

Índices de reflectancia espectral de pigmentos en hojas de cultivos andinos

Spectral-reflectance indices of pigments in leaves of Andean crops

Walter Mario Solano Reynoso. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú walter.solano@unsch.edu.pe ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5432-6052>

Abraham Villantoy Palomino. Instituto Nacional de Innovación Agraria. Ayacucho, Perú. avillantoy@inia.gob.pe ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5301-3708>

Renato Soca Flores. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú renato.soca@unsch.edu.pe ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9469-3287>

Noel Torres Huaripaucar. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. noel.torres@unsch.edu.pe ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3204-8274>

Juan Zenón Dávalos Prado. Instituto de Química Física “Rocasolano”- CSIC. Madrid, España. jdavalos@iqfr.csic.es ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5835-6371>

Recibido 22-12-2022

Aceptado 20-06-2023

DOI: <https://doi.org/10.15446/acag.v72n1.106493>

Resumen

Para esta investigación se estudiaron los índices de reflectancia espectral de pigmentos (clorofila, antocianina y carotenoides) contenidos en hojas de 6 variedades de cultivos andinos registrados en el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) de Ayacucho, Perú: maíz de grano blanco (MB) INIA 620 Wari y maíz de grano y tusa de color morado INIA 615 Negro Canaán (MM)

(*Zea mays*); tubérculos de papa color blanca (PB) de la variedad Yungay y tubérculos de papa de color roja (PR) INIA 316 Roja Ayacuchana (*Solanum tuberosum*); y quinua de grano blanco (QB) de la variedad Blanca de Junín y de grano rojo (QR) INIA 620 Pasankalla (*Chenopodium quinoa*). Los índices se determinaron a partir de datos de reflectancia espectral $R(\lambda)$ entre 350 y 2500 nm, obtenidos mediante el espectrorradiómetro ASD FieldSpec 4, entre el 17 de febrero y el 9 de marzo de 2020, tiempo dividido en tres periodos bien definidos (inicial, crítico y final). Las medidas directas de reflectancia $R(\lambda)$ en la región visible mostraron una mayor presencia de antocianinas en la quinua roja (QR) que en el resto de cultivos. Los 4 índices de clorofila calculados (SR, NDCI, Chl_{RE} , Chl_{green}) tienen el mismo comportamiento hacia el descenso para cada cultivo estudiado, por lo que puede utilizarse cualquiera de ellos en la cuantificación del contenido de clorofila. La quinua roja, a diferencia de los otros, mostró una tendencia al incremento en la última medición. Para los índices de antocianinas y carotenoides los índices utilizados muestran también el mismo comportamiento en cada cultivo, es decir, tendencia a la disminución o estabilización, como en la QB, QR Y PR. En el caso del índice de la razón carotenoides/clorofila (Car/Chl) no se da la misma tendencia en cada cultivo; sin embargo, el índice CC_{lHE} es el que mejor se acomoda en los 6 cultivos, por mostrar más estacionariedad para todos los cultivos. No obstante, es recomendable validar su uso para cada cultivo.

Palabras claves: antocianina, carotenoides, *Chenopodium quinoa*, clorofila, *Solanum tuberosum*, *Zea mays*.

Abstract

In this study, spectral reflectance indices of pigments (chlorophyll, anthocyanin, and carotenoids) contained in leaves of six varieties of Andean crops registered in the National Institute of Agrarian Innovation (INIA) of Ayacucho, Peru, were studied: white grain maize (MB) INIA 620, Wari and purple corn and cob INIA 615 Black Canaan (MM) (*Zea mays*), white potato tubers (PB) of the Yungay variety and red potato tubers (PR) INIA 316 Ayacuchana Red (*Solanum tuberosum*), and white grain quinoa (QB) of the

Blanca de Junín variety and red grain (QR) INIA 620 Pasankalla (*Chenopodium quinoa*). These indices were determined from spectral reflectance data $R(\lambda)$ between 350 and 2500 nm, obtained using the ASD FieldSpec 4 spectroradiometer between February 17th and March 9th, 2020, the time span was divided into three well-defined periods (initial, critical, and final). Direct measurements of reflectance $R(\lambda)$ in the visible region showed a greater presence of anthocyanins in QR red quinoa than in the other crops. The four calculated chlorophyll indices (SR, NDCI, Chl_{RE} , Chl_{green}) had the same downward behavior for each crop studied, and any of them can be used to quantify the chlorophyll content. Red quinoa, unlike the others, showed an increasing trend in the last measurement. For the anthocyanin and carotenoid indices, they showed the same behavior in each crop, that is, a tendency to decrease or stabilize as in QB, QR and PR. In the case of the ratio index of carotenoids/chlorophyll (Car/Chl), the same trend did not occur in each crop, however, the CCI_{HE} index is the one that best accommodated to the six crops, as it showed more stationarity for all of them. Nevertheless, it is advisable to validate its use for each crop.

Keywords: anthocyanin, carotenoids, *Chenopodium quinoa*, chlorophyll, *Solanum tuberosum*, *Zea mays*.

Introducción

Los cultivos en los Andes peruanos se desarrollaron desde el surgimiento de la civilización andina, lo cuales se adaptaron a condiciones orográficas (de 0 a 4200 m s. n. m.), microclimáticas y entornos muy variados e, incluso, extremos. En las últimas décadas el área de estos cultivos se ha incrementado notablemente tanto en el Perú y Andes sudamericanos, como en otras regiones del mundo, gracias a que sus productos tienen un elevado valor nutricional con efectos beneficiosos para la salud (*healthier foods*). Varios de los cultivos andinos, como determinadas variedades de quinua (*Chenopodium quinoa*), papas nativas (*Solanum tuberosum*) o maíz (*Zea mays*) han logrado adaptarse y desarrollarse en alturas incluso mayores de 2500 msnm, donde predominan

condiciones medioambientales extremas, como, por ejemplo, la intensa radiación solar, particularmente en el rango UV.

Por otro lado, es conocida la función clave de la clorofila en la fotosíntesis de las plantas (Covshoff, 2018; Croce *et al.*, 2018; Jacquemond y Ustin, 2019) y la dependencia del contenido de esta con el tipo de cultivo y las condiciones ambientales del crecimiento de la planta. Es también conocida la importancia de cuantificar el contenido de otros pigmentos de las hojas, como carotenoides y antocianinas, que desempeñan funciones complementarias y un rol protector en la fotosíntesis, a manera de atenuantes y antioxidantes frente a la radiación solar (Zulfiqar *et al.*, 2021; Maslova *et al.*, 2021; Stetsenko *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2020).

En las últimas décadas los métodos ópticos se han convertido en herramientas efectivas para la estimación del contenido de clorofila y otros pigmentos de las hojas vegetales, con la disponibilidad de instrumentos que permiten estimar dichos pigmentos. Así, el conocimiento de la reflectancia espectral de las hojas tiene un interés especial, ya que a través de ella se puede estimar el contenido de pigmentos, tanto *in situ* como a distancia, midiendo la radiación reflejada por las hojas. Para ello se han definido índices de valores de reflectancias a determinadas longitudes de onda, teniendo en cuenta que hay fuerte absorción de luz en la región “azul” (baja reflectancia), débil en la “verde” (fuerte reflectancia), absorción intensa en la “roja” (débil reflectancia) y una intensa reflectancia en el infrarrojo cercano (NIR) (Jacquemond y Ustin, 2019).

Entre el fondo rojo y la cima del NIR está el denominado *borde rojo*, punto sensible al contenido de clorofila y definido como un punto de inflexión de la curva rojo-NIR (Gitelson *et al.*, 1996). Las ventajas de las medidas de reflectancia frente a las de absorbancia han sido descritas por Richardson *et al.* (2002) y se han asociado distintas expresiones de índices de contenido de clorofila (Jacquemoud y Ustin, 2019), como, por ejemplo, los índices de la razón y diferencia normalizada (Lichtenthaler *et al.*, 1996), que consideran inversas de la reflectancia en el borde rojo y NIR (Gitelson *et al.*, 2009; Gitelson y Solovchenko, 2017). Muchos índices se han utilizado en diferentes

investigaciones, como el contenido de clorofila en verduras (Xue y Yang, 2009) y el estudio de tolerancia del maíz a las heladas (Obeidat *et al.*, 2018). Por su parte, Li *et al.* (2019) evaluaron distintos índices para el análisis de la dependencia angular de la reflectancia en las hojas, basados en propuestas anteriores.

En cuanto a las evaluaciones del contenido de antocianinas, hay aportes importantes que han llevado a proponer índices validados para obtener información del contenido de estos pigmentos (Gitelson y Solovchenko, 2017). También se han evaluado índices del contenido de carotenoides basados en las bandas de reflectancia de las hojas (Gitelson *et al.*, 2006; Kong *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2017; Wong *et al.*, 2020; He *et al.*, 2022).

Los contenidos de clorofila (Chl) y carotenoides (Car) en las plantas son bajos al inicio del crecimiento y se incrementan en las etapas estacionales. La razón carotenoides/clorofila (Car/Chl) es un buen indicativo del desarrollo de la planta y, por tanto, un índice recomendable para monitorear el impacto medio ambiental en el desarrollo de un cultivo, lo que se asocia al desarrollo “normal” a una razón Car/Chl constante en el tiempo (estacionario) (Merzlyak *et al.*, 1999; Kong *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2017; Wong *et al.*, 2020; He *et al.*, 2022), antes del inicio de la senescencia de la planta.

De tal manera, el objetivo del presente trabajo fue evaluar distintos índices de reflectancia espectral de pigmentos básicos, como clorofila, antocianinas y carotenoides, en hojas de algunas variedades de cultivos andinos (quinua, papa, maíz). Para determinar estos índices se tomaron en cuenta parámetros de bandas críticas de reflectancia espectral de las hojas, como el borde rojo, el máximo de reflectancia en la región “verde” o el NIR, región donde no se produce absorción de la luz por pigmentos (Jackemoud y Ustin, 2019). Los índices evaluados permitieron monitorear el estado de desarrollo y adaptabilidad al medio ambiente de los cultivos andinos, que fueron considerados bajo las mismas condiciones del suelo, clima y suministro de agua, con lo cual se obtuvieron diferencias y similitudes en las variaciones de los índices calculados.

Materiales y métodos

Los estudios se realizaron en el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) ubicado en el distrito de Andrés Avelino Cáceres, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, Perú. Este Lugar está situado a 2700 m s. n. m. con coordenadas geográficas 13°9'17" S, 74°13'33" O. Para ello se consideraron 6 cultivos: i/ 2 de maíz de las variedades INIA 620 Wari de grano blanco (MB) e INIA 615 Negro Canaán de grano morado (MM); ii/ 2 de papas de las variedades Yungay de tubérculos blancos (PB) e INIA 316 Roja Ayacuchana de color rojo (PR); y iii/ 2 de quinua de las variedades Blanca de Junín de grano blanco (QB) e INIA 415 Pasankalla de grano rojo (QR). Los cultivos fueron sembrados en enero de 2020 y se desarrollaron bajo condiciones de régimen de lluvias y complementadas con riego por gravedad en condiciones normales de crecimiento. Los datos se tomaron entre el 17 de febrero y el 9 de marzo de 2020, periodo en el que aún no había ocurrido la floración de las papas ni la formación de inflorescencias como espigas en el maíz y panojas en la quinua. El periodo completo de 3 semanas, que incluyó 4 medidas, fue dividido en tres partes: primera semana o "periodo inicial", segunda semana o "periodo crítico", donde hubo disminución de lluvias, y finalmente la tercera semana o "periodo final".

Las mediciones de las reflectancias espectrales se realizaron con un espectrorradiómetro ASD Field Spec 4 en un rango de 350 a 2500 nm e intervalos de medida de 1 nm. Se registraron medidas directas (entre las 10 a. m. y 12:00 m.) sobre 3 hojas de cada cultivo elegidas aleatoriamente para cada variedad estudiada. Antes del cálculo de los índices, se aplicó el filtro de Savitzky-Golay (Savitzky y Golay, 1964; Press *et al.*, 2007), que consiste en un algoritmo polinomial flexible muy utilizado para eliminar el ruido y suavizar los datos. Los índices fueron determinados para cada conjunto de datos, luego promediados y seguidamente se determinó la desviación cuadrática media (RMSE) según la fórmula:

$$\text{RMSE} = \sum_i \frac{(\bar{x} - x_i)^2}{n},$$

Donde \bar{x} es la media y n el número de datos.

Para el cálculo de los índices de reflectancia se tomaron en cuenta los siguientes parámetros ópticos: 720 nm para el borde rojo, 560 nm para el máximo de la región verde, 520 nm para el borde azul-verde y 800 nm para la meseta de reflectancia del NIR. En la Tabla 1 se resumen los índices utilizados en este trabajo y sus respectivas referencias.

Resultados y discusiones

En la Figura 1 se muestran las curvas de reflectancia ($R = R(\lambda)$) de los 6 cultivos andinos en las que se indican las diferentes regiones del espectro donde se ubican los parámetros ópticos (bandas y longitudes de onda) utilizados para determinar los diferentes índices de reflectancia en las regiones visible e infrarrojo-cercano (NIR). El mínimo de la reflectancia en la región “rojo” se sitúa en torno a 670 nm, a partir del cual hay una subida abrupta hasta llegar a la “meseta” del NIR. El borde rojo (R_{RE}) corresponde al punto de inflexión de la curva ($R = R(\lambda)$). La meseta del NIR se da aproximadamente desde 780 nm hasta 900 nm. En los cálculos de los índices de reflectancia se consideró la reflectancia del NIR a 800 nm (R_{800}).

En la Figura 2, se muestran los valores medios de las reflectancias espectrales de la región visible medidas en los 4 períodos. En ella se puede apreciar que el maíz blanco (MB) y la quinua blanca (QB) tienen reflectancias $R(\lambda)$ más altas que las correspondientes al maíz morado (MM) y a la quinua roja (QR); mientras que las $R(\lambda)$ de la papa blanca (PB) y roja (PR) no tienen diferencias significativas. De acuerdo con Gitelson *et al.* (2001), las hojas de cultivos con menor reflectancia (o mayor absorción) en la región “verde” contendrían más antocianinas. En este contexto, en la Figura 2 (d), se representan las $R(\lambda)$ de todos los cultivos con el pico en la región “verde”, donde el pico de menor valor corresponde a la QR, indicando que contendría una mayor proporción de antocianinas y las de menor contenido de este pigmento se darían para el maíz blanco y la quinua blanca (MB, QB), lo cual se manifiesta en el cultivo mediante un color verde oscuro de las hojas de las variedades de maíz morado y quinua roja. La papa blanca (PB) y roja (PR) tendrían prácticamente las

mismas proporciones en el contenido antocianina-clorofila, por ello se observan en el cultivo hojas de color verde muy similares. La meseta de la región NIR de la Figura 1 muestra disparidades en las alturas de la reflectancia, lo que se debe a la poca absorción de la luz, es decir, alta reflectancia, y a las heterogeneidades particulares de la estructura de cada hoja (Jacquemoud y Ustin, 2019).

En la Figura 3 se muestran, en función de las fechas en las que se realizaron las mediciones, los 4 índices de clorofila calculados: la razón simple (SR), el índice de clorofila de diferencia normalizada (NDCI), el índice de clorofila del borde rojo (Chl_{RE}) y el índice de clorofila del máximo del verde (Chl_{green}); además se establecen 3 periodos de medida (inicial, crítico y final). La evolución de SR es similar a la de NDCI para cada cultivo debido a que el segundo es una normalización del primero. Lo característico de los 4 índices es la similitud con la que descende cada tipo de cultivo, lo cual se observa más pronunciadamente en la papa blanca, seguida de la papa roja y del maíz blanco. En el maíz morado y la quinua blanca se observan similitudes en su descenso con a un valor constante, mientras que en la quinua roja se observa un ligero incremento de los 4 índices para el tercer periodo.

Hay numerosos estudios que relacionan el contenido de clorofila y el de nitrógeno de las hojas utilizando métodos ópticos, donde el incremento de uso de nitrógeno por la planta tiene que ver con el aumento de clorofila de las hojas (Baret *et al.*, 2007; Miao *et al.* 2009; Padilla *et al.*, 2019; Fu *et al.*, 2021; Mendoza-Tafolla *et al.*, 2022; Lu *et al.*, 2023). Los resultados de la disminución del contenido de clorofila observados en la Figura 3 para los 4 índices espectrales del contenido de clorofila evidenciarían que habría una disminución de la nitrogenación de los cultivos, lo cual es explicable si se considera que no se ha utilizado ningún tipo de fertilizante en los cultivos. También hay que tener en cuenta que en el periodo intermedio de las mediciones hubo escasez de lluvias, lo cual es otro factor que influenciaría en la disminución del índice de clorofila. Sin embargo, en la cuarta medición se observa un ligero incremento del índice de clorofila de la quinua roja, lo que representa un comportamiento positivo diferente de este cultivo respecto a los

otros, e indica que es una especie mejor adaptada para captar más nitrógeno que los demás cultivos. Se sabe que la quinua roja se desarrolla en condiciones climáticas adversas, y a futuro será interesante investigar los mecanismos fisiológicos de este cultivo para su resiliencia, como también las similitudes y diferencias con la quinua blanca y el maíz morado.

Los índices de antocianinas ARI y mARI, se muestran en la Figura 4. En los 6 cultivos se observa un descenso de los índices de antocianinas. La evolución de ambos índices es similar tanto para el MB y la PR, como también se da con el MM, la PR y la QB. Para la QR se aprecia una tendencia al ascenso de los 2 índices de antocianinas. Estos comportamientos se asemejan a los índices de clorofila de la Figura 3. Teniendo en cuenta que los cultivos se han desarrollado en la temporada natural de lluvias, en la que las horas de nubes compiten con las de Sol, no se estimula el incremento del contenido de antocianinas debido a su rol fotoprotector de la fotosíntesis cuando la radiación solar es más prolongada e intensa (Pietrini *et al.*, 1998; Gitelson *et al.*, 2006; Stetsenko *et al.*, 2020; Zheng *et al.*, 2021).

Los índices de carotenoides mostrados en la Figura 5 también se comportan de manera similar a los índices de antocianinas debido al rol protector y colaborativo de los carotenoides en la fotosíntesis, que estimulan su activación especialmente en etapas de intensa radiación solar para disipar el deterioro del proceso fotosintético (Gitelson *et al.*, 2006, Maslova *et al.*, 2021; Sun *et al.*, 2022). Los 4 índices fueron validados por sus autores para diferentes especies utilizadas en las investigaciones; en ningún caso se utilizaron cultivos andinos ni alturas como las que se estudiaron en este trabajo, sin embargo, es importante observar las similitudes del comportamiento de estos índices, como, por ejemplo, el descenso evidente en la PB, el MB y el MM, y la tendencia a mantenerse constante después del descenso en la PR, la QB y la QR. Tratándose de cuantificar carotenoides en las hojas de cultivos andinos, posiblemente podrían utilizarse cualquiera de los índices de la Tabla 1.

En las gráficas de las relaciones de Carotenoides/Clorofila (Car/Chl) mostradas en la Figura 6 se observan comportamientos diferentes que

necesitan ser analizados para cada especie e índice. A la disminución de la relación Car/Chl se le atribuye ser indicativa de la senescencia de la planta, para lo cual se han propuesto varios índices en los últimos años (Zhou *et al.*, 2019; Wong *et al.*, 2020; He *et al.*, 2022). Sin embargo, para el índice CCl_{He} de los 6 cultivos se observa cierta estacionalidad indicativa de la no senescencia; de manera análoga también se da con el índice CCRI, aunque se evidencian sus ascensos en la PB, la PR y la QB. Hay que tener en cuenta que las mediciones espectrales se realizaron en una etapa de crecimiento de los cultivos, anterior a su madurez, y no debería esperarse disminución de estos índices como se da en el caso del índice CCI del MM y la PB, lo cual nos indica que este índice no sería adecuado para ser utilizado en estos cultivos.

Igualmente, es importante destacar la evolución de todos los índices considerados para la quinua roja (QR), pues alcanza situaciones estacionarias en el periodo crítico, mientras que en el periodo final se observa una tendencia ascendente o de recuperación de niveles de clorofila, carotenoides y antocianinas. Estos resultados indicarían una mejor adaptabilidad al suelo y al entorno medioambiental natural de la QR, con su comportamiento diferenciado en el índice de clorofila, lo que le atribuye una mejor adaptación a alturas de 2700 m s. n. m. e, incluso, mayores que esta, dado que a 3000 m s. n. m la quinua roja encuentra también su hábitat natural (Apaza *et al.*, 2013).

Conclusiones

Se estudió la evolución de 6 índices de reflectancias espectrales $R(\lambda)$ de pigmentos en hojas de 6 variedades de cultivos andinos, agrupados en 2 variedades de quinua, 2 de papa y 2 de maíz. Los resultados permitieron evaluar índices de reflectancia de clorofila, antocianinas, carotenoides y de la razón carotenoide-clorofila a lo largo de 3 periodos (entre el 17 de febrero y el 9 de marzo de 2020), cada uno de una semana de duración: “inicial”, “crítico” (disminución de lluvias) y “final”.

Los valores medios de $R(\lambda)$ registrados, particularmente en la región verde y a lo largo de tres periodos de medida, indicarían una mayor presencia de

antocianinas en la quinua roja QR que en el resto de cultivos, de tal manera que es posible establecer la siguiente relación cualitativa de concentración de antocianinas: $QR > PR \approx PB > MM > QB \approx MB$.

Para cada cultivo, el comportamiento de los 4 índices de clorofila es similar, lo cual indica que cualquiera de ellos podría ser utilizado para la cuantificación del contenido de clorofila. Esto es una ventaja cuando se busca el monitoreo remoto del estado de los cultivos, tal como el satelital o actualmente mediante drones. El descenso de los índices de clorofila se puede atribuir a las limitaciones en la captación del nitrógeno, ya que no se utilizaron fertilizantes en los cultivos. El ascenso en la tercera etapa que se da en la quinua roja muestra un comportamiento particular de este cultivo e invita a una exploración futura para un mejor entendimiento de sus mecanismos fisiológicos.

Una situación análoga se observa en los índices de antocianinas y carotenoides, ya que el comportamiento de los índices es similar en cada tipo de cultivo, aunque diferenciados entre ellos, lo cual significa que cualquiera de los índices podría ser adaptable para cuantificar los contenidos de antocianinas y clorofila.

En cuanto a los índices de la razón Car/Chl , los más adaptables serían el CCI_{He} seguido del $CCRI$, debido a los comportamientos similares en los 6 cultivos. Teniendo en cuenta que las mediciones se realizaron antes de la etapa madura de los cultivos, no debería presentarse disminución del índice Car/Chl que se observó en el índice CCI , por lo cual no se recomienda su uso.

En general, los índices espectrales para determinar pigmentos foliares se siguen investigando y el reto es proponer índices validados para los cultivos andinos.

Agradecimientos

Nuestros agradecimientos a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH) y al Instituto de Innovación Agraria (INIA, Ayacucho) por las facilidades prestadas para el presente trabajo.

Referencias

- Apaza, V.; Cáceres, G.; Estrada, R. y Pinedo, R. (2013). *Catálogo de variedades comerciales de quinua en el Perú*. Lima: Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA; Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación - FAO.
<http://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/76>
- Baret, F.; Houlè, V. y Gué, M. (2007). Quantification of plant stress using remote sensing observations and crop models: The case of nitrogen management. *Journal of Experimental Botany*, 58(4), 869-880.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erl231>
- Covshoff, S. (ed.). (2018). *Photosynthesis. Methods and protocols*. Methods in Molecular Biology, vol. 1770. Human Press.
<https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7786-4>
- Croce, R.; Van Grondelle, R.; Van Amerongen, H. y Van Stokkum, I. (eds.). (2018). *Light harvesting in photosynthesis*. Boca Raton: CRC Press.
<https://doi.org/10.1201/9781351242899>
- Fu, Y.; Yang, G.; Pu, R.; Li, Z.; Li, H.; Xu, X.; Song, X.; Yang, X. y Zhao, C. (2021). An overview of crop nitrogen status assessment using hyperspectral remote sensing: Current status and perspectives. *European Journal of Agronomy*, 124, 126241.
<https://doi.org/10.1016/J.EJA.2021.126241>
- Ghosh, M.; Swain, D. K.; Jha, M. K. y Tewari, V. K. (2013). Precision nitrogen

management using chlorophyll meter for improving growth, productivity and N use efficiency of rice in subtropical climate. *Journal of Agricultural Science*, 5(2), 253-266. <https://doi.org/10.5539/JAS.V5N2P253>

Gitelson, A. y Solovchenko, A. (2017). Generic algorithms for estimating foliar pigment content. *Geophysical Research Letters*, 44(18), 9293-9298. <https://doi.org/10.1002/2017GL074799>

Gitelson, A. A.; Chivkunova, O. B. y Merzlyak, M. N. (2009). Nondestructive estimation of anthocyanins and chlorophylls in anthocyanic leaves. *American Journal of Botany*, 96(10), 1861-1868. <https://doi.org/10.3732/AJB.0800395>

Gitelson, A. A.; Gritz, Y. y Merzlyak, M. N. (2003). Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. *Journal of Plant Physiology*, 160(3), 271-282. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00887>

Gitelson, A. A.; Keydan, G. P. y Merzlyak, M. N. (2006). Three-band model for noninvasive estimation of chlorophyll, carotenoids, and anthocyanin contents in higher plant leaves. *Geophysical Research Letters*, 33(11). <https://doi.org/10.1029/2006GL026457>

Gitelson, A. A.; Merzlyak, M. N. y Chivkunova, O. B. (2001). Optical properties and nondestructive estimation of anthocyanin content in plant leaves. *Photochemistry and photobiology*, 74(1), 38-45. [https://doi.org/10.1562/0031-8655\(2001\)074<0038:OPANEO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1562/0031-8655(2001)074<0038:OPANEO>2.0.CO;2)

Gitelson, A. A.; Merzlyak, M. N. y Lichtenthaler, H. K. (1996). Detection of red edge position and chlorophyll content by reflectance measurements near 700 nm. *Journal of Plant Physiology*, 148(3-4), 501-508. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(96\)80285-9](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(96)80285-9)

He, C.; Sun, J.; Chen, Y.; Wang, L.; Shi, S.; Qiu, F.; Wang, S. y Tagesson, T. (2023). A new vegetation index combination for leaf carotenoid-to-chlorophyll ratio: Minimizing the effect of their correlation. *International Journal of Digital Earth*, 16(1). <https://doi.org/10.1080/17538947.2023.2168772>

Hu, J. G.; Zhang, L. J.; Sheng, Y. Y.; Wang, K. R.; Shi, Y. L.; Liang, Y. R. y Zheng, X. Q. (2020). Screening tea hybrid with abundant anthocyanins and investigating the effect of tea processing on foliar anthocyanins in tea. *Folia Horticulturae*, 32(2), 279-290. <https://doi.org/10.2478/fhort-2020-0025>

Jacquemoud, S. y Ustin, S. (2019). *Leaf optical properties*. Cambridge: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781108686457>

Kong, W.; Huang, W.; Zhou, X.; Song, X. y Casa, R. (2016). Estimation of carotenoid content at the canopy scale using the carotenoid triangle ratio index from in situ and simulated hyperspectral data. *Journal of Applied Remote Sensing*, 10(2), 026035. <https://doi.org/10.1117/1.JRS.10.026035>

- Li, W.; Sun, Z.; Lu, S. y Omasa, K. (2019). Estimation of the leaf chlorophyll content using multiangular spectral reflectance factor. *Plant, Cell & Environment*, 42(11), 3152-3165. <https://doi.org/10.1111/PCE.13605>
- Lichtenthaler, H. K.; Gitelson, A. A. y Lang, M. (1996). Non-destructive determination of chlorophyll content of leaves of a green and an aurea mutant of tobacco by reflectance measurements. *Journal of Plant Physiology*, 148(3-4), 483-493. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(96\)80283-5](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(96)80283-5)
- Lu, Y.; Zhang, X.; Cui, Y.; Chao, Y.; Song, G.; Nie, C. y Wang, L. (2023). Response of different varieties of maize to nitrogen stress and diagnosis of leaf nitrogen using hyperspectral data. *Scientific Reports*, 13(1), 5890. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31887-z>
- Maslova, T. G.; Markovskaya, E. F. y Slemnev, N. N. (2021). Functions of carotenoids in leaves of higher plants (review). *Biology Bulletin Reviews* 11(5), 476-487. <https://doi.org/10.1134/S2079086421050078>
- Merzlyak, M. N.; Gitelson, A. A.; Chivkunova, O. B. y Rakitin, V. Y. (1999). Non-destructive optical detection of pigment changes during leaf senescence and fruit ripening. *Physiologia Plantarum*, 106(1), 135-141. <https://doi.org/10.1034/J.1399-3054.1999.106119.X>
- Mendoza-Tafolla, R. O.; Juárez-López, P.; Ontiveros-Capurata, R. E.; Alia-Tejagal, I.; Guillén-Sánchez, D.; Villegas-Torres, Ó. G. y Chávez-Bárceñas, A. T. (2022). Estimación de la concentración de clorofila, nitrógeno y

biomasa en arúgula (*Eruca sativa* mill.) mediante mediciones portátiles no destructivas. *Bioagro*, 34(2), 151-162. <https://doi.org/10.51372/bioagro342.5>

Miao, Y.; Mulla, D. J.; Randall, G. W.; Vetsch, J. A. y Vintila, R. (2009). Combining chlorophyll meter readings and high spatial resolution remote sensing images for in-season site-specific nitrogen management of corn. *Precision Agriculture*, 10(1), 45-62. <https://doi.org/10.1007/s11119-008-9091-z>

Obeidat, W.; Ávila, L.; Earl, H. y Lukens, L. (2018). Leaf spectral reflectance of maize seedlings and its relationship to cold tolerance. *Crop Science*, 58(6), 2569-2580. <https://doi.org/10.2135/CROPSCI2018.02.0115>

Padilla, F. M.; de Souza, R.; Peña-Fleitas, M. T.; Grasso, R.; Gallardo, M. y Thompson, R. B. (2019). Influence of time of day on measurement with chlorophyll meters and canopy reflectance sensors of different crop N status. *Precision Agriculture*, 20(6), 1087-1106. <https://doi.org/10.2135/cropsci2018.02.0115>

Pietrini, F. y Massacci, A. (1998). Leaf anthocyanin content changes in *Zea mays* L. grown at low temperature: Significance for the relationship between the quantum yield of PS II and the apparent quantum yield of CO₂ assimilation. *Photosynthesis Research*, 58(3), 213-219. <https://doi.org/10.1023/A:1006152610137>

Press, W. H.; Teukolsky, S.; Vetterling, W. T. y Flannery, B. P. (2007).

Numerical recipes. The art of scientific somputing (3° ed.). Cambridge: Cambridge University Press.

Richardson, A. D.; Duigan, S. P. y Berlyn, G. P. (2002). An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytologist*, 153(1), 185-194. <https://doi.org/10.1046/J.0028-646X.2001.00289.X>

Savitzky, A. y Golay, M. J. E. (1964). Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Analytical Chemistry*, 36(8), 1627-1639. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac60214a047>

Stetsenko, L. A.; Pashkovsky, P. P.; Voloshin, R. A.; Kreslavski, V. D.; Kuznetsov, V. V. y Allakhverdiev, S. I. (2020). Role of anthocyanin and carotenoids in the adaptation of the photosynthetic apparatus of purple and green-leaved cultivars of sweet basil (*Ocimum basilicum*) to high-intensity light. *Photosynthetica*, 58(4), 890-901. <https://doi.org/10.32615/PS.2020.048>

Sun, T.; Rao, S.; Zhou, X. y Li, L. (2022). Plant carotenoids: Recent advances and future perspectives. *Molecular Horticulture*, 2(1), 1-21. <https://doi.org/10.1186/S43897-022-00023-2>

Wong, C. Y. S.; D'Odorico, P.; Arain, M. A. y Ensminger, I. (2020). Tracking the phenology of photosynthesis using carotenoid-sensitive and near-infrared reflectance vegetation indices in a temperate evergreen and mixed deciduous forest. *New Phytologist*, 226(6), 1682-1695.

<https://doi.org/10.1111/NPH.16479>

Xue, L. y Yang, L. (2009). Deriving leaf chlorophyll content of green-leafy vegetables from hyperspectral reflectance. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 64(1), 97-106. <https://doi.org/10.1016/J.ISPRSJPRS.2008.06.002>

Zheng, X. T.; Yu, Z. C.; Tang, J. W.; Cai, M. L.; Chen, Y. L.; Yang, C. W.; Chow, W. S. y Peng, C. L. (2021). The major photoprotective role of anthocyanins in leaves of *Arabidopsis thaliana* under long-term high light treatment: Antioxidant or light attenuator? *Photosynthesis Research*, 149(1-2), 25-40. <https://doi.org/10.1007/S11120-020-00761-8>

Zhou, X.; Huang, W.; Kong, W.; Ye, H.; Dong, Y. y Casa, R. (2017). Assessment of leaf carotenoids content with a new carotenoid index: Development and validation on experimental and model data. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 57, 24-35. <https://doi.org/10.1016/J.JAG.2016.12.005>

Zhou, X.; Huang, W.; Zhang, J.; Kong, W.; Casa, R. y Huang, Y. (2019). A novel combined spectral index for estimating the ratio of carotenoid to chlorophyll content to monitor crop physiological and phenological status. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 76, 128-142. <https://doi.org/10.1016/J.JAG.2018.10.012>

Zulfiqar, S.; Sharif, S.; Saeed, M. y Tahir, A. (2021). Role of carotenoids in photosynthesis. En *Carotenoids: structure and function in the human body*

(pp. 147-187). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-46459-2_5

Rev. Acta Agro. Vista preliminar Art. Aceptado

Tabla 1. Índices de reflectancias utilizados

Índice	Fórmula	Referencia
Razón simple (SR)	$SR = \frac{R_{RE}}{R_{NIR}}$	Lichtenthaler <i>et al.</i> , 1996
Índice de clorofila de diferencia normalizada (NDCI)	$NDCI = \frac{R_{NIR} - R_{RE}}{R_{NIR} + R_{RE}}$	Lichtenthaler <i>et al.</i> , 1996
Índice de clorofila del borde rojo e índice de clorofila del máximo verde	$Chl_{RE} = \frac{R_{NIR}}{R_{RE}} - 1,$ $Chl_{green} = \frac{R_{NIR}}{R_{green}} - 1$	Gitelson <i>et al.</i> , 2009; Gitelson y Solovchenko, 2017
Índice de antocianinas	$ARI = \frac{1}{R_{green}} - \frac{1}{R_{RE}},$ $mARI = \left(\frac{1}{R_{green}} - \frac{1}{R_{RE}} \right) R_{NIR}$	Gitelson <i>et al.</i> , 2003; Gitelson y Solovchenko, 2017
Índice de carotenoides del borde rojo y del máximo verde	$Car_{RE} = \left(\frac{1}{R_{520}} - \frac{1}{R_{720}} \right) R_{NIR},$ $Car_{green} = \left(\frac{1}{R_{520}} - \frac{1}{R_{560}} \right) R_{NIR}$	Gitelson <i>et al.</i> , (2006)
Índice de carotenoides CARI	$CARI = \frac{R_{720} - R_{521}}{R_{521}}$	Zhou <i>et al.</i> (2017)
Índice de carotenoides de la razón triangular	$CTRI = \frac{1.2[1.2(R_{800} - R_{550}) - 2.5(R_{670} - R_{550})]}{R_{531}}$	Kong <i>et al.</i> (2016)
Índice de la razón carotenoides/clorofila	$CCI = \frac{R_{532} - R_{630}}{R_{532} + R_{630}}$	Wong <i>et al.</i> (2020)
Índice de la razón carotenoides/clorofila	$CCRI = \frac{(R_{720} - R_{521})R_{705}}{(R_{750} - R_{705})R_{521}}$	Zhou <i>et al.</i> (2019)
Índice de la razón carotenoides/clorofila	$ChI_{RE} = \frac{R_{750} - R_{705}}{R_{705}}, \quad CCI_{He} = \frac{CTRI}{ChI_{RE}}$	He <i>et al.</i> (2022)

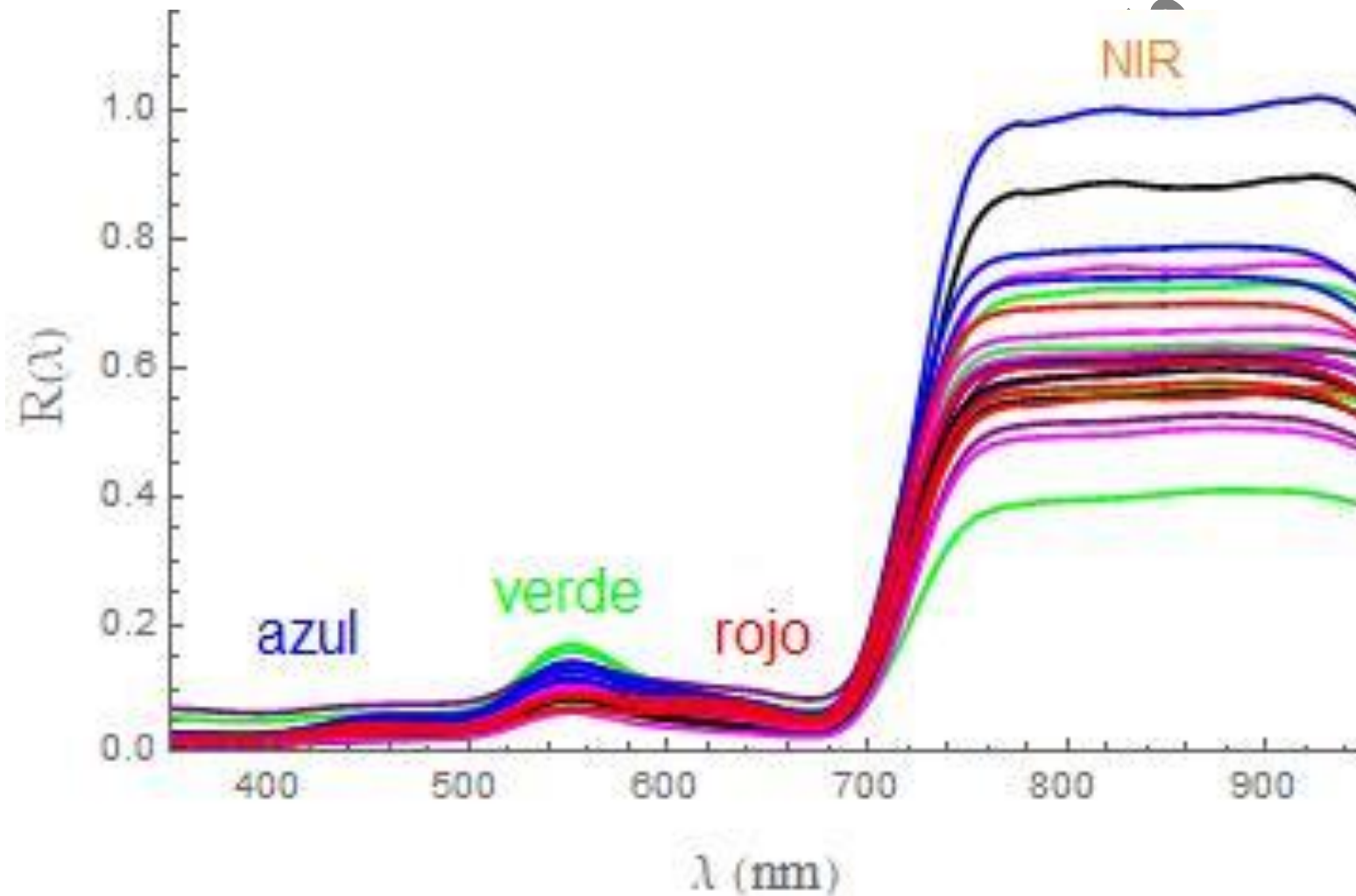


Figura 1. Curvas de reflectancias $R=R(\lambda)$, entre 350 y 950 nm, de hojas de cultivos andinos estudiados.

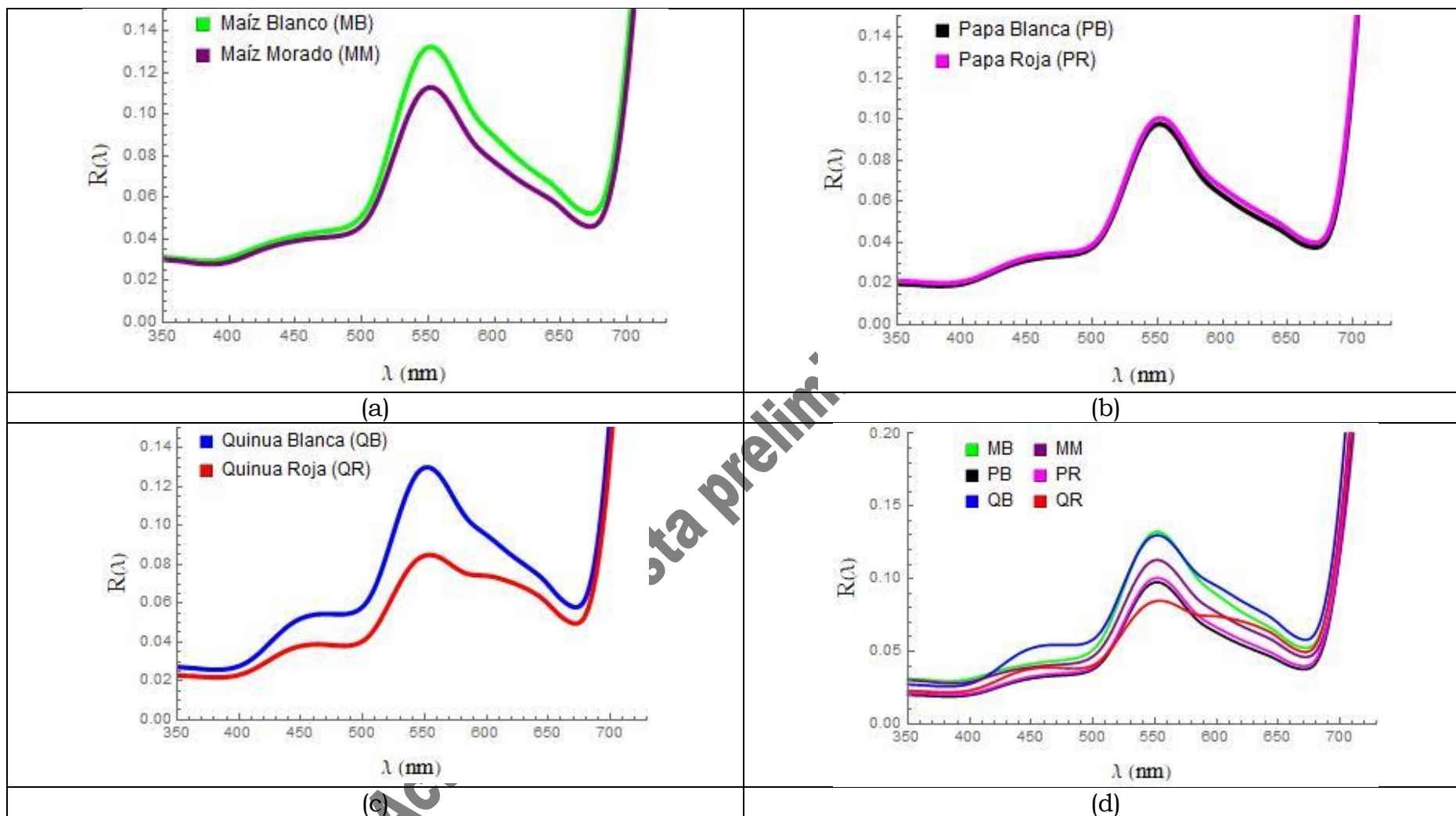


Figura 2. Valores medios de las reflectancias $R(\lambda)$ de las hojas de cultivos andinos estudiados, mostrando solo la parte visible; (a) maíz blanco (MB) y maíz morado (MM); (b) papa blanca (PB) y papa roja (PR); (c) quinua blanca (QB) y quinua roja (QR); (d) de todos los cultivos para apreciar las diferencias entre ellos en el entorno del máximo del “verde”.

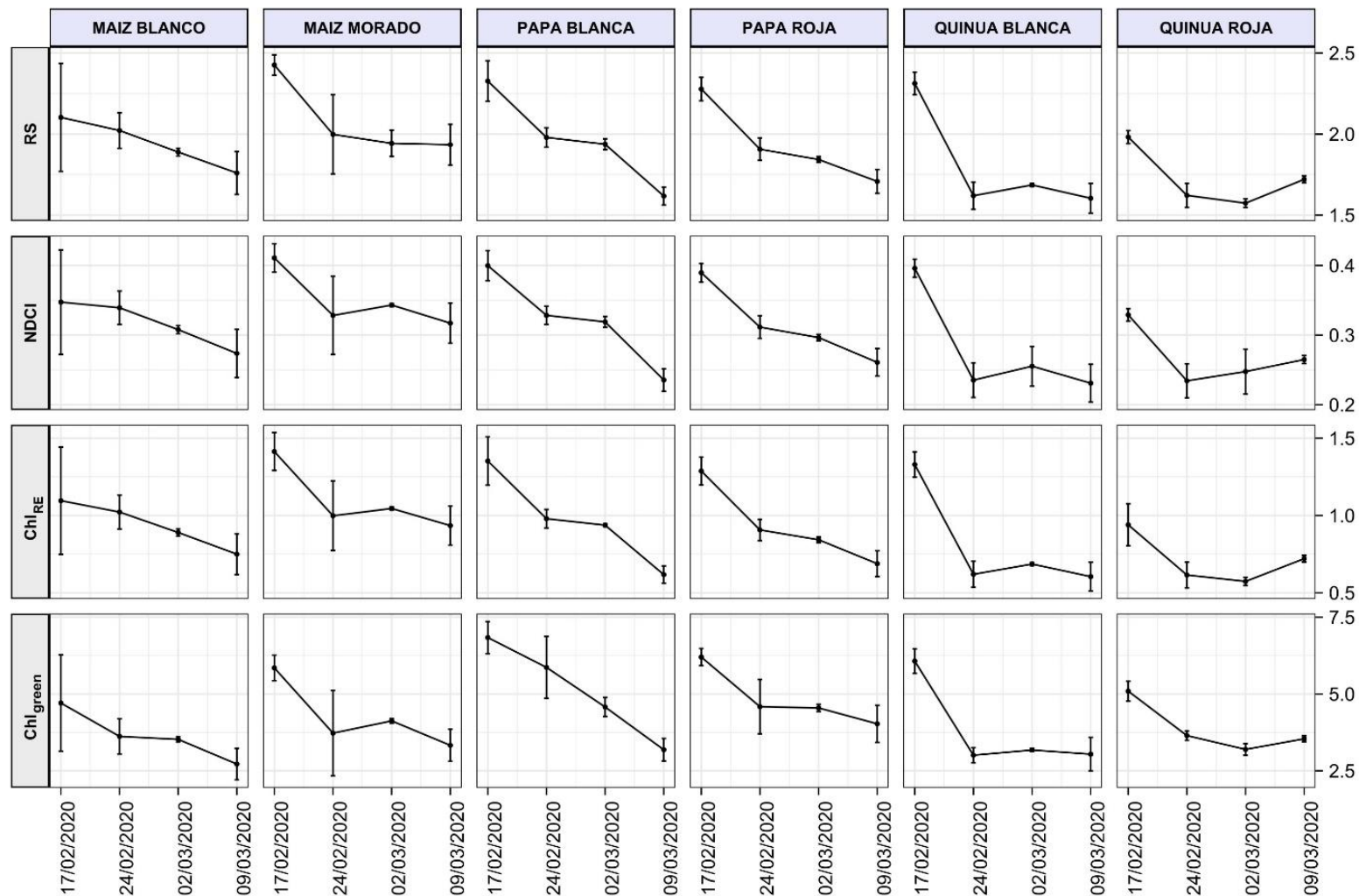


Figura 3. Índice de la razón simple (SR), índice de clorofila de diferencia normalizada (NDCI), índice de clorofila del borde rojo (Chl_{RE}) e índice de clorofila del máximo verde (Chl_{Green}), con sus correspondientes barras de errores.

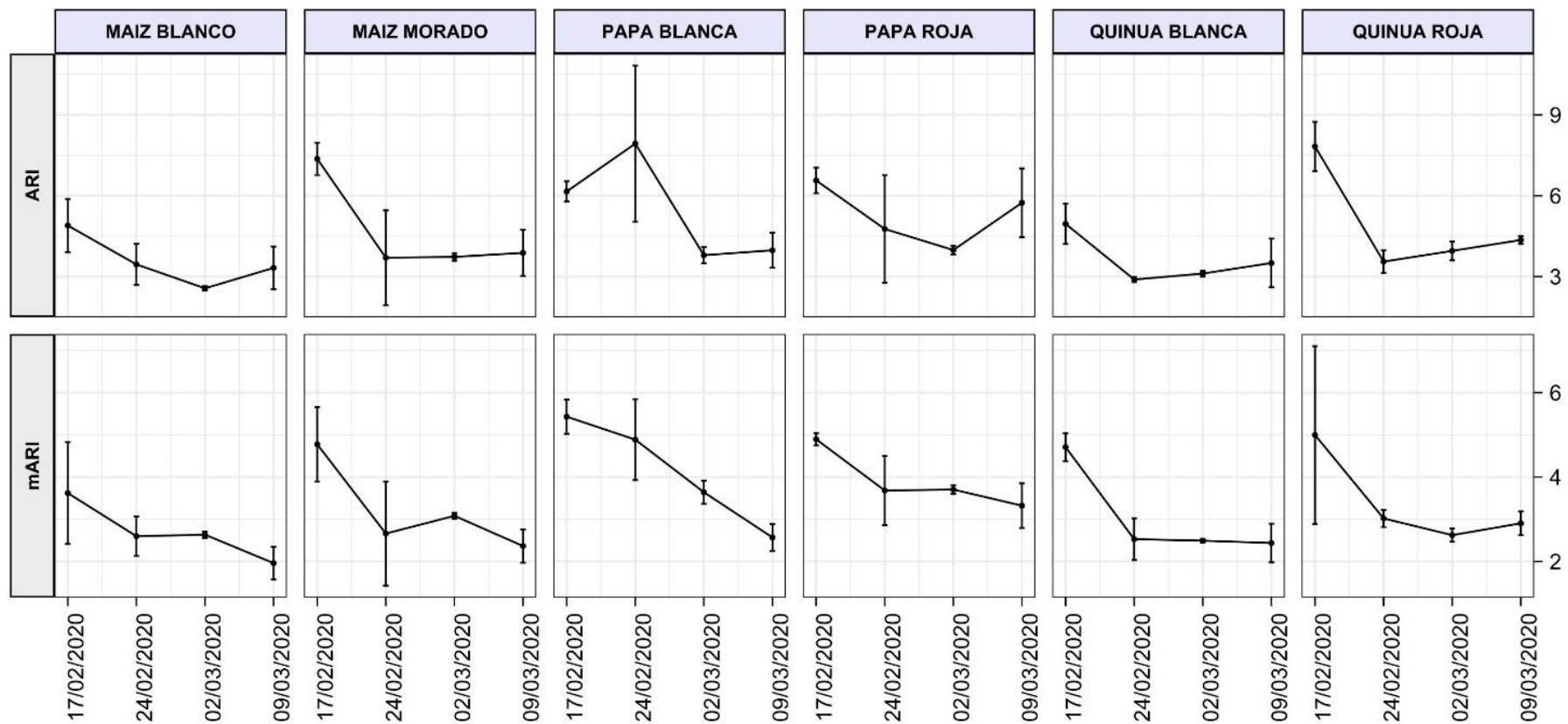


Figura 4. Índice de contenido de antocianinas (ARI) e índice modificado del contenido de antocianinas (mARI) en cultivos andinos.

Rev. Acta Agr.

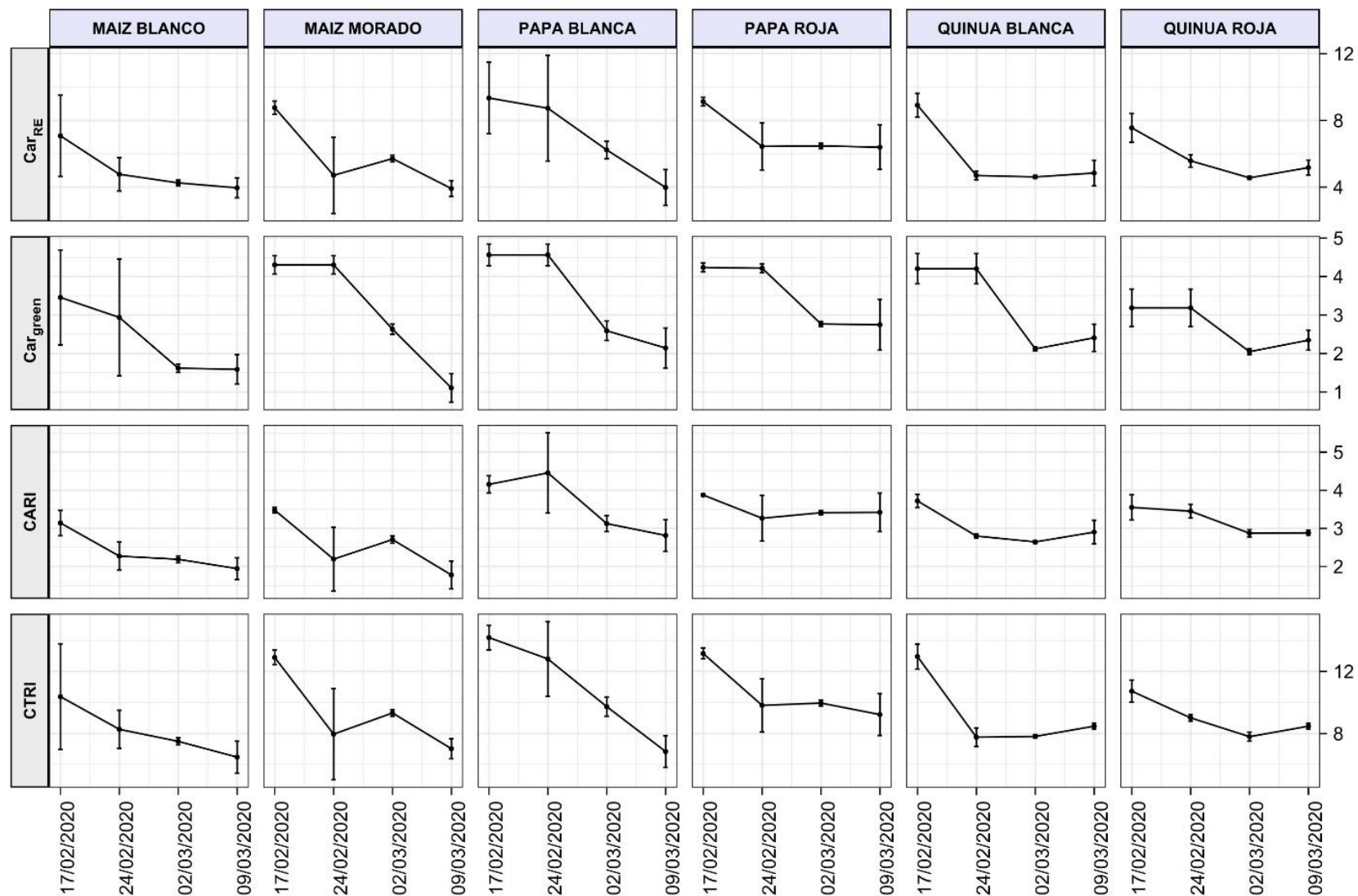


Figura 5. Índice de carotenoides del borde rojo (Car_{RE}), índice de carotenoides del máximo verde (Car_{green}), índice de carotenoides (CARI) e índice de carotenoides de la razón triangular (CTRI) para cultivos andinos.

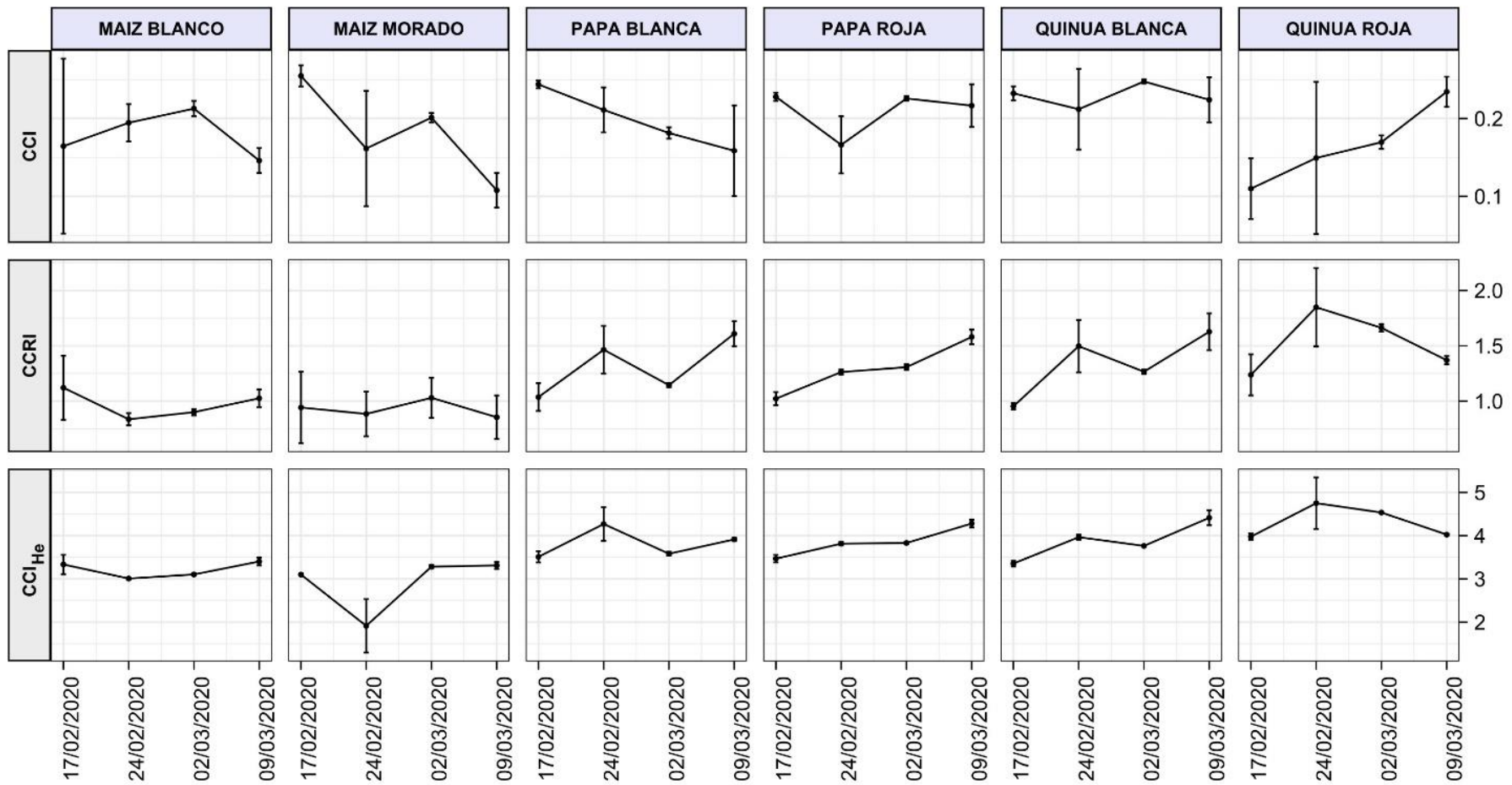


Figura 6. Tres índices de la razón de carotenoides – clorofila (Car/Chl), para los cultivos andinos, de acuerdo con la Tabla 1.

Rev. Act.