

Correlación del contenido de clorofila foliar de la especie *Coffea arabica* con índices espectrales en imágenes*

Correlation of foliar chlorophyll content of the specie *Coffea arabica* with spectral indices in images

SOLIS-PINO, ANDRÉS-FELIPE^{1*}; REVELO-LUNA, DAVID-ARMANDO²;
CAMPO-CEBALLOS, DIEGO-ANDRÉS³; GAVIRIA-LÓPEZ, CARLOS-ALBERTO⁴

Historial del Artículo

Recibido para evaluación: 27 de Mayo 2020.

Aprobado para publicación: 8 de Abril 2021

* Título del proyecto origen: "Fortalecimiento del Semillero de Investigación en Mecatrónica, mediante el desarrollo de un algoritmo para construcción de ortomosaicos aplicado en agricultura de precisión del café". Financiación: Red de Formación de Talento Humano para la Innovación Social y Productiva en el Departamento del Cauca – InnovAcción Cauca. Culminación: 6 de noviembre de 2019

- 1 Corporación Universitaria Comfacauca, Facultad de Ingenierías, Semillero de Investigación Mecatrónica (SIM). Magíster en Computación (c). Popayán, Colombia. <https://orcid.org/0000-0003-3342-0776>
- 2 Corporación Universitaria Comfacauca, Profesor Asociado Facultad de Ingenierías, Grupo de Investigación en Sistemas Inteligentes (GISI). Magíster en Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Popayán, Colombia. <https://orcid.org/0000-0002-3845-8522>
- 3 Corporación Universitaria Comfacauca, Profesor Asociado Facultad de Ingenierías, Grupo de Investigación en Sistemas Inteligentes (GISI). Ph.D. (c) en Ciencias de la Electrónica. Popayán, Colombia. <https://orcid.org/0000-0001-7458-5820>
- 4 Universidad del Cauca, Facultad de Ingeniería Electrónica y Telecomunicaciones. Grupo investigación AI. pH. D en Automatización Avanzada y Robótica. Popayán, Colombia. <https://orcid.org/0000-0002-9773-7660>

Correspondencia: andressolis@unicomfacauca.edu.co

Cómo citar este artículo: SOLIS-PINO, ANDRÉS-FELIPE; REVELO-LUNA, DAVID-ARMANDO; CAMPO-CEBALLOS, DIEGO-ANDRÉS; GAVIRIA-LÓPEZ, CARLOS-ALBERTO. Correlación del contenido de clorofila foliar de la especie *Coffea arabica* con índices espectrales en imágenes. Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, v. 19, n. 2, 2021, p. 57-68. Doi: <https://doi.org/10.18684/bsaa.v19.n2.2021.1388>

RESUMEN

La clorofila es un pigmento fundamental para los procesos fotosintéticos de las especies vegetales y constituye una limitante en la producción agrícola. La estimación del contenido de clorofila foliar (LCC) se realiza generalmente mediante técnicas invasivas de espectrofotometría. Las imágenes multiespectrales y los Índices de Vegetación (IV), constituyen una alternativa importante porque permiten la estimación in situ del pigmento. En este trabajo se pretende encontrar la variabilidad y relaciones entre el contenido localizado de clorofila, de la especie *Coffea arabica*, e IV tomados de imágenes multiespectrales. Se realizó un muestreo de hojas al azar, y se seleccionaron hojas sanas y enfermas. Se estimó el LCC de 60 muestras mediante espectrofotometría y se encontró el coeficiente de correlación con IV. Los mejores indicadores del pigmento fueron los índices GARI, GNDVI y NDVI, entre 14 índices estudiados. Se encontró que la variabilidad de los datos de IV en diferentes zonas de hojas enfermas, concuerda con la distribución de clorofila no homogénea en esas hojas, ya que la degradación de clorofila en esta variedad no se comporta isotrópicamente. Este resultado alienta la posibilidad de usar esta técnica para inferir el estado de salud de esta planta.

ABSTRACT

Chlorophyll is a fundamental pigment for the photosynthetic processes of plant species and constitutes a limitation in agricultural production. The estimation of the content of leaf chlorophyll (LCC) is generally carried out through invasive spectrophotometric techniques. The multispectral images and the Vegetation Indexes (IV) constitute an important alternative because they allow the estimation in situ of the pigment. This work, it is intended to find the variability and relationships between the localized content of chlorophyll, of the *Coffea arabica* species, and IV taken from multispectral images. A random sampling of leaves was carried out, and healthy and sick leaves were selected. The LCC of 60 samples was estimated by spectrophotometry and the correlation coefficient with IV was found. The best indicators of the pigment were the GARI, GNDVI, and NDVI indexes, among 14 indexes studied. It was found that the variability of IV data in different areas of diseased leaves, agrees with the distribution of non-homogeneous chlorophyll in those leaves since chlorophyll degradation in this variety does not behave in an isotropic way. This result encourages the possibility of using this technique to infer the health status of this plant.

INTRODUCCIÓN

El café en el departamento del Cauca es uno de los pilares económicos de la región, porque cuenta con casi 93.000 hectáreas aptas para producción, siendo uno de los principales productores de café de calidad en Colombia. Igualmente, el café caucano es apetecido por su consistencia y homogeneidad (Ceballos and López, 2019). Se ha reconocido la importancia de mantener un estricto control del estado de salud de los

PALABRAS CLAVES:

Contenido de clorofila; Índices de vegetación; Espectrofotometría; Imágenes multiespectrales; Correlación; Cultivos de campo; Agricultura de precisión; Cámaras multiespectrales; NDVI; GARI; GRNDVI.

KEYWORDS:

Leaf chlorophyll content; Vegetation index; Spectrophotometry; Multispectral images; Correlation; Field Crops; Precision agriculture; Multispectral cameras; NDVI; GARI; GRNDVI.

sembradíos de café, para mejorar su calidad. Se ha utilizado la clorofila como un indicador confiable del estado fisiológico de los cultivos y de la productividad primaria de los ecosistemas, permitiendo identificar posibles inconvenientes mediante técnicas espectrofotométricas (De Souza *et al.*, 2019) sufficiency values that identify deficient and sufficient crop N status are required. This work evaluated the ability of three chlorophyll meters (SPAD-502, atLEAF+, and MC-100. Además, se utiliza como medida indirecta para estimar la biomasa de las comunidades vegetales (Grossmann *et al.*, 2018).

Las imágenes multiespectrales son una alternativa para estimar el contenido de clorofila (LCC, por sus siglas en inglés, Leaf Chlorophyll Content) de forma remota y no invasiva mediante índices de vegetación (IV). Los IV son valores numéricos calculados a partir de la reflectancia de las bandas espectrales, cuya función es medir distintas variables (clorofila, biomasa, producción fotosintética). Estas técnicas espectrales permiten una mayor resolución espacial y pueden beneficiar el proceso de gestión de los cultivos (De la Casa *et al.*, 2018).

La determinación del vigor de los cultivos se basa en la cantidad de clorofila de sus hojas (Grossmann *et al.*, 2018). Usando imágenes multiespectrales, se han desarrollado sistemas predictivos para determinar el LCC en caña de azúcar (Paredes *et al.*, 2017) y el maíz (González *et al.*, 2017). Respecto al café, se han desarrollado sistemas de estimación para determinar características como el contenido de nitrógeno (Chemura *et al.*, 2018b), el estrés hídrico (Chemura *et al.*, 2017) y el contenido de clorofila (Chemura *et al.*, 2018a; Widjaja Putra and Soni, 2018). Estos estudios utilizan el espectro electromagnético para determinar indirectamente el pigmento, ya sea, mediante imágenes hiperespectrales o imágenes RGB. Una de las principales limitaciones de estas investigaciones es la frecuencia de las capturas de las imágenes satelitales, además de la baja resolución espacial para los cultivos pequeños (Choi *et al.*, 2005). La utilización de imágenes RGB suele presentar inconsistencias en la determinación de los IV, por su limitación espectral (Hunt *et al.*, 2011). Ninguno de los estudios reportados hasta la fecha sobre cultivos de café de la especie *Coffea arabica* confronta los índices espectrales con medidas de estimación de clorofila en laboratorio. Por lo tanto, de la variedad de índices espectrales propuestos en la literatura, no se conoce cuáles son los mejores estimadores para esta especie vegetal.

Definir los mejores índices de vegetación para cada cultivo constituye un reto importante. Se han encontrado correlaciones alrededor de $\rho=0,66$ entre IV en el espectro del infrarrojo visible e infrarrojo cercano (VIS-NIR) con el LCC, en una variedad de *Sangiovese* (Caruso *et al.*, 2017). También, se ha estimado la relación entre el LCC e IV para *Musa AAA Simmonds* mediante imágenes satelitales. Los resultados sugieren que los coeficientes de correlación más altos fueron con TCARI y MCARI (Pardo, 2015). Aunque se encontraron coeficientes de correlación altos entre el LCC y los IV en varias especies vegetales, concretamente en cultivos de café de la especie *Coffea arabica*. Las investigaciones halladas sugieren que no se han identificado los IV con mayor coeficiente de correlación, con respecto a la estimación de LCC en laboratorio mediante espectrofotometría VIS-NIR (Chemura *et al.*, 2018a; Widjaja Putra and Soni, 2018).

En este trabajo se investiga si los IV, medidos en imágenes multiespectrales, se correlacionan estadísticamente con el LCC medido en laboratorio, para la especie *Coffea arabica* de la variedad Castillo, ya que a la fecha no se conocen estudios similares para esta especie vegetal. El trabajo hace énfasis en el estudio de contenido localizado de clorofila en distintas zonas de las hojas, para encontrar si hay diferencia del contenido entre hojas sanas y enfermas. El resultado principal es que no solamente se encuentra correlación estadística entre IV y LCC, sino que, además, la variabilidad de los indicadores IV concuerda con la variabilidad de la clorofila medida, y ésta es marcadamente diferente entre hojas sanas y enfermas. Este resultado permitiría en trabajos futuros, establecer un método para inferir el estado de salud de las hojas de esta variedad a partir del método estudiado.

MÉTODO

Arreglo experimental

El arreglo experimental fue completamente al azar. Se seleccionaron hojas sanas y enfermas para analizar y correlacionar estadísticamente el LCC con los IV estimados, usando imágenes multiespectrales. Las unidades experimentales de la investigación fueron hojas de café de la especie *Coffea arabica*, la edad aproximada de los cafetos es de tres años, fueron tomadas del parque tecnológico del café (Tecnicafé) con coordenadas geográficas 2°35'11.6"N y 76°33'11.2"W, en el Departamento del Cauca (Colombia), la altura aproximada del cultivo es de 1862 m.s.n.m. y una temperatura ambiente de 12 a 18 °C (Ordoñez-Fernández and Montoya-Bonilla, 2017).

Para los datos obtenidos, se realizó un análisis estadístico preliminar: eliminación de valores atípicos, preprocesado de datos y análisis descriptivo. Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk (González-Estrada and Cosmes, 2019) como prueba de normalidad. Se efectuaron pruebas de correlación de Spearman (Song *et al.*, 2018), para determinar la dependencia entre las variables de respuesta (LCC e IV). Utilizando la ecuación 1, se calculó el Coeficiente de Variación (CV) para las medidas de LCC e IV para determinar la uniformidad de la distribución de clorofila en las hojas sanas y enfermas (cloróticas). Para establecer si la distribución de la clorofila era significativamente diferente entre las hojas sanas y las enfermas, se utilizó la prueba U de Mann-Whitney (Fong and Huang, 2019).

$$Cv = \frac{\sigma}{\bar{x}} \quad (\text{Ec. 1})$$

Siendo la desviación típica y la media de la muestra.

Contenido de clorofila mediante espectrofotometría de laboratorio

Se empleó el espectrofotómetro GENESYS™ 20 para determinar la cantidad de pigmento fotosintético en las hojas de café, siguiendo el procedimiento sugerido por Arnon (Arnon, 1949). Este consistió en moler el tejido vegetal en acetona y realizar el proceso de centrifugación. Después, se tomaron 50 mg de muestra de tejido vegetal y se agregaron 15 mL de acetona al 90 %, luego, la muestra se maceró y se aforó a 6,5 mL con el mismo solvente. Se evitó tomar muestras que contuvieran la nervadura principal y se eligieron aquellas con el menor número de ramificaciones secundarias en las hojas. Posteriormente, se midió la absorbancia (E) de las muestras a longitudes de onda 644 nm, 661 nm, 664 nm y 647 nm, luego se estimó el contenido de clorofila a (*Chl a*) y clorofila b (*Chl b*) de cada muestra en µg/mL, mediante las ecuaciones 2 y 3 (Jeffrey and Humphrey, 1975).

$$Chl a \left(\frac{mg}{ml} \right) = 11,93 E_{644} - 1,93 E_{647} \quad (\text{Ec. 2})$$

$$Chl b \left(\frac{mg}{ml} \right) = 20,36 E_{647} - 5,50 E_{664} \quad (\text{Ec. 3})$$

Determinación de índices de vegetación mediante imágenes multiespectrales

Para la obtención de las imágenes multiespectrales se utilizó la cámara MicaSense Red-Edge®, que captura cinco bandas del espectro electromagnético: azul 475 nm, verde 560 nm, rojo 668 nm, rojo-borde 717 nm y NIR 840 nm. A partir de las bandas espectrales se calcularon 14 IV (Cuadro 1).

La metodología utilizada para la toma de imágenes multispectrales consistió en extraer las hojas del cultivo y realizar la toma fotográfica entre las 10 am y las 12 m, a una altura de 1,0 m. El procesado de las imágenes transformó la intensidad de los píxeles obtenidos en radiancia y luego en reflectancia utilizando un panel de calibración. Este proceso se realizó usando un algoritmo de calibración radiométrica y geométrica desarrollado en Python. Usando las imágenes de reflectancia, para cada uno de los 14 IV, se calculó el índice de vegetación para cada píxel, conformando una imagen para cada uno. Sobre la imagen del índice de vegetación, se seleccionó una región de interés en las hojas y mediante un histograma de frecuencias se calculó la moda para conocer el valor más frecuente en la región de interés. Luego, se recopilaron los datos de la moda y el valor promedio para los 14 índices de vegetación.

Cuadro 1. Índices de vegetación estimados en la investigación.

Índices de vegetación	Índices de vegetación
Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) (Qiu <i>et al.</i> , 2018)	Difference Vegetation Index (DVI) (Choubin <i>et al.</i> , 2019)
Green Normalized Difference Vegetation Index (GNDVI) (Qiu <i>et al.</i> , 2018)	Green Atmospherically Resistant Index (GARI) (Gitelson <i>et al.</i> , 1996)
Green leaf index (GLI) (Hunt <i>et al.</i> , 2011)	Non-Linear Index (NLI) (Al Shidi <i>et al.</i> , 2019)
Chlorophyll Index Green (CI green) (Ranjan <i>et al.</i> , 2019)	Infrared Percentage Vegetation Index (IPVI) (Ranjan <i>et al.</i> , 2019)
Enhanced Vegetation Index (EVI) (Choubin <i>et al.</i> , 2019)	Green-Red NDVI (GRNDVI) (Qiu <i>et al.</i> , 2018)
Green Normalized Difference Red Edge Index (NDRE) (Hunt <i>et al.</i> , 2011)	Atmospherically Resistant Vegetation Index 2 (ARVI-2) (Kaufman and Tanre, 1992)
Global Environmental Monitoring Index (GEMI) (Al Shidi <i>et al.</i> , 2019)	Atmospherically Resistant Vegetation Index (ARVI) (Kaufman and Tanre, 1992)

Mapeo de clorofila en zonas localizadas de la hoja de café

Se analizó la distribución de la clorofila en hojas de café de la especie *Coffea arabica* en puntos localizados. Para esto, se seleccionaron diez hojas, de las cuales cinco estaban en estado fisiológico sano (lote de hojas sanas) y las cinco restantes correspondían a hojas enfermas (lote de hojas cloróticas) (Figura 1).

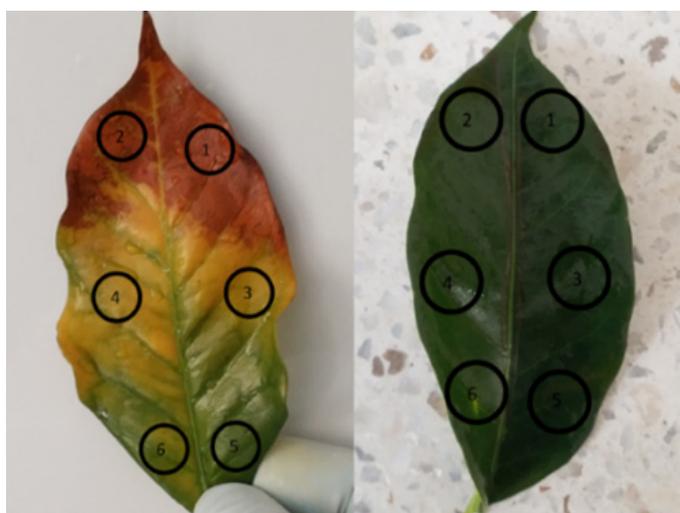


Figura 1. (a) Hoja enferma. (b) Hoja sana.

Posteriormente, se realizó espectrofotometría de laboratorio para encontrar el LCC ($\mu\text{g}/\text{mL}$). Específicamente, cada una de las 10 hojas se dividió en seis zonas con un peso equivalente de 50 mg, de modo que se obtuvieron 60 muestras. Después, se extrajo la clorofila de estas zonas con el protocolo propuesto en (Arnon, 1949). Luego,

se determinó la cantidad de pigmento en cada zona. Antes de procesar las hojas, se calcularon los IV a partir de las imágenes multiespectrales con el procedimiento descrito en el apartado anterior.

Finalmente, obtenido el LCC para cada una de las 60 muestras y los IV en las mismas zonas, se hallaron los coeficientes de correlación entre LCC e IV. Además, los datos se agruparon entre hojas sanas y enfermas, para determinar la correlación estadística entre LCC y los IV en cada uno de los dos grupos.

RESULTADOS

En esta sección se presentan los resultados del análisis inferencial del CV de los IV y el LCC, además, se analiza su grado de dependencia. El análisis de correlación se realizó en dos etapas: sin distinción en el estado de salud de las hojas y luego dividiendo las muestras entre hojas sanas y enfermas. Las pruebas de normalidad (González-Estrada and Cosmes, 2019) aplicadas a los datos de las variables de respuesta revelaron que su distribución es no normal, por tanto, se realizaron pruebas no paramétricas de correlación (Spearman (ρ)).

Correlación entre LCC e IV

En la Figura 2, se expone la correlación estadística entre los 14 IV y el LCC para la clorofila a y b, en las 60 muestras tomadas, sin diferenciar el estado salud de las hojas. Se encontró que la mayor correlación entre el LCC y los IV es para el índice GARI (0,94 Chl a y 0,93 Chl b).

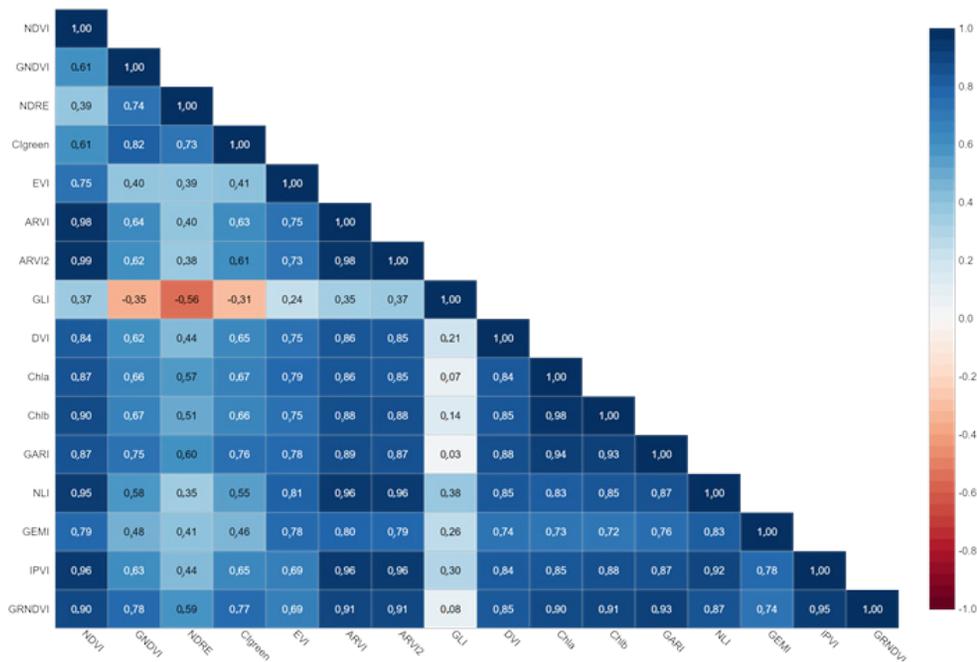


Figura 2. Matriz de correlaciones entre índices de vegetación y contenido de clorofila a y b.

Correlación entre índices de vegetación

El índice NDVI es utilizado por su polifuncionalidad y buenos resultados en distintos ambientes (Rani *et al.*, 2018), siendo un buen punto de partida para comparar distintos IV. El coeficiente de correlación entre el índice NDVI y los índices NDRE y GNDVI fueron bajos ($\rho=0,39$ y $\rho=0,61$ respectivamente).

Los índices CI green y GNDVI tuvieron la misma correlación con el índice NDVI, esto se debe a que utilizan la misma relación matemática, la única diferencia es que CI green tiene un valor de corrección para efectos atmosféricos, que en este caso particular no afecta por la corta distancia entre hoja y cámara.

Otros índices con altas correlaciones con el NDVI son ARVI y ARVI2 ($\rho=0,96$ y $\rho=0,99$ respectivamente), estos utilizan las bandas NIR y red, con corrección por efectos atmosféricos (Bhatnagar *et al.*, 2018), que en este caso no presentan ninguna mejora significativa. La correlación entre los índices NDVI y NLI es $\rho=0,95$, este último utiliza las mismas bandas espectrales que el índice NDVI (NIR y red), pero con la diferencia que utiliza el cuadrado de la reflectancia en NIR, para minimizar los efectos de la inclinación de las hojas y el brillo del suelo (Goel and Qin, 1994). Los índices GNDVI, IPVI, GARI, NLI, ARVI, ARVI 2 y GRNDVI tienen en común la utilización de al menos una banda del VIS y el NIR, lo que genera redundancia de información (Cross *et al.*, 2019). Los coeficientes de correlación entre estos índices y el LCC estuvieron en un rango de 0,64 a 0,94. La utilización de estas bandas se debe a que son las regiones de mayor absorción y reflectancia de la clorofila, permitiendo que estos índices sean robustos ante diversas condiciones (Ihuoma and Madramootoo, 2020). Finalmente, la correlación entre los IV fue positiva para todos, exceptuando el índice GLI respecto al GNDVI, NDRE y CI green.

Coefficiente de variación en las medidas de índices de vegetación

El análisis del CV para hojas sanas y enfermas reveló variaciones en la distribución del LCC en las hojas de café. Los CV de las hojas en estado degenerativo fue mayor que el de las hojas sanas (Figura 3), esto sugiere que la degradación de la clorofila no es uniforme. Además, se encontró que los valores de CV altos (superiores al 30 % para hojas enfermas) están relacionados con coeficientes de correlación más altos entre LCC e IV. Lo contrario ocurrió con CV bajos (menores al 17 % y para hojas sanas), que presentaron menores coeficientes de correlación entre la estimación del LCC e los IV. La prueba U de Mann-Whitney reveló que el CV del grupo de hojas sanas es significativamente diferente al CV del grupo de hojas enfermas ($p<0,05$). Esto sugiere que la distribución de clorofila en hojas enfermas no es uniforme y puede ser ocasionado por factores que originan la degradación del pigmento de forma anisotrópica, tales como traumatismos, sustancias químicas o agentes infecciosos (Kuai *et al.*, 2018). Esta degradación está relacionada con una pérdida progresiva de la integridad de la membrana que produce inflamación del citoplasma de las células, desencadenando la liberación progresiva de componentes celulares que se refleja en un color no uniforme (Van Breusegem and Dat, 2006).

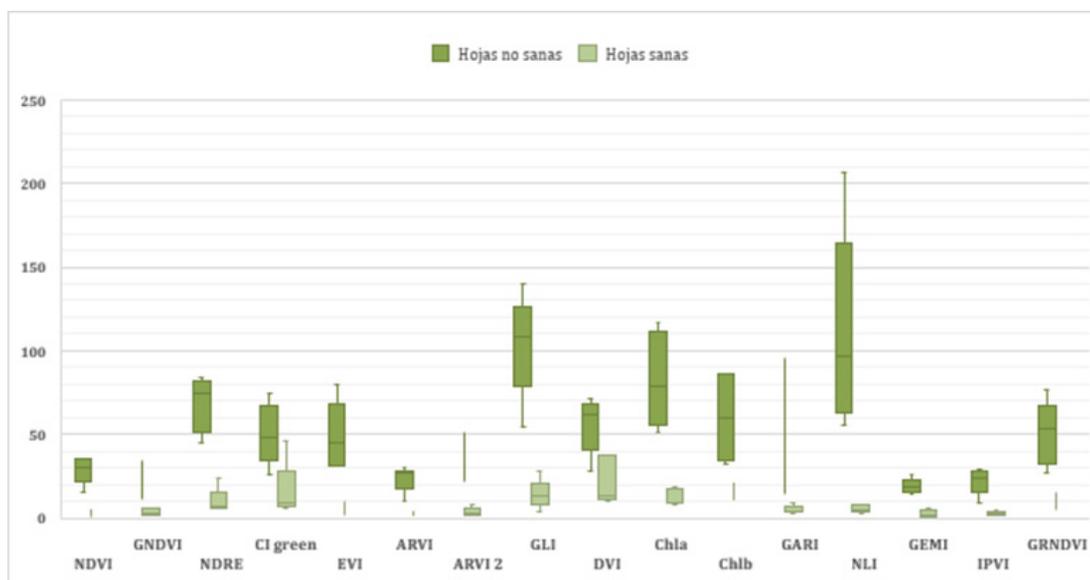


Figura 3. Representación de la diferencia entre coeficientes de variación (%) entre hojas sanas y enfermas.

Las hojas con mayor CV de clorofila (Figura 3) obtuvieron valores mayores de correlación entre el índice NDVI y el LCC ($\rho=0,89$ entre LCC para Chl a y NDVI para hojas enfermas que presentan un CV=82,6 %, y $\rho=0,74$ para las hojas sanas que presentan un CV=12,5 %).

Correlación LCC-IV para hojas sanas y enfermas

El Cuadro 2 muestra el coeficiente de correlación (ρ) entre el LCC a y b con los IV. Se encontró que la estimación de Chl a medida en laboratorio para las hojas sanas tuvo el mayor coeficiente de correlación con el índice GARI ($\rho=0,88$), seguido por los índices NDVI e IPVI (0,74). Mientras que, para la Chl a del lote de hojas enfermas, el índice que mejor estimó este pigmento fue el NDVI (0,89), seguido del índice NLI ($\rho=0,87$) y el índice IPVI ($\rho=0,82$). El índice GRNDVI tuvo un desempeño similar para la medición de Chl a en el lote de hojas sanas y enfermas. La clorofila a en las plantas de café cumple un papel importante, ya que, ayuda en la recolección de luz en las antenas de la planta, y en la transformación de luz solar a energía química en los fotosistemas I y II (Marcheafave *et al.*, 2019).

Los resultados exponen que los coeficientes de correlación son más altos para la mayoría de los índices con respecto a Chl b, asimismo, el índice NDVI presenta los mejores coeficientes de correlación en hojas sanas y enfermas (0,84 y 0,89). Sin embargo, el índice GARI presenta los mejores coeficientes de correlación sin diferenciar por lotes de hojas ($\rho=0,93$).

La clorofila a y b respecto al GNDVI y NDRE tuvieron valores de correlación bajos en relación con otros índices. Si bien, estos fueron construidos para enfocarse principalmente en la clorofila (García-Cárdenas *et al.*, 2019), tuvieron problemas para detectar valores bajos de concentración del pigmento. Por ejemplo, para las hojas en un estado de clorosis avanzado, se obtuvieron valores altos en los IV que no corresponden con el análisis de clorofila en laboratorio. En este caso, para el lote de hojas enfermas los valores de correlación entre clorofila y los índices GNDVI y NDRE fueron $\rho=0,15$ y $\rho=0,03$ respectivamente, mientras que para el lote de hojas sanas las correlaciones aumentaron significativamente en GNDVI ($\rho=0,79$), y NDRE ($\rho=0,86$). Los resultados sugieren que, para tejidos vegetales, en hoja de café, con bajo LCC los índices GNDVI y NDRE no son buenos estimadores.

Cuadro 2. Correlación entre contenido de clorofila a e IV diferenciados por lote de hojas sanas y enfermas.

Índices	e IV (hojas sanas)	e IV (hojas enfermas)	e IV sin diferenciar por lotes	e IV (hojas sanas)	e IV (hojas enfermas)	e IV sin diferenciar por lotes
NDVI	0,74	0,89	0,87	0,84	0,89	0,90
GARI	0,88	0,76	0,94	0,83	0,74	0,93
IPVI	0,74	0,82	0,85	0,81	0,79	0,88
NLI	0,63	0,87	0,83	0,67	0,89	0,85
GRNDVI	0,73	0,73	0,90	0,82	0,69	0,91

El índice GLI presentó los valores más bajos de correlación ($\rho=0,07$ clorofila a y $\rho=0,14$ clorofila b) con respecto al LCC. Esto puede explicarse porque es el único índice que utiliza la reflectancia de la zona verde, roja y azul sin la banda NIR. Si bien la información espectral de los pigmentos se encuentra en la región visible, las técnicas en imágenes RGB tienen un ancho de banda amplio que limita su sensibilidad. Las imágenes en el espectro visible tienden a presentar inconsistencias ante diferentes condiciones ambientales, y su correlación con LCC puede estar sesgada por factores externos a la planta (Ashapure *et al.*, 2019). La ausencia de la banda NIR en este índice limita su uso debido a la pérdida de información con relación a la integridad estructural del mesófilo, que se asocia a estados de estrés en la planta, lo que produce indirectamente una disminución del LCC (Jiménez-Suanca *et al.*, 2015).

El índice GARI presenta las correlaciones más altas respecto a la clorofila ($\rho=0,94$ Chl a y $\rho=0,93$ Chl b) sin diferenciar el estado de salud de las hojas. Este índice utiliza cuatro bandas (NIR, verde, azul y rojo) por lo tanto, obtiene más información espectral que los otros índices. Este es sensible a un amplio rango de concentraciones de clorofila, lo cual explica el rendimiento notable en ambos grupos de hojas, cloróticas y sanas (Zheng *et al.*, 2018).

El índice GRNDVI presentó la segunda mayor correlación con respecto a la *Chl a* y *Chl b* después del índice GARI, este no utiliza ningún factor de corrección, en cambio, propone utilizar las bondades del NDVI y sumarle la banda verde para ser más sensible a diferentes grados de cobertura vegetal y evitar saturaciones (Qiu *et al.*, 2018). Este índice presentó la misma correlación estadística del LCC en *Chl a* para ambos lotes de hojas ($\rho=0,73$ y $\rho=0,73$, Cuadro 2).

Con el objetivo de extender los resultados obtenidos a nivel del dosel del cultivo y aprovechar el carácter no invasivo de la técnica, es necesario hacer un estudio adicional donde se examine el efecto de la estructura de los arbustos de café, y la topografía de la región de estudio, en la dependencia estadística entre los IV y el LCC.

CONCLUSIONES

La investigación demuestra que existen correlaciones mayores a $\rho=0,83$ entre IV (NDVI, GARI, IPVI, NLI y GRNDVI) y el LCC estimado en laboratorio. Por lo tanto, los IV son indicadores adecuados del contenido de clorofila de forma indirecta, a nivel de hojas de café de la especie *Coffea arabica*. Además, dadas las altas correlaciones encontradas, puede afirmarse que es posible establecer modelos de regresión para estimar el LCC en hoja a través de índices de vegetación.

Las hojas de café enfermas presentaron distribución no uniforme (distintos coeficientes de variación) del LCC, y los índices de vegetación fueron sensibles a esas variaciones. Los IV que usan información de las bandas VIS y NIR presentaron correlaciones mayores con el LCC de la especie *Coffea arabica*.

Los resultados obtenidos permiten considerar trabajos futuros para establecer un protocolo basado en indicadores IV, considerando una población de muestras mayor, para inferir el estado de salud de esta variedad vegetal.

REFERENCIAS

- AL-SHIDI, RASHID-HAMDAN; KUMAR, LALIT; AL-KHATRI, SALIM. Detecting Dubas bug infestations using high resolution multispectral satellite data in Oman. *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 157, 2019, p. 1-11.
<https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.12.037>
- ARNON, DANIEL. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in beta vulgaris. *Plant Physiology*, v. 24, n. 1, 1949, p. 1-15.
<https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- ASHAPURE, AKASH; JUNG, JINHA; CHANG, ANJIN; OH, SUNGCHAN; MAEDA, MURILO; LANDIVAR, JUAN A. Comparative Study of RGB and Multispectral Sensor-Based Cotton Canopy Cover Modelling Using Multi-Temporal UAS Data. *Remote Sensing*, v. 11, n. 23, 2019, p. 2757.
<https://doi.org/10.3390/rs11232757>
- BHATNAGAR, SAHEBA; GHOSH, BIDISHA; REGAN, SHANE; NAUGHTON, OWEN; JOHNSTON, PAUL; GILL, LAURENCE. Monitoring environmental supporting conditions of a raised bog using remote sensing techniques. *Proceedings of the International Association of Hydrological Sciences*, v. 380, 2018, p. 9-15.
<https://doi.org/10.5194/piahs-380-9-2018>
- CARUSO, GIOVANNI; TOZZINI, LETIZIA; RALLO, GIOVANNI; PRIMICERIO, JACOPO; MORIONDO, MARCO; PALAI, G.; GUCCI, RICCARDO. Estimating biophysical and geometrical parameters of grapevine canopies ('Sangiovese') by an unmanned aerial vehicle (UAV) and VIS-NIR cameras. *Vitis*, v. 56, n. 2, 2017, p. 63-70.
<https://doi.org/10.5073/vitis.2017.56.63-70>
- CEBALLOS-CAMPO, DIEGO-ANDRÉS; GAVIRIA-LÓPEZ, CARLOS-ALBERTO. Optimización de las condiciones de tiempo y temperatura en el proceso de tostado de café del cauca, teniendo en cuenta la percepción del consumidor. Cartagena (Colombia): 2° Congreso Latinoamericano de Ingeniería, 2019.

- CHEMURA, ABEL; MUTANGA, ONISIMO; DUBE, TIMOTHY. Remote sensing leaf water stress in coffee (*Coffea arabica*) using secondary effects of water absorption and random forests. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, v. 100, 2017, p. 317-324.
<https://doi.org/10.1016/j.pce.2017.02.011>
- CHEMURA, ABEL; MUTANGA, ONISIMO; ODINDI, JOHN. Modelling Leaf Chlorophyll Content in Coffee (*Coffea Arabica*) Plantations Using Sentinel 2 Msi Data. *Memorias IGARSS 2018 - 2018 IEEE International Geoscience and Remote Sensing Symposium*. Valencia (España): 2018, p. 8228-8231.
<https://doi.org/10.1109/IGARSS.2018.8518848>
- CHEMURA, ABEL; MUTANGA, ONISIMO; ODINDI, JOHN; KUTYWAYO, DUMISANI. Mapping spatial variability of foliar nitrogen in coffee (*Coffea arabica* L.) plantations with multispectral Sentinel-2 MSI data. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, v. 138, 2018, p. 1-11.
<https://doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2018.02.004>
- CHOI, MYUNGJIN; YOUNG-KIM, RAE; NAM, MYEONG-RYONG; HONG-OH, KIM. Fusion of Multispectral and Panchromatic Satellite Images Using the Curvelet Transform. *IEEE Geoscience and Remote Sensing Letters*, v. 2, n. 2, 2005, p. 136-140.
<https://doi.org/10.1109/LGRS.2005.845313>
- CHOUBIN, BAHRAM; SOLEIMANI, FREIDOOON; PIRNIA, ABDOLLAH; SAJEDI-HOSSEINI, FARZANEH; ALILOU, HOSSEIN; RAHMATI, OMID; MELESSE, ASSEFA; P. SINGH, VIJAY; SHAHABI, HIMAN. Effects of drought on vegetative cover changes: Investigating spatiotemporal patterns. *Extreme Hydrology and Climate Variability*, Elsevier, 2019, p. 213-222.
- CROSS, MATTHEW; SCAMBOS, THEODORE; PACIFICI, FABIO; MARSHALL, WESLEY. Determining Effective Meter-Scale Image Data and Spectral Vegetation Indices for Tropical Forest Tree Species Differentiation. *IEEE Journal of Selected Topics in Applied Earth Observations and Remote Sensing*, v. 12, n. 8, 2019, p. 2934-2943.
<https://doi.org/10.1109/JSTARS.2019.2918487>
- DE LA CASA, A.; OVANDO, G.; BRESSANINI, L.; MARTÍNEZ, J.; DÍAZ, G.; MIRANDA, C. Soybean crop coverage estimation from NDVI images with different spatial resolution to evaluate yield variability in a plot. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, v. 146, 2018, p. 531-547.
<https://doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2018.10.018>
- DE SOUZA, ROMINA; PEÑA-FLEITAS, TERESA; THOMPSON, RODNEY; GALLARDO, MARISA; GRASSO, RAFAEL; PADILLA, FRANCISCO. The Use of Chlorophyll Meters to Assess Crop N Status and Derivation of Sufficiency Values for Sweet Pepper. *Sensors*, v. 19, n. 13, 2019, p. 2949.
<https://doi.org/10.3390/s19132949>
- FONG, YOUYI; HUANG, YING. Modified Wilcoxon–Mann–Whitney Test and Power Against Strong Null. *The American Statistician*, v. 73, n. 1, 2019, p. 43-49.
<https://doi.org/10.1080/00031305.2017.1328375>
- GARCÍA-CÁRDENAS, DIEGO-ALEJANDRO; RAMÓN-VALENCIA, JACIPT-ALEXANDER; ALZATE-VELÁSQUEZ, DIEGO-FERNANDO; PALACIOS-GONZALEZ, JORDI-RAFAEL. En: *Dynamics of the Indices NDVI and GNDVI in a Rice Growing in Its Reproduction Phase from Multi-spectral Aerial Images Taken by Drones*. *Advances in Information and Communication Technologies for Adapting Agriculture to Climate Change II*. Cham (Switzerland): Springer, 2018, p. 106-119.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-04447-3_7
- GITELSON, ANATOLY; KAUFMAN, YORAM; MERZLYAK, MARK. Use of a green channel in remote sensing of global vegetation from EOS-MODIS. *Remote Sensing of Environment*, v. 58, n. 3, 1996, p. 289-298.
[https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(96\)00072-7](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(96)00072-7)
- GOEL, NARENDRA; QIN, WENHAN. Influences of canopy architecture on relationships between various vegetation indices and LAI and FPAR: A computer simulation. *Remote Sensing Reviews*, v. 10, n. 4, 1994, p. 309-347.
<https://doi.org/10.1080/02757259409532252>

- GONZÁLEZ-RIVERA, MIGUEL; DELGADO-RAMÍREZ, GERARDO; MIGUEL-VALLE, ENRIQUE; SERVIN-PRÍETO, ALAN-JOEL; REYES-GONZÁLEZ, ARTURO; SERVÍN-PALESTINA, MIGUEL; ESTRADA-ÁVALOS, JUAN. Estimación de la variación espacial y temporal de la concentración de nitrógeno en maíz forrajero mediante sensoria remota. *Agrofaz: publicación semestral de investigación científica*, v. 17, n. 2, 2017, p. 53-59.
- GONZÁLEZ-ESTRADA, ELIZABETH; COSMES, WALDENIA. Shapiro-Wilk test for skew normal distributions based on data transformations. *Journal of Statistical Computation and Simulation*, v. 89, n. 17, 2019, p. 3258-3272.
<https://doi.org/10.1080/00949655.2019.1658763>
- GROSSMANN, KATJA; FRANKENBERG, CHRISTIAN; MAGNEY, TROY; HURLOCK, STEPHEN; SEIBT, ULRIKE; STUTZ, JOCHEN. PhotoSpec: A new instrument to measure spatially distributed red and far-red Solar-Induced Chlorophyll Fluorescence. *Remote Sensing of Environment*, v. 216, 2018, p. 311-327.
<https://doi.org/10.1016/j.rse.2018.07.002>
- HUNT, RAYMOND; DAUGHTRY, CRAIG; EITEL, JAN; LONG, DAN. Remote Sensing Leaf Chlorophyll Content Using a Visible Band Index. *Agronomy Journal*, v. 103, n. 4, 2011, p. 1090-1099.
<https://dx.doi.org/10.2134/agronj2010.0395>
- IHUOMA, SAMUEL; MADRAMOOTOO, CHANDRA. Narrow-band reflectance indices for mapping the combined effects of water and nitrogen stress in field grown tomato crops. *Biosystems Engineering*, v. 192, 2020, p. 133-143.
<https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2020.01.017>
- JEFFREY, S.W.; HUMPHREY, G.F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, v. 167, n. 2, 1975, p. 191-194.
[https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)30778-3](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30778-3)
- JIMÉNEZ-SUANCHA, SONIA-CONSTANZA; HUMBERTO-ALVARADO, OSCAR; BALAGUERA-LÓPEZ, HELBER-ENRIQUE. Fluorescence as an indicator of stress in *Helianthus annuus* L. A review. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, v. 9, n. 1, 2015, p. 149-160.
<https://doi.org/10.17584/rcch.2015v9i1.3753>
- KAUFMAN, Y.J.; TANRE, D. Atmospherically resistant vegetation index (ARVI) for EOS-MODIS. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, v. 30, n. 2, 1992, p. 261-270.
<https://doi.org/10.1109/36.134076>
- KUAI, BENKE; CHEN, JUNYI; HÖRTENSTEINER, STEFAN. The biochemistry and molecular biology of chlorophyll breakdown. *Journal of Experimental Botany*, v. 69, n. 4, 2018, p. 751-767.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erx322>
- MARCHEAFAVE, GUSTAVO; TORMENA, CLÁUDIA; PAULI, ELIS-DAIANE; RAKOCEVIC, MIROSLAVA; BRUNS, ROY; SCARMINIO, IEDA. Experimental mixture design solvent effects on pigment extraction and antioxidant activity from *Coffea arabica* L. leaves. *Microchemical Journal*, v. 146, 2019, p. 713-721.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.01.073>
- ORDOÑEZ-FERNÁNDEZ, ZULMA-KATERINE; MONTOYA-BONILLA, BIBIANA-PATRICIA. Evaluación agronómica de Coffea Arábica variedad castillo y caturra en dos sistemas de producción (sol y sombra); en la hacienda los naranjos, vereda la Venta (Cajibío-Cauca). *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, v. 1, n. 29, 2017, p. 58-66.
<https://revistaaccb.org/r/index.php/accb/article/view/141>
- PARDO-ESCOBAR, OSCAR-FRADIQUE. Respuestas espectrales a la fertilización Con nitrógeno y potasio en el cultivo del Banano (*Musa aaa* Simmonds), caso Municipio Zona Bananera [M.Sc. Thesis Geomatics]. Bogotá (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Posgrados. 2015, 99 p.
- PEREDES, JUAN-AUGUSTO; GONZALEZ, JESSENIA; SAITO, CARLOS; FLORES, ANDRES. Multispectral imaging system with UAV integration capabilities for crop analysis. *Memorias First IEEE International Symposium of Geoscience and Remote Sensing (GRSS-CHILE)*. Valdivia (Chile): 2017, p. 1-4.
<https://doi.org/10.1109/GRSS-CHILE.2017.7996009>

- QIU, CHUNRONG; LIAO, GUIPING; TANG, HONGYUAN; LIU, FAN; LIAO, XIAOYI; ZHANG, RUI; ZHAO, ZANZHONG. Derivative Parameters of Hyperspectral NDVI and Its Application in the Inversion of Rapeseed Leaf Area Index. *Applied Sciences*, v. 8, n. 8, 2018, p. 1300.
<https://doi.org/10.3390/app8081300>
- RANI, MEENU; KUMAR, PAVAN; CHANDRA-PANDEY, PREM; SRIVASTAVA, PRASHANT K.; CHAUDHARY, B.S.; TOMAR, VANDANA; PRASAD-MANDAL, VINAY. Multi-temporal NDVI and surface temperature analysis for Urban Heat Island inbuilt surrounding of sub-humid region: A case study of two geographical regions. *Remote Sensing Applications: Society and Environment*, v. 10, 2018, p. 163-172.
<https://doi.org/10.1016/j.rsase.2018.03.007>
- RANJAN, RAKESH; CHANDEL, ABHILASH; KHOT, LAV; BAHLOL, HAITHAM; ZHOU, JIANFENG; BOYDSTON, RICK; MIKLAS, PHILLIP. Irrigated pinto bean crop stress and yield assessment using ground based low altitude remote sensing technology. *Information Processing in Agriculture*, v. 6, n. 4, 2019, p. 502-514.
<https://doi.org/10.1016/j.inpa.2019.01.005>
- SONG, HYEON-GI; BYEON, SEON-YEONG; CHUNG, GOO-YONG; JUNG, SANG-MYUNG; CHOI, JUNG-IL; SHIN, HWA-SUNG. A systematic correlation analysis of carotenoids, chlorophyll, non-pigmented cell mass, and cell number for the blueprint of *Dunaliella salina* culture in a photobioreactor. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, v. 41, n. 9, 2018, p. 1295-1303.
<https://doi.org/10.1007/s00449-018-1957-5>
- VAN BREUSEGEM, FRANK; DAT, JAMES F. Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant physiology*, v. 141, n. 2, 2006, p. 384-390.
<https://doi.org/10.1104/pp.106.078295>
- WIDJAJA-PUTRA, BAYU-TARUNA; SONI, PEEYUSH. Dataset of chlorophyll content estimation of *Coffea canephora* using Red and Near-Infrared consumer-grade camera. *Data in Brief*, v. 21, 2018, p. 736-741.
<https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.10.035>
- ZHENG, HENGBIAO; CHENG, TAO; LI, DONG; ZHOU, XIANG; YAO, XIA; TIAN, YONGCHAO; CAO, WEIXING; ZHU, YAN. Evaluation of RGB, Color-Infrared and Multispectral Images Acquired from Unmanned Aerial Systems for the Estimation of Nitrogen Accumulation in Rice. *Remote Sensing*, v. 10, n. 6, 2018, p. 824.
<https://doi.org/10.3390/rs10060824>