisión, ratificando lo dicho por otros investigadores.

En el campo de la conservación de suelos Gómez *et al*[38] evaluaron la técnica de remoción del continuum y PLSR, para determinar la concentración de carbonato de calcio y arcilla en el suelo, como insumos esenciales para la predicción de la erosión en suelos. Encontrando que los mejores resultados para este caso se obtienen mediante PLSR, en este mismo tema Lagacherie *et al*[53] encontraron una alta relación entre el contenido de carbonato de calcio y arcilla en los suelos con la reflectancia en 2341 y 2206 nm respectivamente, además al realizar experimentos a nivel de laboratorio, campo y aéreo, encontraron que en este mismo orden decrece la precisión de la determinación mediante espectrometría de reflectancia, atribuyendo esta disminución posiblemente a los efectos atmosféricos en el espectro, además que se deben tener en cuenta varios aspectos como los niveles de humedad en las muestras o suelo, la presencia de gravas o rugosidad del terreno, condiciones de iluminación y la homogeneidad del área estudiada.

En el campo de la química del suelo Maleki *et al*[61] cuenta que se han desarrollado varios sensores VIS-NIR muy útiles en la determinación de pH, contenido de humedad, materia orgánica y nitrato, en suelos. Posteriormente Maleki *et al*[62] utilizaron PLSR con validación cruzada (LOO Leave One Out), para construir el modelo de predicción de fósforo extractable mediante reflectancia VIS NIR, logrando con esto construir un sistema de determinación de fósforo en el suelo y aplicación variable según estas mediciones.

3.2.2. Espectrometría y Sanidad Vegetal

Como muchas otras características en las plantas, el estrés sanitario también es detectable mediante su reflectancia en un momento dado, es por esto que Muhammed y Larsolle [70] afirman que el estrés patológico en plantas se puede medir tanto con índices de vegetación con anchos de banda amplios como con características locales o bandas estrechas en el espectro de reflectancia. Estos autores utilizaron el Análisis de componentes independientes (ICA, independent component analysis) para separar a ciegas señales estadísticamente independientes, extrayendo información importante por medio de análisis de componentes principales (PCA principal component analysis). Ellos lograron mejorar la utilización de estos dos métodos mediante la técnica de análisis basado en vector característico (FVBA feature vector based analysis), el cual produce pares de componentes de vector característicos, que representan las firmas espectrales y sus respectivos coeficientes ponderados de las diferentes fuentes de la señal, encontrando que estos coeficientes son proporcionales a la severidad de la enfermedad fungosa medida en campo y al porcentaje de área foliar necrótica, con correlaciones altas.

Zhang *et al*[103] demostraron que es posible identificar enfermedades en cultivos por medio de la reflectancia y diferenciar zonas con diferencias en la severidad de la enfermedad por lo tanto afirman que este es un método completamente aplicable al manejo de enfermedades en el mundo real de los agricultores. Por otro lado la percepción remota por medio de la espectrometría de reflectancia se convierte en una poderosa herramienta para el análisis geoespacial y geotemporal de los características de los cultivos, incluyendo la sintomatología causada por enfermedades. Delalieux *et al*[28] encontraron que la infección de *Venturia inaequalis* en hojas de manzana es detectable espectralmente y que es posible diferenciar entre hojas sanas y enfermas y que para hacer esto las mejores regiones del espectro son 1350 a 1750nm y entre 2200 a 2500 nm, 10 días después de la infección pero al transcurrir tres (3) semanas después de la infección la región del visible VIS entre 650 y 700 nm se vuelve importante para este hecho.

En el caso de insectos plaga Mirik *et al*[66] encontraron que el dosel de plantas de trigo infestadas con áfidos (*Diuraphis noxia*) presentan menos reflectancia en el NIR y mucha mas reflectancia en el visible VIS, que plantas no infestadas, como la mayoría de los estresores en plantas, y Yang *et al*(2005) (90) encontraron que es posible detectar infestaciones del áfido verde (*Schizaphis graminum*) mediante un espectroradiómetro de mano en plantas de trigo, encontrando que la banda centrada en 694 nm y los índices de veg-

etación derivados de las bandas 800 y 694 nm, son los mas sensibles al daño de este insecto plaga, encontrando que el grado de infestación de este está muy relacionado con la concentración de clorofila en la planta, convirtiéndose en un buen indicador de la capacidad fotosintética.

3.2.3. Espectrometría y Humedad

Uno de los objetivos a través del tiempo en la utilización de los sensores de percepción remota ha sido la detección del estrés hídrico tanto por exceso como por defecto, con el fin de identificar áreas problema y realizar riegos o construir drenajes, por ejemplo Colombo *et al*[24] realizaron mediciones espectrales para determinar el contenido de agua a nivel del dosel y de hojas, en plantaciones de álamo, ya que esta variable es muy importante para determinar el estado fisiológico de las plantas, útil para la toma de decisiones en irrigación, valoración del grado de sequía y estimación del riesgo de incendio en bosques y plantaciones. En investigaciones similares Sepulcre-Cantó *et al*[86] lograron detectar niveles leves de estrés hídrico en plantaciones de olivos y durazneros mediante espectrometría de reflectancia, encontrando un potencial de aplicación en la radiación térmica como indicador de algunos parámetros de calidad de frutales y su productividad a libre exposición, y Odimu y Murase [76] estudiaron el efecto del estrés por agua sobre la reflectancia termal, visible y las texturas, en sunagoke (*Rhacomitrium canescens*) , evaluando la relación entre los síntomas visuales y térmicos del estrés, en una muestra como función del tiempo y el contenido de humedad en ella. Concluyendo que mediante las imágenes térmicas espectrales es posible detectar el estrés por sequía e inundación.

3.2.4. Espectrometría y Nutrición Vegetal

Uno de los usos mas promisorios y que da origen en parte a este trabajo es el de la capacidad de estimar la concentración de nutrientes en tejido foliar, permitiendo aumentar el numero de muestras no solo en investigación y trabajo académico, sino también a nivel productivo con el fin de lograr, optimizar los procesos productivos y hacer mas rentable la producción agrícola. La medición de la bioquímica foliar mediante análisis de laboratorio es costosa demorada y limitada espacialmente, mientras que la espectroscopía brinda una herramienta importante para el monitoreo del estado ambiental, eficiente tanto en el espacio como en el tiempo. (Huber *et al*[44]). Esto debido a que los cambios en el espectro de reflectancia de las hojas sirven como indicadores

de deficiencias nutricionales, siendo rápidos, no destructivos y relativamente económicos. (Adams *et al*[4])

La estimación del nitrógeno foliar a nivel del dosel mediante espectrometría ha estado limitada por la presencia de agua en los follajes frescos ya que enmascara las absorciones características de los compuestos bioquímicos sobre todo en el infrarrojo medio, además se tienen otros efectos que complican el análisis, tales como la orientación de las hojas, el efecto de fondo del suelo y la interferencia atmosférica. (Mutanga y Skidmore [71])

Por su importancia y por ser el nutriente mas utilizado en la fertilización gran cantidad de trabajos se han centrado en el efecto del nitrógeno en la información espectral y como determinar su concentración a nivel foliar en diferentes cultivos. Shanahan *et al*[87] afirman que en la actualidad la fertilización en cereales esta caracterizada por una baja eficiencia en uso del nitrógeno (NUE Nitrogen Use Efficiency) esto básicamente por 3 causas: (1) baja sincronía entre la fertilización y la demanda del cultivo, (2) aplicación uniforme en los cultivos cuando se conoce que hay variabilidad en ella necesidad de los cultivos de acuerdo a la variabilidad espacial de las propiedades físico químicas de los suelos entre muchos factores, y (3) falla en la valoración temporal de la demanda de nitrógeno de los cultivos, por todo esto el autor propone establecer zonas uniformes que permitan hacer manejos uniformes. Por todo esto las estrategias de fertilización se deben basar en sensores y sistemas de fertilización de respuesta inmediata que sean capaces de valorar la necesidad de nitrógeno de la planta para aplicar la dosis precisas por lo menos en zonas de manejo uniformes.

Gracias a que aproximadamente el 10 % del nitrógeno total de las plantas se encuentra almacenado en las moléculas de clorofila, hay buena correlación entre la reflectancia espectral y el contenido de nitrógeno en las hojas. (Christensen [22] y Cho y Skidmore [20]) Por esta razón es posible que los productores utilicen los medidores de clorofila como un indicador del estrés causado por el nitrógeno en las plantas. Encontrando que la medición del estrés causado por este elemento se puede medir como una fracción entre la reflectancia en 700 nm y 740 nm. Noh, *et al*[74] y Osborne *et al* [77]

En el caso de maíz y algunas pasturas, individualmente y en combinación, Cho y Skidmore [20] encontraron que las longitudes de onda del rojo lejano 679,65 y 694, 3 nm, en combinación con las bandas NIR 732,46 nm, 760,41 nm o 723,64 nm y 760,41 nm, son las combinaciones óptimas para determinar la concentración de nitrógeno, además encontraron que el aumento en la can-

tividad de clorofila, resulta en una ampliación de la característica de absorción mayor alrededor de 680 nm, causando un desplazamiento de la pendiente del límite rojo y de la longitud de onda con máxima pendiente (punto de inflexión) a lo largo de las longitudes de onda más largas. Por esto el desplazamiento de la posición del límite rojo es utilizada como estimador de estrés, contenido de nitrógeno y clorofila.

Zhao *et al*[104] encontraron que la medición de la reflectancia en el periodo de la antéesis de plantas de trigo es altamente útil para determinar el contenido de nitrógeno en las hojas y que a su vez este último tiene gran utilidad en la predicción del contenido de proteína en los granos de trigo, no siendo el único indicador de la proteína, además recomiendan tener en cuenta también el contenido o estado hídrico de las hojas ya que tienen gran efecto fisiológico en el llenado de los granos. Estos autores proponen esta metodología como una oportunidad para hacer mapeo por contenidos de proteína y lograr sobrepagos por la clasificación de la cosecha, haciendo mucho más eficientes, rápidos y económicos los análisis de este parámetro en los granos de trigo.

En un experimento con plantas de sorgo sembradas en arena y fertilizadas con solución hidropónica Hoagland, se midió la reflectancia espectral de hojas individuales. Encontrando que la deficiencia de nitrógeno produce un incremento de la reflectancia en 555 y 715 nm, ocasionando un desplazamiento del límite rojo hacia las longitudes de onda más cortas y que el contenido de nitrógeno y clorofila en hojas de sorgo, está linealmente relacionado con R_{405}/R_{715} , R_{1075}/R_{735} , y con las primeras derivadas en 730 o 740 nm, como centros del límite rojo. Del cual concluyen finalmente que la reflectancia espectral de las hojas de sorgo sobre todo en la región del visible y límite rojo, es altamente sensible al estado de nitrógeno en la planta. Zhao *et al*[106]

En el cultivo de algodón Zhao *et al*[105] realizaron un experimento para determinar la posibilidad de diferenciar los estados de crecimiento y el estrés causado por nitrógeno (fertilización del 0, 50, 100, 200% de la dosis recomendada) mediante espectrometría, concluyendo finalmente que es posible detectar las plantas de algodón que crecen sometidas a diferentes niveles de fertilización nitrogenada, pero que es fundamental la selección de las longitudes de onda y anchos de banda adecuados, para realizar una buena diferenciación o clasificación de estas características en algodón

Como se puede ver muchos trabajos se han realizado en diferentes cultivos, para *Gutierrezia sarothrae* y *Aster spinosus* las fracciones entre R550-600 y R800-900 se presentan como índice sensible de la concentración de nitrógeno

en las hojas, en pimiento dulce las bandas de 550 y 675 nm, la combinación de muchas bandas del límite rojo (red edge) con muchas de las bandas del NIR en hojas de algodón, la banda 550 nm en maíz, en trigo algunas bandas de la región visible y del infrarrojo cercano, y el límite rojo (red-edge), particularmente en trigo la reflectancia espectral es más baja en la región del visible y el ultravioleta a dosis mayores de nitrógeno, mientras que en la región del NIR tiende a incrementarse conforme se aumenta la dosis de nitrógeno, pero tiende a saturarse a las dosis más altas de nitrógeno. Durante la senescencia de las plantas la reflectancia en el visible aumenta y disminuye en el NIR debido al movimiento del nitrógeno desde las hojas hacia los granos de trigo, además es evidente el amarillamiento y el secado de las hojas, además de la degradación de la estructura del mesófilo. Feng *et al*[33], en cítricos se han desarrollado calibraciones PLSR y MLR que permiten estimar los niveles foliares de este nutriente. (Min *et al*[65]). En conclusión la espectrometría es una herramienta útil para valorar el estado de nitrógeno de los cultivos y puede ser utilizada en estrategias de fertilización evitando los excesos de nitrógeno en algunas zonas y las deficiencias en otras permitiendo así optimizar la producción. (Feng *et al*[33])

Pero no solo el conocimiento de los niveles de nitrógeno es importante en la producción agropecuaria, es también muy importante el conocimiento de la concentración espacial de nitrógeno en las sabanas tropicales, como uno de los principales factores que explica la distribución de la vida salvaje en estas áreas y de sus patrones de alimentación, lo que es perfectamente posible por medio de la espectrometría y teledetección. Mutanga y Skidmore [71]

En cuanto al potasio menor número de trabajos se han realizado pero se sabe que para el trigo el espectro medio en plantas estresadas por potasio es muy similar al de las plantas fertilizadas sin deficiencias, excepto en las mediciones al final del ciclo del cultivo, aunque es difícil determinar un patrón distinguible entre estas dos condiciones. Jorgensen y Christensen [49].

En cuanto al fósforo las plantas de trigo deficientes son diferenciables de las demás solo en mediciones al final del ciclo, hechas en la parte media y distal de la hoja. Jorgensen y Christensen [49] y en plantas de maíz a medida que se avanza en el desarrollo de las plantas, se ha encontrado que se necesitan menos componentes en los modelos de calibración para explicar la variación del fósforo, debido posiblemente a que las deficiencias de este nutriente son más evidentes en estados tempranos de desarrollo. Christensen [22]

Con el transcurso del tiempo se han encontrado varios inconvenientes en el desarrollo de esta técnica como reemplazo de los análisis químicos foliares de laboratorio, como lo reportan Ayala-Silva y Beyl [7] que concluyen que es posible detectar las deficiencias de varios nutrientes en forma temprana y que además es posible detectar el nivel o grado de esta deficiencia, pero es muy difícil saber cual es el elemento o nutriente causante del estrés, por esto la mayoría de los trabajos de investigación se han realizado en la determinación de un solo nutriente. Por esto es útil saber que la presencia de deficiencias simultaneas producen respuestas espaciales diferentes en los pigmentos dentro de la estructura de la planta, y cada síntoma de deficiencia esta caracterizado por un patrón específico de pigmentación ubicado en ciertas partes de la planta. Al evaluar la reflectancia espectral global del dosel de las plantas, esta información se pierde pudiendo llevar a diagnósticos nutricionales incorrectos. (Christensen [22])

En investigaciones sobre trigo y avena cultivado en cámara de crecimiento e invernadero, se encontró que las deficiencias de N y Mg ocasionan el mayor aumento en la reflectancia tanto en el VIS como en el NIR y que las deficiencias de P, K y Ca causan una disminución en la reflectancia en la región de 412 nm a 770 nm, esto debido al efecto sobre la concentración de clorofila, concluyendo finalmente que las deficiencias nutricionales en las plantas y su reflectancia, no son específicas a el ambiente donde son cultivadas, por lo cual el espectro de reflectancia se convierte en una herramienta muy importante para su detección. (Ayala-Silva y Beyl [7])

Osborne *et al*[77] demostraron que con datos hiperespectrales de reflectancia en plantas de maíz, es posible, determinar la concentración de nitrógeno y fósforo, biomasa y productividad, en presencia de estrés nutricional combinado. La predicción de fósforo solo se logro determinar en estados tempranos de desarrollo usando la reflectancia en el azul (400 a 450 nm) y en el NIR (730 a 930 nm), mientras que el nitrógeno es posible determinarlo en todas las etapas de crecimiento, siendo las mejores regiones el rojo y verde del espectro, por ultimo la productividad o producción de grano fue posible calcularla mediante longitudes de onda en el NIR, que son diferentes según el estado de desarrollo. En una investigación similar Zhao *et al*[106] encontraron que es posible detectar las deficiencias nutricionales de N, P , Mg y Fe, en condiciones de invernadero, y que se tienen altas correlaciones con las concentraciones de nitrógeno en tejido foliar y la reflectancia espectral de hojas de maíz a nivel de campo.

En búsqueda de lograr determinar otros nutrientes Adams *et al*[3] re-

alizaron un análisis discriminante para determinar entre reflectancia y fluorescencia, cual es la mas indicada para encontrar plantas de soya deficientes en Manganeseo(Mn), Zinc (Zn), Cobre (Cu) y Hierro (Fe). Las plantas bien nutridas fueron correctamente identificadas el 77% de las veces, pudiendo detectar plantas deficientes sin presentar aun síntomas visuales. Las deficiencias de Zn y Fe parecen no tener buena detección presuntamente por falta de sensibilidad en las mediciones espectrales, o por que la muestra que se utilizo para crear la regla de discriminación fue pequeña. De todos los micro nutrientes Mn, Cu y Fe, son los mas indicados para ocasionar cambios detectables espectralmente, el Mn y Fe están directamente relacionados en la cadena de transporte de electrones y esenciales para la síntesis de las moléculas de clorofila, el cobre también esta relacionado directamente en las reacciones de transporte de electrones y es componente fundamental de las plastocianinas. (Adams *et al*[4])

En muchos de los casos los investigadores han encontrado que es difícil diferenciar algunas deficiencias nutricionales a partir únicamente de información espectral, por esto Christensen [22] realizó su tesis doctoral con el principal objetivo de conocer la respuesta espectral y espacial (base, parte media y punta de la hoja) a deficiencias de nitrógeno, fósforo y potasio, en plantas de avena y maíz. De la cual concluyo que al incluir la información espacial y espectral en los modelos de predicción o discriminación de estas deficiencias nutricionales, se incrementa de forma significativa al comparala con utilizar solo la información espectral. Por otra parte en la investigación se comparo la utilización del rango 400 a 1000 nm y se encontró que al utilizar solo tres bandas (450, 700 y 810 nm) se obtiene el mismo poder de discriminación para las plantas que tienen deficiencias nutricionales, siempre y cuando se incluya la información espacial. (Christensen y Jorgensen [21])

Para efectos prácticos Huang *et al*[43] estudiaron la determinación de la concentración de varios nutrientes en las plantas, mediante el análisis espectral de sus hojas secas en el suelo, logrando resultados similares a los de las técnicas de referencia.

3.3. Líneas y Regiones Útiles en Agricultura

En muchos casos se han encontrado características en el espectro o longitudes de onda especificas que explican el comportamiento de algunas variables de interés en diferentes objetos

El espectro de reflectancia de plantas adultas y sanas se caracteriza por una fuerte absorción (baja reflectancia) en el azul (400-500 nm) , un incremento en la reflectancia en el verde (500-600 nm), fuerte absorción en el rojo (600-700 nm) y una fuerte reflectancia y transmitancia en el infrarrojo (NIR) 700 a 1500 nm La respuesta en reflectancia en la región VIS (400-700) esta gobernada en las plantas por el efecto y comportamiento de las clorofilas, carotenos y antocianinas. La respuesta en el infrarrojo esta determinada por las discontinuidades entre las paredes celulares y por los espacios con aire intercelulares en la estructura interna de la hoja (Mirik *et al*[66] y Christensen [22]). A nivel del dosel Feng *et al*[33] afirma que la reflectancia normal es baja en la región entre 480 y 680 nm debido a la absorción de la clorofila y otros pigmentos, y alta en el NIR debido a la estructura micro celular de la hoja y la estructura del dosel

En el caso del agua en las plantas Colombo *et al*[24] afirman que 1457 y 860 nm, son las dos longitudes de onda con mayor y menor sensibilidad a la humedad de la hoja. En frutas Nicolai *et al*[73] dicen que los espectros son muy similares y estan dominados por las bandas de absorción del agua o de enlaces tipo OH, en las longitudes de onda 760nm, 970nm, 1450nm y una combinación de bandas alrededor de 1940 nm. En el mismo tema Imanishi *et al*[45] encontraron bandas independientes útiles para la detección de algunas características en *Quercus sp* , como son: el tiempo desde el ultimo riego, contenido de humedad de las hojas y el índice de área foliar, detectables en las bandas 611.4 nm en la primera derivada, 519.6 nm en la primera derivada y 676 nm en la segunda derivada, respectivamente. Además como características importantes encontraron tres claramente definidas en plantas sometidas a estrés hídrico suave: (1) un pico en la región 540-560 nm, (2) una depresión en la región 680 a 690 nm y (3) una meseta en el NIR aproximadamente por encima de los 770 nm. Las plantas sometidas a estrés hídrico fuerte no presentan estas características y su espectro de reflectancia aumenta gradualmente con las longitudes de onda. Curran *et al*[25] encontraron que el agua tiene absorciones características centradas alrededor de 1200, 1400 y 1900 nm.

En relación al nitrógeno las plantas deficientes presentan un cambio en la coloración de sus hojas del verde hacia el amarillo, observándose esto espectralmente como un aumento en la reflectancia en la región entre 500 y 750 nm (Jorgensen y Christensen [49], Noh, *et al*[74]) y menor en el NIR (Osborne *et al*(2002) (96)) región útil para diferenciar la vegetación del suelo (Noh, *et al*[74]). En trabajos realizados con diferentes dosis de fertilización se concluye que se pueden clasificar correctamente 4 condiciones nutricionales en difer-

entes estados de desarrollo de plantas de trigo con un 94% de efectividad, cuando se incluye información espacial inter e intrafoliar, usando solamente 3 bandas : 450 nm, región de absorción predominante de pigmentos, 700 nm, longitud de onda de máxima respuesta de la clorofila y 810nm, región de respuesta a la estructura celular de la planta.(Jorgensen y Christensen [49])

El nitrógeno total en hojas secas de arboles en el suelo se puede predecir con dos longitudes de onda precisas 580 y 480 nm, en hojas de maíz separadas de la planta es útil la banda 550 nm para separar plantas tratadas con dosis diferenciales de fertilización. En cítricos la longitud de onda mas importante en la determinación de nitrógeno es 719 nm. Es importante tener en cuenta que las principales fuentes de nitrógeno en las hojas de cítricos son la clorofila y las proteínas, teniendo en cuenta que los centros de absorción de las ultimas se encuentran en 2054nm y 2172nm. Aunque otros afirman que las longitudes de onda mas importantes son 448, 669 y 719 nm relacionadas con el nitrógeno de la clorofila y 2231 nm asociado al N proteico. Min *et al*[65]

En cuanto a la clorofila se sabe que tiene una absorción característica en la región azul y roja (Curran *et al*[25]), donde presenta absorciones diferenciales siendo alta en 670 nm y débil en 600 nm, pero con mayor sensibilidad al estrés en 600nm y menos en 670 nm Christensen y Jorgensen (2003) (99). Por esto cuando las hojas de las plantas se vuelven mas cloróticas la reflectancia de estas aumenta y el pico de reflectancia que normalmente esta centrado en 550 nm , se amplia hacia el rojo ya que la absorción de estas longitudes de onda incidentes disminuye por el decremento de la concentración de clorofila. Curran *et al*[25]. En el caso de remolacha azucarera Demetriades-Shah y Steven (1988) encontraron que las hojas individuales presentan diferencias en el limite rojo que correlación con el contenido de clorofila, pero no son distinguibles cuando se analiza el dosel de las plantas. Además aseguran que la primera derivada del espectro del dosel en 524nm y 656nm y la segunda derivada en 636 nm tienen la mayor correlación con la clorosis que la reflectancia en 550, 670 y 800nm, que son las longitudes de onda propuestas por la mayoría de los investigadores. Para estudiar el efecto espectral de la clorofila Dawson *et al*[27] aislaron en laboratorio esta molécula y encontraron un máximo de absorción de la clorofila in vitro en 664 nm, con un desplazamiento de 8nm, respecto al máximo in vivo para acículas de pino que está en 672 nm. Por último Min *et al*[65] aseguran que la reflectancia y transmitancia en 700nm tiene buena correlación con el contenido de clorofila total en muchas especies de importancia.

Como es de interés el efecto de los insectos plaga sobre los cultivos, un gran

numero de experimentos se han realizado en este campo, donde se han encontrado algunos resultados como que las hojas de plantas infestadas por los áfidos (*Schizaphis graminum* o *Diuraphis noxia*) tienen menor concentración de clorofila y muestran cambios significativos en el espectro de reflectancia en ciertas longitudes de onda (500 a 525 nm, 625 a 635 nm, y 680 a 695 nm) Muhammed [69]

Para el caso de patógenos de plantas Zhang *et al*[103] aseguran que cuando las plantas cultivadas están sometidas a un estrés causado por agentes patógenos estos cambios se pueden observar en la reflectancia en la región del visible (VIS) y del infrarrojo cercano (NIR), cambios causados por la disminución o cambio en el contenido de clorofila y otros pigmentos, y/o cambios en la estructura interna de la hoja. Generalmente la reflectancia espectral en el verde es mayor dependiendo de la severidad de la infección, y los cambios en la estructura interna de la hoja son observables en los cambios en reflectancia en el infrarrojo cercano (NIR). Casos específicos el de plantas de frijol y la enfermedad causada por *Botrytis fabae* que causa un aplanamiento general de la región visible y una reducción del hombro en 800 nm de la meseta del infrarrojo, cuando se aumenta la severidad de la enfermedad. De la misma forma reportan diferentes experimentos con diferentes especies de plantas donde la mayor correlación con la severidad de enfermedades se encuentra en las longitudes de onda entre 700 y 1100 nm, y que se pueden encontrar algunos efectos en el visible entre 500 y 600 nm y entre 600 y 700nm, además que se presenta una alta dependencia de la severidad de la enfermedad con el ratio entre bandas del infrarrojo cercano y el rojo. Por esto Zhang *et al*[103] concluye que para la detección de enfermedades es mas valiosa la región del infrarrojo cercano (NIR) sobre todo la comprendida entre 700 y 1300 nm que la región del visible (VIS). Además afirman que la región entre 750 y 930 nm es estadísticamente mejor para hacer detección de enfermedades en tomate seguida por las regiones entre 950-1030 nm y 1040-1130 nm

En cuanto al estrés causado por agentes abióticos en plantas algunos trabajos han arrojado algunas conclusiones importantes, por ejemplo al trabajar con solla y herbicidas Carter y Miller (1994) encontraron que esta planta presenta alta sensibilidad al estrés inducido por estos químicos en bandas estrechas ubicadas en 694 y 670nm, logrando detectarlo hasta 16 días antes de la aparición de síntomas visibles al ojo humano. Por otro lado Smith *et al*[89] detectaron estrés por lo menos 7 días antes de que las plantas tratadas con gas propano, mostraran los síntomas visibles usando una fracción entre la derivada de la reflectancia en el limite rojo (red-edge) en 725 y 702 nm, logrando diferenciar de plantas testigo del estrés.

3.4. La Espectrometría Agrícola en Colombia

En el país el equipo de investigación de CENICAÑA desarrolló una metodología para la determinación de nitrógeno en tejido foliar de caña con espectroscopia de infrarrojo cercano (1100 a 2500nm) por medio de calibración quimiométrica MLR y PLS, obteniendo resultados similares en ambos casos, con bastante aproximación a los resultados obtenidos por la determinación de laboratorio Kjeldhal. Esto lo lograron haciendo escaneo espectral de hojas de caña secas a 65 grados celcius, molidas y tamizadas a 0.5mm, puestas en el porta muestra del espectrómetro Bran&Luebbe InfraAlyzer 500, encontrando para su caso que las longitudes de onda mas significativas son 2140 y 2170nm. (Larrahondo *et al*[54])

Por otro lado Bastidas Obando y Carbonell [13] utilizaron la espectroscopia NIR con análisis cluster para clasificar los diferentes grupos taxonómicos de suelos presentes en el valle geográfico del río Cauca, encontrando algunas diferencias en la homogeneidad interna dentro de cada grupo analizado.

3.5. Ventajas de Espectrometría

La espectroscopia VIS-NIR tiene varias ventajas sobre las determinaciones tradicionales de laboratorio, entre estas es que físicamente es no destructiva, no invasiva y además requiere poca preparación de las muestras, obteniendo precisiones altas en la determinación.(Veselá *et al*[94], Roggo *et al*[84], He *et al*[40]) adicionalmente es mas rápida y de precisión similar a las vías húmedas pero evita la utilización de reactivos tóxicos o corrosivos en los proceso de análisis. (Dou *et al*[29],Roggo *et al*[84], He *et al*[40]). Es también una tecnología simple y de bajo costo y por esto se viene utilizando en muchos análisis en farmacéutica, agricultura, alimentos, textiles, cosméticos y producción de polímeros. Liu *et al*[57]. Es altamente versátil ya que se puede aplicar a sólidos, semi-sólidos, líquidos (fluidos) y gases (Zhu *et al*[107]), siendo sensible a propiedades tanto físicas como químicas (Rodrigues *et al*[82]). Por todas las características mencionadas es muy útil en los procesos de análisis y control de calidad en líneas de producción (Sulub *et al*[92], Kawasaki *et al*[50])

Los equipos de reflectancia disponibles en el mercado se han adaptado en diferentes campos de la ciencia y la industria, proporcionando determinaciones simultáneas de varios parámetros, continuamente, en tiempo real (Azzouz y Tauler [8], He *et al*[40]) y fácilmente automatizable (Xie *et al*[98]). La espectroscopia ya permite a los industriales y académicos, incrementar la complejidad de sus experimentos obteniendo información cuantitativa más precisa de los productos en tiempo real y de forma rápida y sencilla (Balabin *et al*[9])

3.6. Incertidumbre Espectral

A pesar de que esta técnica presenta mucha utilidad en muchos campos de la ciencia y de presentar altas precisiones en la determinación de muchas propiedades en diferentes objetos y materiales, muchos autores se han encontrado que en ocasiones la calibración de los datos puede presentar ambigüedad o incertidumbre en la identificación o clasificación de alguna propiedad, debido a que las características no son exclusivas de ciertas longitudes de onda sino que pueden estar relacionadas en muchas longitudes de onda comunes.

Por ejemplo Yang *et al*[100] afirman que es difícil separar espectralmente entre plantas sometidas a estrés hídrico y estrés causado por infestación del áfido verde, considerando coexistencia de las dos en la misma área, además afirman que otros estreses en plantas como enfermedades, deficiencias nutricionales, o sequía pueden tener efectos similares en el espectro de reflectancia de las plantas, por lo que es necesario profundizar en la diferenciación de los diferentes tipos de estrés. De la misma forma Christensen y Jorgensen [21] y Marioti *et al*[64] afirman que en el caso de nutrición vegetal el principal problema es que casi todos los nutrientes afectan la cantidad de clorofila en la hoja, lo que hace que se afecte de manera similar el espectro de reflectancia cuando se presenta estrés por alguno o varios nutrientes, en el rango VIS del espectro, por esto las bandas características no se pueden utilizar solas para obtener una buena discriminación de las deficiencias de N, P y K., y es necesario incluir información adicional que para el caso se recomienda que sea la información espacial que incrementa la efectividad de la discriminación de manera significativa. Christensen[22] afirma que el estrés hídrico causa gran interferencia a la hora de discriminar plantas deficientes en nitrógeno, fósforo y potasio, disminuyendo así la capacidad de predicción de los modelos construidos, pero si se logra identificar espectralmente este estrés o se

tiene información *a priori* que se puede incluir en los modelos para tener una buena capacidad de identificar las deficiencias nutricionales en condiciones de campo. Ya que en trabajos experimentales al evaluar los contenidos nutricionales de forma espectral en el dosel de las plantas en condiciones de campo se enfrenta un problema, y es que a nivel del dosel y en ocasiones a nivel de hojas, la respuesta espectral de varias deficiencias nutricionales tienen respuestas o manifestaciones en el espectro de reflectancia de la hoja muy similares entre si. De otro lado Adams *et al*[3] proponen el análisis discriminante como método apropiado para el desarrollo de una herramienta capaz de identificar plantas estresadas en campo, pero es necesario tratar de identificar todos los estreses posibles (hídrico, plagas, enfermedades, etc.) para tener por lo menos la habilidad de llevar a una lista reducida de estreses parecidos y así poder discriminarlos entre sí.

De esta forma muchos autores han trabajado simultaneamente con varios problemas y han propuesto formas de identificarlos, es así que Jorgensen y Christensen[49] afirma que las plantas deficientes en nitrógeno son fácilmente distinguibles de las demás por la clara senescencia de las hojas mas viejas, lo que hace necesario incluir información espacial de la planta en los modelos de predicción. También Daughtry y Hunt [26] dicen que debido a la similitud espectral que presentan los residuos de cosecha con el suelo, una alternativa es detectar una característica amplia de absorción que se presenta alrededor de 2100 nm que aparece en todos los compuestos que tienen grupos alcoholícos -OH, tales como la celulosa, y de esta forma es fácil distinguirlos del suelo. Imanishi *et al*[45] sugieren que el efecto del estrés hídrico y el índice de área foliar (LAI leaf area index) juntos en el espectro pueden dificultar la detección de cada uno por lo menos en algunas regiones del espectro, pero al realizar la investigación concluyen que en la primera y segunda derivada del espectro de reflectancia contiene bandas que son satisfactorias para la identificación de cada uno.

Capítulo 4

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

4.1. Objetivo general

Encontrar las características espectrales correspondientes a diferentes concentraciones nutricionales del tejido foliar en plantas.

4.2. Objetivos específicos

1. Analizar espectralmente hojas de plantas de cultivo con diferencias en su concentración de nutrientes.
2. Explorar las regiones del espectro que poseen mayor sensibilidad a las diferencias en concentración de nutrientes en el tejido foliar.
3. Correlacionar la variación en la respuesta espectral con la concentración de nutrientes estimados mediante el análisis químico del tejido foliar.
4. Proponer modelos de predicción de concentración foliar de nutrientes a partir de reflectancia espectral.

4.3. Hipótesis

1. El espectro de reflectancia de la hoja mas joven totalmente desarrollada posee la información suficiente para construir modelos de predicción de algunas variables fisiológicas y productivas de plantas de rábano.
2. La reflectancia espectral de la hoja más joven totalmente desarrollada provee información suficiente para estimar la concentración de algunos nutrimentos en tejido foliar de plantas de rábano.

3. Los pretratamientos o transformaciones de los datos espectrales mejoran considerablemente la capacidad de predicción de los modelos construidos.

Capítulo 5

LOCALIZACIÓN

El cultivo de rábanos se desarrolló en condiciones de casa de mallas en una finca ubicada en la vereda La Esperanza, Alto de Las Palmas, Municipio de Envigado, Antioquia, Colombia. Esta finca de nombre Nebraska, está a una altura de 2450 m.s.n.m, una temperatura promedio anual de 15 grados celcius y precipitación promedio de 2000 mm al año, correspondiente a la formación de bosque húmedo montano bajo (Bhmb). Todas las mediciones de las variables fisiológicas, las productivas, químicas y de reflectancia espectral, se realizaron en el laboratorio de suelos de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín

Capítulo 6

METODOLOGÍA

6.1. Métodos

6.1.1. Los Métodos espectrométricos

Los metodos espectrométricos son metodos instrumentales empleados en quimica analitica basados en la interacción de la radiación electromagnetica con una muestra u objeto, para identificarlo o caracterizarlo. En este caso se utiliza la reflectancia como objeto de estudio, de muestras foliares, de este modo la espectrometría con la ayuda de herramientas multivariadas asume que un espectro foliar es la diferencia entre el 100 % de reflectancia y la suma de las absorciones características de cada compuestos ponderadas según su concentración. (Curran *et al*[25]).

6.1.2. Calibración Qimiométrica

La información espectral esta influenciada por la presencia de variables químicas, físicas y estructurales, por lo que se hace necesario recurrir a las herramientas de la quimiometría para la extracción de la información de interés de dicho espectro. (Armenta *et al*, [6]) La quimiometrica es una disciplina que usa métodos matemáticos y estadísticos para la selección de los procedimientos experimentales óptimos y los tratamientos adecuados de los datos en análisis químicos. Esta disciplina agrupa varios temas, como el diseño de experimentos, métodos de extracción de información (modelamiento, clasificación y pruebas de supuestos), los tres grupos principales de técnicas son (i) Pretratamientos Matemáticos: para potencializar la información que es investigada en el estudio, y disminuir el efecto de la información ajena al objeto de estudio, los pretratamientos clásicos son normalización, derivación

y suavizado. (ii) Métodos de Clasificación: para agrupar muestras según su espectro, y (iii) Métodos de regresión: para relacionar el espectro con algunas propiedades cuantificables de las muestras. (Roggo *et al*[84]). El uso de los instrumentos NIR es respaldado con el uso de técnicas multivariadas de calibración, tanto lineales como no lineales, que permiten analizar una gran cantidad de datos experimentales proveniente de dichos instrumentos. (Balabin *et al*[9], Nicolai *et al*[73], Roggo *et al*[84])

La calibración quimiométrica tiene dos etapas fundamentales, la primera es la calibración como tal, donde se desarrolla el modelo o ecuación de predicción, y la segunda es la etapa de validación donde es validado el modelo desarrollado en la primera fase (He *et al*[40]). En la etapa de calibración es fundamental la selección del grupo de muestras de calibración. Un modelo de calibración se debe realizar con un grupo de muestras, siendo la selección de este grupo algo decisivo, para obtener un buen modelo. (Chen *et al* [18]). Cualquier análisis de datos asume el principio de homogeneidad. Esto significa que el sistema o proceso investigado esta bajo la influencia de las mismas condiciones durante todo el desarrollo del experimento, y los mecanismos de influencia de X y Y deben ser los mismos, en sentido practico lo que pone es unos limites en diversidad y variabilidad a X y Y, que son los limites que pone el grupo de muestras de calibración. Wold *et al*,[96]. Usualmente un gran numero de muestras como conjunto de calibración es preferible suponiendo que proporciona la información suficiente concerniente a la fuente de variabilidad que se espera en las muestras a analizar después de la calibración (desconocidas). Sin embargo muchas muestras en la calibración pueden resultar en información redundante, lo cual aumentara la interferencia y la complejidad de la calibración multivariada. El investigador se debe preocupar por utilizar, no todas, sino las muestras mas representativas, haciendo un modelo mas sencillo y con muy buena precisión. Chen *et al*[18]. Por lo anterior Christy [23] propone establecer un programa de muestreo regular para explorar las diferentes posibilidades y así lograr implementar un buen modelo y así poder utilizarlo comercialmente. En muchas ocasiones a pesar de que se cree que se tiene un buen modelo de calibración, cuando se analizan muestras que no estuvieron en el proceso de calibración, y sobre todo que se evalúan un tiempo después de esta, se encuentran desviaciones considerables a los valores esperados, esto causado por una mala selección del grupo de muestras de calibración (Pérez-Marín *et al*[79]), como le sucedió a Bartholomeus [12] que encontró que la predicción se vuelve imprecisa cuando el contenido de carbono orgánico del suelo esta por fuera del rango o tipos de suelos diferentes a los que se hizo la calibración. Concluyendo finalmente que es necesario emplear un grupo de muestras de calibración que contenga el

máximo rango posible de contenido de carbono orgánico y la mayor cantidad de tipos de suelos, con un número alto de muestras. La segunda etapa es la que establece finalmente la robustez y eficiencia del modelo, ya que lo prueba con muestras que no se utilizan en el proceso de calibración, mostrando así su desempeño en el campo de acción.

Los modelos de calibración quimiométrica son considerados robustos cuando la precisión en la predicción es relativamente insensible a cambios externos inesperados. Los principales factores que afectan la robustez de los modelos de calibración son: (I) hacer calibración en un instrumento y transportar el modelo a otro diferente, por lo que se van a atender respuestas diferentes a las obtenidas en el primer instrumento, (II) las variaciones del instrumento, por efecto de la temperatura, variación eléctrica, y cambios en la estabilidad del detector a través del tiempo, y (III) variación de las muestras de diferentes lotes, es decir variabilidad entre lotes o dentro de los lotes. Nicolai *et al*[73]. Por otro lado Westerhuis[95] anota que los modelos con un número grande de variables X no son deseables en términos de interpretación y robustez.

Ying y Liu[102] aseguran que la colinealidad o redundancia de las variables (longitudes de onda) en espectroscopia hace más difícil la investigación de la relación que existe entre las variables espectrales y las variables dependientes, llevando a los modelos a tener una baja habilidad predictiva.

Para construir buenos modelos de calibración es necesario conocer y aplicar diferentes técnicas de regresión lineal, aseguran Nicolai *et al*[73], dentro de las cuales las más importantes son :

Regresión Múltiple Lineal (MLR)

En MLR la respuesta Y es aproximada a una combinación lineal de los valores espectrales en cada longitud de onda individual. Nicolai *et al*[73] Roggo *et al*[84]. Una variante de este método es la regresión lineal múltiple por pasos (SMLR) esta técnica es similar a la anterior, pero esta primero selecciona la variable con mayor correlación con los datos (Y), después la segunda y así sucesivamente, hasta terminar, por lo cual produce modelos un poco mejores. Pero estas dos técnicas tienen problemas por la colinealidad de los datos espectrales llevando a un sobre ajuste de los modelos de calibración lo que es poco deseable en estos casos. Nicolai *et al*[73], Curran *et al*[25]

La regresión multilineal (MLR) es una de las técnicas más viejas y cada

vez es menos utilizada, debido a su baja eficiencia computacional. Roggo *et al*[84]. Por otro lado Shao *et al*[88] aseguran que MLR no es recomendable para datos espectrales, debido a la alta colinealidad entre las longitudes de onda adyacentes, por el contrario PLSR y PCR, describen mejor estos datos, ya que estas herramientas transforman los datos del espectro en un grupo de variables ortogonales.

Regresión de Componentes Principales (PCR)

La regresión de componentes principales (PCR) es un procedimiento de dos pasos, primero se descomponen el espectro mediante análisis de componentes principales, acto seguido se ajusta un modelo MLR en base a los *scores* como variables explicativas de las propiedades estudiadas de la muestra. Nicolai *et al*[73] Roggo *et al*[84]. La ventaja que tiene PCR frente a MLR es que los componentes principales son independientes, y además se filtra un poco el ruido. Nicolai *et al*[73]

Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales (PLSR)

PLSR fué sugerida en 1975 por Herman Wold, para el modelamiento de complicados grupos de datos en términos de cadenas de matrices. Este incluye una ruta simple pero eficiente para estimar los parámetros de los modelos llamada NIPALS (Non-Linear iterative Partial Least Squares), alrededor de 1980 los modelos PLS simples fueron modificados por Svante, Wold y Harald Martens para mejorar la aplicabilidad y demostrar a la gente que en los casos donde la aplicación de la regresión simple no era posible, PLS era el método adecuado con datos complicados y además fácil de usar Wold *et al*[96]. Por esto es el método más popular de calibración en quimiometría, la principal ventaja que tiene este método es poder trabajar con datos altamente colineales, con ruido y de alta dimensionalidad. (Pedro y Ferreira[78], Wold *et al*[96], Labbé *et al*[52], Rodrigues *et al*[82])

Este método trata de establecer la relación entre dos matrices, la de los datos espectrales y la de los valores de los datos de referencia. Roggo *et al*[84]. se construye en base a variables latentes (LV o componentes) ortogonales (independientes), asegurándose que las variables son ordenadas de acuerdo a la importancia en la predicción y que estos factores sean extraídos de forma que tengan la máxima correlación con las propiedades de interés, lo cual se logra utilizando la matriz de covarianza entre los datos espectrales y el parámetro

estudiado. (Pedro y Ferreira, 2007 (31), Labbé *et al*[52], (Delalieux *et al*[28], Felizardo *et al*[32]) . Esta técnica funciona muy bien sobre todo cuando hay un gran numero de variables explicando información común, es decir cuando se presenta un alto grado de correlación e incluso colinealidad, que es el caso de los datos espectrales sobre todo en materiales de origen biológico. Este tipo de regresión puede ser fácilmente utilizado para predecir simultáneamente varios atributos, y generalmente se conoce como PLS2, ya que con este algoritmo es que se desarrolla esta técnica. Nicolai *et al*[73], Wold *et al*, 2001(120). Además evita el sobre ajuste del modelo, que se presenta sobre todo en el caso de SMLR. Huang *et al*[43]

Dentro de este método de regresión hay algunas variantes como PLS-DA que permite la clasificación e identificación de productos sin necesidad de utilizar análisis químicos de referencia mediante la combinación con la técnica de Análisis Discriminante (DA) (Liu *et al*[59]) o la metodología de calibración por regiones, en este caso iPLS, por intervalos, consiste en encontrar algunas regiones, las cuales presentan el mínimo error en la predicción, y posteriormente se aplica PLS en cada intervalo de los seleccionados para finalmente construir un modelo, que de hacerse con las regiones óptimas, arrojará predicciones mucho mas precisas que si se hubiera hecho solo la calibración PLS con todo el espectro. El BiPLS se hace determinando un numero de intervalos iguales para todo el espectro y se calculan gran cantidad de modelos PLS, sacando en cada oportunidad uno de los intervalos. El FiPLS es la evolución inversa del BiPLS, que consiste en ir agregando intervalos de menor a mayor error en la predicción de tal forma que el modelo final aporte el menor RMSECV (error cuadrado medio de la predicción en la validación cruzada). Estas metodologías son sencillas, se basan en la división del espectro en regiones equidistantes y el desarrollo de modelos locales de calibración multivariada sobre las regiones seleccionadas. Esto permite construir mejores modelos al compararlo con los que se construyen con todo el espectro, con la ventaja que arroja las bandas de interés químico, asimilando estos como métodos de selección de variables o longitudes de onda. Xiaobo *et al*[97]

En modelamiento es esencial determinar la complejidad del modelo, ya que con tantas variables de X y la colinealidad, hay un riesgo grande de generar sobre ajuste, y bajo poder predictivo. La validación cruzada es una forma practica y útil para determinar el numero de LV a utilizar, en el modelo de predicción, este se hace con la conformación de varios subgrupos dentro del grupo de datos de tal forma que se construyen varios modelos paralelos y se evalúan hasta dejar uno solo el que mas poder de predicción tenga. Sin embargo la mejor forma da validar un modelo es mediante la aplicación de

este a nuevos datos X , y observar y evaluar la consistencia en la predicción de las variables respuesta Y . Wold *et al*[96]

Los resultados de los métodos de proyección como PLSR dependen mucho del escalado de los datos, de tal forma que con un escalado apropiado, uno puede enfocar el modelo solo en las variables Y de importancia, y usar la experiencia para darle mas peso a las variables X de mayor información, pero en caso de no conocer la importancia o valoración de cada variable lo que se hace es que se escalan llevándolo a varianza unitaria dividiéndolas por la desviación estándar, y centrándolas restándoles la media, así cada variable queda con el mismo peso en el análisis. Wold *et al*[96]

En resumen cuando se utiliza PLSR se asume que el sistema o proceso investigado esta influenciado solo por unas pocas variables subyacentes (LV), y que hay parte de X que contiene información que no esta relacionada con Y , que pueden ser ruido u otros factores, normalmente el numero de LV desconocido, por lo que la determinación de este numero se convierte en uno de los objetivos del análisis PLSR. Se asume que X y Y , son realizaciones de variables latentes LV, por lo tanto no se asumen independientes. En caso de que el numero óptimo de LV sea igual al numero de variables de X , se tiene que las variables en X son totalmente independientes y por lo tanto mediante PLSR se obtendrán exactamente los mismos resultados que con MLR. Wold *et al*[96]

Sin importar que tipo de regresión se este utilizando, los modelos de predicción aceptables deben tener bajos SEC (error estándar de calibración) y SEP (error estándar de predicción) y altos coeficientes de correlación. Cuando se presentan diferencias muy grandes entre SEC y SEP, esto indica que hay muchas variables latentes presentes en el modelo y estas ocasionan un ruido que también esta siendo modelado. Shao *et al*[88]

Sin embargo a pesar de todas las ventajas que presenta PLSR sobre los otros métodos este no tiene un buen desempeño cuando se trabaja con datos no lineales. Wold *et al*[96], Labbé *et al*[52] para lo cual diferentes autores proponen algunas soluciones para abordar este problema, entre ellas se encuentran algunas transformaciones y técnicas de selección de variables, sin embargo los métodos de calibración no lineal mas importantes son redes neuronales artificiales (ANN artificial neural networks) y las variantes no lineales de PLS, encontrando en varias ocasiones igual desempeño de los dos últimos y en otras ocasiones un mejor desempeño de ANN. (Balabin *et al*[10] y Dou *et al*[30])

6.1.3. Métodos de Selección de Variables

Los métodos de selección de variables o longitudes de onda, en la calibración multivariada, tienen como fin identificar y remover las variables que penalizan el desempeño del modelo, ya que no son útiles, producen ruido, son redundantes o autocorrelacionadas. Durand *et al*[31]. Cai y colaboradores[16] proponen la utilización del método de eliminación de variables no informativas (UVE uninformative variable elimination), el cual construye una gran cantidad de modelos con muestras seleccionadas aleatoriamente, y luego cada variable es evaluada según la estabilidad de los coeficientes correspondientes en estos modelos. Las variables menos estables son seleccionadas como no informativas y eliminadas del modelo, mejorando los resultados en términos de precisión y robustez. Según Liu *et al*[57] los coeficientes de regresión son una vía efectiva para la selección de longitudes de onda efectivas para los modelos de calibración. Sin embargo algunos autores piensan que es mejor utilizar la información espectral completa con métodos como PCR y PLSR ya que por la naturaleza de su análisis tienen el suficiente poder para extraer la información de importancia y por lo tanto se considera que no es necesario hacer una selección previa de características o regiones espectrales. (Ying y Liu[102])

6.1.4. Transformaciones y Pretratamientos

En la espectrometría de reflectancia se han hecho muchos estudios proponiendo la detección de estrés causado por agua, nutrientes y plagas, en plantas cultivadas, buscando la minimización de las señales originadas por el suelo o niveles de biomasa. Estos métodos normalmente utilizan análisis de derivadas, ajuste o búsqueda de picos y análisis de fracciones entre longitudes de onda, para asociarlos a un estrés particular. Muhammed [69] pero para esto es necesario realizar pretratamientos a los datos, con el fin de reducir variaciones en el instrumento y condiciones de medida que se expresan como ruido sistemático y de fondo, derivas de la línea base, dispersión de la luz, sesgos, y muchos otros factores, causados por interferencia física, química o imperfecciones de los sensores, y potencializar la contribución de las variables respuesta. Chen *et al*[19] Xu *et al*[99], Baptista *et al*[11], Zhu *et al*, [107] , Pedro y Ferreira[78], mejorando el desempeño predictivo de los modelos construidos por los métodos de calibración quimiométrica. Felizardo *et al*[32] y Fernández-Cabanás *et al*[35], Preys *et al*[80], Alamar *et al*[5] y

Bartholomeus[12]

En resumen el pretratamiento de los datos espectrales se realiza con el fin de remover información irrelevante que no es manejada adecuadamente por las técnicas de regresión. Los pre tratamientos mas utilizados son: (Nicolai *et al*[73])

Promedio (Averaging): normalmente se realiza durante la medición con el fin de reducir el ruido térmico del detector, sobre todo en mediciones a campo abierto, ya que en laboratorio las condiciones son mas estables y controladas.

Centrado de datos (Centering): es el primer paso del pretratamiento y consiste en sustraer el promedio a cada variable, es llamado también centrado medio, y brinda mas facilidad en la interpretación de los datos en base a la variación de estos respecto a la media.

Suavizado (Smoothing): se han propuesto muchas metodologías para eliminar ruido aleatorio del espectro del NIR, incluyendo el movimiento o desplazamientos de filtros de media y el algoritmo de Savitzky Golay, pero si bien el suavizado mejora muchísimo el aspecto visual de los datos, no se tiene la certeza de no estar eliminando informacion valiosa.

Estandarización (Standardisation): lo que se hace en este proceso es dividir el espectro en cada longitud de onda por la desviación estándar del espectro en esa longitud de onda, normalmente se estandarizan las varianzas de todas las longitudes de onda a uno, lo que conduce a que todas las longitudes de onda tengan la misma influencia en el modelo. Esta metodología es normalmente utilizada cuando se realizan mediciones con diferentes unidades o con diferentes rangos de medida, pero esto debe ser evitado en espectroscopia NIR ya que el ruido en variables con pequeñas desviaciones estándar pueden causar magnificación de este, generando modelos menos predictivos.

Normalización (Normalization): El método mas utilizado de este tipo es la corrección múltiple de la dispersión (MSC, Multiple scatter correction). Esta técnica se utiliza para compensar los errores aditivos (desplazamiento de linea base) y multiplicativos (tendencia o inclinación) en los datos espectrales, los cuales son causados por efectos físicos, ya que el grado de dispersión es dependiente de la longitud de onda de la radiación, del tamaño de partículas y del índice de refracción. Otro tratamiento es la corrección estándar normal variada (SNV standard normal variate) que lo que hace es

que cada espectro individual es normalizado a media igual a cero y varianza unitaria.

Transformación de datos (Transformation): la derivación del espectro es usada a menudo para eliminar desplazamiento de línea base y picos superpuestos, La derivación de segundo orden es muy utilizada para remover los efectos multiplicativos y aditivos igual que MSC, y son calculadas generalmente mediante el algoritmo de Savitzky Golay. La transformación Log 1/R de acuerdo con la ley de Beer Lambert, propone usarla en forma similar a como se usa en mediciones de densidad óptica, ignorando que la penetración de la energía en tejidos biológicos es mas complicada, y que incluye además dispersión de la energía, además esta transformación no ha mostrado tener ventajas comparativamente mayores respecto a la utilización de los datos sin transformar

SNV (Standard Normal Deviate)

SNV es una transformación matemática usado para remover la variación en la pendiente, corregir los efectos de dispersión, efectos aditivos y multiplicativos . Dou *et al*[30], Dou *et al*[29], Chen *et al*[19], Liu *et al*[58] En esta transformación cada espectro es individualmente centrado en base a la media y escalado según la desviación estándar y como resultado cada nuevo espectro posee media cero y varianza igual a uno y por lo tanto son independientes de los datos espectrales originales. Moros *et al*[73]. Huang *et al*[43] recomiendan utilizar SNV cuando se tienen muestras que pueden afectarse por los efectos de dispersión causados por las diferencias en el tamaño de partículas. Shao *et al*[88] recomiendan utilizar esta transformación en la calibración NIR de concentración de bioquímicos en vegetales.

MSC (Multiplicative Scatter Correction)

La corrección multiplicativa de la dispersión MSC, corrige efectos aditivos, multiplicativos y las diferencias en la dispersión de la luz entre las muestras, calculando un espectro promedio entre las muestras de calibración y usándolo como espectro de referencia, después cada espectro es calculado con base a este espectro de referencia, Dou *et al*[29] Dou *et al*[30] , Bello *et al*[14], Shao *et al*[88] , Chen *et al*[19], Huang *et al*[43]. Esta tecnica ha demostrado tener buen desempeño para la determinacion de bioquímicos en vegetales mediante espectroscopia NIR. Shao *et al*[88]

En resumen MSC y SNV son usadas para remover efectos aditivos de dispersión y de línea base, resultando en espectros con varianzas uno y media cero, diferenciándose solo porque SNV se aplica individualmente a cada espectro mientras MSC utiliza un espectro de referencia para todos los espectros analizados. Kooistra *et al*[51]

OSC (Corrección Ortogonal de la Señal) y DOSC (Corrección Ortogonal Directa de la Señal)

OSC es un pretratamiento que remueve de las variables explicativas la información no relacionada (ortogonal) a la matriz de datos respuesta, impidiendo la remoción de la información importante para la calibración. Zhu *et al*[107]. En otras palabras el objetivo de OSC es remover una o más direcciones en X que sean ortogonales a Y , y que sumen gran variabilidad en X . Westerhuis[95] Labbé *et al*[52]. Sin embargo todos los algoritmos para hacer OSC tienen varios problemas, uno es que no logran alcanzar la ortogonalidad completa y otro es que los componentes de la transformación OSC no pertenecen al espacio de los datos espectrales. Zhu *et al*[107] Westerhuis[95]. Por esto se propone DOSC que solo utiliza métodos de mínimos cuadrados y siempre encuentra componentes ortogonales a Y que describen la mayor variación de X . El primer paso de DOSC es descomponer Y , en dos partes ortogonales, la proyección de Y en X , \hat{Y} , y la parte residual F , que es ortogonal a X . Luego se descompone X en dos partes ortogonales, una con el mismo rango de \hat{Y} , y otra ortogonal a esta. Habiendo encontrado los dos subespacios ortogonales se aplica posteriormente componentes principales para encontrar el mayor valor singular, y se remueve de X la parte de mayor variación que no tiene correlación con Y . Si se realiza esto con ortogonalidad completa se obtiene que los datos corregidos DOSC producen modelos peores que los datos sin corregir, para lo cual la solución es la utilización de la inversa de Moore-Penrose, que no es completamente ortogonal, finalmente se logra disminuir el número de LV del modelo y aumentar su precisión por lo que se concluye que la DOSC es un método adecuado de transformación para obtener buena precisión en los modelos de calibración. Westerhuis[95], Zhu *et al*[107]. Esta corrección es utilizada para evitar efectos de temperatura, tiempo y diferencias de instrumentos, aumentando la robustez del modelo, Zhu *et al*[107], Preys *et al*[80].

OSC y DOSC son más eficientes que los pretratamientos clásicos MSC y SNV, sin embargo DOSC muestra no ser bueno para la calibración de datos

no lineales. Zhu *et al*[107] . Por ejemplo Felizardo *et al*[32] utilizaron OSC en la determinación de contenido de agua y metanol en biodiesel encontrando precisiones similares con Savitzky y Golay segunda derivada y OSC, encontrando que OSC logra disminuir la utilización de componentes o variables latentes, haciendo modelos mas simples e igualmente precisos, por lo tanto mas robustos que los demás.

Derivadas del Espectro

El análisis de derivadas del espectro se utiliza cuando se presentan problemas con la intensidad de la iluminación, desplazamiento de la línea base, problemas con picos superpuestos y a los efectos de fondo, por lo que puede ser usado para incrementar características sutiles de bioquímicos foliares, siendo lo mas indicada hacer algún suavizado seguido de la derivacion para evitar magnificar el ruido. Huang *et al*[43]. Tewari *et al*[93]. El procedimiento mas utilizado es el algoritmo de Savitzky Golay, que es un método de promedio por medio de una ventana que se desplaza a lo largo del espectro reemplazando el valor del centro por el valor obtenido en la polinomial del algoritmo. Dou *et al*[30] Dou *et al*[29], Kooistra *et al*[51] Imanishi *et al*[45]

Eliminación del Continuum

Lagacherie *et al*[53] analizaron los datos espectrales mediante el análisis de remoción del continuum (CR continuum removal analysis) ya que este provee una mayor relación causal entre las características de reflectancia y la correspondiente cantidad del material absorbente o reflectante. Esta técnica tiene como fundamento que el objeto reflectante en una cierta característica es el único que presenta esta fuerte absorbancia o reflectancia en una longitud de onda o rango específico, y que ningún otro objeto afecta la reflectancia del primero en dicha longitud de onda. El problema con la remoción del continuum es que no siempre se conoce exactamente su forma y muchos investigadores utilizan constantes, líneas o curvas para ajustar parte o la totalidad del espectro, llevando a la pérdida de propiedades aditivas, que se convierte en un gran problema a la hora de los análisis en espectroscopia. Rivard *et al*[81].

Otras Transformaciones

Para corregir algunos efectos complicados y la ampliación de picos se utilizan algunas técnicas de estandarización multivarida como Estandarización

directa (DS direct standarization), estandarización directa por partes (PDS Piecewise Direct Standarization) transformada wavelet (WT) y respuesta finita del impulso (FIR Finite Impulse Response), entre otras. Al evaluar PDS en la transferencia de los modelos de un espectroradiómetro de arreglo de diodos a un FT NIR, encontrando que al transformar el espectro obtenido de un detector de arreglo de diodos, con PDS, se obtiene un espectro similar al medido con un sensor FT NIR. Concluyendo finalmente que es necesario realizar modelos de transferencia inclusive cuando se tienen equipos del mismo tipo y modelo. Alamar *et al*[5]. Blackburn y Ferwerda[15] demostraron la utilidad de la descomposición wavelet del espectro de reflectancia de las hojas, para la generación de modelos capaces de predecir la concentración de clorofila.

Selección del Pretratamiento Adecuado

A pesar de todos los estudios realizados, el preprocesamiento hoy en día es algo más que todo basado en ensayo y error. Además muchos preprocesamientos espectrales, cuando se utilizan solos, ocasionan pérdidas de información importante. Xu *et al*[99] Por esto muchos autores han ensayado diferentes clases de pretratamientos solos y en combinación para mejorar la construcción de modelos de predicción.

Por ejemplo Baptista *et al*[11] analizaron la utilización de varios pretratamientos como MSC, SNV, OSC, y la primera y segunda derivada con Savitzky Golay, obteniendo los mejores resultados al utilizar un suavizamiento polinomial de orden 3 y un promedio de 9 puntos en la primera derivada de Savitzky Golay, seguido por OSC, para construir el modelo PLS. Huang *et al*[43] utilizaron remoción del continuum en la determinación del estado de nitrógeno en árboles individuales de eucalipto, encontrando que produce errores bajos en la predicción y altos coeficientes de determinación. Liu *et al*[58] transformaron el espectro de transmisión en un espectro de absorción mediante $\log(1/T)$, luego aplicaron un filtro de Savitzky Golay con 5 segmentos para suavizar el espectro, y posteriormente aplicaron SNV, para corregir los efectos de dispersión para obtener los mejores resultados. Fernández-Cabanás *et al*[35] tomaron datos espectrales de grasa de cerdo en forma de $\log(1/\text{Reflectancia})$ evaluando además 49 posibles combinaciones de pretratamientos espectrales, pero no se encontraron diferencias significativas, para la mayoría de ácidos grasos estudiados. Liu *et al*[59] afirman que para reducir la variación de la línea base y promover las características espectrales, se debe aplicar transformación SNV, seguida de transformación de Savitzky y Go-

lay para derivación y suavizado (10 puntos y derivación segundo orden). Curran *et al*(2001) (98) asegura que el uso de la regresión por pasos se vuelve mas eficiente cuando se hace eliminacion del continuum y normalización de bandas que cuando se utiliza la primera derivada del espectro, para determinar la concentración de compuestos bioquímicos en muestras foliares. Christensen y Jorgensen (2003) (99) proponen centrar la concentración de nutrientes en las hojas y escalar el espectro de reflectancia con el factor de escalado (1/ desviación estándar) antes de construir los modelos de calibración PLS. Stevens *et al*[90] afirman que para algunos análisis es bueno convertir la reflectancia en absorbancia mediante la transformación $\text{Log}(1/R)$, para posteriormente realizar un suavizado del espectro y aplicar primera o segunda derivada para de estos datos hacer la calibración con las concentraciones o contenidos de carbono, obtenidos por los análisis de laboratorio. Para determinar la concentración de solidos solubles en cítricos Cayuela[17] utilizó con éxito la calibración PLS, realizando eliminación de espectros extremos mediante el cálculo del estadístico H haciendo corte en un valor igual a tres, pretratando despues el espectro mediante la primera y segunda derivada, suavizamiento (smoothing) y transformación SNV, encontrando que los mejores resultados se obtuvieron con SNV y la segunda derivada del espectro, mediante regresión PLS. Yan-de *et al*[101] encontraron al realizar calibración FT NIR mediante PLS, con los datos transformados como $\log 1/R$, los mejores resultados en precisión de predicción y ajuste del modelo respecto a los datos sin transformar. Janik *et al*[47] recomiendan hacer centrado de media a los datos espectrales, y reducir el numero de datos con un promediado para 5 puntos, y evaluar la aplicación de primera derivada con Savitzky y Golay, ya que de esta forma ellos han obtenido los mejores modelos de calibración. Ying y Liu[102] sustrajeron la media de cada espectro para remover efectos causados por derivas y recalibración, encontrando mejoras significativas en el cuadrado medio del error en la validación cruzada y en la predicción. Para discriminar entre vinagres de frutas, Liu *et al*[57] encontraron que el mejor tratamiento de los datos es el de suavizamiento de Savitzky y Golay con cinco segmentos seguido por SNV para la corrección de la dispersión de la luz y la variación en la fuente de luz.

Todos estos casos mencionados arriba, son un fuerte indicio de que lo mejor para la utilización de pretratamientos es evaluar los métodos mas utilizados y conocidos, para el caso de interés en particular, ya que es claro que no se tiene certeza de que haya algún pretratamiento que generalmente sea superior en su función a los demás.

6.1.5. Otras metodologías de manejo de datos espectrales

Aunque en este trabajo no se van a utilizar, es importante mencionar la existencia de estas metodologías de análisis, que han sido utilizadas a través de la historia por muchos investigadores para solucionar problemas en base a datos de reflectancia de la vegetación y/o del suelo.

El Límite Rojo (Red Edge)

El límite o borde rojo es la mayor pendiente entre la reflectancia baja en la región del visible VIS y la reflectancia alta en la región del infrarrojo cercano (NIR), en el rango entre 670 y 780 nm (Imanishi *et al*[45]) y que es producto de la fuerte absorción de la clorofila en la región del rojo y la alta reflectancia en el infrarrojo (IR) debido a la dispersión de la energía en el mesófilo de la hoja. (Ayala-Silva y Beyl[7] y Jago *et al*[46]). La posición del límite o borde rojo (Red Edge Position, REP) es la longitud de onda en esta región que posee la máxima pendiente y es uno de los parámetros más importantes para describir el límite rojo(Imanishi *et al*[45] sin embargo el máximo en la primera derivada del espectro no es un buen estimador de la posición del límite rojo, debido a las discontinuidades que se forman entre las bandas tanto estrechas como amplias de los espectroradiómetros. (Cho y Skidmore[20])

Jago *et al*[46] y Christensen [22] afirman que el movimiento del límite rojo hacia las longitudes de onda más cortas es un buen indicador de senescencia o estrés inducido en plantas, debido a que se genera una reducción en la concentración de clorofila, de igual forma Imanishi *et al*[45] aseguran que el desplazamiento del REP ocurre como respuesta a estrés causado por diferentes agentes, este se puede dar hacia las longitudes de onda cortas o largas y se denomina desplazamiento azul (blue shift) o desplazamiento rojo (red shift) respectivamente, este desplazamiento se explica ya que en la vegetación estresada se produce una disminución en la absorción de energía por las clorofilas que produce cambios estructurales de las células en la hoja, por lo cual esto se expresa como una reducción en la reflectancia en el IR simultáneamente con un incremento en la reflectancia en el rojo (Ayala-Silva y Beyl[7]), cuando es el caso contrario y se incrementa la concentración de clorofila en la planta se produce una polimerización de moléculas clorofila-clorofila y posiblemente clorofila-proteína, lo cual ocasiona menor profundidad y mayor amplitud en las características de absorción de la clorofila. Jago *et al*[46]. En

conclusión Cho y Skidmore[20] afirman que la posición del punto de inflexión en la región del límite rojo (680 a 780 nm) de reflectancia espectral, llamado posición del límite rojo (REP red edge position), es afectado por factores bio-físico-químicos, y es útil para estimar la cantidad de nitrógeno y clorofila en las hojas.

Índices Espectrales

Los índices de vegetación (VI vegetation index) combinan información espectral contenida en dos o más bandas, usualmente en el VIS y NIR, o ambos. Estos índices tienen como objetivo la extracción de información óptima de los objetos investigados. Mirik *et al*[66]. Mandal *et al*[63] afirman que algunos índices son muy útiles en la medición de parámetros de los cultivos tales como, área foliar, porcentaje de biomasa verde, productividad y actividad fotosintética. Dentro de los cuales se destaca el NDVI que está asociado con la variabilidad de la clorofila de las hojas, su contenido de nitrógeno y la producción de grano en sorgo.

Como algunos ejemplos tenemos el índice de vegetación verde (VI green) utilizado por Zhao *et al*[104], derivado de la reflectancia espectral de las bandas verde y roja, para determinar el contenido de proteína en hojas de trigo en el estado de antésis y predecir el contenido de proteína en el momento de cosecha. Gonzalez-Dugo y Mateos [39] evaluaron los índices de vegetación NDVI (normalized differences vegetation index) y SAVI (soil adjusted vegetation index) obtenidos de percepción remota como estimadores del crecimiento de algodón y remolacha azucarera, estando bien relacionados a la cobertura del suelo, biomasa e índice de área foliar. Por último Suarez *et al*[91] encontraron que al realizar vuelos con un sensor hiperespectral y utilizar el índice de vegetación PRI (Photochemical Reflectance Index) se pueden detectar los cambios diurnos en los indicadores del estrés hídrico tales como la diferencia entre la temperatura del aire y la temperatura del dosel, la conductancia estomática, y el potencial hídrico en el tallo, medidos en campo simultáneamente al realizar el vuelo con el sensor espectral.

6.2. Materiales y Experimentos

Por la forma como se llevó a cabo este trabajo y para entender mejor los resultados de cada uno de ellos se dividió el trabajo en dos experimentos, a

pesar de que el análisis de datos fué similar para los dos casos.

6.2.1. Experimento No. 1

Se realizó un diseño experimental completamente al azar donde se cultivaron plantas de rábano (*Raphanus sativus* var. *Crimson Giant*) en macetas plásticas de 1000cc de capacidad, llenas con arena cuarcítica, en cada maceta se sembraron 3 semillas, las cuales fueron regadas con agua destilada hasta la emisión de las primeras dos hojas verdaderas, en éste momento se empezaron a fertilizar con 30 cc de solución fertilizada por día por maceta con las siguientes dosis (6.1):

Cuadro 6.1: Concentración de los tratamientos utilizados en la fertilización de plantas de rábano para generar diferentes estados nutricionales

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5
Concentración	100 %	50 %	25 %	10 %	0 %

La concentración se estableció en base a una solución de fertilización de hidropónicos Hoagland modificada de tal forma que el 100 % (6.2), es la solución recomendada para muchas hortalizas, el 0 % corresponde solamente a la aplicación de agua destilada, y los porcentajes intermedios a las respectivas diluciones.

Cuadro 6.2: Concentración de nutrientes de la solución fertilizante al 100 % como base para fertilizar plantas de rábano

Nutriente	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Mn	Cu	Zn	B	Mo
Concentración (ppm)	220	43	208	185	48	32	4,6	0,54	0,06	0,26	0,54	0,01

Cada unidad experimental estuvo representada por una maceta y se establecieron cuatro repeticiones por tratamiento. A los 21 días después de la emergencia se realizó una selección dejando solo 1 planta por maceta. A los 44 días después de la emergencia se realizó la medición espectral de reflectancia en un rango entre 400 y 1050 nm, con un espectrómetro Perkin Elmer Lambda 25 con una esfera de integración para la medición de reflectancia, esta se llevó a cabo con una velocidad de lectura de 480 nm/minuto, y con resolución espectral de 1nm, se hizo lectura blanco o de referencia sobre

BaSO₄ proporcionado por el fabricante del equipo junto con la esfera de integración. Se seleccionaron las hojas más jóvenes totalmente desarrolladas y se desprendieron de la planta, se pesaron en una balanza electrónica METTLER AJ150 con precisión de 0.1 mg, e inmediatamente fueron puestas en la esfera de integración donde se les realizaron 3 lecturas consecutivas a cada hoja, posteriormente se fotografiaron con una cámara digital Kodak V803 sobre papel milimetrado y luego se llevaron a secar en estufa a 60 grados celsius durante 48 horas. El resto de las hojas de cada planta fueron pesadas, fotografiadas y llevadas a secar de la misma forma. Después de las 48 horas de secado se realizó nuevamente lectura de reflectancia de la misma forma sobre la hoja más joven totalmente desarrollada de cada planta, de igual forma que se hizo en las hojas en fresco. En este momento se pesaron igualmente las hojas y el resto de la parte aérea de la planta.

Como variable productiva se tomó el peso fresco de los rábanos al momento de la cosecha, los cuales fueron lavados y secados para ser pesados en fresco, y posteriormente fueron llevados igual que el resto de la planta a secado en estufa a 60 grados celsius por 48 horas tiempo después del cual se les pesó nuevamente.

Después de todas las mediciones y pesos el material vegetal foliar seco se ingresó al laboratorio de suelos de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, para realizar la determinación de concentración de Fósforo (P), Calcio (Ca), Potasio (K), Magnesio (Mg), Hierro (Fe), Manganeseo (Mn) y Boro (B).

Las áreas fueron medidas de las fotografías sobre papel milimetrado mediante el software libre de análisis de imágenes imgeJ versión 1.41 disponible en : <http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html> y desarrollado por Wayne Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, MD.

Finalmente las variables respuesta evaluadas fueron:

Variables morfo fisiológicas y de producción:

- Peso Fresco de la hoja medida (Pfhm)
- Peso seco de la hoja medida (Pshm)
- Porcentaje de humedad de la hoja medida (%hhm)
- Peso fresco del rábano (Pfrab)
- Peso seco del rábano (Psrab)

Porcentaje de humedad del rábano (%hrab)

Área de la hoja medida (Ahm)

Área foliar (Aftot), equivalente a la sumatoria de las áreas de todas las hojas de cada planta.

Peso fresco de la parte aérea (Pfpárea) que es el peso de todas las hojas y peciolas de cada planta, es decir todo lo que esta por encima del rábano.

Peso seco de la parte aérea (Pspárea)

Porcentaje de humedad de la parte aérea (%hpa)

Biomasa total (Biom) entendida como la sumatoria de los pesos frescos de la parte aérea y el rábano.

Materia seca total (mst) equivalente al peso seco de la biomasa total.

Los porcentajes de humedad fueron determinados en base al peso fresco.

Variables de Concentración Foliar de Nutrientes:

Concentración en tejido foliar de fósforo en % (P): Método colorimétrico complejo fosfo - molíbdico

Concentración en tejido foliar de calcio en % (Ca): Método de absorción atómica.

Concentración en tejido foliar de magnesio en % (Mg): Método de absorción atómica.

Concentración en tejido foliar de potasio en % (K): Método de absorción atómica.

Concentración en tejido foliar de hierro en ppm (Fe): Método de absorción atómica.

Concentración en tejido foliar de manganeso en ppm (Mn): Método de absorción atómica.

Concentración en tejido foliar de boro en ppm (B): Método colorimétrico (Azometin h) descomposición de la muestra vía seca 550 C.

Variables Explicativas

Como variables explicativas se tomaron cada uno de los valores de reflectancia en el espectro medido entre 400 y 1050 nm, dado este como el promedio de las tres lecturas realizadas en cada caso.

6.2.2. Experimento No. 2

Se tomaron muestras foliares de plantas de banano secas al horno, molidas y tamizadas a 2 mm que fueron analizadas en el laboratorio de análisis de suelos de La Universidad Nacional de Colombia para contenido de nutrientes foliares, estas fueron puestas nuevamente en el horno a 60 grados celcius por 48 horas, tiempo después del cual fueron puestas individualmente en un mortero de porcelana para macerarlas en seco hasta llevarlas al menor tamaño posible de partícula y apariencia homogénea, posteriormente el polvo se colocó sobre un porta objetos de vidrio donde se le adicionó agua destilada suficiente para formar una pasta, la cual se esparció de forma homogénea y fue llevada nuevamente a secar al horno a 60 grados celcius por 48 horas, tiempo después del cual fueron llevadas al espectrometro Perkin Elmer Lambda 25 donde se les midió la reflectancia espectral entre 400 y 1050 nm, cada muestra fue analizada espectralmente 3 veces para obtener un espectro promedio, el cual se utilizó como grupo de variables explicativas de la concentración foliar de nutriente de dichas muestras, en la calibración PLSR con diferentes pre tratamientos.

La lectura de reflectancia se hizo de igual forma que la mencionada en el experimento No 1, colocando los portaobjetos en el lector de reflectancia en lugar de las hojas.

La concentración de nutrientes en estas muestras foliares en el caso de fósforo, calcio, potasio, magnesio, hierro, manganeso y boro, se hizo de igual forma que para el experimento No. 1, y adicionalmente se analizó la concentración de nitrógeno (N) por el método de Kjeldhal, azufre (S) que se determina por el método de turbidimetría BaCl₂ bacto gelatina, ambos expresados en porcentaje, y finalmente la concentración de cobre (Cu) y zinc (Zn) determinadas por absorción atómica, y expresada en partes por millón (ppm).

6.3. Análisis de datos

Todos los análisis gráficos y estadísticos fueron realizados con el software libre R versión 2.7.2, R Development Core Team (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>. disponible en : <http://cran.r-project.org/bin/windows/base/>.

6.3.1. Análisis exploratorios

Para el primer experimento inicialmente se analizaron cada una de las variables respuesta de manera gráfica por medio de gráficos boxplot, para analizar la linealidad de los datos y en algunos casos donde se detectaron problemas se utilizó la herramienta boxcox (librería MASS) para encontrar la transformación adecuada de los datos.

Para el segundo experimento se analizó cada variable en gráficos box plot, los cuales fueron utilizados para la detección de valores extremos en cada variable, considerados como los valores que estuvieran más allá de dos veces la distancia intercuantílica, en este caso no se utilizó ningún tipo de transformación.

En los dos experimentos se realizó un análisis multivariado exploratorio para conocer un poco mejor el comportamiento de los grupos de variables por medio de análisis de componentes principales, y se realizó un análisis exploratorio de cada una de las mediciones espectrales graficando simultáneamente las tres repeticiones de reflectancia para cada muestra con el fin de encontrar inconsistencias en las lecturas espectrales.

6.3.2. Pretratamientos espectrales

Para la calibración o regresión PLS se utilizó el espectro de reflectancia tratado de diferentes formas, para el primer y segundo experimento de la misma forma, así:

1. Espectro Crudo, tal cual lo arroja el equipo. Ver Figura 6.1.
2. Espectro con transformación MSC, esta transformación se realizó por medio de la librería PLS, por medio de la función `msc` con el siguiente guion :

```
msc.rab<-msc(as.matrix(rab))
```

Donde `msc` es la función del paquete estadístico, que hace sobre el objeto `rab` tomado como matriz de datos espectrales, y lo lleva a los datos corregidos o transformados al objeto `msc.rab`, Ver resultado de la transformación en la Figura 6.2

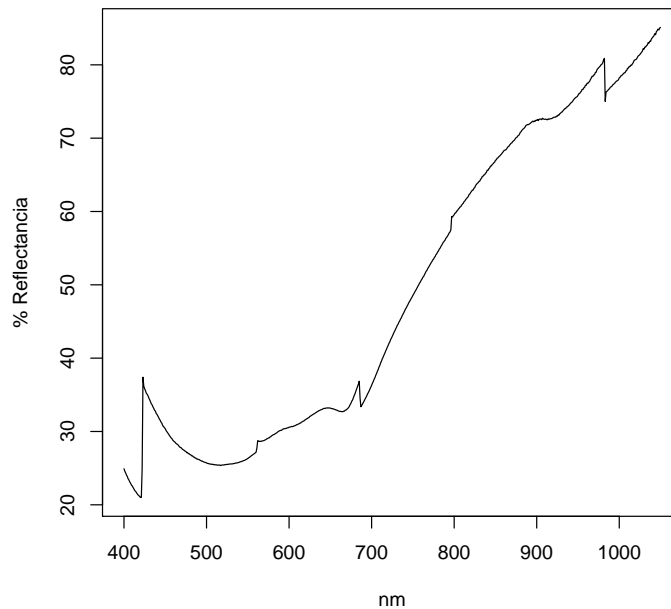


Figura 6.1: Espectro de reflectancia crudo de una muestra foliar preparada de plantas de banano (Muestra No 10).

3. Transformación SNV, aplicada por medio de la función `msNormalizeSNV` presente en la librería `msProcess`, para lo cual primero se debe crear un objeto que pueda ser entendido por la función, que es el objeto `rabFmsset` que se crea por medio de la función `msSet` sobre el espectro de reflectancia indicando el rango de longitudes de onda, así:

```
msSet(t(NIRF),mz=(400:1050))->rabFmsset
```

A continuación se le aplica la función que realiza la transformación como tal a este objeto, creando como resultado otro objeto, que esta compuesto por diferentes resultados, dentro del cual los datos transformados son los que se encuentran en la lista `intensity` así:

```
msNormalizeSNV(rabFmsset)->b b$intensity
```

Donde `b$intensity` es el nuevo espectro transformado(Figura 6.3), insumo para la calibración PLS.

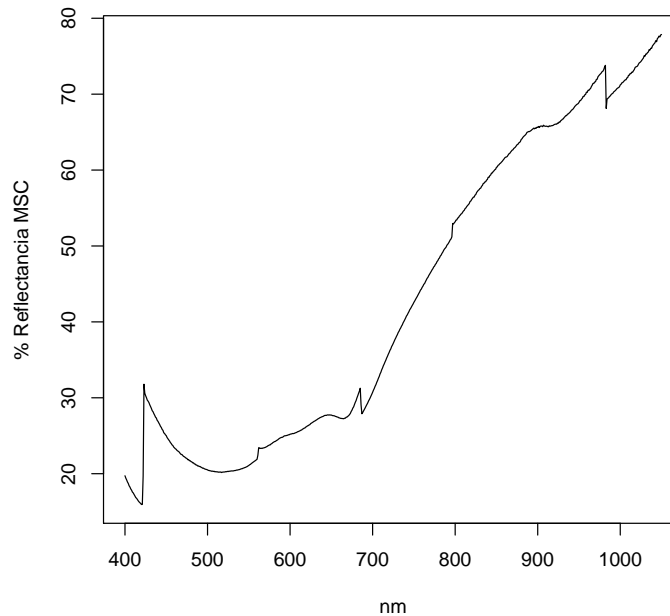


Figura 6.2: Espectro de reflectancia de una muestra foliar de banano, tratado con la transformación MSC (Muestra No 10)

4. Transformación $\log 1/R$, simplemente cada intensidad de reflectancia en cada longitud de onda se le aplicó dicha fórmula.

$$R_t = \log (1/R)$$

Donde R es la reflectancia en cada longitud de onda medida por el espectrómetro y R_t es el valor transformado (ver Figura 6.4).

5. Filtro de Savitsky y Golay de primera y segunda derivada, presente en la librería `Signal` por medio de la función `sgolayfilt` que aplica un filtro que utiliza un suavizado ajustado a una función polinomial, a un cierto número de segmentos (longitudes de onda consecutivas), el cual reemplaza en el segmento del centro el valor de la primera o segunda derivada según se desee, utilizándose así:

```
nX<-sgolayfilt(X,a,b,c )
```

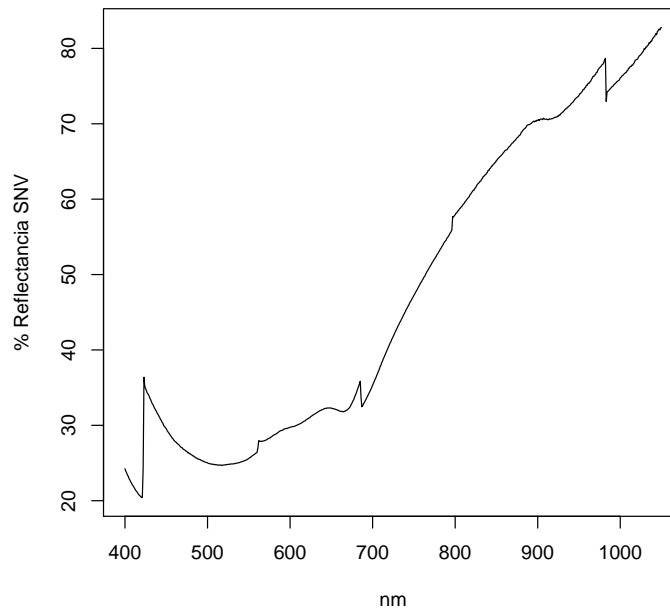



Figura 6.3: Espectro de reflectancia de la muestra No 10 (foliar banano) con pre tratamiento SNV.

Donde X es el espectro de reflectancia, a es un número que corresponde al orden de la curva polinomial con que se suaviza el espectro, b es el número de segmentos utilizados para hacer el suavizamiento, este número debe ser impar, ya que el valor de la derivada se colocará en el punto del centro, y c es el orden de la derivada que se utilizará (ej: 1 para la primera derivada, o 2 para la segunda derivada), y por último nX es el espectro transformado ya con los segmentos reemplazados por el valor de la derivada del orden deseado, a continuación se muestra un ejemplo de como se utiliza:

```
NIR<-sgolayfilt(NIRF,3,5,1 )
```

Donde NIR es el espectro ya transformado o el resultado del filtro, el cual es la transformación de los datos espectrales $NIRF$, por medio de una curva polinomial de orden 3, con la utilización de 5 segmentos y utilizando la primera derivada.

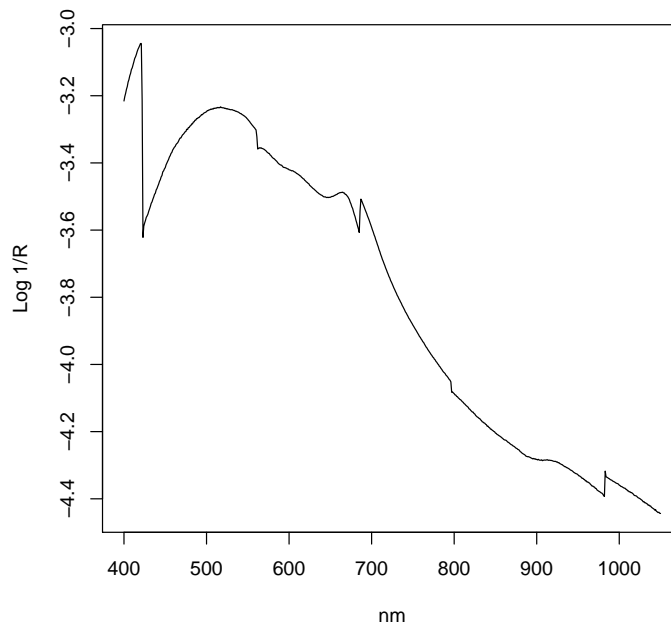


Figura 6.4: Espectro de reflectancia con la transformación matemática $\text{Log}(1/R)$ para una muestra foliar preparada de banano (Muestra No 10).

En este trabajo se utilizó la primera SG1 (Ver Figura 6.5) y segunda derivada SG2(Ver Figura 6.6).

6. Corrección directa ortogonal de la señal (DOSC, Direct Orthogonal Signal Correction), la cual fué necesaria programar o construir la función en R versión 2.7.2, con ayuda de la librería `corpcor` necesaria para el calculo de la pseudo inversa de Moore Penrose, utilizada en este pretratamiento del espectro. A continuación se muestra el guion utilizado en R para esta función:

```
X<-NIRS Y <-qgrab
```

X y Y son respectivamente la matriz de datos espectrales y la matriz o vector de datos respuesta.

```
yhat<-X%% pseudoinverse((X)) %% Y
```

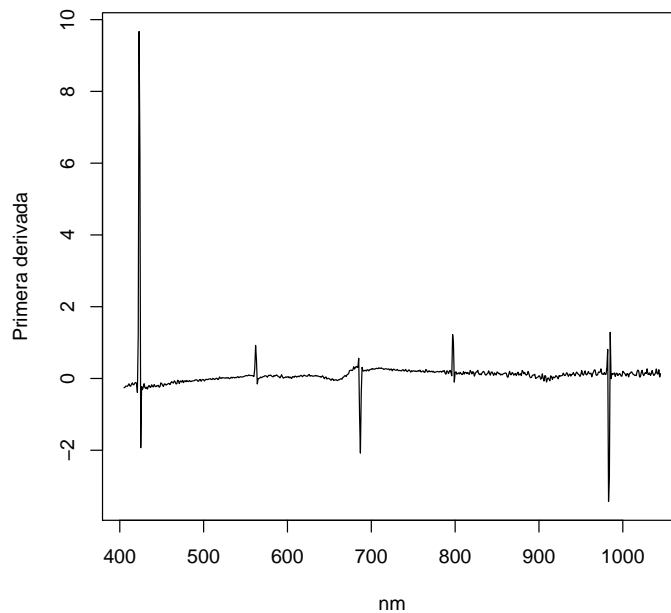


Figura 6.5: Primera derivada del espectro de reflectancia de la muestra foliar de banano No 10, calculada mediante el filtro de Savitsky y Golay.

`%*%` es la multiplicación matricial en R y `pseudoinverse(X)` calcula la pseudo inversa también conocida como inversa de Moore-Penrose de la matriz de datos espectrales, donde `yhat` es la proyección de la respuesta sobre la matriz de datos espectrales `X`, a continuación se realiza esto:

```
AyX <-X-yhat %*% pseudoinverse(yhat) %*%X
```

Deflacta a `X` con respecto a `yhat`, es decir expresa el primero en términos de la magnitud del segundo, y se continua con el calculo de los componentes principales mayores del producto matricial entre `AyX` y su transpuesta, así:

```
eig<-eigen(AyX %*%t(AyX))
```

Donde `eig` contiene los valores y vectores propios del objeto. A continuación se calcula la pseudo inversa de la matriz de espectros de reflectancia `X`.

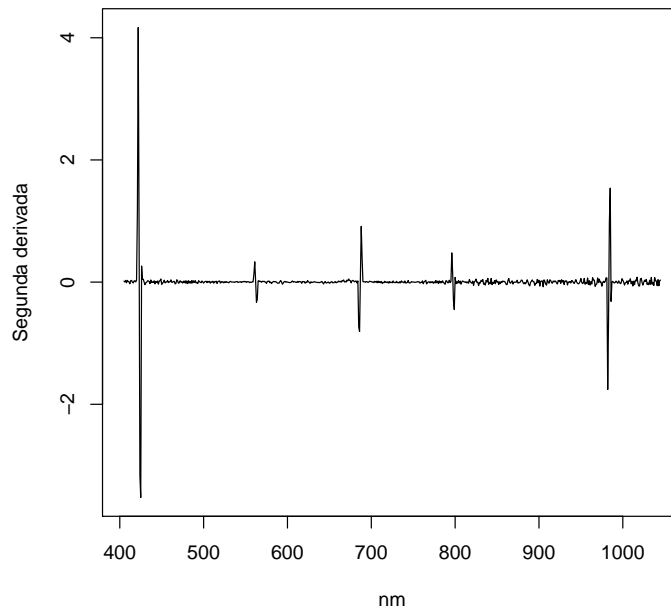


Figura 6.6: Segunda derivada del espectro de reflectancia de la muestra foliar de banana No 10, calculada mediante el filtro de Savitsky y Golay.

```
pinvX=pseudoinverse(X)
```

Con esta última y los vectores propios de `eig` se calcula `W`, que son los pesos utilizados para calcular los componentes DOSC, de la siguiente forma:

```
Ta<-eig$vector  
W<-pinvX%%Ta
```

Se sigue con el cálculo de los componentes DOSC (`T`).

```
T<-X%%W
```

Posteriormente, se calculan los loadings (`P`) para remover los componentes DOSC de `X`, donde los loadings se encuentran como sigue:

```
P<-t(X)%%T%%solve(t(T)%%T)
```

Donde $t(X)$ calcula la traspuesta de X , y la función `solve()`, calcula la inversa de la matriz argumento de la función.

Por último se deflactan los datos espectrales X con respecto a los componentes DOSC, generando un espectro corregido ortogonalmente de manera directa (Ver figura 6.7), así:

```
newX=X-X %* %W %* %t(P)
```

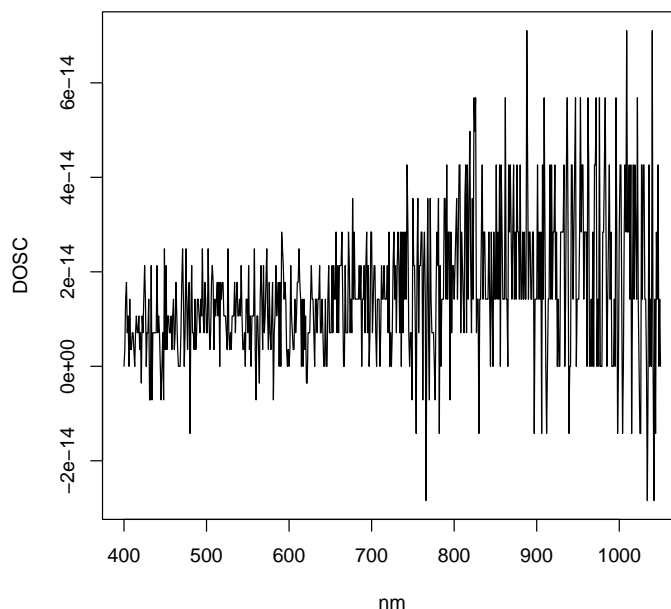


Figura 6.7: Espectro de reflectancia de la muestra foliar de banana No 10, corregido mediante DOSC

De esta misma forma, se corrigen datos espectrales posteriores que se captan y no sean utilizados en la calibración, de tal forma que W y P , son los correspondientes a los datos iniciales y X , correspondería a los datos espectrales nuevos, donde $newX$, sería al final el nuevo espectro corregido con DOSC, en base a los pesos (W) y los loadings (P) de los datos iniciales. Este procedimiento fue hecho en base al código programado para MATLAB propuesto por Westerhuis *et al*(2001), disponible en: http://www.bdagroup.nl/downloads/software/matlab_routinesdosc.zip

6.3.3. Calibración PLS

La calibración o regresión PLS se realizó con la librería PLS, y se hizo de igual forma para los dos experimentos. Esta calibración se hizo para cada uno de los tratamientos del espectro y para cada una de las variables analizadas, es decir para cada variable se evaluó: espectro crudo, transformado MSC, transformado SNV, aplicandole Savitzky y Golay con primera derivada (SG1), Savitzky y Golay con segunda derivada (SG2), transformación Log (1/ Reflectancia) y por último la Transformación de Señal Ortogonal Directa (DOSC). Se utilizó el análisis de validación cruzada del tipo LOO (Leave One Out, o dejando uno por fuera) para analizar la precisión del modelo construido, y se seleccionó el número de variables latentes por medio de la construcción de diferentes modelos, escogiendo el que presentara el menor error cuadrado medio en la predicción RMSEP (Root Mean Square Error of Prediction).

La selección del mejor modelo para cada variable se realizó teniendo en cuenta la construcción de un modelo robusto, el cual debe ser sencillo y con buena habilidad en la predicción, esto se logra mediante un modelo con un número bajo de componentes o variables latentes (LV), un error bajo en la predicción de la validación cruzada, un pequeño error ajustado en la validación cruzada y un coeficiente R^2 lo mas cercano a uno posible.

Se llevó a cabo la selección de las longitudes de onda más significativas para cada modelo, tomando los cuatro coeficientes mayores de cada modelo en valor absoluto, y en base a esto se seleccionaron las longitudes de onda.

A continuación se muestra un ejemplo del guion utilizado en el R para encontrar los modelos.

```
matriz1data.frame(RTA=rta,NIR=I(NIR))
modelo1plsr(RTA~ NIR,data=matriz1,ncomps=10,validation='LOO')
summary(modelo1)
plot(RMSEP(modelo1),legendpos='top')
plot(modelo1, ncomp=1, asp=1, line=TRUE)
as.matrix(RMSEP(modelo1)$val[,,'1 comps'])[1,]
as.matrix(RMSEP(modelo1)$val[,,'1 comps'])[2,]
```

En la primera línea se crea la matriz de datos que contiene la información espectral de cada muestra (NIR) el cual se debe convertir en un objeto del tipo IsAs por medio de la función `I()`, en la segunda línea se hace la regresión

como tal con los parámetros deseados por medio de la función `plsr()` la cual tiene en cuenta la variable respuesta (RTA) y los datos espectrales (NIR), el nombre del archivo donde se encuentran los datos, el número de componentes que se va a tener en cuenta para construir la regresión (`ncomps`) y por último el tipo de validación que se desee utilizar (`validation`) información que lleva a un objeto del tipo `mvr` (`modelo1`) que contiene toda los parámetros del modelo. La tercera línea es, la función que muestra los parámetros principales del modelo, que consiste en el error de la validación cruzada y el error ajustado de la validación cruzada, y el porcentaje de la variabilidad explicada para las variables explicativa y para la respuesta en cada número de variables latentes o componentes. La cuarta línea hace una gráfica en la que se muestra el error cuadrado medio de la predicción contra el número de variables latentes o componentes utilizadas por el modelo, lo cual facilita la elección de este valor y obtener el modelo más adecuado. Después de haber escogido el número de variables latentes óptimo se gráfica con la línea cinco la validación del modelo, que consiste en un gráfico de dispersión de los valores medidos contra los valores predichos, en donde se puede apreciar la calidad del modelo. Las tres últimas líneas arrojan respectivamente los valores del cuadrado medio del error, cuadrado medio del error ajustado y el coeficiente R^2 , que son los parámetros utilizados para la selección de los modelos más adecuados junto con el número de componentes o variables latentes.

Capítulo 7

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Es importante destacar que en la medición de reflectancia de las muestras tanto en las hojas de rábano como en las muestras foliares de banano preparadas se encontraron algunas inconsistencias en las lecturas del espectrómetro(7.1), ya que al realizar repeticiones consecutivas sobre la misma muestra se encontró que alguna de las repeticiones arrojaba un espectro totalmente diferente de las otras, en algunos casos, por lo cual estas mediciones fueron repetidas posteriormente. Estos problemas se atribuyen completamente al equipo de medición, ya que al volver a leer posteriormente estas muestras la lectura volvía a ser la misma de alguno de los espectros hechos en las repeticiones. Posiblemente el equipo presente algún tipo de falla interna o las variaciones en el suministro de energía eléctrica ocasionen esta variación en las lecturas, por lo que es fundamental realizar repeticiones de las lecturas espectrales y realizar un análisis exploratorio de estas lecturas con el fin de realizar las calibraciones solamente con datos que sean consistentes. En algunos de estos casos se puede promediar solamente dos de los espectros que se observen de forma adecuada, eliminando uno de los espectros como si fuera un valor extremo, y en otros casos es necesario repetir las lecturas. Sin embargo se evaluaron calibraciones con y sin los datos espectrales que se evidenciaban distintos, y las técnicas de pretratamiento logran corregir estos espectros en gran medida, ya que los resultados obtenidos variaban muy poco en el error de la predicción y el R^2 , afectando muy poco la calidad del modelo (Datos no mostrados en este documento), sin embargo todas las calibraciones fueron realizadas con el promedio de al menos dos de los espectros leídos que mostraron consistencia, y en algunos casos se repitió la lectura para tener seguridad de los datos espectrales.

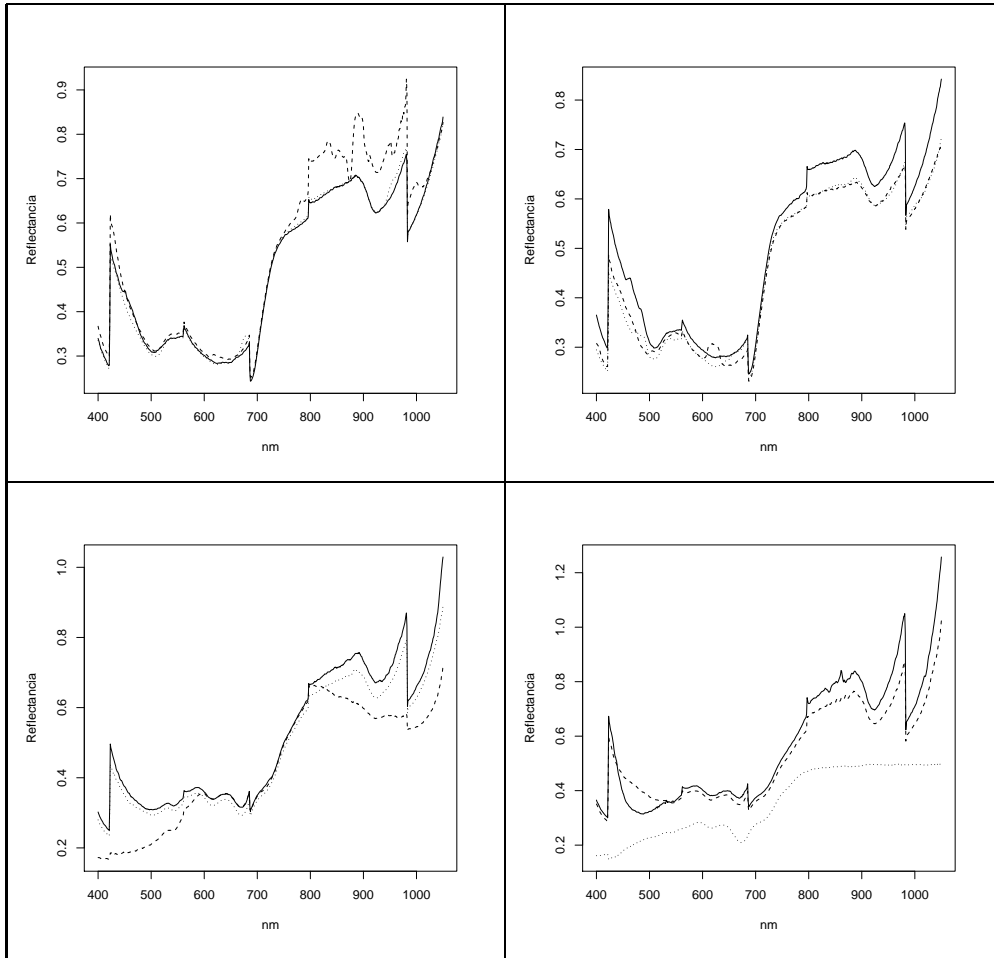


Figura 7.1: Algunas repeticiones de espectros de reflectancia de hojas secas (abajo) y frescas (arriba) de plantas de rábano que presentaron problemas en la lectura.

7.1. Experimento No 1

Se debe mencionar que el testigo absoluto, el cual correspondía a la irrigación únicamente con agua destilada, no se pudo tener en cuenta para los análisis de datos, ya que el área de las hojas de rábano no fue suficiente ni siquiera para ser leídas en la esfera de integración del espectrómetro, que tiene una área de lectura de reflectancia de forma circular de aproximadamente un centímetro de diámetro. Por otro lado para el caso de concentración de nutrientes en el tejido foliar solo se pudieron tener en cuenta los tratamientos fertilizados con el 50 % y 100 % para la calibración PLSR, ya que los otros tratamientos no produjeron la materia seca suficiente para realizar las determinaciones con los métodos utilizados por el laboratorio, razón por la cual se realizó el experimento número dos.

Algunas de las variables tuvieron que ser transformadas matemáticamente antes de hacer la calibración mediante regresión PLS, y como resultado del análisis boxcox a las variables Pfhm, Ahm, Aftot, Pspaerea, Biom y mst, se les aplicó la transformación logaritmo, por otro lado a las variables, Psrab y Pfrab, se les aplicó raíz cúbica, a la variable Pfpaerea se le aplicó raíz cuadrada, a la variable P se le aplicó la transformación inversa elevada a la cuarta potencia ($1/x^4$), a la variable Mg se le aplicó el inverso multiplicativo ($1/x$) y por último la variable K se elevó a la tercera potencia (x^3).

Para la mayoría de los casos se logró una apariencia lineal de los datos, pero en algunos casos se evidencian relaciones no lineales más complejas, que las transformaciones no lograron corregir, adicionalmente para el caso de las variables de concentración de nutrientes, por el número de unidades experimentales medidas tan bajo, los análisis no son muy fuertes estadísticamente, en este experimento, sin embargo se desarrollaron las calibraciones para todas las variables.

Para el grupo de variables fisiológicas y de producción en el análisis de componentes principales se encontró que con la primera componente se explica la mayor parte de la variabilidad de los datos y se evidencia que hay un grupo de variables altamente relacionadas conformado por las variables Peso Fresco de la hoja medida (Pfhm), Peso fresco del rábano (Pfrab), Peso seco del rábano (Psrab), Área de la hoja medida (Ahm), Área foliar (Aftot), Peso fresco de la parte aérea (Pfpaerea), Peso seco de la parte aérea (Pspaerea), Biomasa total (Biom) y Materia seca total (mst) las cuales se agrupan en el biplot construido para la coordenadas de cada variable en el plano construido por la primera y segunda componente (Ver Figura 7.2), la agrupación se ev-

idencia en los vectores que se construyen en este análisis para cada variable, los cuales son mas similares en la medida en que el ángulo formado entre ellos sea mas pequeño, de igual forma se muestra un grupo formado por el porcentaje de humedad del rábano (%hrab) y el de la parte aérea (%hpa), finalmente se muestran dos variables que se muestran aisladas de las demás que son el peso seco de la hoja medida espectralmente (Pshm) y el contenido de humedad de esta misma hoja (%hhm), pero a su vez los vectores que las representan forman un ángulo casi recto, es decir estas dos variables son casi independientes (ortogonales), lo que indica que el peso seco de una hoja no esta relacionado con el contenido de humedad que pueda tener esta cuando se somete a tasas diferenciales de ferti irrigación.

La primera agrupación es explicada seguramente porque algunas de las variables son la agrupación de las otras en combinación lineal como es el caso de la materia seca y la biomasa total que agrupa todos los pesos secos y frescos respectivamente, en cuanto al área foliar se obtienen resultados similares a los mencionados por Zhao *et al*(2005)(100) que al trabajar con sorgo encontró que el área de la hoja esta relacionada directamente con la producción de materia seca de la planta, así como la producción de grano, de tal forma que la deficiencia en N, disminuye la concentración de clorofila, el área foliar y por consiguiente la acumulación de materia seca, que son los mismos resultados que se encontraron para este caso en plantas de rábano, teniendo en cuenta que el órgano aprovechado de la planta es diferente.

El segundo grupo de variables tiene gran sentido ya que entre la parte aérea de la planta y su parte subterránea debe haber un equilibrio de fluidos por lo cual es normal que los porcentajes de humedad se comporten de una manera similar.

En cuanto a las variables de Pshm y %hhm, presentan ortogonalidad posiblemente al método de calculo de la humedad, que se hizo en base al peso fresco, y por lo tanto este no lo afecta de manera significativa, adicionalmente se puede inferir que el porcentaje de humedad esta gobernado por factores distintos a la materia seca, que tenga la hoja, que pueden ser muy diferentes a las variables medidas en este experimento.

La descripción de la variabilidad por las dos primeras componentes se evidencia en esta gráfica(Figura 7.2), al ver la ubicación de cada individuo en el plano formado por las dos componentes, ya que los diferentes tratamientos se diferencian cada uno de los demás formando grupos constituidos por los individuos de cada tratamiento, siendo mucho mas evidente la separación

o diferenciación lograda por la primera componente (explica la mayor variabilidad), que se nota al proyectar cada punto en el eje horizontal (eje de la primera componente), conservando de esta forma la agrupación sobre este eje de forma clara para todos los individuos.

En cuanto a las variables bioquímicas o a la concentración de nutrientes a nivel foliar en las plantas de rábano en análisis de componentes principales (Ver figura 7.3) se tiene que las dos primeras componentes explican mas del 60 % de la variabilidad de los datos, y se observa una relación cercana entre el Ca y el Mn, los demás elementos están igualmente distribuidos en el plano, a excepción del P con Mg, que presentan una conformación de los vectores cercana a la ortogonalidad.

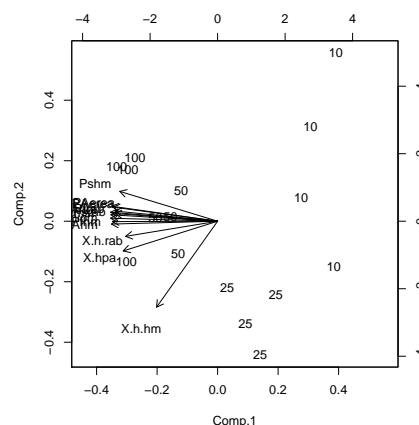


Figura 7.2: Biplot de primera y segunda componente para el grupo de variables fisiológicas y de productividad de plantas de rábano sometidas a 4 concentraciones de solución fertilizante.

Al graficar el espectro promedio de reflectancia de hojas frescas (Figura 7.4) y secas (Figura 7.5) de cada tratamiento de fertilización, es importante resaltar el comportamiento de estos en cada caso. En los espectros de hojas frescas la reflectancia promedio es consistentemente mas alta en todas las longitudes de onda y disminuye respectivamente a la concentración de la solución fertilizante, lo que nos lleva a decir que la reflectancia en hojas frescas de rábano cambia de forma directamente proporcional a la concentración de nutrientes en la solución, en las condiciones de esta investigación. Por el contrario después de secar las hojas, leerlas nuevamente en el espectrómetro y graficar los espectros promedio de reflectancia para cada tratamiento de

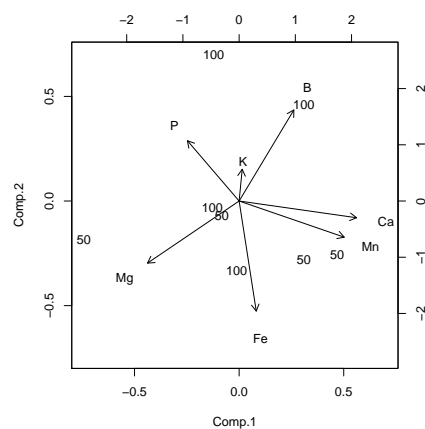


Figura 7.3: Biplot de primera y segunda componente para la concentración foliar de algunos nutrientes en plantas de rábano fertilizadas con solución Hoagland modificada al 100 % y 50 %.

fertilización observamos que la magnitud de los espectros promedio es consistente a lo largo de las longitudes de onda y ordenados de la misma manera que la concentración de las soluciones fertilizantes, pero en este caso a diferencia que en las hojas frescas, la mayor reflectancia la presentan las hojas secas de plantas de rábano sometidas a las menores concentraciones de fertilizantes, mientras que las hojas de plantas más fertilizadas presentaron las menores reflectancias, es decir en el caso de hojas secas la reflectancia espectral se relaciona de forma inversa con el nivel de concentración de la solución fertilizante.

A continuación se presentan los resultados obtenidos para cada una de las variables en el caso del espectro de hojas frescas y hojas secas, después de construir los modelos de calibración mediante PLSR y diferentes pretratamientos espectrales. En los cuadros 7.2, 7.3 y 7.1 se presentan las principales características de los modelos construidos.

Para la mayoría de los casos los mejores modelos de predicción se construyeron a partir de los datos espectrales procesados con la transformación directa ortogonal de la señal (DOSCO), a excepción, de los modelos para predecir los porcentajes de humedad de la hoja medida espectralmente, porcentaje de humedad del rábano y la concentración foliar de boro, en el caso de la reflectancia tomada en hojas frescas, y para la variable porcentaje de humedad de la hoja medida, únicamente, para la reflectancia tomada a partir de hojas secas. Para estas excepciones tenemos que: para las variables porcentaje

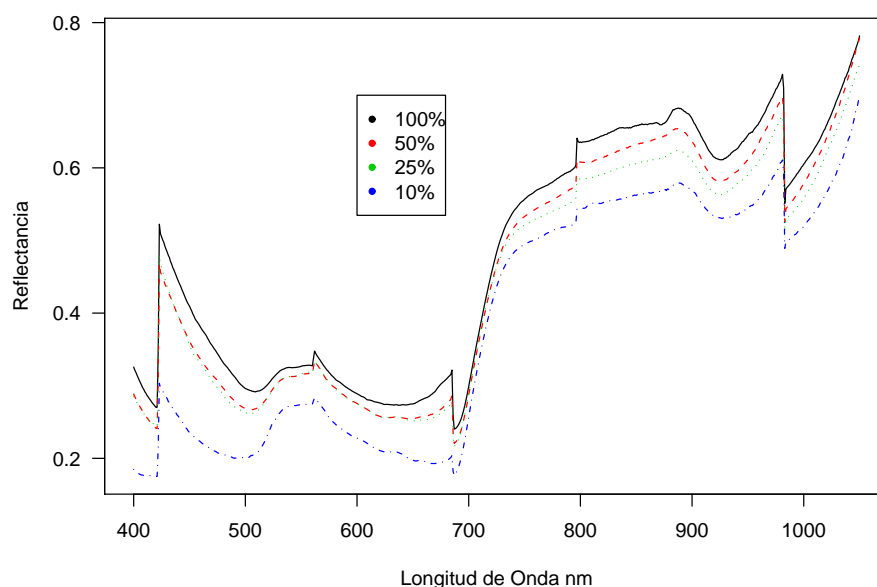


Figura 7.4: Espectros de reflectancia crudos promedio de hojas frescas de rábano sometidas a diferentes concentraciones de solución de ferti irrigación

de humedad de la hoja medida y concentración de boro foliar, estimadas a partir de la reflectancia de hojas frescas, el mejor modelo se obtiene al tratar los datos con la transformación de Savitzky y Golay con la primera derivada de los datos, ya que arroja el menor error en la predicción, con el menor número de componentes o LV y un mayor ajuste. Para el caso del porcentaje de humedad rábano y de la parte aérea de la planta, el mejor modelo se construye transformando los datos de reflectancia de hojas frescas, con el tratamiento MSC, teniendo los mismos criterios para la selección del mejor modelo de predicción. En el caso de la reflectancia tomada de las hojas secas la excepción se presenta únicamente en la predicción del porcentaje de humedad de la hoja, que arrojó la mejor predicción a partir de los datos espectrales de reflectancia sin transformar.

Como se puede ver en las tablas 7.2 y 7.3, se destaca que la mayoría de los modelos presentan un número de LV o componentes de 2 o 3, y algunos casos 1 o 4, lo que se traduce en modelos sencillos para la predicción, lo que es muy deseable en estos casos. Se debe resaltar también el ajuste de los modelos de predicción, sobre todo los modelos construidos a partir de la

Cuadro 7.1: Características de modelos construidos mediante PLSR y diferentes pretratamientos espectrales, para determinar la concentración foliar de algunos nutrientes en plantas de rábano ferti irrigadas con 4 niveles de solución Hoagland modificada.

Variable	Pretratamiento	Hoja Fresca				Hoja Seca			
		N Comps	Error CV	Error CV Adj	R^2	N Comps	Error CV	Error CV Adj	R^2
P	Crudo	1	19,6578	19,4830	0,2162	4	18,9984	18,6541	0,8352
	MSC	1	24,4731	23,9165	0,3052	4	18,1501	17,5610	0,8982
	SNV	1	30,1113	29,2713	0,0996	1	23,2791	22,8648	0,3803
	SG1	1	33,3541	32,3957	0,3353	1	31,9472	31,0381	0,3065
	SG2	5	26,4268	24,7325	0,9966	1	29,9544	28,9007	0,4524
	LOG 1/R	1	19,8971	19,7205	0,2096	4	18,4726	17,8389	0,8996
	DOSC	2	6,6127	6,2039	0,9968	2	8,3142	7,8434	0,9884
Ca	Crudo	1	0,4676	0,4562	0,1056	1	0,3921	0,3866	0,2998
	MSC	1	0,5138	0,5043	0,1362	1	0,3937	0,3880	0,3297
	SNV	1	0,4579	0,4486	0,1814	1	0,4418	0,4320	0,3267
	SG1	1	0,4384	0,4221	0,7226	1	0,4715	0,4527	0,7059
	SG2	1	0,4297	0,4149	0,6691	1	0,3713	0,3597	0,7065
	LOG 1/R	1	0,4534	0,4486	0,0681	1	0,3892	0,3835	0,3381
	DOSC	3	0,2613	0,2445	0,9992	2	0,2168	0,2070	0,9598
Mg	Crudo	1	0,2068	0,2039	0,2601	1	0,2556	0,2498	0,2872
	MSC	1	0,1608	0,1594	0,5222	1	0,2606	0,2527	0,5151
	SNV	2	0,2081	0,2033	0,5317	1	0,2000	0,1969	0,5252
	SG1	1	0,2440	0,2353	0,6737	1	0,2141	0,2079	0,6618
	SG2	1	0,2375	0,2283	0,7035	1	0,2269	0,2180	0,6519
	LOG 1/R	1	0,2022	0,1997	0,2732	2	0,2620	0,2554	0,4951
	DOSC	1	0,1086	0,1037	0,9496	2	0,1236	0,1180	0,9556
K	Crudo	3	19,5072	18,9217	0,8816	1	27,0226	26,8928	0,1436
	MSC	3	24,2644	23,1296	0,9017	2	23,8267	23,7197	0,4995
	SNV	3	14,9018	14,6019	0,8992	2	27,0815	26,9753	0,4949
	SG1	5	15,7785	14,7742	0,9990	5	20,0092	18,7918	0,9936
	SG2	1	28,3975	27,3799	0,6795	1	28,1333	27,1829	0,6264
	LOG 1/R	3	22,1675	21,6646	0,8385	1	27,5543	27,3084	0,1506
	DOSC	3	14,2429	13,3239	0,9998	2	18,1973	17,0335	0,9935
Fe	Crudo	1	10,9248	10,7114	0,6926	2	15,1720	14,8799	0,4740
	MSC	1	10,8138	10,5906	0,7024	2	14,4682	14,2539	0,4516
	SNV	2	12,9088	12,5667	0,7051	1	15,7085	15,3727	0,4104
	SG1	6	7,4231	6,9715	0,9979	6	9,8393	9,2122	0,9992
	SG2	1	15,7998	15,3297	0,6290	1	14,4478	14,1689	0,5920
	LOG 1/R	1	11,2602	11,0757	0,6320	1	15,6511	15,5684	0,1778
	DOSC	3	8,0369	7,5464	0,9963	2	13,1352	12,2848	0,9926
Mn	Crudo	1	28,3678	27,7643	0,0081	1	21,9429	21,7262	0,0910
	MSC	1	35,2399	34,0069	0,1115	1	23,0325	22,7739	0,1347
	SNV	1	26,1488	25,6676	0,0161	1	27,4647	26,8610	0,1269
	SG1	6	16,5422	15,4742	1,0000	6	27,0478	25,3466	0,9937
	SG2	1	28,9150	28,1588	0,3850	1	25,9502	25,2128	0,4976
	LOG 1/R	1	32,8563	32,0108	0,0117	1	21,9766	21,7539	0,1046
	DOSC	2	13,0834	12,4611	0,9623	2	10,7292	10,3889	0,9363
B	Crudo	1	3,7572	3,7171	0,3471	2	4,0591	3,9240	0,7024
	MSC	1	4,3899	4,3441	0,2406	1	4,4846	4,4048	0,3550
	SNV	1	4,6960	4,6319	0,1262	1	3,0713	3,0031	0,6958
	SG1	3	2,2595	2,1250	0,9911	4	1,9366	1,8209	0,9969
	SG2	1	3,4080	3,2557	0,8257	6	3,4620	3,2388	0,9998
	LOG 1/R	1	3,7481	3,7069	0,3548	2	3,8160	3,7146	0,6835
	DOSC	2	3,7717	3,5199	0,9926	2	3,5876	3,3599	0,9923

Cuadro 7.2: Características de modelos construidos mediante PLSR y diferentes pretratamientos espectrales, para las variables morfo fisiológicas y productivas de plantas de rabano ferti irrigadas con 4 niveles de solución Hoagland modificada.

Variable	Pretratamiento	Hoja Fresca				Hoja Seca			
		N Comps	Error CV	Error CV Adj	R^2	N Comps	Error CV	Error CV Adj	R^2
Pfhm	Crudo	4	0,3056	0,3071	0,8901	2	0,4932	0,4917	0,5630
	MSC	4	0,2773	0,2724	0,9515	1	0,4828	0,4813	0,4845
	SNV	5	0,2940	0,2876	0,9683	2	0,4910	0,4897	0,5485
	SG1	3	0,3134	0,3052	0,9858	10	0,3171	0,3072	0,9996
	SG2	12	0,4741	0,4590	0,9999	12	0,4952	0,4795	0,9999
	LOG 1/R	4	0,2650	0,2640	0,9132	2	0,4537	0,4524	0,5970
	DOSC	2	0,1253	0,1222	0,9919	2	0,1683	0,1633	0,9925
PSHM	Crudo	5	0,0130	0,0128	0,9320	2	0,0181	0,0180	0,6136
	MSC	4	0,0143	0,0140	0,8979	1	0,0173	0,0173	0,4789
	SNV	3	0,0147	0,0146	0,7349	1	0,0161	0,0160	0,5991
	SG1	3	0,0126	0,0123	0,9801	9	0,0136	0,0132	0,9990
	SG2	7	0,0223	0,0216	0,9882	8	0,0205	0,0199	0,9937
	LOG 1/R	4	0,0120	0,0120	0,8695	2	0,0151	0,0150	0,6913
	DOSC	2	0,0034	0,0034	0,9974	2	0,0076	0,0074	0,9684
X.h.hm	Crudo	2	1,3239	1,3129	0,6674	4	1,4684	1,4403	0,8653
	MSC	1	1,5975	1,5882	0,4029	12	1,5138	1,4658	0,9999
	SNV	1	1,3173	1,3107	0,5531	1	1,6356	1,6308	0,2164
	SG1	1	1,3614	1,3223	0,9084	13	1,3387	1,2962	1,0000
	SG2	6	1,3682	1,3315	0,9824	11	1,2827	1,2422	0,9996
	LOG 1/R	2	1,3459	1,3330	0,6830	7	1,3762	1,3381	0,9788
	DOSC	3	1,3730	1,3407	0,9573	2	1,6197	1,6200	0,5177
Psrab	Crudo	2	0,1957	0,1951	0,5108	6	0,1216	0,1187	0,9773
	MSC	1	0,1881	0,1877	0,4908	5	0,1272	0,1247	0,9658
	SNV	3	0,1876	0,1880	0,6402	6	0,1421	0,1390	0,9731
	SG1	4	0,1594	0,1548	0,9899	4	0,1927	0,1876	0,9679
	SG2	5	0,2731	0,2649	0,9750	8	0,2349	0,2279	0,9918
	LOG 1/R	2	0,1936	0,1930	0,5397	6	0,1304	0,1270	0,9818
	DOSC	3	0,0418	0,0407	0,9983	2	0,0661	0,0652	0,9738
Pfrab	Crudo	2	0,5755	0,5736	0,5386	6	0,3917	0,3824	0,9719
	MSC	1	0,5376	0,5365	0,5365	5	0,3613	0,3553	0,9634
	SNV	2	0,5663	0,5642	0,5801	6	0,4136	0,4054	0,9687
	SG1	5	0,4658	0,4524	0,9926	11	0,5358	0,5192	0,9991
	SG2	5	0,8986	0,8718	0,9714	7	0,7387	0,7173	0,9852
	LOG 1/R	2	0,5686	0,5668	0,5651	6	0,3956	0,3857	0,9782
	DOSC	3	0,1265	0,1229	0,9985	3	0,1894	0,1850	0,9887
X.h.rab	Crudo	2	2,0417	2,0312	0,7195	1	2,6899	2,6787	0,3959
	MSC	1	1,7159	1,7096	0,7610	12	1,4900	1,4428	1,0000
	SNV	2	1,8889	1,8774	0,7707	12	1,8166	1,7589	1,0000
	SG1	12	1,1029	1,0685	0,9998	12	1,4236	1,3784	1,0000
	SG2	5	4,1959	4,0808	0,9491	7	3,2568	3,1596	0,9859
	LOG 1/R	2	1,8598	1,8545	0,7615	10	1,8162	1,7598	0,9991
	DOSC	3	2,1550	2,1026	0,9623	4	2,2628	2,1962	0,9910
Ahm	Crudo	4	0,3005	0,3035	0,8814	2	0,4932	0,4919	0,5618
	MSC	4	0,2643	0,2598	0,9535	7	0,4089	0,3981	0,9802
	SNV	5	0,2817	0,2754	0,9732	2	0,4745	0,4739	0,5689
	SG1	6	0,2655	0,2577	0,9977	12	0,2683	0,2598	0,9999
	SG2	12	0,5185	0,5020	1,0000	12	0,4627	0,4481	1,0000
	LOG 1/R	4	0,2760	0,2746	0,9000	2	0,4380	0,4367	0,6074
	DOSC	3	0,1780	0,1731	0,9964	2	0,2980	0,2873	0,9852

Cuadro 7.3: Continuación de características de modelos construidos mediante PLSR y diferentes pretratamientos espectrales, para las variables morfo fisiologicas y productivas de plantas de rábano ferti irrigadas con 4 niveles de solución Hoagland modificada.

Variable	Pretratamiento	Hoja Fresca				Hoja Seca			
		N Comps	Error CV	Error CV Adj	R ²	N Comps	Error CV	Error CV Adj	R ²
Aftot	Crudo	2	0,5452	0,5434	0,6993	2	0,6637	0,6612	0,5827
	MSC	2	0,4886	0,4869	0,7690	8	0,5639	0,5481	0,9880
	SNV	3	0,4936	0,4921	0,7876	2	0,6508	0,6501	0,5684
	SG1	12	0,2250	0,2179	0,9999	13	0,3451	0,3342	1,0000
	SG2	14	0,9072	0,8784	1,0000	9	0,7816	0,7567	0,9991
	LOG 1/R	4	0,5281	0,5248	0,8421	2	0,6038	0,6017	0,6164
	DOSC	2	0,2699	0,2633	0,9878	4	0,2813	0,2733	0,9972
PfpAerea	Crudo	5	0,5532	0,5439	0,9116	2	0,7060	0,7021	0,5561
	MSC	2	0,5147	0,5128	0,7465	1	0,7041	0,7021	0,4119
	SNV	3	0,5115	0,5096	0,7686	1	0,6917	0,6880	0,4819
	SG1	12	0,2060	0,1995	0,9999	13	0,3182	0,3081	1,0000
	SG2	13	0,6945	0,6724	1,0000	13	0,6491	0,6285	1,0000
	LOG 1/R	4	0,5222	0,5192	0,8408	2	0,6535	0,6509	0,5770
	DOSC	2	0,1474	0,1443	0,9936	3	0,3188	0,3098	0,9906
PSPAerea	Crudo	3	0,5175	0,5121	0,7648	2	0,6217	0,6187	0,5540
	MSC	3	0,5533	0,5448	0,8389	6	0,5695	0,5548	0,9611
	SNV	3	0,4532	0,4516	0,7742	1	0,6071	0,6036	0,5021
	SG1	12	0,1992	0,1929	1,0000	13	0,3546	0,3434	1,0000
	SG2	13	0,7249	0,7019	1,0000	13	0,6423	0,6219	1,0000
	LOG 1/R	4	0,4869	0,4839	0,8285	2	0,5716	0,5693	0,5870
	DOSC	2	0,1100	0,1086	0,9920	2	0,2386	0,2351	0,9686
X.hpa	Crudo	1	1,0337	1,0297	0,5908	3	1,4674	1,4493	0,6526
	MSC	2	0,9278	0,9237	0,7353	1	1,3413	1,3364	0,2974
	SNV	3	0,9767	0,9711	0,7503	1	1,4088	1,3997	0,3136
	SG1	1	1,0827	1,0524	0,9068	1	1,2299	1,2318	0,5196
	SG2	7	1,4244	1,3820	0,9902	1	1,5347	1,5240	0,5198
	LOG 1/R	5	0,8060	0,7967	0,9123	1	1,3668	1,3605	0,2908
	DOSC	2	1,1761	1,1684	0,7829	3	1,2754	1,2499	0,8991
biom	Crudo	2	0,7533	0,7507	0,6674	11	0,6834	0,6617	0,9999
	MSC	1	0,6980	0,6964	0,6712	10	0,5954	0,5769	0,9993
	SNV	2	0,7158	0,7132	0,7126	12	0,7103	0,6877	1,0000
	SG1	5	0,5824	0,5663	0,9941	11	0,7114	0,6893	0,9993
	SG2	7	1,2573	1,2173	0,9940	9	1,0161	0,9838	0,9987
	LOG 1/R	2	0,7198	0,7178	0,7008	9	0,7395	0,7171	0,9968
	DOSC	2	0,1680	0,1650	0,9931	2	0,3769	0,3687	0,9742
mst	Crudo	2	0,6372	0,6354	0,6208	12	0,5293	0,5125	1,0000
	MSC	2	0,5891	0,5879	0,7065	7	0,4769	0,4642	0,9901
	SNV	3	0,5789	0,5792	0,7325	12	0,5478	0,5304	1,0000
	SG1	5	0,4354	0,4230	0,9955	10	0,5493	0,5322	0,9992
	SG2	7	0,9816	0,9508	0,9921	9	0,8212	0,7951	0,9987
	LOG 1/R	2	0,6191	0,6173	0,6550	9	0,5846	0,5672	0,9964
	DOSC	2	0,1877	0,1836	0,9897	2	0,3034	0,3021	0,9618

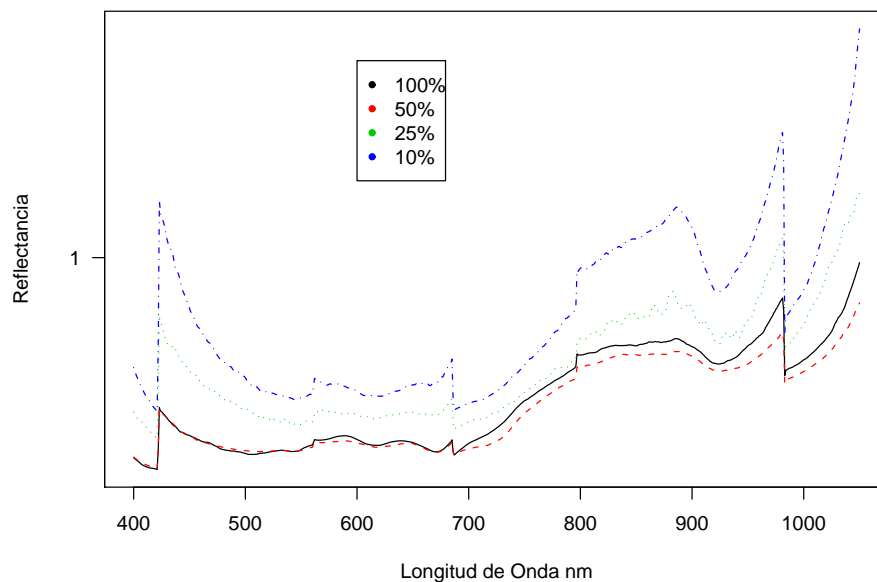


Figura 7.5: Espectros de reflectancia crudos promedio de hojas secas de rábano sometidas a diferentes concentraciones de solución de ferti irrigación.

reflectancia transformada como DOSC, que en su mayoría arrojan ajustes mayores al 95 % y algunos pocos entre el 90 y 95 %, igual que los modelos construidos con otras transformaciones, a excepción del modelo para predecir el contenido de humedad de la hoja a partir de reflectancia de hojas secas, que arroja un ajuste del 86 % y el del modelo para la predicción del contenido de humedad del rábano a partir de la reflectancia transformada MSC de hojas frescas que presenta el menor ajuste de los modelos seleccionados con un 76 %, sin embargo estos ajustes siguen siendo muy buenos.

En cuanto a los errores de predicción calculados mediante validación cruzada de los modelos es muy importante tener en cuenta con que fin se van a utilizar las variables medidas, sin embargo en la mayoría de los casos los errores en la predicción son suficientes para ser utilizados en la producción agrícola.

Para la variable Peso fresco de la hoja medida espectralmente encontramos que cuando se estima a partir de la reflectancia de la hoja fresca (Figura 7.6 izquierda) el error en la predicción es de 0.12 y cuando se estima

con la reflectancia de hojas secas(Figura 7.6 derecha) es de 0.16, siendo las longitudes de onda mas importantes en los modelos 437, 884, 866 y 1043nm y 812, 1010, 821 y 1027nm, respectivamente. El orden de las longitudes de onda esta dado según la importancia en el modelo de predicción de menor a mayor y así enunciaran de acá en adelante, para todos los modelos seleccionados.

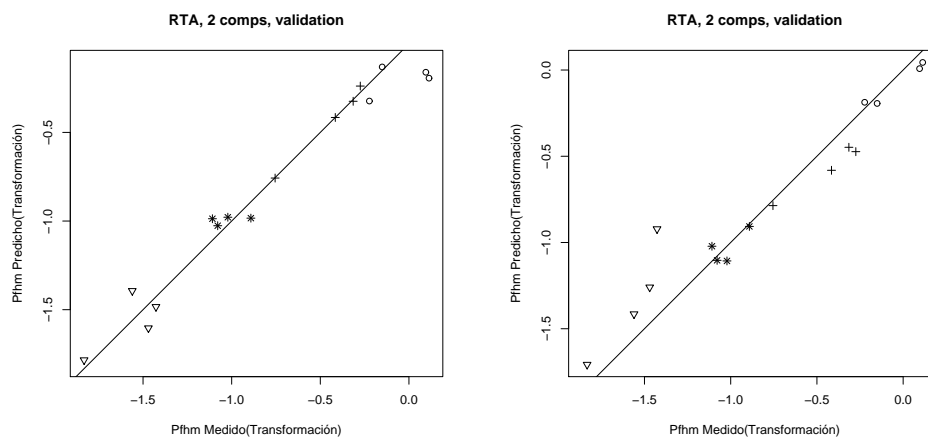


Figura 7.6: Validación cruzada del modelo de predicción para la variable Pfhm de reflectancia de hojas frescas (izquierda)y secas(derecha) transformadas como DOSC.

Para la variable Peso seco de la hoja medida espectralmente las longitudes de onda mas significativas son 1033, 1044, 855 y 1050nm en el modelo que estima a partir de la reflectancia de hojas frescas(Figura 7.7 izquierda), y 836, 958, 426 y 1043nm, en el que utiliza la reflectancia de la hoja seca(Figura 7.7 derecha), produciendo respectivamente unos errores en la predicción de 0.0034 y 0.0076 gr.

En los modelos construidos para el Porcentaje de humedad de la hoja medida espectralmente con hojas frescas (Figura 7.8 izquierda) se obtiene un error en la predicción de 1.36 %, siendo las longitudes de onda mas significativas en esta estimación 645, 685, 929 y 807 nm, y cuando se hace con la reflectancia de hojas secas (Figura 7.8 derecha) se obtiene un 1.46 % de error en el contenido de humedad, encontrando la región de 939 a 942nm como la mas significativa para este modelo.

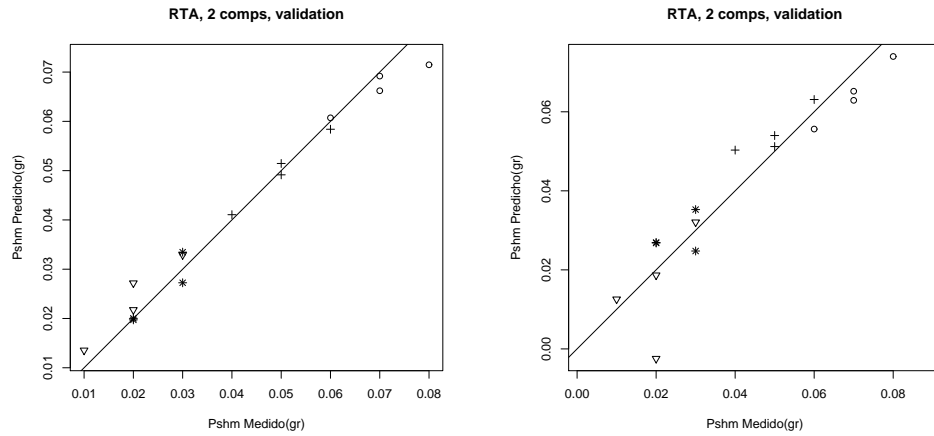


Figura 7.7: Modelos de predicción para Pshm mediante datos espectrales de hojas frescas (izquierda) y hojas secas (derecha) pre tratadas con DOSC en ambos casos.

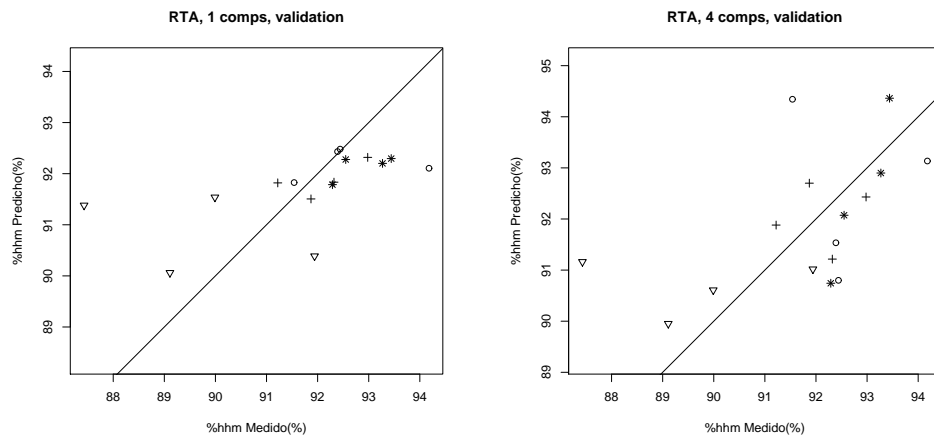


Figura 7.8: Validación cruzada para los modelos de predicción del porcentaje de humedad de la hoja medida espectralmente desde datos de reflectancia de hojas frescas (izquierda) transformados SG 1 y de hojas secas (derecha) sin transformar.

En cuanto al peso fresco del rábano las longitudes de onda mas importantes en el modelo de predicción en base a la reflectancia de hojas frescas(Figura 7.9 izquierda) son 1036, 782, 885 y 804nm, produciendo un error en la predicción de 0.12, mientras que cuando se construye el modelo a partir de la reflectancia de hojas secas(Figura 7.9 derecha), las longitudes de onda decisivas son 977, 1046, 1021 y 1047nm, arrojando un error en la predicción de 0.18, es de anotar la importancia de esta variable ya que es un estimador de la productividad del cultivo.

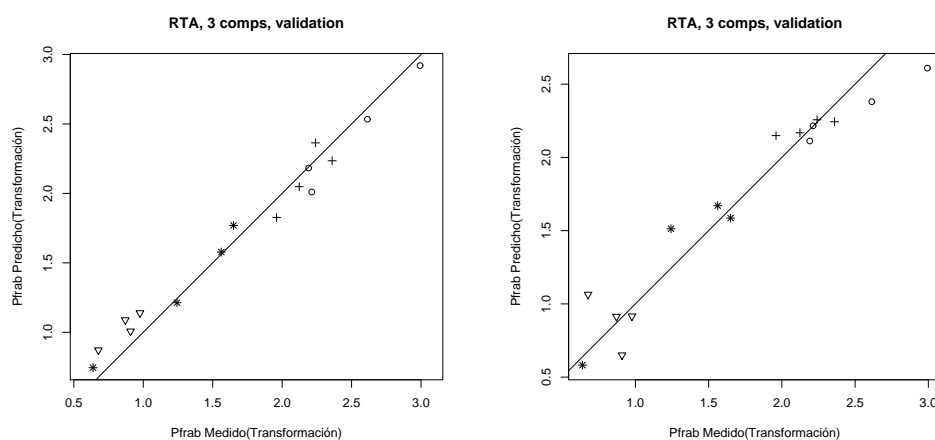


Figura 7.9: Validación de modelos de predicción para el peso fresco del rábano con datos de reflectancia de hojas frescas (izquierda) y secas (derecha), pretratados con DOSC en ambos casos

Para estimar el peso seco de los rábanos producidos, se encontraron modelos que arrojaron errores en la predicción de 0.04 y 0.065, respectivamente para reflectancia de hojas frescas(Figura 7.10 izquierda) y secas(Figura 7.10 derecha), y cuyas longitudes de onda de mayor importancia para cada modelo, en el mismo orden, son 939, 884, 781 y 922nm y 970, 963, 976 y 1044nm.

Para predecir el contenido o porcentaje de humedad del rábano en base a la reflectancia espectral, se encontró que la región de 423 a 426nm es la mas útil cuando se trata de reflectancia de hojas frescas(Figura 7.11 izquierda), produciendo un error de 1.7% , mientras que cuando se trata de reflectancia de hojas secas(Figura 7.11 derecha) el error en la predicción es de 2.2% , siendo las longitudes de onda mas importantes 1049, 867, 1050 y 1046nm.

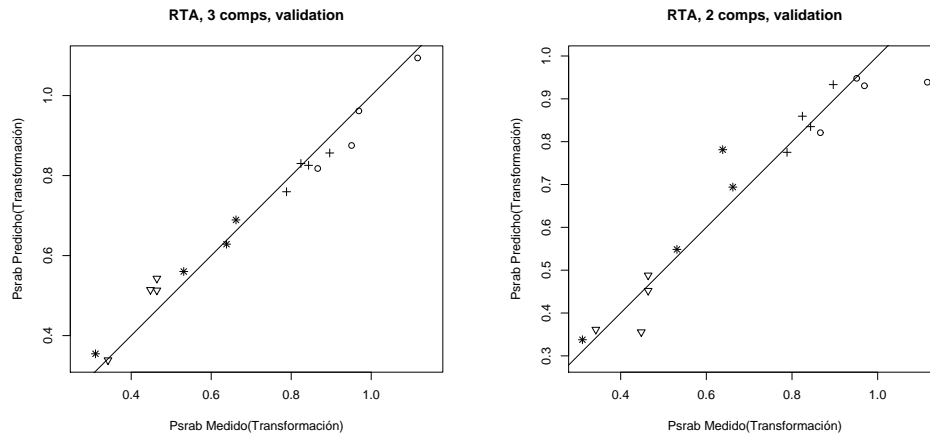


Figura 7.10: Validación de modelos para estimar espectralmente el peso seco de rábanos mediante la reflectancia de una hoja fresca (izquierda) o seca (derecha), pre tratando los datos espectrales con DOSC.

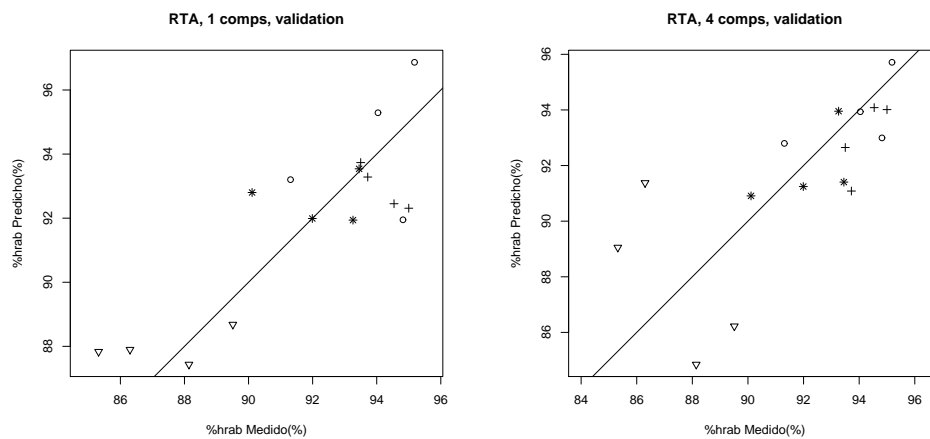


Figura 7.11: Validación de dos modelos para la predicción del contenido de humedad en rábanos mediante reflectancia de hojas frescas (izquierda) y secas (derecha), con datos espectrales transformados respectivamente MSC y DOSC.

Para el cálculo del área de la hoja en la cual se midió la reflectancia (Ahm) las longitudes de onda mas determinantes fueron 759, 1007, 1039 y 868nm cuando esta se midió en base a hojas frescas (Figura 7.12 izquierda) y 968, 825, 895 y 956nm, cuando se midió sobre hojas secas (Figura 7.12 derecha), produciendo respectivamente errores en la predicción de 0.17 y 0.29.

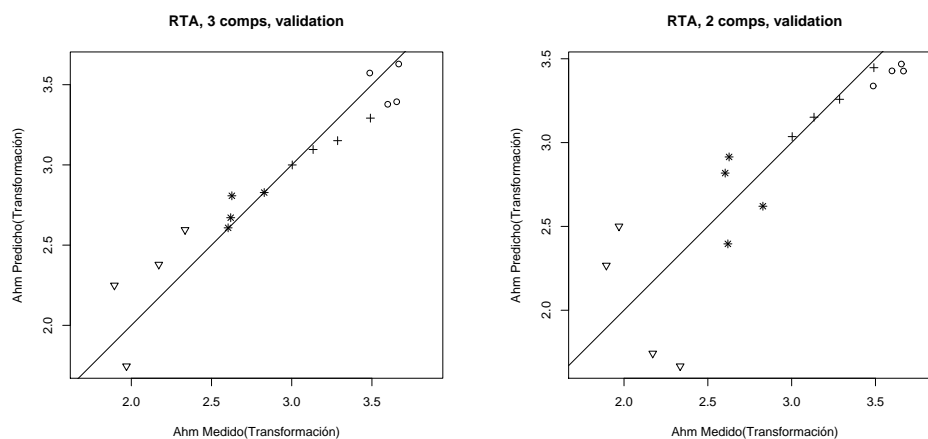


Figura 7.12: Validación cruzada de modelos para estimar el área de una hoja mediante su reflectancia en fresco (izquierda) o después de seca (derecha), después de transformar los datos espectrales con DOSC.

Para el área foliar de la planta se encontró que cuando se mide reflectancia de hojas verdes (Figura 7.13 izquierda) las longitudes de onda 1036, 874, 950 y 952nm, son las mas influyentes sobre el modelo de predicción, arrojando un error de 0.26, mientras que con la reflectancia de hojas secas (Figura 7.13 derecha) las longitudes de onda mas importantes son 900, 1001, 968 y 1050nm, que permiten construir un modelo que arroja un error en la predicción de 0.28.

En la variable peso fresco de la parte aérea se tiene que las longitudes de onda mas importantes en la reflectancia de hojas frescas (Figura 7.14 izquierda) son 778, 951, 965 y 1042nm, que permiten desarrollar un modelo que predice con un error de 0.14, mientras que el modelo construido con la reflectancia de hojas secas (Figura 7.14 derecha) señala 1039, 1032, 951 y 1033 nm, como las longitudes de onda mas importantes permitiendo predecir con un error de 0.31.

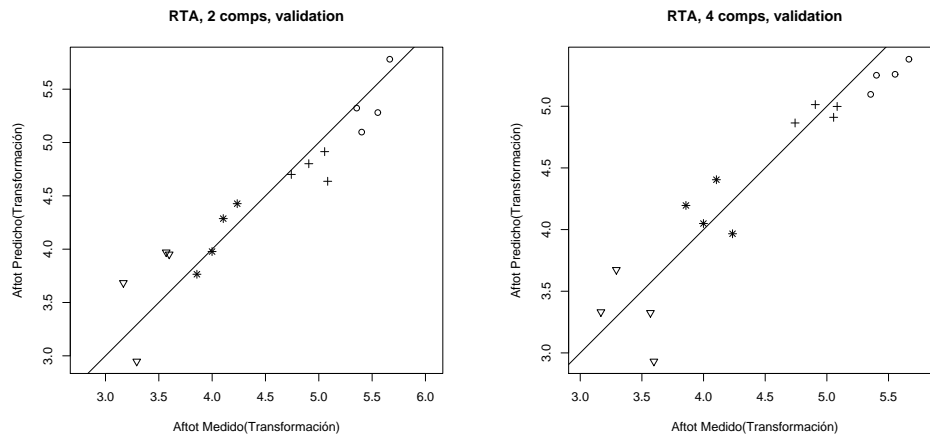


Figura 7.13: Modelos validados para predecir el área foliar de plantas de rábano en base a la reflectancia de la hojas mas joven totalmente desarrollada en fresco (izquierda) o seca (derecha) pre tratando los datos espectrales con DOSC.

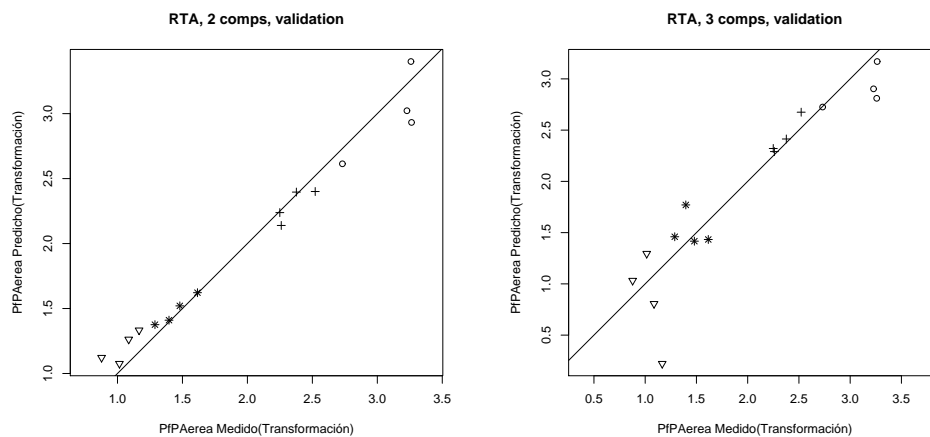


Figura 7.14: Validación cruzada para dos modelos de predicción de la variable peso fresco de la parte aérea, mediante la reflectancia de una hoja fresca(izquierda) y seca (derecha) pre tratadas con DOSC.

Al desarrollar modelos de predicción para el peso seco de la parte aérea se logran errores de 0.1 y 0.23, cuando se hace la regresión PLS a partir de la reflectancia de hojas frescas (Figura 7.15 izquierda) y secas (Figura 7.15 derecha) respectivamente, señalando las longitudes de onda de 800, 866, 986 y 977nm para el caso de hojas frescas y 809, 980, 1046 y 1048nm, para las hojas secas, como las que mas aportan en cada uno de los modelos de predicción.

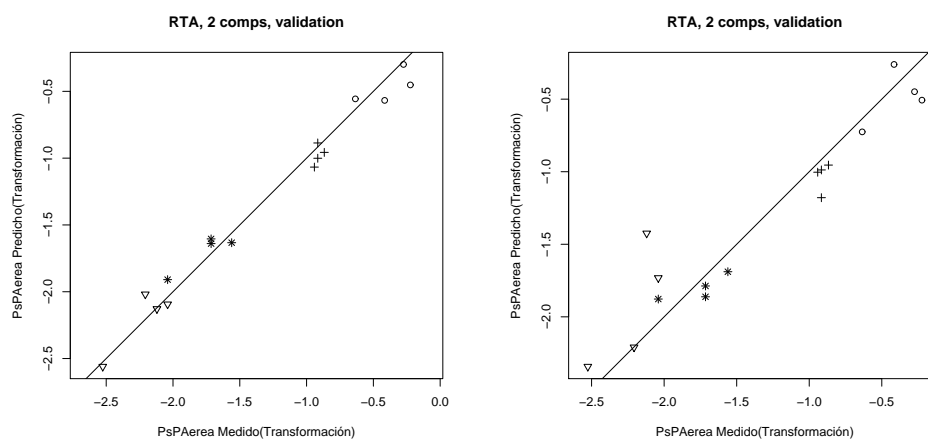


Figura 7.15: Validación de dos modelos para la predicción del peso seco de la parte aérea de plantas de rábano en base a la reflectancia de una hoja en fresco (izquierda) o seca (derecha), transformada con DOSC.

En la estimación del contenido o porcentaje de humedad de la parte aérea de plantas de rábano a partir de reflectancia espectral de hojas frescas (Figura 7.16 izquierda) la región de 1046 a 1050 nm, es la que mas influye sobre el modelo, el cual arroja un error de predicción de 0.92 %, y para la reflectancia de hojas secas (Figura 7.16 derecha) se tiene un error de 1.2 %, con 764, 1034, 1049 y 1029nm como las longitudes de onda mas influyentes en el modelo.

Para estimar la biomasa total de las plantas se obtienen dos modelos que muestran 801, 1021, 982 y 940nm como las longitudes de onda de mayor importancia para la reflectancia de hojas frescas (Figura 7.17 izquierda), con un error en la predicción de 0.16, y 1015, 966, 1039 y 1049nm como las longitudes de onda mas influyentes para la reflectancia de hojas secas (Figura 7.17 derecha), y produciendo un error de 0.36.

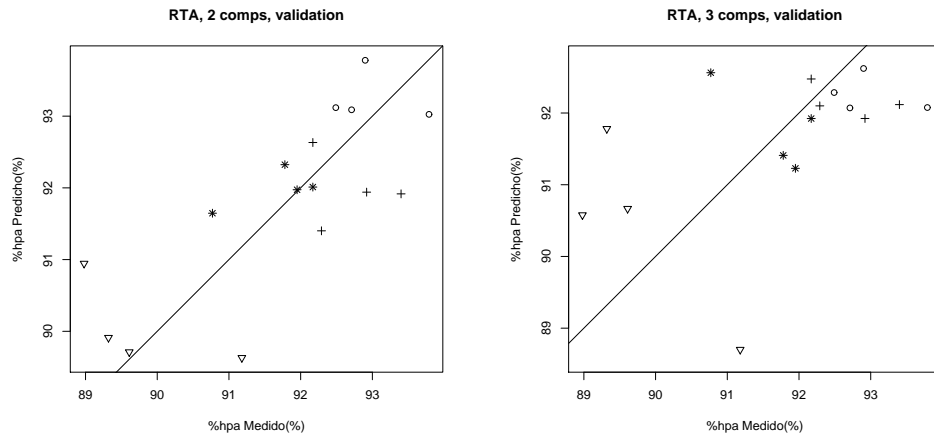


Figura 7.16: Dos modelos validados para la predicción del contenido de humedad en la parte aérea de plantas de rábano mediante reflectancia de hojas frescas (izquierda) y secas (derecha), con transformación MSC y DOSC respectivamente.

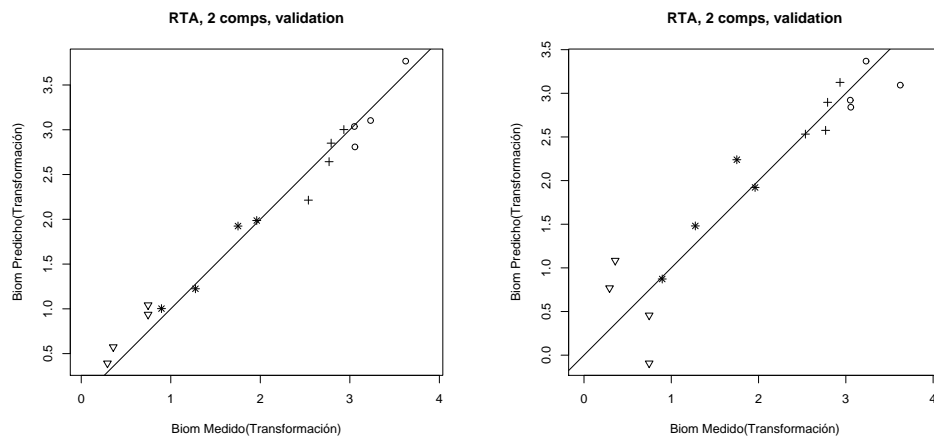


Figura 7.17: Validación de dos modelos de predicción de la biomasa de plantas de rábano por medio de datos espectrales transformados con DOSC para hojas frescas (izquierda) y secas (derecha).

Cuando se desarrollan modelos para la estimación de la materia seca total, se tiene que los errores de predicción de estos son de 0.18 para el modelo construido con reflectancia de hojas frescas (Figura 7.18 izquierda) y de 0.3 para el que se hace a partir de hojas secas (Figura 7.18 derecha), estos modelos indican que para esta variable las reflectancias mas importantes se encuentran en 958, 881, 968 y 894nm y 1019, 1014, 816 y 1024nm, respectivamente.

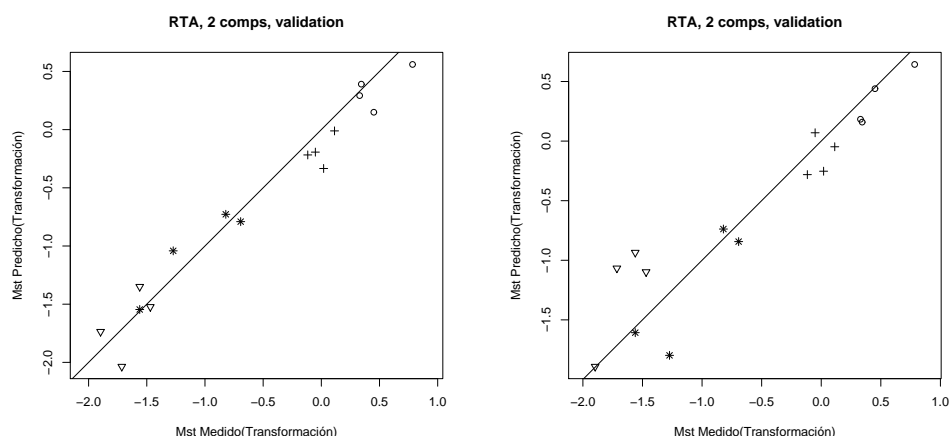


Figura 7.18: Validación de dos modelos para la predicción de la materia seca total de plantas de rábano mediante datos de reflectancia transformados con DOSC para hojas frescas(izquierda) y secas (derecha) respectivamente.

Para estimar el contenido de fósforo foliar en plantas de rábano se construyen 2 modelos, uno a partir de la reflectancia de hojas frescas (Figura 7.19 izquierda), con error de predicción de 6.6 y cuyas longitudes de onda mas influyentes son 1039, 891, 933 y 849 nm, y el otro que estima a partir de reflectancia de hojas secas (Figura 7.19 derecha), con error en la predicción de 8.3 y cuyas longitudes de onda mas importantes son 920, 1040, 977 y 1047 nm.

En la variable concentración de calcio foliar en plantas de rábano, los errores encontrados en la predicción son de 0.26 y 0.21, para los modelos construidos a partir de la reflectancia espectral de hojas frescas (Figura 7.20 izquierda) y secas (Figura 7.20 derecha), respectivamente. Siendo las longitudes de onda mas importantes para cada caso 797, 1041, 789 y 943nm, y 807, 848, 1045 y 1040nm.

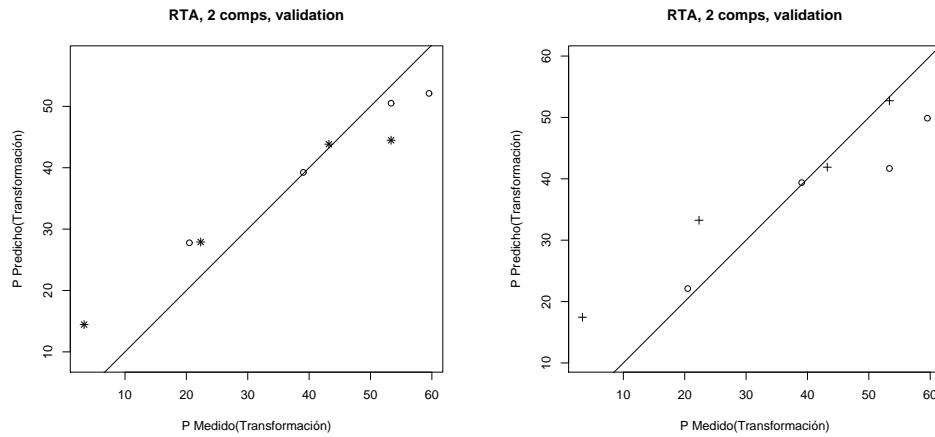


Figura 7.19: Validación de modelos para la predicción del contenido foliar de fósforo en plantas de rábano en base a la reflectancia de una hoja fresca (izquierda) y seca (derecha) con transformación DOSC.

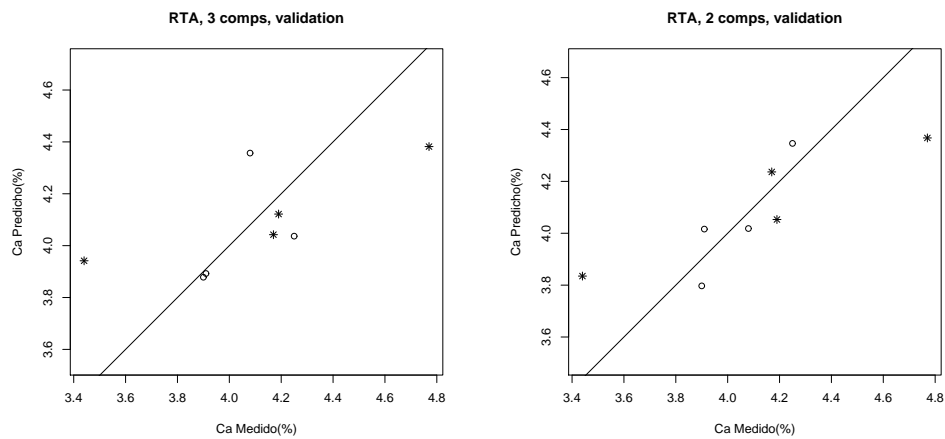


Figura 7.20: Validación de dos modelos para la predicción de la concentración de calcio en muestras foliares de plantas de rábano con reflectancia de hojas frescas (izquierda) y secas (derecha) sometidas a transformación DOSC.

Para determinar la concentración foliar de magnesio a partir de reflectancia espectral de hojas, se obtiene que cuando estas son frescas (Figura 7.21 izquierda) el error en la predicción es de 0.1, con las longitudes de onda 728, 1043, 881 y 918nm como las mas influyentes, y para hojas secas (Figura 7.21 derecha) las longitudes de onda mas importantes son 1047, 1026, 979 y 1041 nm, con un error en la predicción de 0.12.

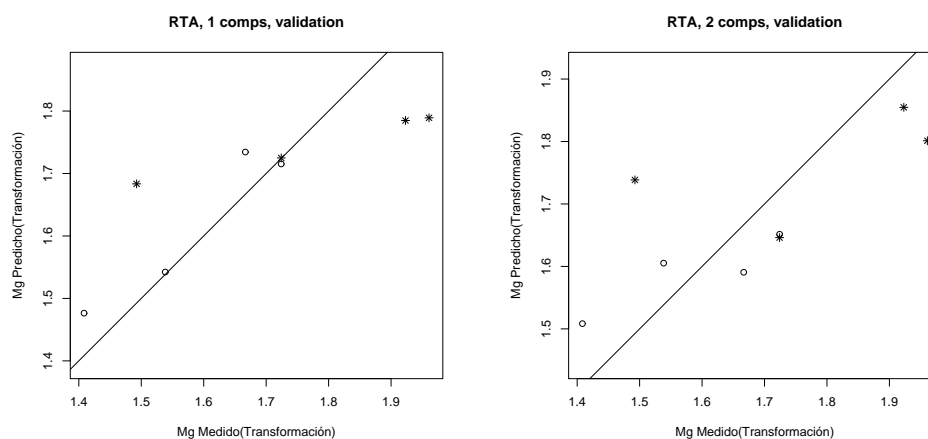


Figura 7.21: Validación de dos modelos para la predicción del contenido foliar de magnesio en plantas de rábano mediante reflectancia de hojas frescas (izquierda) y secas (derecha) sometidas al pretratamiento DOSC.

En el caso de la concentración foliar de potasio en la plantas de rábano, los modelos construidos, muestran un error en la predicción para el caso de hojas frescas (Figura 7.22 izquierda) de 14.24 y para el caso de hojas secas (Figura 7.22 derecha) de 18, y cuyas longitudes de onda mas significativas son 893, 809, 1022 y 841 nm y 432, 1044, 1047 y 1046 nm respectivamente.

Para el hierro la concentración foliar se determina para hojas frescas (Figura 7.23 izquierda) con un error de 8.03, con la mayor influencia de la reflectancia en 993, 744, 907 y 884 nm, y para hojas secas (Figura 7.23 derecha) con un error de 13.13, con la mayor influencia de las longitudes de onda 755, 949, 1042 y 955 nm.

La concentración de manganeso foliar en plantas de rábano se estima a partir de la reflectancia de hojas frescas (Figura 7.24 izquierda) con un error de predicción de 13.08 y a partir de hojas secas (Figura 7.24 derecha) con

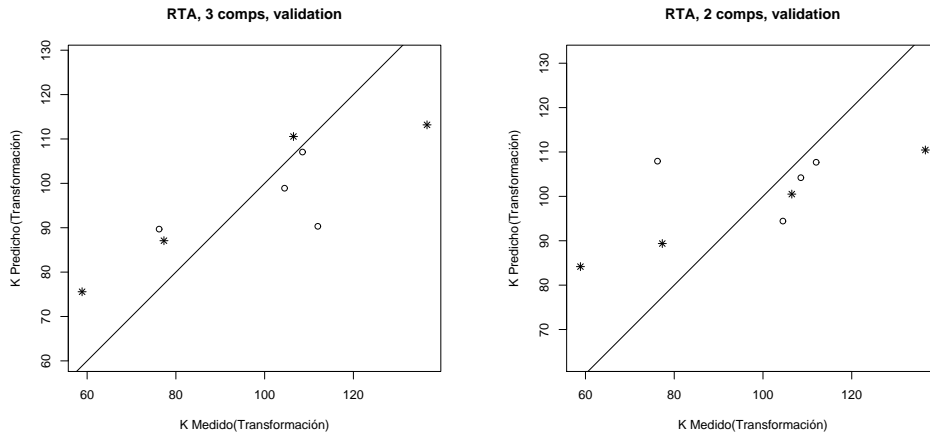


Figura 7.22: Validación de dos modelos para la predicción del contenido de potasio en tejido foliar de plantas de rábano mediante la reflectancia de hojas frescas (izquierda) y secas (derecha), tratada con DOSC.

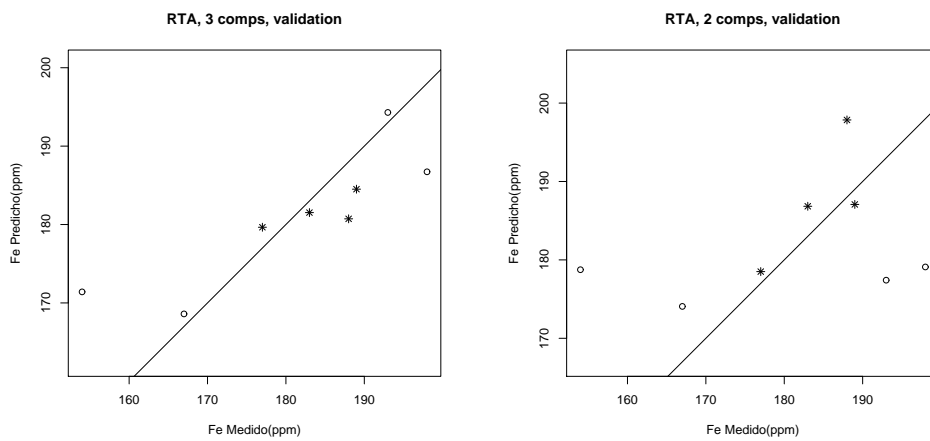


Figura 7.23: Modelos de predicción validados para la concentración de hierro foliar en plantas de rábano en base a la reflectancia de la hoja mas joven totalmente desarrollada fresca (izquierda) y seca (derecha), pre tratadas en los dos casos con DOSC.

un error de 10.7, mostrando que la reflectancia espectral mas influyente fue la medida en 912, 978, 763 y 948 nm y 1045, 898, 964 y 1013nm, para cada uno de los modelos.

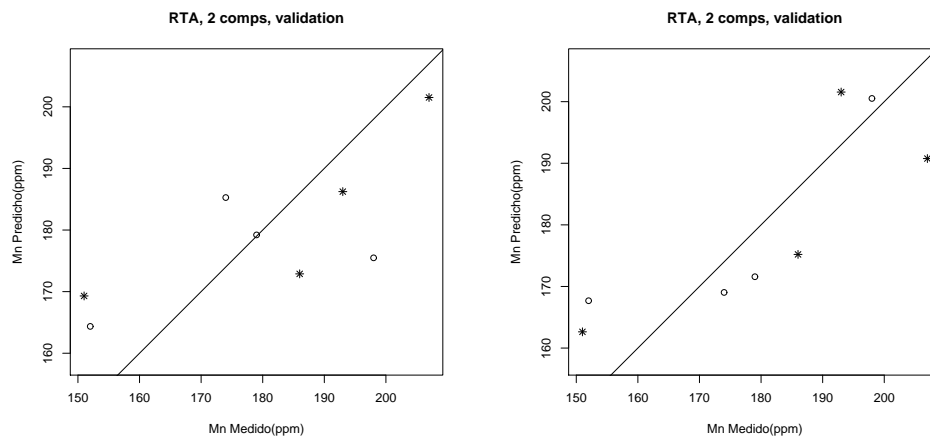


Figura 7.24: Validación de dos modelos para la predicción de la concentración de manganeso en tejido foliar de rábano, con base en la reflectancia espectral hojas frescas (izquierdas) y secas (derecha) corregida con DOSC.

El último de los nutrientes analizados en las plantas de rábano es el boro, el cual se estima con un error en la predicción de 2.25 en base a la reflectancia de hojas frescas (Figura 7.25 izquierda), cuyas longitudes de onda mas importantes son 482, 523, 889 y 1011nm, mientras que para las hojas secas (Figura 7.25 izquierda) el error es de 3.58 y las longitudes de onda 919, 855, 1019 y 1042nm, presentan la mayor influencia sobre el modelo.

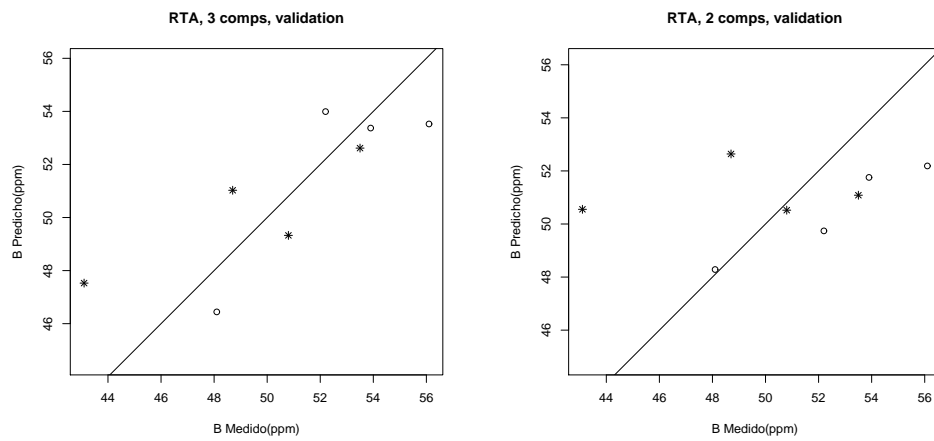


Figura 7.25: Validación de modelos para la predicción de boro foliar en plantas de rábano por medio de reflectancia espectral de hojas secas (derecha) y frescas (izquierda), con pre tratamiento espectral SG1 y DOSC respectivamente.

7.2. Experimento No 2

Al realizar un análisis de componentes principales para las muestras foliares de banano preparadas (Figura 7.26) se observa que las dos primeras componentes explican más del 40% de la variabilidad de los datos, y se pueden observar algunas relaciones contrarias como es el caso de Mn y N, o Mg y S, donde se observan los vectores opuestos, o algunas relaciones que son ortogonales (forman un ángulo casi recto) como es el caso del Cu con Mg y Cu con S, de la misma manera se observan N con K y Ca con B, mostrando que estas parejas de elementos se comportan de manera independiente. De igual forma en la Figura 7.27 a la izquierda se observa la representación de la primera y tercera componente que acumulan un 36,28% de la variabilidad de los datos y a la derecha el biplot de segunda y tercera componente que representan el 42,65% de la variabilidad, no mostrando en ninguno de los tres casos relaciones muy fuertes como para agrupar variables

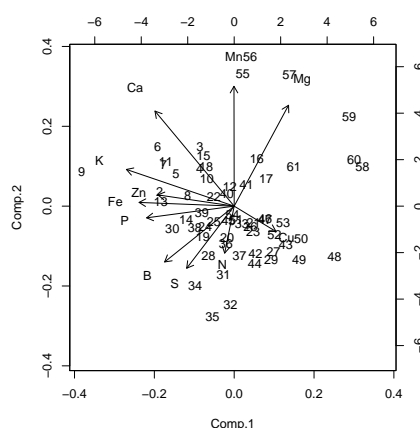


Figura 7.26: Biplot de primera y segunda componente para el grupo de contenido foliar de nutrientes en muestras foliares de banano

En este caso se analizaron muestras foliares de banano, y se construyeron modelos de predicción PLSR para la concentración de diferentes nutrientes con muy buenas características (ver cuadro 7.4)

El caso del nitrógeno muestra un error en la predicción de 0.08%, con un ajuste del 85% y mostrando a 1042, 1025, 888 y 909nm como las longitudes de onda más importantes, de igual forma que en el primer experimento organizadas de menor a mayor, en su grado de importancia dentro del modelo

Cuadro 7.4: Características de modelos construidos mediante PLSR y diferentes pretratamientos espectrales, para la concentración de algunos nutrientes en muestras foliares de banano

	Variable	N Comps	Error CV	Error CV Adj	R ²
N	Crudo	1	0,1280	0,1280	0,0425
	MSC	1	0,1290	0,1290	0,0378
	SNV	1	0,1286	0,1286	0,0400
	SG1	5	0,0983	0,0974	0,8941
	SG2	1	0,1234	0,1232	0,3357
	LOG 1/R	1	0,1283	0,1282	0,0417
	DOSC	4	0,0830	0,0827	0,8591
P	Crudo	2	0,0146	0,0146	0,1424
	MSC	2	0,0152	0,0152	0,0688
	SNV	4	0,0149	0,0149	0,1617
	SG1	1	0,0162	0,0162	0,3809
	SG2	1	0,0166	0,0166	0,2261
	LOG 1/R	2	0,0145	0,0145	0,1423
	DOSC	2	0,0066	0,0066	0,9151
S	Crudo	7	0,0131	0,0131	0,3712
	MSC	4	0,0133	0,0133	0,2252
	SNV	2	0,0135	0,0135	0,1257
	SG1	1	0,0121	0,0120	0,6250
	SG2	1	0,0162	0,0162	0,1553
	LOG 1/R	2	0,0135	0,0135	0,1184
	DOSC	3	0,0060	0,0060	0,9246
Ca	Crudo	8	0,1041	0,1040	0,6535
	MSC	7	0,1013	0,1013	0,6710
	SNV	8	0,1037	0,1035	0,6788
	SG1	1	0,1219	0,1214	0,5566
	SG2	1	0,1557	0,1555	0,1341
	LOG 1/R	8	0,0990	0,0987	0,7390
	DOSC	2	0,0334	0,0333	0,9581
Mg	Crudo	11	0,0302	0,0300	0,8257
	MSC	5	0,0292	0,0292	0,4534
	SNV	5	0,0306	0,0305	0,3852
	SG1	1	0,0315	0,0314	0,4758
	SG2	1	0,0454	0,0452	0,2616
	LOG 1/R	5	0,0327	0,0327	0,2791
	DOSC	3	0,0087	0,0087	0,9725
K	Crudo	10	0,4118	0,4113	0,6031
	MSC	6	0,4143	0,4135	0,4689
	SNV	5	0,4198	0,4194	0,3361
	SG1	1	0,4382	0,4369	0,4357
	SG2	1	0,4523	0,4515	0,3198
	LOG 1/R	8	0,3830	0,3821	0,6280
	DOSC	3	0,1559	0,1557	0,9144
Fe	Crudo	5	34,2966	34,2789	0,4028
	MSC	3	32,1247	31,5693	0,3412
	SNV	5	34,2257	34,1905	0,4079
	SG1	1	38,8592	38,7472	0,4168
	SG2	1	46,8669	46,7617	0,1893
	LOG 1/R	6	35,0340	35,0002	0,4380
	DOSC	3	4,2529	4,2394	0,9932
Mn	Crudo	4	63,2225	63,1803	0,4501
	MSC	7	61,7981	61,4369	0,6463
	SNV	3	62,1493	62,1115	0,4596
	SG1	15	66,2799	65,7538	0,9762
	SG2	1	105,3558	105,0593	0,1649
	LOG 1/R	3	63,0431	62,9992	0,4530
	DOSC	3	10,2874	10,2685	0,9889
Cu	Crudo	1	1,1388	1,1384	0,0542
	MSC	1	1,1460	1,1456	0,0506
	SNV	1	1,1378	1,1375	0,0622
	SG1	5	1,0023	0,9957	0,8774
	SG2	1	1,3095	1,3065	0,2029
	LOG 1/R	1	1,1372	1,1369	0,0582
	DOSC	3	0,2599	0,2594	0,9692
Zn	Crudo	7	1,6735	1,6711	0,5617
	MSC	5	1,6066	1,6049	0,5317
	SNV	5	1,6695	1,6681	0,4694
	SG1	1	2,1844	2,1786	0,3734
	SG2	1	2,4536	2,4467	0,2534
	LOG 1/R	6	1,5965	1,5944	0,5634
	DOSC	3	0,6268	0,6267	0,9456
B	Crudo	7	4,7342	4,7285	0,3920
	MSC	5	4,6559	4,6505	0,3424
	SNV	5	4,7833	4,7785	0,2949
	SG1	1	5,0651	5,0511	0,4264
	SG2	1	6,0802	6,0645	0,1623
	LOG 1/R	3	4,4304	4,4286	0,3189
	DOSC	3	0,5728	0,5707	0,9930

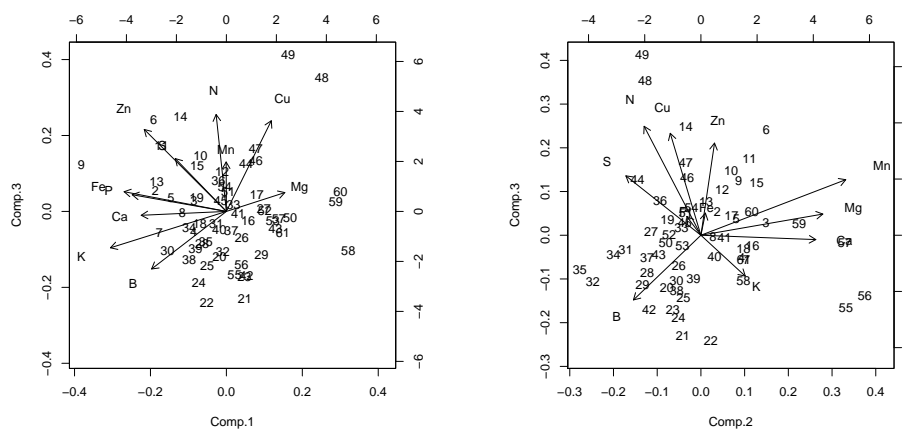


Figura 7.27: Biplot de primera y tercera componente(izquierda) y segunda y tercera componente(derecha) para el contenido foliar de nutrientes en muestras foliares de banano.

de predicción.(Ver Figura 7.28 izquierda)

En la determinación de fósforo se obtiene un modelo cuyas longitudes de onda mas influyentes son 1001, 980, 859 y 902nm, alcanzando un error de predicción de 0.006 %, con un excelente ajuste (91 %) (Ver Figura 7.28 derecha).

Para determinar el contenido de azufre en estas muestras de hojas de banano, se obtiene un modelo que permite predecir la concentración de este nutriente con un error de 0.006 %, y un ajuste de 92 %, señalando la reflectancia en 1045,1041, 938 y 988nm como la mas influyente en la predicción de esta característica. (Ver Figura 7.29 izquierda)

La reflectancia en 886, 856, 920 y 981nm, es la que mas influye sobre el modelo para la determinación del contenido de calcio en muestras foliares de banano, con un ajuste de 95 % y un error de 0.03 %.(Ver Figura 7.29 derecha)

El magnesio, se logra estimar a través de reflectancia espectral de muestras foliares de banano con un error de 0.008 %, un ajuste del 97 %, y muestra la reflectancia en 963, 831, 958 y 1043nm como las mas importantes para este efecto.(Ver Figura 7.30 izquierda)

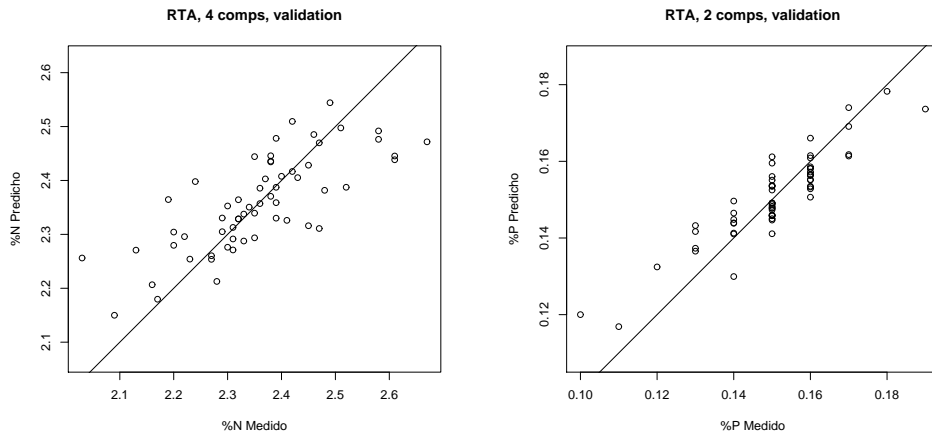


Figura 7.28: Validación de modelos para la predicción de Nitrógeno (izquierda) y fósforo (derecha) foliar en muestras de banano por medio de reflectancia espectral y datos pre tratados con DOSC.

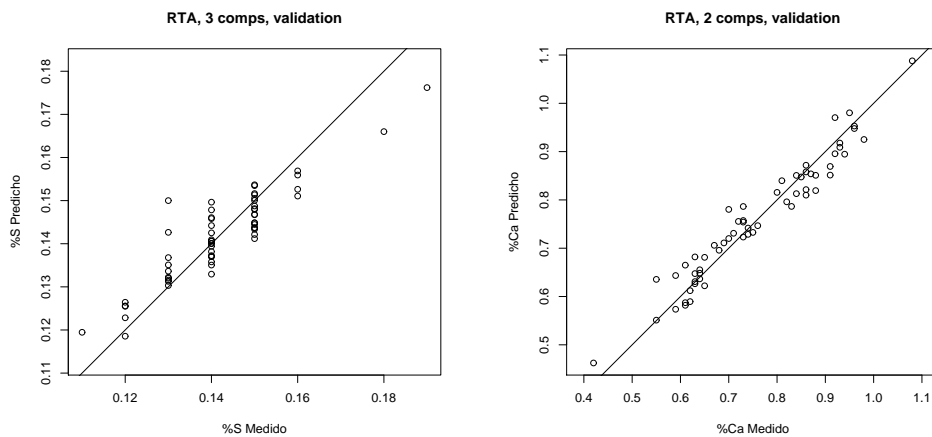


Figura 7.29: Validación de modelos para la predicción de azufre (izquierda) y calcio (derecha) foliar en muestras de banano por medio de reflectancia espectral y datos pretratados con DOSC.

De igual forma para la estimación de el porcentaje de potasio en muestras foliares de banano a partir de reflectancia de muestras procesadas se obtiene que las longitudes de onda mas influyentes son 1050, 784, 918 y 888nm, y que el modelo construido logra predecir con un error de 0.15 % y un ajuste del 91 %.(Ver Figura 7.30 derecha)

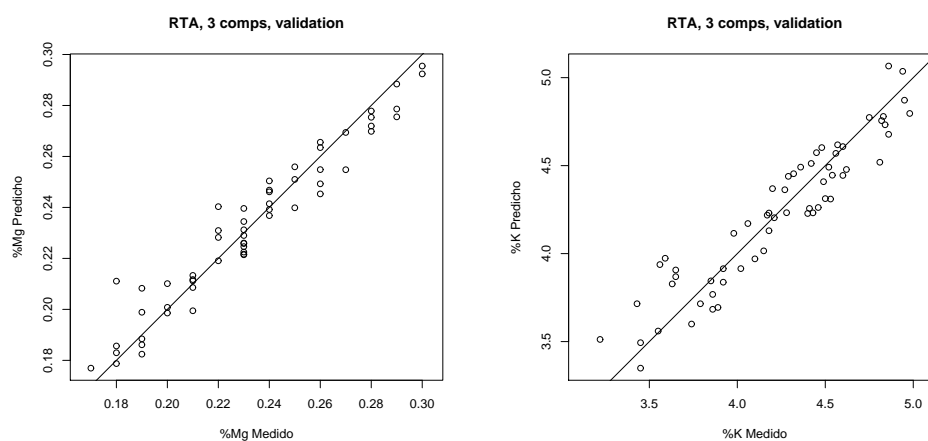


Figura 7.30: Validación de modelos para la predicción de magnesio (izquierda) y potasio (derecha) foliar en muestras de banano por medio de reflectancia espectral y datos pretratados con DOSC.

Para la determinación de Fe foliar en base a la reflectancia de muestras preparadas, se construye un modelo que predice con un error de 4.2 ppm y un ajuste de 99 %, mostrando además que las longitudes de onda mas significativas para este fin son 1012, 866, 1045 y 1024nm.(Ver Figura 7.31 izquierda)

El modelo construido para la determinación de manganeso muestra la reflectancia en 901, 1017, 947 y 1039nm como las longitudes de onda mas influyentes para determinar la concentración de este nutriente en muestras foliares de banano, este permite estimar dicha concentración con un error de 10.2 ppm con un ajuste del 98 %.(Ver Figura 7.31 derecha)

La reflectancia en 1046, 907, 948 y 997nm, son las longitudes de onda que presentan mayor efecto sobre el modelo desarrollado para la determinación de cobre en muestras foliares de banano, el cual lo hace con un error de 0.25 ppm y un ajuste del 96 %.(Ver Figura 7.32 izquierda)

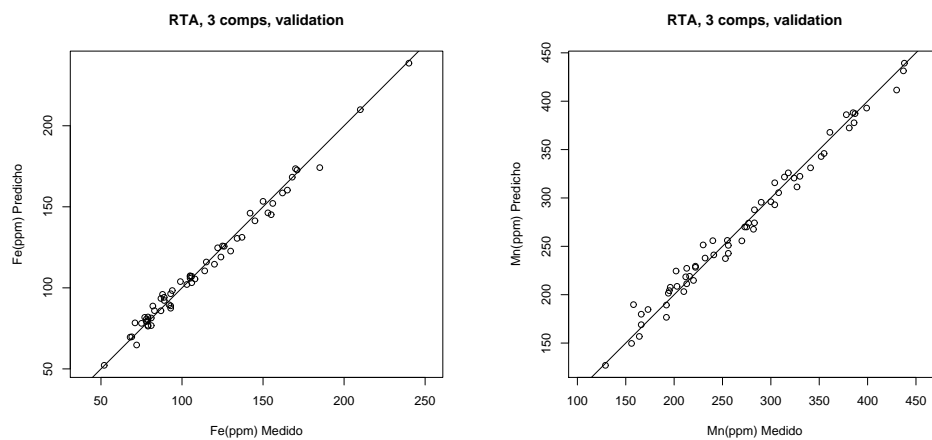


Figura 7.31: Validación de modelos para la predicción de hierro (izquierda) y manganeso (derecha) foliar en muestras de banano por medio de reflectancia espectral y datos pretratados con DOSC.

El caso del zinc, se comporta de igual forma con un muy buen ajuste del 94 % y un error de predicción de 0.62 ppm, y muestra que las longitudes mas importantes en dicha predicción son 1015, 991, 1046 y 882nm.(Ver Figura 7.32 derecha)

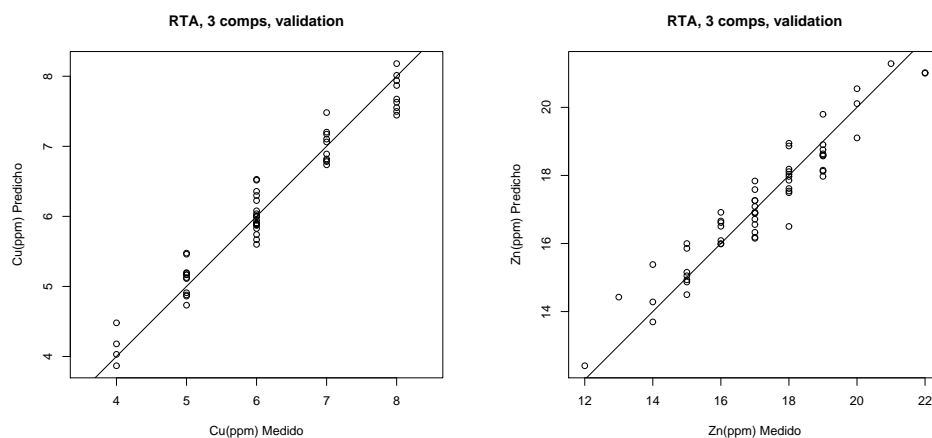


Figura 7.32: Validación de modelos para la predicción de cobre (izquierda) y zinc (derecha) foliar en muestras de banano por medio de reflectancia espectral y datos pretratados con DOSC.

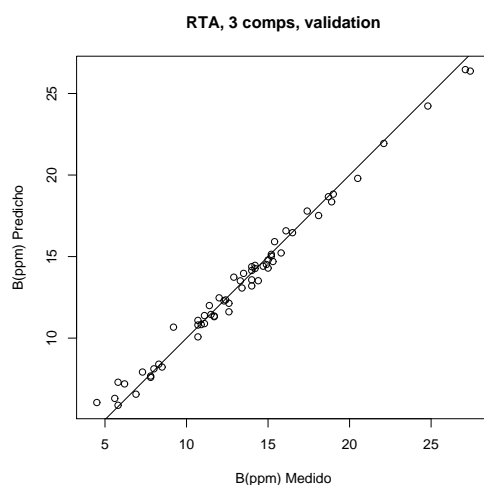


Figura 7.33: Validación de modelos para la predicción de boro foliar en muestras de banano por medio de reflectancia espectral y datos pretratados con DOSC.

Por ultimo el modelo para la predicción del contenido de boro a partir de reflectancia espectral de muestras foliares de banano presenta un error de 0.57 ppm y un ajuste de 99 %, mostrando que las longitudes de onda 877, 976, 879 y 963nm, son las mas influyentes en la predicción de este nutriente. (Ver Figura 7.33)

Muchos autores afirman sobre la existencia de varias características explicadas por una misma región o longitud de onda, se puede ver que en la construcción de los mejores modelos se encontraron algunas coincidencias en este respecto (Ver cuadro 7.5). Por ejemplo para las variables peso seco de la hoja medida estimado con la reflectancia de hojas secas y porcentaje de humedad del rábano determinado por reflectancia de hojas frescas, comparten en común la reflectancia en 426 nm.

La longitud de onda de 807 nm también es común a los modelos para determinar el porcentaje de humedad de la hoja medida en base a reflectancia de hojas frescas y el modelo para estimar la concentración foliar de calcio a partir de reflectancia de hojas secas. De este mismo modo muchos casos que se mencionan a continuación: 809 nm para PSPAerea en hojas secas y K en hojas frescas, 855 nm para PSHM en hojas frescas y B en hojas secas, 907nm para Fe en hojas frescas y Cu en muestras preparadas de banano, 918nm

para Mg en hojas frescas y K en muestras foliares, 920 nm para P en hojas secas y Ca en muestras foliares preparadas, 939 nm para %HHM en hojas secas y PSRab en hojas frescas, 940 nm para %HHM en hojas secas y BIOM en hojas frescas, 948 nm para Mn en hojas frescas y Cu en muestras foliares preparadas, 958 nm PSHM en hojas secas, MST en hojas frescas y Mg en muestras foliares preparadas, 976 nm PSRab en hojas secas y B en muestras foliares preparadas, 980 nm P muestras foliares preparadas y PSPaerea en hojas secas, 1001 nm AFTOT en hojas secas y P en muestras foliares, 1015 nm Zn en muestras foliares preparadas y Biom en hojas secas, 1021 nm para PFRAB en hojas secas y BIOM en hojas frescas, 1024 nm para MST en hojas secas y Fe en muestras foliares preparadas, 1033 nm para PSHM en hojas frescas y PFPAarea en hojas secas, 1041 nm para Ca en hojas frescas, Mg en hojas secas y S en muestras foliares preparadas y por ultimo 1048 nm para PSPAarea en hojas secas y %HPaerea en hojas frescas. Pero este tipo de coincidencias no son preocupantes para este caso ya que los espectros en los tres casos (hojas frescas de rábano, hojas secas de rábano y muestras foliares de banano preparadas) son muy distintos y la reflectancia en estos casos no tiene por que comportarse de la misma forma. Sin embargo para algunos casos la misma variable es explicada por la misma longitud de onda en dos de los tres tipos de reflectancia como es el caso de la reflectancia en 951 nm que explica PFPAarea tanto en hojas frescas como en hojas secas, así mismo 1043nm para Mg tanto en la reflectancia tomada de las hojas frescas como en las muestras foliares preparadas, 1049 nm para %HPAarea tanto en las hojas secas como en las hojas frescas, estas longitudes de onda indican algún tipo de estabilidad que permanece aun cuando se pasa de un tipo de muestra a otro.

Pero los casos de mayor preocupación son los que pueden llegar a causar incertidumbre en la determinación de alguna de las variables, ya que en el mismo tipo de muestra (hoja fresca, hoja seca o muestra foliar preparada) dos o mas variables comparten la reflectancia en una longitud de onda que explica gran parte del comportamiento (Ver cuadro 7.5), este es el caso de la reflectancia en 888 nm que explica la concentración de K y N para el caso de las muestras foliares preparadas, así mismo 866 nm con PFHM HF y PSPAarea para la reflectancia de hojas frescas, 881 nm con las variables MST y concentración de Mg en los modelos para hojas frescas, 884nm para PFHM, PSRab y concentración de Fe en el caso de hojas frescas, 963 nm para B y Mg en muestras foliares preparadas, 964 nm para %HPAarea y Mn al analizar hojas secas, 968 nm para AHM y AFTOT en hojas secas, 977 nm para las variables PFRab y P en hojas secas, 1019nm para B y MST en hojas secas, 1036 nm para PFRab y AFTOT en hojas frescas, 1039 nm en AHM y

contenido de P en hojas frescas, y PFPAerea y BIOM en hojas secas, 1040 nm para P y Ca en hojas secas, 1042nm para Fe y B en hojas secas, 1044nm para PSRab y K en hojas secas, 1045 nm para Ca y Mn en hojas secas, y para Fe y S en muestras foliares preparadas, 1046 nm para PFRAB, %Hrab, PSPAerea y K en hojas secas, y Cu y Zn en muestras foliares preparadas, 1047 nm para PFRab , P , Mg y K en reflectancia de hojas secas, 1049 nm para BIOM y %HRab en hojas secas, y por ultimo la reflectancia en 1050 nm que es común a las variables %Hpaerea y PSHMen hojas frescas y para AFTOT y %HRAb en hojas secas.

7.3. Coincidencias con la literatura.

Para hacer esta comparación se tuvo en cuenta una tolerancia de mas o menos un (1 nm) nanómetro, ya que muchos autores reportan inclusive que las mediciones entre espectroradiómetros de la misma marca y modelo podrían variar levemente, es decir a 34 nm y 35 nm se consideraron comparables en este caso.

Christensen[22] reporta que los beta carotenos poseen absorción dominante en 425nm y generalmente se expresan en condiciones de deficiencia de nitrógeno y fósforo, esta misma longitud de onda se encontró como importante para la estimación del porcentaje de humedad del rábano cuando se tomaba la reflectancia de hojas frescas.

Haciendo análisis con frutas Nicolai *et al*[73] afirman que los espectros están dominados por las bandas de absorción del agua y/o de enlaces tipo -OH, en las longitudes de onda 760nm y 970nm, las cuales son de mucha importancia en la determinación del peso seco del rábano, cuando se estudia la reflectancia de hojas secas.

En la variable porcentaje de humedad de la hoja medida espectralmente se encontró que es muy importante la reflectancia en 680nm, que ha sido reportada por Imanishi *et al*[45] como componente de una de tres regiones importantes en plantas sometidas a estrés hídrico (680 a 690 nm) presentándose como una depresión característica en el espectro de plantas estresadas, también Cho y Skidmore [22] afirman que cuando se presenta un aumento en la cantidad de clorofila, se observa una ampliación de la absorción característica alrededor de 680 nm, lo que puede estar explicado en este caso a que la disminución del contenido de humedad ocasione un incremento de la concen-

tracción de clorofila provocando así la misma respuesta encontrada por estos autores.

Una de las reflectancias comunes a dos variables fue la reflectancia en 809 nm, que se encontró como importante en la predicción del peso seco de la parte aérea a partir de reflectancia de hojas secas y el contenido foliar de potasio a partir de hojas frescas, en plantas de rábano, del mismo modo Jorgensen y Christensen[49] reportan la reflectancia 810nm como la región de respuesta a la estructura celular de la planta, la cual esta muy relacionada al peso seco y al potasio, que es un nutriente fundamental en el crecimiento y desarrollo de las plantas, y un componente alto de la materia seca de las plantas (macro nutrientes)

Muhammed[69] afirman que la reflectancia en 524nm ha sido reportada por muchos investigadores como altamente sensible a la clorosis, y en este trabajo se encontró que la reflectancia de hojas frescas de rábano en 523nm esta fuertemente relacionada con el contenido de boro en las hojas, lo cual puede estar relacionado no por ser el boro el causante de la clorosis, sino que al presentarse des balances nutricionales y deficiencias de algunos elementos la toma de boro por parte de la planta se ve afectada ,mostrando así una relación cercana de los dos casos.

Yang *et al*[100] encontraron que la reflectancia en 800 nm, y los índices de vegetación derivados de esta, son los mas sensibles al daño causado por áfidos en el follaje, encontrando relación entre el grado de infestación y la concentración de clorofila en la planta, y por consiguiente un buen indicador de la capacidad fotosintética de la planta, lo que concuerda con lo que se encontró para hojas frescas de rábano que en la misma longitud de onda (800nm) la reflectancia es un muy buen estimador del peso fresco de la parte aérea, el cual es finalmente el resultado del crecimiento y desarrollo de la planta que se logra por medio de la fotosíntesis.

Las hojas de plantas infestadas por los áfidos (*Schizaphis graminum* o *Diuraphis noxia*) tienen menor concentración de clorofila y muestran cambios significativos en el espectro de reflectancia en ciertas longitudes de onda. (500 a 525 nm, 625 a 635nm, y 680 a 695) Muhammed[69], de los cuales se encuentra que coinciden con este trabajo la reflectancia de hojas frescas de rábano en 523 nm como estimador de la concentración del contenido de boro foliar, y en 685nm como estimador del porcentaje de humedad de la hoja medida espectralmente, y estas dos variables están altamente relacionadas fisiológicamente con el contenido de clorofila en las plantas.

En cuanto a deficiencias en nitrógeno Zhao *et al*[106] afirman que la primera derivada del espectro de reflectancia en 730 o 740 nm, como centros del límite rojo, son excelentes estimadores, de acuerdo a esto para hojas frescas de rábano se encontró que la reflectancia en 744nm, tiene mucha importancia para la determinación del contenido de hierro a nivel foliar, lo que puede estar explicado por la alta relación que tienen el hierro y el nitrógeno con la molécula de clorofila, lo cual puede llevar a que presenten características espectrales en común.

En investigaciones sobre trigo y avena cultivados en cámara de crecimiento e invernadero, se encontró que las deficiencias de N y Mg ocasionan el mayor aumento en la reflectancia tanto en el VIS como en el NIR y que las deficiencias de P, K y Ca causan una disminución en la reflectancia en la región 412 a 770nm Ayala-Silva y Beyl [7]. Diferente a esto, en este experimento con rábanos, no se encontraron longitudes de onda significativas para la determinación de la concentración de K, P y Ca en este rango en hojas frescas, pero en hojas secas se encontró que la reflectancia en 432nm es de importancia para la estimación del potasio foliar.

Osborne *et al*[77] afirma que la predicción de fósforo solo se logra determinar en estados tempranos de desarrollo usando la reflectancia en el azul (400 a 450 nm) y en el NIR (730 a 930 nm), en este ultimo rango de encontraron muchas de las longitudes de onda importantes para el fósforo, en hojas frescas de rábano es muy útil a la reflectancia en 849, 891 y 933 nm, para la reflectancia en hojas secas se encontró la reflectancia en 920nm y finalmente en las muestras foliares preparadas se encontró que la reflectancia en 859 y 902 nm son las mas útiles para determinar la concentración de fósforo foliar.

Christensen y Jorgensen[21] encontraron que al utilizar las bandas de reflectancia en 450, 700 y 810 nm y la información espacial se logran diferenciar las principales deficiencias nutricionales en las plantas, lo que concuerda con lo encontrado para los rábanos que para la concentración de potasio la reflectancia en 809nm es muy importante en hojas frescas y esta misma longitud es importante para la determinación del peso seco de la parte aérea por medio de la reflectancia de hojas secas, variables que están directamente relacionadas con las deficiencias nutricionales.

Capítulo 8

CONCLUSIONES

Como resultado de este trabajo se logró caracterizar espectralmente las diferencias en concentración de nutrientes en tejido foliar de plantas.

Se analizaron espectralmente hojas de plantas de banano y rábano con diferencias nutricionales encontrando diferencias en la reflectancia espectral.

Para cada una de las variables evaluadas se identificaron las regiones espectrales mas influyentes para la determinacion por medio de calibracion quimiometrica.

Se encontró una alta correlación entre la variabilidad de la reflectancia espectral foliar de las plantas y los resultados de los análisis químicos de tejido foliar, lo que permitió construir modelos con errores de predicción muy bajos y coeficientes de correlación altos, por medio de regresión PLS, con un número bajo de variables latentes.

Las características de los modelos construidos permiten proponerlos como una herramienta para determinar la concentración de nutrientes en tejido foliar con niveles de confianza muy cercanos a los de los análisis tradicionales de laboratorio.

Capítulo 9

RECOMENDACIONES

Al ver que este tipo de metodologías son de gran utilidad se abren una gran cantidad de interrogantes y de posibilidades en investigaciones futuras en base a los análisis de los datos, es de esta forma que se recomienda iniciar una línea de investigación en los métodos estadísticos para construir modelos multi PLS o N-PLS con el fin de realizar predicción simultánea de diferentes variables, así como evaluar no solo la aplicación de transformaciones y pretratamientos individuales sino las diferentes combinaciones que puedan mejorar de manera significativa la robustez de los modelos, de la misma forma es necesario conocer y estudiar las metodologías de calibración no lineal tales como redes neuronales artificiales (ANN) por mencionar alguna

Este tipo de investigaciones y modelos para la predicción también abren la posibilidad de llevar estos resultados a sensores espectrales a nivel de campo por medio de espectroradiómetros portátiles o inclusive a sensores de este tipo montados en avionetas o helicópteros que se utilizan rutinariamente en aspersiones de productos para la protección de cultivos (fungicidas, insecticidas, etc.) o aeromodelos y/o globos aerostáticos manejados a control remoto que permitan realizar la captura de la reflectancia espectral de manera remota y tener, una gran cantidad de información a nivel espacial en poco tiempo, esta tipo de medidas pueden generar algo de pérdida de la precisión en la determinación de la concentración de los nutrientes, pero este hecho es compensado con la gran cantidad de información espacial que es generada, que permiten el mapeo de las concentraciones de nutrientes para llegar a desarrollar un verdadero manejo por sitio específico de la nutrición de las plantas empezando en el país una verdadera agricultura de precisión. Por lo que se recomienda iniciar un programa de interacción con los gremios agropecuarios en el país para realizar el siguiente paso en este campo que es extender estos resultados para que sean útiles al productor a nivel industrial.

Estos resultados muestran que esta técnica es aplicable directamente en campo, en metodologías que arrojen resultados en tiempo real y con mejores resultados incluso que si se trata de muestras secas, con la posibilidad de generar una gran cantidad de información de alguna o varias variables de interés agronómico para la toma de decisiones de manejo de algún cultivo, o como insumo para maquinaria adaptada o diseñada para el manejo por sitio específico, de muchas de las labores desarrolladas en la producción agrícola.

Es muy importante ampliar el rango de estudio de esta investigación y explorar otras regiones del espectro tales como el resto del infrarojo cercano NIR y el infrarojo medio MIR y el ultravioleta, ya que pueden existir características o longitudes de onda que se expresen mejor en regiones diferentes a las estudiadas en este caso, de igual forma estudiar variables distintas que no solo incluyan la concentración foliar de nutrientes en las plantas sino muchas otras variables que faciliten la toma de decisiones y el mejoramiento de la producción agropecuaria.

Para el laboratorio de suelos es fundamental iniciar un programa de caracterización espectral de las muestras que ingresan con el fin de crear la primera base de datos del país con información espectral y con los resultados de los análisis y de esta forma ser líder en los estudios de detección de propiedades bioquímicas en muestras foliares via espectroscopia de reflectancia, y no solo de muestras foliares sino incursionar en las investigaciones en muestras de suelos para propiedades físicas y químicas, brindando de esta forma una nueva línea de investigación, generando una base de datos lo suficientemente grande y robusta como para poder realizar estos análisis con mucha tranquilidad y en diferentes cultivos, e incluso poder reemplazar los análisis tradicionales por estos logrando tener resultados para los productores inclusive el mismo día de recepción de la muestra.

Se recomienda continuar realizando investigaciones con la espectrometría de reflectancia en diferentes campos como el manejo de plagas y enfermedades en los cultivos, lo que podría conducir a un manejo racional de agroquímicos, optimizando dichas aplicaciones, y llevando los costos de producción a un punto mas bajo conservando o incluso mejorando la calidad de los productos, no solo en la parte sanitaria y alimenticia, sino en la ingesta de menos agroquímicos en la dieta del consumidor.

Como se mencionó anteriormente la posibilidad de mapeo que presta esta tecnología, la convierte en un aliado fundamental para los estudios en

geoestadística o estadística espacial en diferentes campos de la producción agropecuaria, y un insumo muy útil para la investigación en diferentes campos de la producción.

Bibliografía

- [1] Adamchuk, V.I; Hummel, J.W; Morgan, M.T; Upadhyaya, S.K. *On the go soil sensors for precision agriculture*. Computers and Electronics in Agriculture 44 (2004) 71 91
- [2] Adamchuk, V I; Lund, E D; Sethuramasamyraja, B; Morgan, M T; Dobermann, A; Marx, D B. *Direct measurement of soil chemical properties on-the-go using ion-selective electrodes* Computers and Electronics in Agriculture 48 (2005) 272 294
- [3] Adams, M L; Norvell, W A; Philpot, W D and Peverly, J H. *Toward the Discrimination of Manganese, Zinc, Copper, and Iron Deficiency in Bragg Soybean Using Spectral Detection Methods*. Agronomy Journal, VOL 92 268 274 March April 2000
- [4] Adams, M L;Norvell, W A; Philpot, W D; Peverly, J H. *Spectral Detection of Micronutrient Deficiency in Bragg Soybean*. Agronomy Journal, VOL. 92, 261-274 March April 2000
- [5] Alamar, M C; Bobelyn, E; Lammertyn, J; Nicolai, B M; Molto, E. *Calibration transfer between NIR diode array and FT NIR spectrophotometers for measuring the soluble solids contents of apple*. Postharvest Biology and Technology 45 (2007) 38 45
- [6] Armenta, S;Garrigues, S; de la Guardia, M. *Partial least squares-near infrared determination of pesticides in commercial formulations*. Vibrational Spectroscopy 44 (2007) 273 278
- [7] Ayala-Silva, T; Beyl, C A. *Changes in spectral reflectance of wheat leaves in response to specific macronutrient deficiency*. Advances in Space Research 35 (2005) 305 317
- [8] Azzouz, T; Tauler, R. *Application of multivariate curve resolution alternating least squares (MCR ALS) to the quantitative analysis of pharmaceutical and agricultural samples*. Talanta 74 (2008) 1201 1210

- [9] Balabin, R M; Safieva, R Z; Lomakina, E I. *Wavelet neural network (WNN) approach for calibration model building based on gasoline near infrared (NIR) spectra*. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems(2008)
- [10] Balabin, R M; Safieva, R Z; Lomakina, E I. *Comparison of linear and nonlinear calibration models based on near infrared (NIR) spectroscopy data for gasoline properties prediction*. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 88 (2007) 183 188
- [11] Baptista, P; Felizardo, P; Menezes, J C; Correia, M J N. *Multivariate near infrared spectroscopy models for predicting the methyl esters content in biodiesel*. Analytica chimica acta 607 (2008) 153 159
- [12] Bartholomeus, H M; Schaepman, H E; Kooistra, L; Stevens, A; Hoogmoed, W B; Spaargaren, O S P. *Spectral reflectance based indices for soil organic carbon quantification*. Geoderma (2008)
- [13] Bastidas-Obando, E y Carbonell, J A. *La Espectroscopia En el Infrarrojo cercano (NIR) para Caracterizar el patron espectral en los suelos*. En: Memorias del XIV Congreso Colombiano de La Ciencia del Suelo. Manejo del Suelo para la Mitigacion del Cambio Climatico . 29, 30 y 31 de Octubre de 2008. Villavicencio, Meta, Colombia.
- [14] Bello, A; Bianchi, F; Careri, M; Giannetto, M; Mori, G; Musci, M. *Multivariate calibration on NIR data: Development of a model for the rapid evaluation of ethanol content in bakery products*. Analytica chimica acta 603 (2007) 8 12
- [15] Blackburn, G A; Ferwerda, J G. *Retrieval of chlorophyll concentration from leaf reflectance spectra using wavelet analysis*. Remote Sensing of Environment 112 (2008) 1614 1632
- [16] Cai, W; Li, Y; Shao, X. *A variable selection method based on uninformative variable elimination for multivariate calibration of near-infrared spectra*. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 90 (2008) 188 194
- [17] Cayuela, J A. *Vis/NIR soluble solids prediction in intact oranges (Citrus sinensis L.) cv. Valencia Late by reflectance*. Postharvest Biology and Technology 47 (2008) 75 80

- [18] Chen, D; Cai, W; Shao, X. *Representative subset selection in modified iterative predictor weighting (mIPW) PLS models for parsimonious multivariate calibration*. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 87 (2007) 312 318
- [19] Chen, Y; Xie, M; Yan, Y; Zhu, S; Nie, S; Li, C; Wang, Y; Gong, X. *Discrimination of Ganoderma lucidum according to geographical origin with near infrared diffuse reflectance spectroscopy and pattern recognition techniques*. Analytica chimica acta (2008)
- [20] Cho, M A; Skidmore, A K. *A new technique for extracting the red edge position from hyperspectral data: The linear extrapolation method*. Remote Sensing of Environment 101 (2006) 181 193
- [21] Christensen, L K; Jorgensen, N R. *Spatial Reflectance at Sub-Leaf Scale Discriminating NPK Stress Characteristics in Barley Using Multiway Partial Least Squares Regression*. Written for presentation at the 2003 ASAE Annual International Meeting. Sponsored by ASAE. Riviera Hotel and Convention Center. Las Vegas, Nevada, USA. 27 30 July 2003
- [22] Christensen, L K. *NPK Deficiencies Discrimination by use of Spectral and Spatial Response*. Ph.D. Thesis. Department of Agricultural Sciences. AgroTechnology. The Royal Veterinary and Agricultural University. Denmark 2004
- [23] Christy, C D *Real-time measurement of soil attributes using on-the-go near infrared reflectance spectroscopy*. Computers and electronics in agriculture 61 (2008) 10 19.
- [24] Colombo, R; Meroni, M; Marchesi, A; Busetto, L; Rossini, M; Giardino, C; Panigada, C. *Estimation of leaf and canopy water content in poplar plantations by means of hyperspectral indices and inverse modeling*. Remote Sensing of Environment 112 (2008) 1820 1834
- [25] Curran, P J; Dungan, J L; Peterson D L. *Estimating The Foliar Biochemical concentration of Leaves with Reflectance Spectrometry. Testing The Kokaly and Clark Methodologies*. Remote Sensing Of Environment 76 (2001) 349 359.
- [26] Daughtry, C S T; Hunt Jr, E R. *Mitigating the effects of soil and residue water contents on remotely sensed estimates of crop residue cover*. Remote Sensing of Environment 112 (2008) 1647 1657.

- [27] Dawson, T P; Curran, P J; and Plummer, S E. *LIBERTY Modeling the Effects of Leaf Biochemical Concentration on Reflectance Spectra* XXXX
- [28] Delalieux, S; Aardt, J V; Keulemans, W; Schrevens, E; Coppin, P. *Detection of biotic stress (Venturia inaequalis) in apple trees using hyperspectral data: Non-parametric statistical approaches and physiological implications*. *Europ. J. Agronomy* 27 (2007) 130 143
- [29] Dou, Y; Qu, N; Wang, B, Chi, Y Z; Ren, Y.L. *Simultaneous determination of two active components in compound aspirin tablets using principal component artificial neural networks (PC ANNs) on NIR spectroscopy*. *European journal of pharmaceutical sciences* 32 (2007) 193 199
- [30] Dou, Y; Zou, T; Liu, T; Qu, N; Ren; Y. *Calibration in non-linear NIR spectroscopy using principal component artificial neural networks*. *Spectrochimica Acta Part A* 68 (2007) 1201 1206
- [31] Durand, A; Devos, O; Ruckebusch, C; Huvenne, J P. *Genetic algorithm optimisation combined with partial least squares regression and mutual information variable selection procedures in near infrared quantitative analysis of cotton viscose textiles*. *Analytica Chimica Acta* 595 (2007) 72 79
- [32] Felizardo, P; Baptista, P; Menezes, J C; Correia, M J N. *Multivariate near infrared spectroscopy models for predicting methanol and water content in biodiesel*. *Analytica Chimica Acta* 595 (2007) 107 113
- [33] Feng, W; Yao, X; Zhu, Y; Tian, Y C; Cao, W X. *Monitoring leaf nitrogen status with hyperspectral reflectance in wheat*. *Europ. J. Agronomy* 28 (2008) 394 404
- [34] Fernandes, H L; Raimundo Jr, I M; Pasquini, C; Rohwedder, J J R. *Simultaneous determination of methanol and ethanol in gasoline using NIR spectroscopy: Effect of gasoline composition*. *Talanta* 75 (2008) 804 810
- [35] Fernández Cabanás, V.M; Garrido Varo, A; Garcia Olmo, J; De Pedro, E; Dardenne, P. *Optimisation of the spectral pre treatments used for Iberian pig fat NIR calibrations*. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 87 (2007) 104 112
- [36] Fitzgerald, G J; Lesch, S M; Barnes, E M; Luckett, W E. *Directed sampling using remote sensing with a response surface sampling design for*

- site specific agriculture*. Computers and Electronics in Agriculture 53 (2006) 98 112
- [37] Fox, G P; Osborne, B; Bowmanc, J; Kelly, A; Cakir, M; Poulsen, D; Inkerman, A. Robert Henry. *Measurement of genetic and environmental variation in barley (Hordeum vulgare) grain hardness*. Journal of Cereal Science 46 (2007) 82 92
- [38] Gomez, C;Lagacherie, P;Coulouma, G. *Continuum removal versus PLSR method for digital mapping of Clay and Calcium carbonate contents, using laboratory and airborne hyperspectral measurements* . Geophysical Research Abstracts, Vol. 10, EGU2008 A 02109, 2008
- [39] González Dugo, M P; Mateos, L. *Spectral vegetation indices for benchmarking water productivity of irrigated cotton and sugarbeet crops*. Agricultural water management 95 (2008) 48 58
- [40] He, Y;Huang, M; García, A; Hernández, A; Song, H. *Prediction of soil macronutrients content using near infrared spectroscopy*. Computers and Electronics in Agriculture 58 (2007) 144 153
- [41] Henriksen, T.M; Korsæth,A; Breland, T A; Stenberg, B; Jensen, L S; Bruun, S; Gudmundsson, J; Palmason, F; Pedersen, A; Salo, T J. *Step-wise chemical digestion, near-infrared spectroscopy or total N measurement to take account of decomposability of plant C and N in a mechanistic model*. Soil Biology & Biochemistry 39 (2007) 3115 3126.
- [42] Hong-jiang, Z; Jin-hong, W; Li-jun, L; Ying, L; Hua, Y; Xin-qiao, Y; Xiao-shan, W; Liang, C; Han-wei, M. *Comparison of Near Infrared Spectroscopy Models for Determining Protein and Amylose Contents Between Calibration Samples of Recombinant Inbred Lines and Conventional Varieties of Rice*. Agricultural Sciences in China 2007, 6(8): 941 948
- [43] Huang, Z; Turner, B J; Dury, S J; Wallis, I R; Foley, W J. *Estimating foliage nitrogen concentration from HYMAP data using continuum removal analysis*. Remote Sensing of Environment 93 (2004) 18 29
- [44] Huber, S; Kneubuhler, M; Psomas, A; Itten, K; Zimmermann, N E. *Estimating foliar biochemistry from hyperspectral data in mixed forest canopy*. Forest Ecology and Management 256 (2008) 491 501

- [45] Imanishi, J; Sugimoto, K; Morimoto, Y. *Detecting drought status and LAI of two Quercus species canopies using derivative spectra*. Computers and Electronics in Agriculture 43 (2004) 109 129
- [46] Jago, R A; Cutler, M E J and Curran, P J. *Estimating Canopy Chlorophyll Concentration from Field and Airborne Spectra*.
- [47] Janik, L J; Cozzolino, D; Damberg, R; Cynkar, W; Gishen, M. *The prediction of total anthocyanin concentration in red-grape homogenates using visible-near-infrared spectroscopy and artificial neural networks*. Analytica Chimica Acta 594 (2007) 107 118
- [48] Jirsa, O; Hrušková, M; Svec, I. *Near-infrared prediction of milling and baking parameters of wheat varieties*. Journal of Food Engineering 87 (2008) 21 25
- [49] Jorgensen, N R; Christensen, L K. *Nutrient Stress Discrimination of N, P, and K Deficiencies in Barley Utilising Multi-band Reflection at Sub-leaf Scale*.
- [50] Kawasaki, M; Kawamura, S; Tsukahara, M; Morita, S; Komiya, M; Natsuga, M. *Near-infrared spectroscopic sensing system for on-line milk quality assessment in a milking robot*. Computers and electronics in agriculture 63 (2008) 22 27
- [51] Kooistra, L; Wehrens, R; Leuven, R.S.E.W; Buydens, L.M.C. *Possibilities of visible near-infrared spectroscopy for the assessment of soil contamination in river floodplains*. Analytica Chimica Acta 446 (2001) 97 105.
- [52] Labbé, N; Lee, S; Cho, H; Jeong, M K; André, N. *Enhanced discrimination and calibration of biomass NIR spectral data using non-linear kernel methods*. Bioresource Technology (2008) doi:10.1016/j.biortech.2008.02.052
- [53] Lagacherie, P; Baret, F; Feret, J; Netto, J M; Robbez Masson, J M. *Estimation of soil clay and calcium carbonate using laboratory, field and airborne hyperspectral measurements*. Remote Sensing of Environment 112 (2008) 825 835.
- [54] Larrahondo, J E; Palau, F J y Ramírez, C. *Espectroscopia de Infrarrojo Cercano NIR. Principios Generales. Determinacion de Nitogeno en tejido foliar de cana de azucar: Calibracion y Validacion del equipo Bran-Luebbe, modelo InfrAlyzer 500 Serie Procesos Industriales No1*. Centro

- de Investigacion de la Cana de Azucar de Colombia. Cali, Colombia Diciembre 2001. ISSN 1657 7329.
- [55] Lesch, S M. *Sensor directed response surface sampling designs for characterizing spatial variation in soil properties*. Computers and Electronics in Agriculture 46 (2005) 153 179
- [56] Li, H; Payne, W A; Michels, G J; Rush, C M. *Reducing plant abiotic and biotic stress: Drought and attacks of greenbugs, corn leaf aphids and virus disease in dryland sorghum*. Environmental and Experimental Botany 63 (2008) 305 316.
- [57] Liu, F; He, Y; Wang, L. *Determination of effective wavelengths for discrimination of fruit vinegars using near infrared spectroscopy and multivariate analysis*. Analytica chimica acta 615(2008) 10 17
- [58] Liu, F; He, Y; Wang, L; Pan, H. *Feasibility of the use of visible and near infrared spectroscopy to assess soluble solids content and pH of rice wines*. Journal of Food Engineering 83 (2007) 430 435
- [59] Liu, L; Cozzolino, D; Cynkar, W.U; Damberg, R.G; Janik, L; O'Neill, B.K; Colby, C.B; Gishen, M. *Preliminary study on the application of visible near infrared spectroscopy and chemometrics to classify Riesling wines from different countries*. Food Chemistry 106 (2008) 781 786
- [60] Liu, Y; Chen, X; Ouyang, A. *Nondestructive determination of pear internal quality indices by visible and near-infrared spectrometry*. LWT Food Science and Technology xx (2008) 1 6
- [61] Maleki, M R; Mouazen, A M; Ramon, H; De Baerdemaeker, J. *Optimization of soil VIS NIR sensor-based variable rate application system of soil phosphorus*. Soil & Tillage Research 94 (2007) 239 250
- [62] Maleki, M R; Mouazen, A M; De Ketelaere, B; Ramon, H; De Baerdemaeker, J. *On the go variable rate phosphorus fertilisation based on a visible and near infrared soil sensor*. BIOSYSTEMS ENGINEERING 99 (2008) 35 46
- [63] Mandal, U K; Victor, U.S; Srivastava, N.N; Sharma, K.L; Ramesh, V; Vanaja, M; Korwar, G.R; Ramakrishna, Y.S. *Estimating yield of sorghum using root zone water balance model and spectral characteristics of crop in a dryland Alfisol*. Agricultural water management 87 (2007) 315 327

- [64] Mariotti, M; Ercoli, L; Masoni, A. *Spectral Properties of Iron-Deficient Sunflower Leaves*. REMOTE SENS. ENVIRON, 58:282 288 (1996)
- [65] Min, M; Lee, W S; Burks, T F; Jordan, J D; Schumann, A W; Schueller, J K; Xie, H. *Design of a hyperspectral nitrogen sensing system for orange leaves*. Computers and electronics in agriculture 63 (2008) 215 226
- [66] Mirik, M; Michels Jr. , G.J; Kassymzhanova-Mirik, S; Elliott, N.C. *Reflectance characteristics of Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) stress and abundance in winter wheat*. Computers and Electronics in Agriculture 57 (2007) 123 134
- [67] Monteiro, S T; Minekawa, Y; Kosugi, Y; Akazawa, T; Oda, K. *Prediction of sweetness and amino acid content in soybean crops from hyperspectral imagery*. ISPRS Journal of Photogrammetry & Remote Sensing 62 (2007) 2 12
- [68] Moros, J; Llorca, I; Cervera, M.L; Pastor, A; Garrigues, S; de la Guardia, M. *Chemometric determination of arsenic and lead in untreated powdered red paprika by diffuse reflectance near-infrared spectroscopy*. Analytica chimica acta 613 (2008) 196 206
- [69] Muhammed, H H. *Hyperspectral Crop Reflectance Data for characterising and estimating Fungal Disease Severity in Wheat*. Biosystems Engineering (2005) 91 (1), 9 20.
- [70] Muhammed, H H;Larsolle, A. *Feature Vector Based Analysis of Hyperspectral Crop Reflectance Data for Discrimination and Quantification of Fungal Disease Severity in Wheat*. Biosystems Engineering (2003) 86 (2), 125 134
- [71] Mutanga, O y Skidmore, A K. *Red edge shift and biochemical content in grass canopies*. ISPRS Journal of Photogrammetry & Remote Sensing 62 (2007) 34 42
- [72] Naumann, J C; Young, D R; Anderson, J E. *Leaf chlorophyll fluorescence, reflectance, and physiological response to freshwater and saltwater flooding in the evergreen shrub, Myrica cerifera*. Environmental and Experimental Botany 63 (2008) 402 409
- [73] Nicolai, B M; Beullens, K; Bobelyn, E; Peirs, A; Saeys, W; Theron, K I; Lammertyna, J. *Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review*. Postharvest Biology and Technology 46 (2007) 99 118

- [74] Noh, H.; Zhang, Q;Shin,B ; Han,S; Feng, L. *A Neural Network Model of Maize Crop Nitrogen Stress Assessment for a Multi spectral Imaging Sensor*. Biosystems Engineering (2006) 94 (4), 477 485
- [75] Numata, I; Roberts, D A; Chadwick, O A; Schimel, J P; GalvÃ£o, L S; Soares, J V. *Evaluation of hyperspectral data for pasture estimate in the Brazilian Amazon using field and imaging spectrometers*. Remote Sensing of Environment 112 (2008) 1569 1583
- [76] Ondimu, S; Murase, H. *Water stress detection in Sunagoke moss (Rhammitrium canescens) using combined thermal infrared and visible light imaging techniques* BIOSYSTEMS ENGINEERING
- [77] Osborne, S L;Schepers, J. S; Francis, D. D and Schlemmer M. R. *Detection of Phosphorus and Nitrogen Deficiencies in Corn Using Spectral Radiance Measurements* Agronomy Journal Vol 94(6) 1215 1221 November December 2002
- [78] Pedro, A M C; Ferreira, M M C. *Simultaneously calibrating solids, sugars and acidity of tomato products using PLS2 and NIR spectroscopy* Analytica Chimica Acta 595 (2007) 221 227
- [79] Pérez-Marín, D; Garrido-Varo, A; De Pedro, E; Guerrero-Ginel, J E. *Chemometric utilities to achieve robustness in liquid NIRS calibrations: Application to pig fat analysis*. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 87 (2007) 241 246
- [80] Preys, S; Roger, J.M; Boulet, J.C. *Robust calibration using orthogonal projection and experimental design. Application to the correction of the light scattering effect on turbid NIR spectra*. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 91 (2008) 28 33
- [81] Rivard, B; Feng, J; Gallie, A; Sanchez-Azofeifa, A. *Continuous wavelets for the improved use of spectral libraries and hyperspectral data*. Remote Sensing of Environment (2008).doi: 10.1016/j.rse.2008.01.016
- [82] Rodrigues, L O; Cardoso, J P; Menezes, J C. *The use of FT-NIR for API content assay in organic solvent media: A single calibration for multiple downstream processing streams*. Talanta 75 (2008) 1203 1207
- [83] Rodrigues, L O; Vieira, L; Cardoso, J P; Menezes, J C. *The use of NIR as a multi-parametric in situ monitoring technique in filamentous fermentation systems*. Talanta 75 (2008) 1356 1361

- [84] Roggo, Y; Chalus, P; Maurer, L; Lema-Martinez, C; Edmond, A; Jent, N. *A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 44 (2007) 683 700
- [85] Salomonsen, T; Jensen, H M; Stenbaek, D; Engelsen, S B. *Chemometric prediction of alginate monomer composition: A comparative spectroscopic study using IR, Raman, NIR and NMR*. Carbohydrate Polymers 72 (2008) 730 739
- [86] Sepulcre Cantó, G; Zarco Tejada, P.J; Jiménez Muñoz, J C; Sobrino, J A; Soriano, M A; Fereres, E; Vega, V; Pastor, M. *Monitoring yield and fruit quality parameters in open-canopy tree crops under water stress. Implications for ASTER Remote Sensing of Environment*, Volume 107, Issue 3, 12 April 2007, Pages 455 470
- [87] Shanahan, J F; Kitchen, N R; Raun, W R; Schepers, J S. *Responsive in season nitrogen management for cereals*. Computers and electronics in agriculture 61 (2008) 51 62
- [88] Shao, Y; He, Y; Gómez, A H; Pereir, A G; Qiu, Z; Zhang, Y. *Visible Near infrared spectrometric technique for nondestructive assessment of tomato Heatwave (*Lycopersicum esculentum*) quality characteristics*. Journal of Food Engineering 81 (2007) 672 678
- [89] Smith, K.L; Steven, M.D; Colls, J.J. *Use of hyperspectral derivative ratios in the red-edge region to identify plant stress responses to gas leaks*. Remote Sensing of Environment 92 (2004) 207 217
- [90] Stevens, A; Wesemael, B V; Bartholomeus, H; Rosillon, D; Tychon, B; Ben Dor, E. *Laboratory, field and airborne spectroscopy for monitoring organic carbon content in agricultural soils*. Geoderma 144 (2008) 395 404
- [91] Suárez, L; Zarco Tejada, P.J; Sepulcre Cantó, G; Pérez Priego, O; Miller, J.R; Jiménez-Munoz, J.C; Sobrino, J. *Assessing canopy PRI for water stress detection with diurnal airborne imagery*. Remote Sensing of Environment 112 (2008) 560 575
- [92] Sulub, Y; LoBrutto, R; Vivilecchia, R; Wabuye, B. *Near infrared multivariate calibration updating using placebo: A content uniformity determination of pharmaceutical tablets*. Vibrational Spectroscopy 46 (2008) 128 134

- [93] Tewari, J C; Dixit, V; Cho, B; Malik, K A. *Determination of origin and sugars of citrus fruits using genetic algorithm, correspondence analysis and partial least square combined with fiber optic NIR spectroscopy*. Spectrochimica Acta PartA (2008). doi: 10.1016/j.saa.2008.03.005
- [94] Veselá, A; Barros, A S; Synytsya, A; Delgadillo, I; Copíková, J; Coimbra, M A. *Infrared spectroscopy and outer product analysis for quantification of fat, nitrogen, and moisture of cocoa powder*. Analytica chimica acta 601 (2007) 77 86
- [95] Westerhuis, J A, de Jong, S; Smilde, A K . *Direct orthogonal signal correction*. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 56 (2001). 13 25
- [96] Wold, S; Sjoström, M; Eriksson, L. *PLS regression: a basic tool of chemometrics* . Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 58 (2001). 109 130
- [97] Xiaobo, Z; Jiewen, Z; Yanxiao, L. *Selection of the efficient wavelength regions in FT NIR spectroscopy for determination of SSC of Fuji apple based on BiPLS and FiPLS models*. Vibrational Spectroscopy 44 (2007) 220 227
- [98] Xie, L; Ying, Y; Ying, T. *Combination and comparison of chemometrics methods for identification of transgenic tomatoes using visible and near-infrared diffuse transmittance technique*. Journal of Food Engineering 82 (2007) 395 401
- [99] Xu, L; Zhou, Y; Tang, L; Wu, H; Jiang, H; Shen, G; Yu, R. *Ensemble preprocessing of near-infrared (NIR) spectra for multivariate calibration* Analytica chimica acta 616 (2008) 138 143
- [100] Yang, Z; Rao, M.N; Elliott, N.C; Kindler, S.D; Popham, T.W. *Using ground based multispectral radiometry to detect stress in wheat caused by greenbug (Homoptera: Aphididae) infestation*. Computers and Electronics in Agriculture 47 (2005) 121 135
- [101] Yan-de, L; Yi-bin, Y; Xiaping, F; Huishan, L. *Experiments on predicting sugar content in apples by FT NIR Technique*. Journal of Food Engineering 80 (2007) 986 989
- [102] Ying, Y; Liu, Y. *Nondestructive measurement of internal quality in pear using genetic algorithms and FT-NIR spectroscopy*. Journal of Food Engineering 84 (2008) 206 213

- [103] Zhang, M; Qin, Z; Liu, X; Ustin, S L. *Detection of stress in tomatoes induced by late blight disease in California, USA, using hyperspectral remote sensing*. International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation 4 (2003) 295 310
- [104] Zhao, C; Liu, L; Wang, J; Huang, W; Song, X; Li, C. *Predicting grain protein content of winter wheat using remote sensing data based on nitrogen status and water stress*. International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation 7 (2005) 1 9
- [105] Zhao, D.H ; Li, J L; Qi, J.G. *Identification of red and NIR spectral regions and vegetative indices for discrimination of cotton nitrogen stress and growth stage*. Computers and Electronics in Agriculture 48 (2005) 155 169
- [106] Zhao, D; Reddy, K R; Kakani, V G; Reddy, V R. *Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum*. Europ. J. Agronomy 22 (2005) 391 403
- [107] Zhu, D; Ji, B; Meng, C; Shi, B; Tu, Z; Qing, Z. *The application of direct orthogonal signal correction for linear and non-linear multivariate calibration*. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 90 (2008) 108 115