

## MEDICIÓN Y ESTIMACIÓN DEL ÁREA FOLIAR EN PLANTAS DE YERBA MATE

Matías M. Skromeda<sup>1</sup>; Sandra P. Molina<sup>1</sup>; Guillermo M. Arndt<sup>1</sup>; Diana V. Ohashi<sup>1</sup>; Maricel G. Balsamo<sup>1</sup>; Hipólito J. Kuzdra<sup>1</sup>; Ramón M. Mayol<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Investigador, Equipo de Yerba Mate y Té, Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul, CR Misiones, INTA. Ruta Nacional 14, km 836, Cerro Azul, Misiones, Argentina. Email: skromeda.matias@inta.gov.ar.

**Resumen:** En yerba mate, el producto de cosecha está compuesto por hojas y ramas finas, siendo el área foliar un parámetro importancia para evaluar el cultivo, por tal motivo, el objetivo de este estudio fue disponer de una metodología práctica para su determinación. Se utilizaron dos metodologías, Gravimétrica y Software ImageJ®. La metodología Gravimétrica determina el área foliar por regla de tres simple, mediante la obtención del peso de un disco de área conocida y el peso de la hoja. El software ImageJ® utiliza fotografías y realiza el cálculo del área en base a una escala conocida. Se evaluaron los factores, estado de madurez de las hojas, puntos cardinales y ubicación en altura de la planta. Luego se determinó el modelo matemático para estimar el área foliar, a través de variables lineales de las hojas, largo (L), ancho (A) y su producto (LxA). Comparando ambos métodos, desde el punto de vista de la facilidad y rapidez, el método del software resultó ser el más adecuado. Los datos fueron analizados con el programa estadístico R® y transformados por el método Box-Cox. Los resultados para el efecto de la ubicación y orientación no presentaron diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ , Tukey), en cambio para el estado de madurez se observaron diferencias significativas, siendo el nivel “hoja madura” seleccionado para la estimación del área foliar, ya que se presenta en mayor proporción durante el ciclo del cultivo y es de fácil identificación. Los modelos obtenidos presentaron alta correlación ( $r$ ) y coeficientes determinación ( $R^2$ ),  $AF = a + bL$  (0,809-0,8995),  $AF = a + bA$  (0,8528-0,9235) y  $AF = a + b(LxA)$  (0,9414-0,9703), respectivamente. Si bien  $LxA$  presenta la mejor  $r$  y  $R^2$  también se podría utilizar el modelo con  $A$  como buen estimador. Las ecuaciones propuestas en la presente investigación pueden ser empleadas sin necesidad de recurrir al muestreo destructivo, según el criterio de cada evaluador y objetivo del estudio.

**Palabras clave:** *Ilex paraguariensis*. Hoja. Superficie. Gravimétrico. ImageJ®.

### Introducción

La yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), perteneciente a la familia Aquifoliaceae, es una especie sudamericana de clima subtropical, preferentemente húmedo, distribuida en el noreste de Argentina, sur de Brasil y este de Paraguay (Giberti, 1979). En Argentina, se concentra en la provincia de Misiones y noreste de Corrientes, siendo el principal productor mundial.

El área foliar está asociada con la mayoría de los procesos agronómicos, biológicos, ambientales y fisiológicos, que incluyen el análisis de crecimiento, la fotosíntesis, la transpiración, la interceptación de luz, la asignación de biomasa y el balance de energía (Kucharik et al., 1998).

En este sentido, el dato del área foliar para cualquier estudio de parámetros que afecten directa o indirectamente el crecimiento es, junto con altura de la planta y diámetro del tallo, uno de los datos más importantes.

La producción de materia seca está estrechamente vinculada con el aprovechamiento de la radiación solar incidente, de la capacidad del canopeo para interceptarla y la eficiencia del cultivo para transformarla (Andrade et al., 1996). En yerba mate, el producto de cosecha está compuesto básicamente por hojas y ramas finas.

Medir la superficie foliar a través de métodos destructivos cosechando un elevado número de hojas puede ser costoso, engorroso y que insume mucho tiempo (Pintro et al., 1998; Antunes et al., 2008). En el caso de yerba mate, se complica aún más al tratarse de una especie de características arbóreas y con gran polimorfismo foliar, incluso en una misma planta.

Como alternativa, existen softwares que utilizan el análisis de imágenes para estimar el área foliar en forma rápida y precisa (Lallana, 1999), aunque también se trata de métodos destructivos.

En este contexto, se han desarrollado otros métodos no destructivos basados en mediciones lineales en la hoja como longitud (L), ancho (A) y el producto de ambas (LxA), que resultan en estimaciones del área foliar de manera económica, rápida y fiable (Williams y Martinson, 2003; Cabezas-Gutiérrez et al., 2009; Karimi et al., 2009; Álvarez et al., 2012). Sin embargo, no toma en cuenta factores externos tales como la morfología foliar, lo cual varía entre especies, estadios de desarrollo, genotipos, etc. (Calderón Puig et al., 2011).

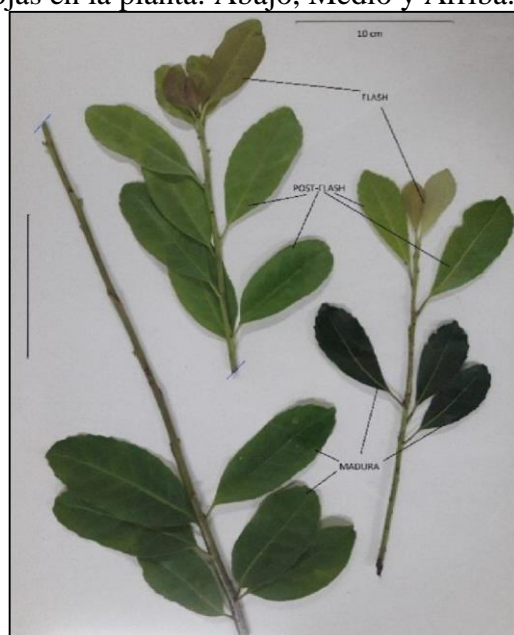
Tampoco se conoce si existe algún tipo de hoja o posición en la planta que se correlacione mejor con el área foliar en la planta de yerba mate.

Por lo antes expuesto, el presente trabajo se realizó con los objetivos de determinar la influencia en el área foliar de *Ilex paraguariensis*, del estado de maduración de las hojas, punto cardinal y altura en la planta, comparar el método gravimétrico con el análisis por imágenes a partir del Software ImageJ® y obtener un modelo matemático para la estimación.

## Metodología

El ensayo fue realizado en noviembre de 2016 en la Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul (INTA), con 6 plantas adultas de yerba mate, mayores a 15 años de edad, creciendo en campo a pleno sol.

Se analizó el efecto sobre el área foliar de la posición cardinal: Este (E), Oeste (O), Norte (N) y Sur (S) de las ramas, el estado de maduración de las hojas: Flash, Post-flash y Madura (**Figura 1**) y la posición en altura de las hojas en la planta: Abajo, Medio y Arriba.



**Figura 1.** Foto de los tres estados de maduración: flash, post-flash y madura.

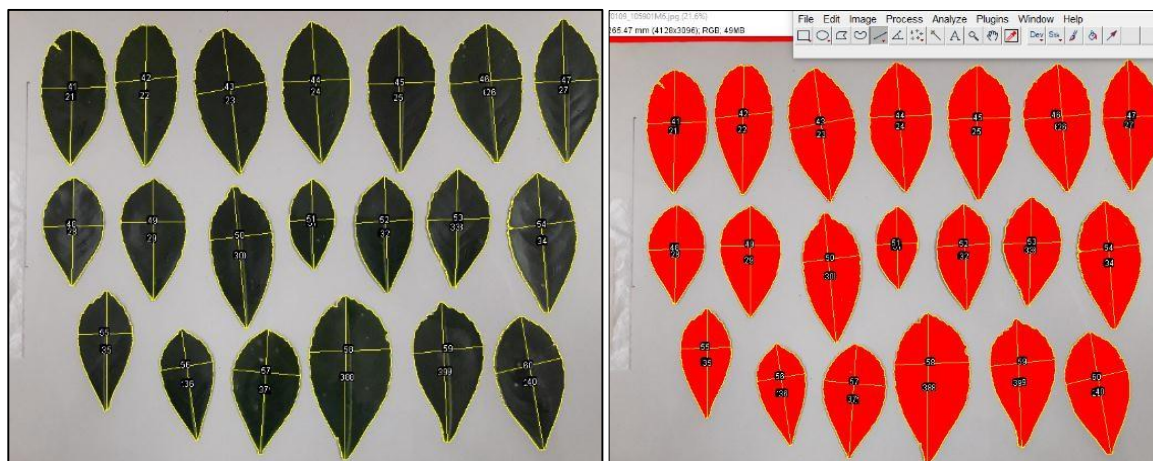
En 200 hojas, de cada planta, se midieron la longitud (L) y el ancho (A) con regla milimetrada. Los dos métodos usados para la determinación del área foliar fueron el método gravimétrico y el análisis de imágenes con el software ImageJ®.

Para el método gravimétrico, se utilizó un sacabocados y se realizó una perforación en cada hoja, obteniendo un disco de área conocida (AD). Se determinó el peso de cada hoja (PH) y del disco (PD), luego se calculó el área de la hoja (AF) con la siguiente fórmula:

$$AF = \frac{AD \cdot PH}{PH}$$

$$AF = \frac{x}{PD}$$

Para la determinación del área foliar con el software ImageJ®, se utilizaron las mismas hojas del método gravimétrico. Se ubicaron sobre una hoja de papel de color blanco con dimensiones conocidas como referencia. Se tomaron las fotografías con una cámara de 13 megapíxeles de resolución, las cuales se procesaron y analizaron (**Figura 2**) para determinar el área de la hoja.



**Figura 2.** Foto procesada por el software ImageJ.

Se utilizaron la longitud, el ancho y el producto de ambos (LxA) como variables independientes y el AF, determinada por cada método, como variable dependiente. Con estos datos se realizaron los respectivos análisis de correlación de Pearson ( $r$ ), los gráficos de dispersión y regresión lineal, buscando la función que más se ajusta al modelo según el coeficiente de determinación ( $R^2$ ).

Por otro lado, se correlacionaron los datos de área foliar obtenidos con ambos métodos y se calculó el coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ).

Los datos fueron analizados con el programa estadístico R® (Core Team, 2016), transformados por el método  $\text{box.cox}(y^\lambda)$ , donde el exponente  $\lambda$  fue calculado para cada variable (Box and Cox, 1964).

## Resultados y Discusión

Los valores de media y desvío estándar, de las distintas variables (longitud, ancho y área de las hojas) para cada factor y nivel estudiado, se resumen en la **Tabla 1**.

Comparando los datos de largo y ancho de los distintos factores y niveles, se observa en el factor madurez, que los niveles flash y post-flash son los que presentan mayor diferencia en la media general y la mediana. Debido a estas diferencias se realizó el análisis de Normalidad.

**Tabla 1.** Resumen de las variables largo y ancho, para cada factor y nivel.

Factor	Nivel	Largo (cm)			Ancho (cm)		
		Mediana	Media	SD	Mediana	Media	SD
Posición	Arriba	7.10	7.221	0.970	3.10	3.125	0.557
	Medio	7.30	7.377	1.134	3.20	3.226	0.621
	Abajo	7.20	7.188	0.928	3.25	3.250	0.524
Orientación	Este	7.20	7.307	0.978	3.20	3.210	0.584
	Oeste	7.30	7.365	0.945	3.30	3.278	0.465
	Norte	7.10	7.208	1.162	3.20	3.143	0.585
	Sur	7.25	7.298	1.025	3.10	3.181	0.509
Madurez	Flash	3.70	3.835	0.745	1.65	1.660	0.360
	Post-flash	6.50	6.395	1.250	2.90	2.985	0.660
	Madura	7.50	7.586	1.212	3.30	3.360	0.636
General	-	7.000	6.878	1.484	3.100	3.042	0.727

Los datos presentaron una distribución diferente a la normal ( $p < 0,001$ , ShapiroWilk), es decir asimétrica con cola hacia la derecha, por lo cual, para realizar el análisis estadístico se utilizaron datos transformados por el método box.cox ( $y^\lambda$ ), donde el exponente  $\lambda$  fue calculado para cada variable (**Tabla 2**).

Efecto de la ubicación, orientación y estado de madurez de hojas.

La luz es uno de los principales factores que regula el área de las hojas, con una relación inversamente proporcional a su incidencia. Las hojas superiores captan la mayor cantidad de luz y son pequeñas, pero estas son las que generan sombreado a los estratos inferiores produciendo un aumento del área foliar.

Del mismo modo, Pes et al. (1995), encontraron que la disminución del área foliar es causada por la degradación de la clorofila en hojas expuestas a luz directa. Los resultados para el efecto de la ubicación no presentaron diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ , Tukey).

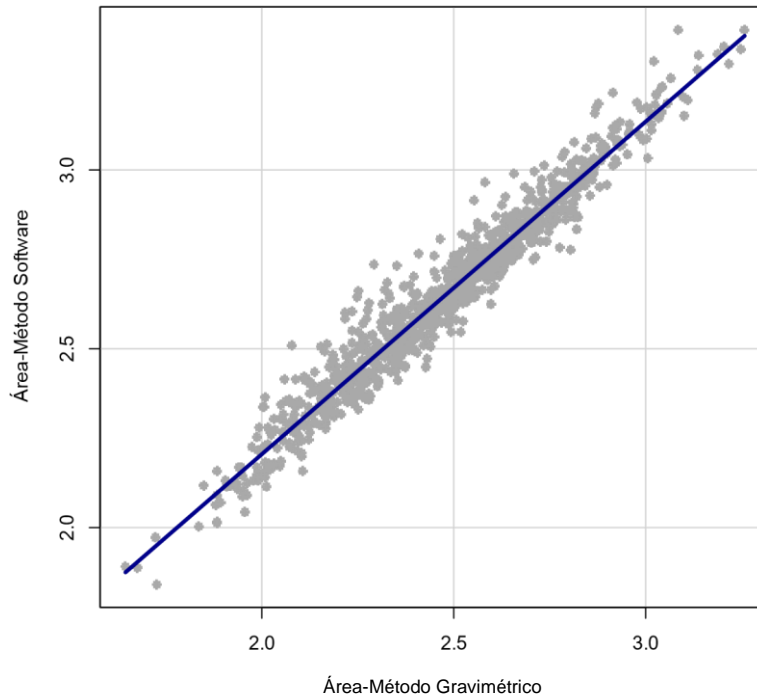
Otro de los factores que puede influir en la captación de luz es la orientación cardinal de las hojas, aquellas ubicadas al E y O reciben la luz de manera más perpendicular por la mañana y tarde respectivamente. Por otro lado, las ubicadas hacia el N y S captan la luz con menor ángulo y menor intensidad. Al analizar los datos, no se observaron diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ , Tukey), indicando que no hubo efecto de la orientación sobre el área foliar.

A medida que la hoja se desarrolla, uno de los cambios visibles se presenta en el aumento del área. Analizando los tres estadios, flash, post-flash y madura se encontraron diferencias significativas en el área foliar ( $p < 0.05$ , Tukey). Debido a que las hojas en estado maduro son más abundantes y se presentan en mayor proporción durante el ciclo del cultivo, se recomienda ese estadio para la estimación del área.

Para poder estimar el área foliar de plantas de yerba mate se deberían seleccionar las hojas teniendo en cuenta solamente el grado de madurez, al no haber influencia de la ubicación en altura ni orientación dentro de la planta.

Comparación entre el método gravimétrico y el software ImageJ®.

De la comparación entre los dos métodos, se encontró que existe una alta correlación entre los mismos ( $r$ -Pearson =  $0,97 \pm 0,0035$ ), por lo que cualquiera de ellos podría utilizarse como herramienta para la estimación del área (**Figura 3**).



**Figura 2.** Gráfica de correlación entre ambos métodos.

En vista a estos resultados, se recomienda la utilización del software ImageJ® por practicidad y rapidez para la determinación del área foliar. Además, podría utilizarse como metodología no destructiva en algunos casos. Como así también Jadoski et al. (2012), al analizar el área foliar en un cultivar de Batata, recomienda el mismo software y Flumignan et al. (2008) aconsejan el análisis por imágenes en café por ser un método no destructivo, de bajo costo y portátil.

**Modelo de Estimación para Área foliar.**

Definido el tipo de hoja a utilizar y considerando la correlación de Pearson entre L, A y Área para ambos métodos, se generan los modelos lineales para la estimación del área foliar (Tabla 2).

**Tabla 2.** Modelos de estimación en función del largo (L), ancho (A) y su producto (LxA)

Modelo	a	b	R <sup>2</sup>	r Pearson	λ		
AF(*) = a + bL	-0.99029 ± (0.057)	2.02578 ± (0.032)	0.809	0.8995	-0.1		
AF(*) = a + bA	1.40008 ± (0.017)	0.81759 ± (0.011)	0.8528	0.9235	0.45	AF(*) = a +	
b(LxA)	0.35632 ± (0.018)	0.62125 ± (0.005)	0.9414	0.9703	0.1		

\* λ para AF= -0.05

Se deduce que los modelos matemáticos pueden ser usados para calcular el área foliar de forma no destructiva con buen ajuste. Los coeficientes de determinación (R<sup>2</sup>) fueron 0,809; 0,8528 y 0,9414, para L, A y LxA, respectivamente.

Valores similares fueron publicados por otros investigadores, para estimar el área individual de la hoja a través de mediciones lineales. Cabezas-Gutierrez et al. (2009) encontraron relaciones de alta precisión para la determinación rápida y económica del área foliar en plantas de *A. acuminata*, *E. pendula* y *Q. humboldtii*. También analizaron la estimación del área foliar través de mediciones lineales, Jadoski et al. (2012) en un cultivar de batata, Flumignan et al. (2008) y Tavares-júnior et al. (2002) en café, Calderón et al. (2009) en mango y aguacatero, entre otros.

## Conclusiones

Desde el punto de vista de la facilidad y rapidez, el método que utiliza el software resultó ser el más adecuado para la estimación del área foliar.

La alta correlación encontrada con el largo y ancho de la hoja, permite también usar uno de estos atributos para estimar el área foliar, siendo el ancho de la hoja el parámetro que mejor se correlaciona con el área foliar. Esto reduce el tiempo de medición y facilita el manejo de la información.

Bajo las condiciones del presente ensayo, el modelo que utiliza las medidas de longitud y ancho de las hojas, producto de la multiplicación de los dos atributos foliares, puede proveer estimaciones de alta precisión para la determinación rápida y económica del área foliar en plantas de *Ilex paraguariensis*. Las ecuaciones propuestas en la presente investigación pueden ser empleadas sin necesidad de recurrir al muestreo destructivo.

## Agradecimientos

Se agradece a todo el equipo de trabajo de “Yerba Mate y Té” de la EEA Cerro Azul, Misiones. Este trabajo fue financiado por Proyecto Regional Territorial Alto Uruguay (PReT-1242103) y Proyecto Nacional Manejo Integrado (PNIND-1108073), del Programa Nacional de Cultivos Industriales.

## Referencia bibliográfica

- ÁLVAREZ, Y.; ÁLVAREZ, E.; CANO, J.; SUESCÚN, D. Modelo matemático para estimar área foliar en árboles del bosque tropical seco en el Caribe colombiano. *Revista Intropica* 7:69-79. 2012.
- ANDRADE, F.; CIRILO, A.; UHART, S.; OTEGUI, M. *Ecofisiología del cultivo de maíz*. Editorial La Barrosa. Buenos Aires. 1996.
- ANTUNES, W.C.; POMPELLI, M.F.; CARRETERO, D.M.; DAMATTA, F.M. Allometric models for non-destructive leaf area estimation in coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*). *Annals of Applied Biology* 153(1):33-40. 2008.
- BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B.* 26 211-46. 1964.
- CABEZAS-GUTIÉRREZ, M.; PEÑA, F.; DUARTE, H.W.; COLORADO, J.F.; LORA SILVA, L. Un modelo para la estimación del área foliar en tres especies forestales de forma no destructiva. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 12(1):121-130. 2009.
- CALDERÓN, A.; SOTO, F.; CALDERON, M.; FUNDORA, L. R. Estimación de área foliar en posturas de mango (*Mangifera indica* L.) y aguacatero (*Persea spp*) en fase de vivero a partir de las medidas lineales de las hojas. *Cultivos Tropicales*, 30(1):43-48. 2009.
- CALDERÓN PUIG, A.A.; CALDERÓN VALDÉS, M.; FUNDORA SÁNCHEZ, L.R.; JERÉZ MOMPIÉ, E. Estimación de área foliar en posturas de mamey (*Pouteria sapota* Jacq.) en fase de vivero, a partir de las medidas lineales de las hojas. *Cultivos Tropicales* 32(2):30-34. 2011.
- FLUMIGNAN, D.L.; ADAMI, M.; TEIXEIRA DE FARIA R. Área foliar de folhas íntegras e danificadas de cafeeiro determinada por dimensões foliares e imagem digital. *Coffee science, Lavras*, 3(1):1-6. 2008.
- GIBERTI, G.C. Las especies argentinas del género *Ilex* L. (Aquifoliaceae). *Flora fanerogámica Argentina. Darwiniana* 22(1-3):217-240. 1979.

- JADOSKI, S.O.; LOPES, E.C.; MAGGI M.F.; SUCHORONCZEK A.; SAITO L.R.; DENEGA, S. Método de determinação da área foliar da cultivar de batata Ágata a partir de dimensões lineares. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*. 33(1):2545-2554. 2012.
- KARIMI, S.; TAVALLALI, V.; RAHEMI, M.; ROSTAMI, A.A.; VAEZPOUR, M. Estimation of leaf growth on the basis of measurements of leaf lengths and widths, choosing pistachio seedlings as model. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 3(2):1070-1075. 2009.
- KUCHARIC, C.J.; NORMAN, J.M.; GOWER, S.T. Measurements of branch area and adjusting leaf area index indirect measurements. *Agricultural and Forest Meteorology* 91:69-88. 1998.
- LALLANA, V.H. Medición del área foliar mediante escáner y software Idrisi. *Revista FAVE* 13(2):27-33. 1999.
- PES, L.; HOPPE, J.M.; STORCK, L.; SANTOS OLIVEIRA, O. Comportamento da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) em consórcio silvicultural. *Ciências Florestais, Santa Maria* 5(1):19-32. 1995.
- PINTRO, J.C.; MATUMOTO-PINTRO, P.T.; FREITAS SCHWAN-ESTRADA, K.R. Crescimento e desenvolvimento de mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em solo sob diferentes níveis de fertilidade. *Acta Scientiarum* 20(3):285-289. 1998.
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2016.
- TAVARES-JÚNIOR, J.E.; FAVARIN, J.L.; DOURADO-NETO, D.; NUNES MAIA, A.H.; FAZUOLI, L.C.; SILVEIRA BERNARDES M. Análise comparativa de métodos de estimativa de área foliar em cafeeiro. *Bragantia, Campinas*, 61(2):199-203. 2002.
- WILLIAMS, L.; MARTINSON, T.E. Nondestructive leaf area estimation of “Niagara” and “DeChaunac” grapevines. *Scientia Horticulturae* 98:493-498. 2003.