

Nota Técnica

Estimación de la concentración de clorofila y su relación con la concentración de proteína cruda en tres especies del pasto *Urochloa* en el Piedemonte Llanero, Colombia

Estimating chlorophyll concentration and its relationship with crude protein concentration in three species of Urochloa in the Piedemonte Llanero, Colombia

ÁLVARO RINCÓN CASTILLO¹, MAURICIO ÁLVAREZ DE LEÓN², OSCAR PARDO BARBOSA¹, MARY ALEJANDRA AMAYA¹ Y RAÚL ALEJANDRO DÍAZ GIRALDO¹

¹Red de Ganadería y Especies Menores, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia), C.I. La Libertad, Villavicencio, Meta, Colombia. www.agrosavia.co

²Red de Cultivos Transitorios, Agrosavia, C.I. La Libertad, Villavicencio, Meta, Colombia. www.agrosavia.co

Resumen

Para conocer la relación entre la intensidad del color verde de las hojas y la concentración de proteína cruda (PC) foliar en los pastos *Urochloa brizantha*, *U. decumbens* y *U. humidicola* en el Piedemonte Llanero de Colombia, se midió la concentración de la clorofila en las hojas (en unidades SPAD), se relacionó con la intensidad del color verde según la Tabla Munsell y se comparó con la concentración de PC determinada por el método Kjeldahl. El análisis de regresión entre las concentraciones de clorofila y PC mostró coeficientes de determinación (r^2) entre 0.76 y 0.88. Aunque los datos obtenidos no permiten generar para las tres especies estudiadas tablas colorimétricas concluyentes basadas en la Tabla Munsell, las relaciones obtenidas son de utilidad para asistir a los productores en sus decisiones sobre la utilización y la fertilización de pasturas de la región.

Palabras clave: Clorofilómetro, índice de verdor, nitrógeno, SPAD, Tabla Munsell.

Summary

To establish the relationship between the intensity of the green color of leaves and their crude protein (CP) concentration in *Urochloa brizantha*, *U. decumbens* and *U. humidicola* pastures in the Piedemonte Llanero, Colombia, the leaf chlorophyll concentration was measured (in SPAD units), classified based on the Munsell color chart and compared with the leaf CP concentration determined by the Kjeldahl method. The regression analysis between chlorophyll and CP concentrations showed coefficients of determination (r^2) between 0.76 and 0.88. While collection of additional data will allow colorimetric charts based on the Munsell color chart to be developed which can be used to predict CP levels for each of these species, the relationships generated can be used to develop recommendations to assist farmers in the region in their decisions on use and fertilizing of these pastures.

Keywords: Chlorophyll meter, leaf greenness, Munsell color chart, nitrogen, SPAD.

Introducción

En gramíneas tropicales el conocimiento de la concentración de nitrógeno (N) es fundamental para la

toma de decisiones en relación con el uso del forraje y la necesidad de fertilización (Pardo y Pérez 2010). Como una alternativa a la determinación de la concentración de N por métodos analíticos convencionales, como el

Correspondencia: Álvaro Rincón C., Agrosavia, C.I. La Libertad, km 17 vía a Puerto López, Meta, Colombia.

Correo electrónico: arincon@agrosavia.co

método Kjeldahl, se ha propuesto la medición de la concentración de clorofila en las hojas y la correlación de la intensidad del color verde con la concentración de proteína cruda (PC) foliar. Esta metodología ha sido exitosamente probada no solo en cultivos como algodón (Neves et al. 2005) y maíz (Argenta et al. 2001; Zotarelli et al. 2003) sino también en algunos pastos, p.ej. *Cynodon dactylon* cv. Tifton 85 (Silva et al. 2009) y *Urochloa brizantha* cv. Marandu (Guimarães et al. 2011).

Esta metodología se basa en que el N es esencial para la formación de la clorofila y hace parte del anillo tetrapirrol que conforma esta molécula (Salisbury y Ross 1994). La concentración de la clorofila se determina con instrumentos como el clorofilómetro y se expresa en grados SPAD (Soil Plant Analysis Development) (Spectrum Technologies 2009). Además, para su determinación se pueden usar equipos con sensores remotos proximales y de contacto que se apoyan en las propiedades reflectivas de las plantas en diferentes regiones del espectro electromagnético (Morais et al. 2011; Zuffo et al. 2012). La intensidad del color verde es cuantificada por comparación utilizando la Tabla Munsell. Esta tabla de colores para tejido de plantas se divide en cinco clases principales: verde, rojo, amarillo, azul y púrpura y presenta subdivisiones como verde-amarillo y amarillo-rojo indicando por un lado, el grado de tono claro u oscuro y por otro el grado de saturación o matiz del color (Munsell Color 1977).

Debido a la alta acidez y baja fertilidad de los Oxisoles que predominan en los Llanos Orientales de Colombia, la producción de biomasa de los pastos cultivados es baja y la calidad nutritiva es afectada principalmente en términos de la concentración de PC (Rincón 2012). Una metodología que permita una rápida evaluación de la concentración de PC foliar en los pastos sería una herramienta útil para la toma de decisiones por parte de los ganaderos respecto al momento apropiado para el ingreso de los animales a las pasturas y para la aplicación de fertilizantes. En este contexto se realizó este estudio, con el objetivo de relacionar las concentraciones de clorofila y PC, y el color de las hojas, en especies de *Urochloa* ampliamente cultivadas en la región de los Llanos Orientales de Colombia.

Materiales y Métodos

El estudio se desarrolló durante la época de lluvias (abril–noviembre) en la Orinoquia colombiana, en la subregión del Piedemonte Llanero que hace parte de la cordillera oriental de los Andes en Colombia, en un Oxisol de la

terrazza media del Centro de Investigación La Libertad de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia), ubicado en el municipio de Villavicencio, Meta, a 9°06' N y 73°4' O, a 330 m.s.n.m. Los pastos estudiados fueron *Urochloa decumbens* (sin. *Brachiaria decumbens*) cv. Decumbens, *U. humidicola* (sin. *B. humidicola*; antes: *B. dictyoneura*) cv. Llanero y *U. brizantha* (sin. *B. brizantha*) cv. Toledo.

Las muestras para los análisis fueron tomadas en pasturas manejadas con pastoreo rotacional y una edad de rebrote entre 25 y 35 días. El muestreo fue dirigido: de cada pasto se eligieron entre 350 y 400 hojas con diferentes tonalidades de color verde. En el tercio medio de cada hoja se determinó la concentración de clorofila (en grados SPAD) con un clorofilómetro portátil (Minolta Chlorophyll Meter SPAD-502®) para formar grupos de rangos de concentración de clorofila. La intensidad del color verde de 50 hojas en cada grupo fue comparada con los valores de referencia en la Tabla de colores Munsell. Las hojas en cada grupo fueron secadas a 60 °C durante 24 horas en estufa para determinar posteriormente la concentración de proteína cruda (%N \times 6.25) por el método Kjeldahl en el Laboratorio de Nutrición Animal de Agrosavia. Para calcular las ecuaciones de regresión entre las concentraciones de clorofila (valores SPAD) y las de PC se usó el programa estadístico SAS 9.3.

Resultados















Los datos obtenidos para cada especie se agruparon en 7 rangos de grados SPAD, con variaciones de 5 unidades para cada rango (Cuadro 1).

Cuadro 1. Rangos de concentración de clorofila en especies de *Urochloa* agrupados por grados SPAD.







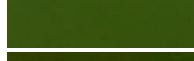







Grupo	Concentración de clorofila (grados SPAD)
1	≤ 20
2	21 – 25
3	26 – 30
4	31 – 35
5	36 – 40
6	41 – 45
7	46 – 50

En los Cuadros 2, 3 y 4 se presentan para cada una de las 3 gramíneas estudiadas las concentraciones de clorofila (en grados SPAD) y de PC, y el color de las respectivas hojas. Se observó un incremento de la concentración de PC y de la intensidad del color verde a medida que incrementó la concentración de clorofila.












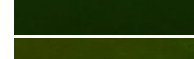


Cuadro 2. Concentración de proteína cruda y color de las hojas en 7 grupos de concentración de clorofila en hojas de *Urochloa decumbens* cv. Decumbens. Llanos Orientales de Colombia.

Rango de concentración de clorofila (grados SPAD)	Proteína cruda (%)	Rango de códigos en Tabla Munsell	Rango de colores según Tabla Munsell	
≤20	7.2	5 GY 6/8 – 7/10		
20 – 25	8.1	5GY 5/8 – 5/10		
26 – 30	9.5	5 GY 4/8 – 5/8		
31 – 35	10.7	5 GY 4/8 – 5/6		
36 – 40	12.6	5 GY 4/6 – 4/8		
41 – 45	15.9	5 GY 4/4 – 4/6		
46 – 50	17.7	5 GY 4/4 – 4/6		

Cuadro 3. Concentración de proteína cruda y color de las hojas en 7 grupos de concentración de clorofila en hojas de *Urochloa brizantha* cv. Toledo. Llanos Orientales de Colombia.

Rango de concentración de clorofila (grados SPAD)	Proteína cruda (%)	Rango de códigos en Tabla Munsell	Rango de colores según tabla Munsell	
≤20	4.5	5 GY 6/8 – 7/8		
20 – 25	5.3	5GY 5/8 – 6/8		
26 – 30	7.4	5 GY 5/8 – 5/6		
31 – 35	7.7	5 GY 5/6 – 4/8		
36 – 40	8.8	5 GY 4/6 – 4/8		
41 – 45	9.6	5 GY 4/4 – 4/6		
46 – 50	12.0	5 GY 4/6 – 4/4		

Cuadro 4: Concentración de proteína cruda y color de las hojas en 7 grupos de concentración de clorofila en hojas de *Urochloa humidicola* cv. Llanero. Llanos Orientales de Colombia.

Rango de concentración de clorofila (grados SPAD)	Proteína cruda (%)	Rango de códigos en Tabla Munsell	Rango de colores según tabla Munsell	
≤20	4.5	5 GY 6/8 – 7/8		
20 – 25	4.7	5GY 5/8 – 6/8		
26 – 30	5.7	5 GY 5/6 – 5/8		
31 – 35	6.6	5 GY 5/6 – 4/8		
36 – 40	7.5	5 GY 4/6 – 4/8		
41 – 45	9.2	5 GY 4/6 – 4/4		
46 – 50	12.5	5 GY 4/4 – 4/6		

En el Cuadro 5 se presenta la relación entre la concentración de clorofila y la de PC en las hojas de las gramíneas estudiadas, con coeficientes de determinación (r^2) que variaron entre 0.76 y 0.88.

Cuadro 5. Ecuaciones de regresión entre las concentraciones de clorofila (grados SPAD) y proteína cruda para los pastos *Urochloa decumbens* cv. Decumbens, *U. brizantha* cv. Toledo y *U. humidicola* cv. Llanero. Llanos Orientales de Colombia.

Pasto	Ecuación	r^2
cv. Decumbens	$Y = 0.12 + 0.3646x$	0.88
cv. Toledo	$Y = 0.73 + 0.2289x$	0.76
cv. Llanero	$Y = 0.504 + 0.202x$	0.84

Discusión

Los resultados mostraron una relación alta ($r^2 = >0.76$) entre la concentración de clorofila y la de PC foliar de las especies estudiadas. Los coeficientes de determinación son similares a los encontrados por Silva et al. (2009) para la relación entre N foliar (g/m^2) y grados SPAD en el pasto Tifton 85 ($r^2 = 0.74$) y por Guimarães et al. (2011) para la relación entre PC y grados SPAD en el pasto *U. brizantha* cv. Marandu ($r^2 = 0.96$).

Los resultados mostraron, además, que en un mismo rango de grados SPAD se presentaron diferencias entre los cultivares con respecto a la concentración de PC, mientras que los códigos de colores de la Tabla Munsell fueron similares. Por ejemplo, el valor más alto de PC correspondió al código 5GY 4/4–4/6 de la Tabla Munsell con 17% de PC para el cv. Decumbens, mientras que este mismo valor Munsell correspondió a 10.5 y 12% de PC para los cvs. Toledo y Llanero, respectivamente. Es posible que estas diferencias sean debidas a diferencias genéticas ya que el cv. Decumbens es un pasto adaptado al bajo suministro de N (Rao et al. 1998) y en condiciones de baja fertilidad presenta mayor concentración de PC (Pardo 1998).

Cuando se relacionó la concentración de clorofila con la de PC y los colores en la Tabla Munsell en un mismo cultivar, se presentó repetición en los códigos, encontrándose cercanía y traslape entre los tonos de verde de los grupos establecidos. Esto podría ser debido a la sensibilidad del ojo humano y la consiguiente subjetividad influenciada por la iluminación del ambiente. De todas maneras, no fue posible establecer para un mismo cultivar una relación entre la concentración de PC y los códigos de la Tabla de colores Munsell. Para una acertada asignación del valor de color Munsell o de algún otro patrón de color, habría que introducir en la metodología la conformación de paneles de análisis sensoriales de color.

Conclusión

Fue posible establecer relación entre la concentración de N (proteína cruda) y la de clorofila (medida en grados SPAD) para los cultivares estudiados. Por tanto el uso de un clorofilómetro portátil tiene el potencial de asistir a los ganaderos en la toma de decisiones sobre prácticas de pastoreo y fertilización en el Piedemonte de los Llanos Orientales de Colombia.

Referencias

(Nota de los editores: todos los enlaces se verificaron el 31 de octubre de 2019.)

- Argenta G; Silva PRF da; Bortolini CG; Forsthofer EL; Strieder ML. 2001. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal 13:158–167. doi: [10.1590/S0103-31312001000200005](https://doi.org/10.1590/S0103-31312001000200005)
- Guimarães MMC; Matsumoto SN; Figueiredo MP; Cruz PG; Araújo GS. 2011. Estimativa da composição química do capim Braquiária cv. Marandú por meio de um clorofilómetro portátil. Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias 4(2):85–91. [bit.ly/2Nsw3r3](https://doi.org/10.1590/2178-9001R20110005)
- Morais RR de; Teixeira PC; Lima WAA de; Rocha RNC da; Castellani DC; Silva AC da. 2011. Relação da leitura do clorofilómetro com os teores de macro e micronutrientes em folíolos de dendezeiro em sistema agroflorestal. Anais do VIII Congresso Brasileiro de Sistemas Agroflorestais, Belém, PA, Brasil. [bit.ly/33iXkTs](https://doi.org/10.1590/2178-9001R20110005)
- Munsell Color. 1977. Munsell color charts for plant tissues. Munsell Color, Baltimore, MD, USA.
- Neves OSC; Carvalho JG de; Martins FAD; Pádua TRP de; Pinho PJ de. 2005. Uso do SPAD 502 na avaliação dos teores foliares de clorofila, nitrogênio, enxofre, ferro e manganês do algodoneiro herbáceo. Pesquisa Agropecuária Brasileira 40(5):71–87. doi: [10.1590/S0100-204X2005000500014](https://doi.org/10.1590/S0100-204X2005000500014)
- Pardo O. 1998. Gramíneas y leguminosas adaptadas a las condiciones de los Llanos Orientales. En: Pardo O; Rincón A; Hess D, eds. Alternativas forrajeras para los Llanos Orientales de Colombia. Boletín técnico 18. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica. Villavicencio, Meta, Colombia. p. 9–22. hdl.handle.net/20.500.12324/18512
- Pardo O; Pérez O. 2010. Alternativas forrajeras para los Llanos Orientales de Colombia. En: Rincón A; Jaramillo CA, eds. Establecimiento, manejo y utilización de recursos forrajeros en sistemas ganaderos de suelos ácidos. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica, Villavicencio, Meta, Colombia. p. 27–73. hdl.handle.net/20.500.12324/12703
- Rao IM; Kerridge PC; Macedo MCM. 1998. Requerimientos nutricionales y adaptación a los suelos ácidos de especies de *Brachiaria*. En: Miles JW; Maass BL; Valle CB do, eds. *Brachiaria: Biology, agronomy, and improvement*. Centro

- Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Cali, Colombia. p. 58–78. hdl.handle.net/10568/55295
- Rincón A. 2012. Concentración de minerales en suelos y fertilización de pastos en los Llanos Orientales de Colombia. En: Rincón A; Jaramillo CA, eds. Manejo de la nutrición mineral en sistemas ganaderos de los Llanos Orientales de Colombia. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica, Villavicencio, Colombia. p. 113–164. hdl.handle.net/20.500.12324/12469
- Salisbury FB; Ross CW. 1994. Fisiología vegetal. 4a Edn. Grupo Editorial Iberoamérica, México D.F.
- Silva RVMM; Rossiello ROP; Barbieri Júnior É; Morenz MJF. 2009. Relação entre o acúmulo foliar de nitrogênio e leituras de um clorofilômetro, no capim Tifton 85. Anais do XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, São José dos Campos, SP, Brasil, 16–17 octubre 2009. bit.ly/2Wl8oaB
- Spectrum Technologies. 2009. SPAD 502 Plus Chlorophyll Meter instruction manual. Spectrum Technologies, Plainfield, IL, USA. bit.ly/34nq65H
- Zotarelli L; Cardoso EG; Piccinin JL; Urquiaga S; Boddey RM; Torres E; Alves BJR. 2003. Calibração do medidor de clorofila Minolta SPAD-502 para avaliação do conteúdo de nitrogênio do milho. Pesquisa Agropecuária Brasileira 38:1117–1122. doi: [10.1590/S0100-204X2003000900014](https://doi.org/10.1590/S0100-204X2003000900014)
- Zuffo AM; Andrade FR; Schossler TR; Milhomem DM; Piauilino AC. 2012. Eficiência na determinação indireta do nitrogênio foliar a partir do índice SPAD. Enciclopédia Biosfera 8:802–820. bit.ly/36sqRMv

(Recibido para publicación 14 mayo 2019; aceptado 23 agosto 2019; publicado 30 noviembre 2019)

© 2019



Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales es una revista científica de acceso abierto publicada por el *Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)*, en asocio con la *Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences (CATAS)*. Este trabajo se publica bajo la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional ([CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)).