

## INFORME

# Consideraciones y recomendaciones para la toma de datos en campo destinados al cálculo de la Fluorescencia inducida por el sol (SIF)

Elaborado por G. Taveira <sup>1</sup>  
Director de pasantía: R. Rivas <sup>2</sup>  
Julio, 2023

**Modo de referenciar:** Taveira G., Rivas R., 2023. *Consideraciones y recomendaciones para la toma de datos en campo destinados al cálculo de la fluorescencia inducida por el sol (SIF)*. 9 páginas. Repositorio Institucional CIC-Digital.

<b>1. Introducción</b> .....	<b>2</b>
<b>2. La fluorescencia de la clorofila</b> .....	<b>2</b>
2.1. Fluorescencia inducida por el sol (SIF) .....	3
2.2. Métodos para medir SIF.....	3
2.3. Aspectos técnico-metodológicos.....	3
<b>3. Consideraciones y recomendaciones</b> .....	<b>5</b>
3.1. Aspectos teóricos.....	5
3.2. Sobre el instrumento.....	5
3.3. El ángulo del campo de visión (FOV).....	6
3.4. Referencias y mediciones de control.....	6
3.5. Horario.....	7
3.6. Registro de los factores ambientales.....	7
<b>4. Código de procesamiento</b> .....	<b>8</b>
<b>5. Referencias</b> .....	<b>8</b>

**Palabras clave:** teledetección, SIF, toma de datos en campo, HR-1024

<sup>1</sup> Instituto de Altos Estudios Espaciales "Mario Gulich" - Comisión Nacional de Actividades Espaciales (CONAE) / Universidad Nacional de Córdoba (UNC)

<sup>2</sup> Instituto de Hidrología de Llanuras "Dr. Eduardo Jorge Usunoff" - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)- Universidad del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNICEN) - Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC)

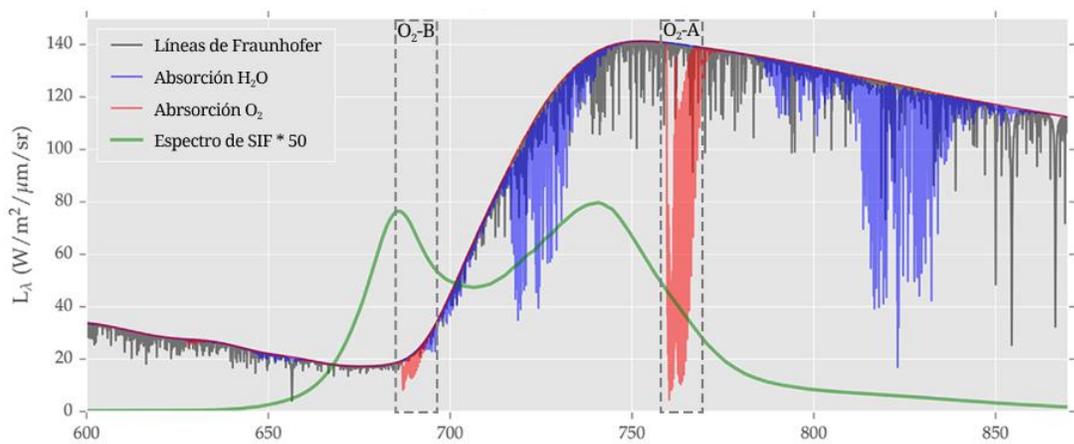
## 1. Introducción

El presente es un informe que proporciona directrices prácticas para la planificación de campañas de recolección de datos relacionadas con la medición y cálculo de SIF. Fue elaborado en el marco de una pasantía de un semestre que es parte de la Maestría en Aplicaciones de Información Espacial del Instituto Gulich para el instituto de investigación IHLLA. En el documento se aborda la selección de equipos adecuados, el conocimiento de las características espectrales de la fluorescencia, el uso de técnicas de discriminación de línea Fraunhofer, consideraciones ambientales, mediciones de control y análisis espaciotemporales. El objetivo es garantizar la calidad de los datos recolectados, obtener resultados precisos y facilitar la interpretación en el contexto de la investigación sobre SIF. Se hace énfasis en la evaluación de las aptitudes del espectrorradiómetro con el que actualmente cuenta el IHLLA (SVC: HR-1024j), en estimaciones de SIF.

## 2. La fluorescencia de la clorofila

La fluorescencia de la clorofila ha sido utilizada como una forma eficaz y directa de monitorear los cambios en el estado fisiológico de la vegetación desde la década de 1980 (Mohammed et al. 2019). Este indicador puede considerarse directo del estado funcional de la maquinaria fotosintética debido a su relación con la fotosíntesis. La energía absorbida por la clorofila se expulsa normalmente de las reacciones luminosas de la fotosíntesis y se disipa en forma de fluorescencia, lo que implica una reemisión de luz a una longitud de onda mayor que la de excitación. La fluorescencia de la clorofila compete con la fotosíntesis por el uso de la luz absorbida, junto con la otra vía de disipación, el proceso no fotoquímico (NPQ) (Porcar-Castell et al. 2014).

El espectro de fluorescencia de la clorofila abarca desde los 640 nm a los 850 nm y presenta dos picos principales en los 690 nm y 740 nm (Figura 1). Al comparar el espectro de reflectancia aparente de la vegetación con el espectro de reflectancia real obtenido mediante la filtración de la fluorescencia, se pueden identificar estos dos picos en las longitudes de onda mencionadas (Mohammed et al. 2019).



Figura

1. Espectro de radiancia resultante y emisión aparente de fluorescencia inducida por el sol (escalada

por un factor 50). Se indican con líneas punteadas las zonas de absorción del oxígeno. Tomado de Taveira y Rivas (2023); Frankenberg y Berry (2018).

## 2.1. Fluorescencia inducida por el sol (SIF)

La SIF es la que emiten las plantas cuando están expuestas a la radiación solar. Añade una débil señal a la radiación solar reflejada (1). Si se supone que tanto la emisión de fluorescencia como la reflectancia de la superficie siguen la ley de Lambert, la radiancia de la vegetación ( $L(\lambda)$ ) a nivel del dosel se compone de dos contribuciones acopladas, una reflejada ( $rE/\pi$ ) y otra emitida ( $F(\lambda)$ ):

$$L(\lambda) = r(\lambda) E(\lambda) / \pi + F(\lambda) \quad (1)$$

donde  $\lambda$  es la longitud de onda,  $r(\lambda)$  es la radiancia (libre del componente de emisión) y  $E(\lambda)$  es la radiancia entrante total que incide sobre el objetivo (Frankenberg y Berry 2018; Porcar-Castell et al. 2014; 2021).

## 2.2. Métodos para medir SIF

A pesar de que la SIF contribuye solo en una pequeña cantidad a la reflectancia total, puede separarse de la señal de reflectancia mediante mediciones precisas dentro y fuera de las líneas de Fraunhofer de absorción solar y atmosférica, a este principio se le llama Profundidad de la línea de Fraunhofer (FLD). Estas líneas están representadas por bandas estrechas de longitud de onda, en las que la irradiancia solar se ve atenuada por la absorción dentro del sol o de las atmósferas terrestres (ver Figura 1) (Plascyk 1975).

La obtención de la SIF a nivel del dosel no es afectada por los efectos atmosféricos entre la superficie de la vegetación y el sensor, por lo que, los métodos de recuperación requieren solamente irradiancia solar y radiancia del objetivo en dos canales. Los métodos de recuperación de SIF a nivel de dosel, se pueden dividir en métodos basados en la reflectancia y métodos basados en la radiancia. Estos últimos incluyen la profundidad de línea Fraunhofer simple (sFLD), FLD de 3 bandas (3FLD), FLD corregido (cFLD), FLD mejorado (iFLD), FLD extendido (eFLD), y el método de ajuste espectral (SFM) (Mohammed et al. 2019). Los métodos basados en la reflectancia consisten principalmente en índices que utilizan varios canales espectrales en el rango de 650-800 nm para reflejar cualitativamente la información de fluorescencia. Sin embargo, los métodos basados en la radiancia se desarrollan a partir del principio FLD y pueden utilizarse para obtener la radiación de fluorescencia que tiene un significado físico (Guanter et al. 2010; Ni et al. 2019). Más información sobre las mediciones de SIF en campo se pueden consultar en: Malenovsky et al. (2009), Meroni et al. (2009) y Pacheco-Labrador et al. (2019).

## 2.3. Aspectos técnico-metodológicos

La resolución espectral (SR) se refiere a la capacidad de un instrumento para distinguir líneas espectrales cercanas, y se expresa en unidades de longitud de onda. Se estima utilizando la anchura a media altura (FWHM) de la respuesta del instrumento a una fuente monocromática. La separación espectral mínima (SSI) es la distancia en unidades de longitud de onda entre dos puntos de muestreo adyacentes. La relación señal-ruido (SNR) entre la señal promedio y su

desviación estándar se utiliza para evaluar la calidad de los datos. El sesgo espectral (SS) se refiere al desplazamiento de una longitud de onda central nominal respecto a la longitud de onda efectiva. Estos parámetros influyen de forma significativa en la medición de la SIF. Además, la precisión de la medida está relacionada con la complejidad del algoritmo utilizado. El método más sencillo (sFLD) tiende a sobreestimar las características espectrales y es sensible a pequeñas variaciones de la señal. El método iFLD ofrece mejores resultados, pero es más sensible al ruido. El método 3FLD proporciona un buen equilibrio entre robustez y precisión (Damm et al. 2011).

En la Tabla 1 se muestran tres casos de estudio con espectrorradiómetros utilizados típicamente en la medición de SIF, con tres métodos FLD y sus errores asociados. Sirven como parámetro para futuras mediciones. El sensor más semejante al SVC - HR-1024i en la tabla 1 es el ASD FieldSpecs. El mismo presenta mejores resultados cuando se calcula SIF en la zona de absorción del oxígeno (O<sub>2</sub>-A) centrada en los 761 nm y con el método 3FLD. El error alcanza un desvío estándar de 0.069 y un RMSE de 0.07.

Tabla 1. Comparación de espectrorradiómetros para la recuperación de la SIF. Los valores de error y SIF se expresan en mW m<sup>-2</sup> sr<sup>-1</sup> nm<sup>-1</sup>, el SNR es adimensional y las medidas de precisión y la posición del cálculo en nanómetros. Modificado de (Damm et al. 2011)

Sensor	Posición O <sub>2</sub> -A	SR	SSI	SNR	SIF	sFLD		3FLD		iFLD	
						STD	RMSE	STD	RMSE	STD	RMSE
ASD FieldSpecs	761	3.0	1.4	4000	0.916	0.072	3.79	0.069	0.07	0.08	0.93
OceanOptics HR4000	760.4	1.0	0.3	300	0.937	0.40	1.56	0.346	0.07	0.69	1.57
OceanOptics HR4000	760.4	0.13	0.02	300	0.937	0.258	1.11	0.237	0.05	0.34	0.92

Es importante señalar que existen otros factores conocidos que influyen en las métricas como los ángulos de iluminación y observación, la elevación y orientación del objetivo, la turbidez atmosférica y la calibración espectral del sensor, que afectan la profundidad de los rasgos de absorción (Guanter et al. 2007; Porcar-Castell et al. 2014). Para minimizar estos efectos, se presentan consideraciones y recomendaciones para la toma de datos en campo al calcular la SIF. Es importante tener en cuenta la combinación de todos estos parámetros al evaluar las configuraciones de los sensores y su capacidad para recuperar características espectrales.

### 3. Consideraciones y recomendaciones

#### 3.1. Aspectos teóricos

- 3.1.1. **Conocimiento de las características espectrales de la fluorescencia:** La emisión de fluorescencia de la clorofila abarca aproximadamente de 650 a 800 nm, con dos máximos alrededor de 685-690 nm y 730-740 nm.
- 3.1.2. **La fluorescencia como emisión:** La emisión de fluorescencia puede variar según las características de las plantas como su estructura, su momento del ciclo fenológico y la concentración de pigmentos. Un índice importante a considerar para complementar el muestreo es el índice de área foliar.

#### 3.2. Sobre el instrumento

- 3.2.1. **Optimización de las características del sensor:** Las propiedades del sensor tienen un impacto significativo en la precisión de la recuperación de la fluorescencia. Por lo tanto, se recomienda optimizar las características del sensor para mejorar la calidad de los datos:
  - i. **Relación señal-ruido (SNR):** La SNR es uno de los factores más relevantes en la calidad de los cálculos de fluorescencia. Para obtener resultados más confiables, es importante utilizar sensores con un SNR lo más alto posible. Se sugiere que las regiones en las que la relación SNR es inferior a 100, deben identificarse y excluirse del análisis (Spectra Vista Corporation (SVC) 2019).
  - ii. **Resolución espectral (SR):** La resolución espectral del sensor afecta la capacidad de distinguir la fluorescencia de la reflectancia. Es recomendable utilizar sensores con alta resolución espectral para capturar con precisión las características espectrales de la fluorescencia de la clorofila. Las resoluciones espectrales típicas para mediciones que utilizan las zonas de absorción del oxígeno son las menores a 3 nanómetros (nm).
  - iii. **Separación espectral de muestreo (SSI):** Variaciones en el SSI pueden afectar la diferencia radiométrica entre la absorción máxima y la banda de referencia, lo que a su vez puede introducir errores en las estimaciones de fluorescencia.
  - iv. **Calibración espectral:** La calibración espectral del sensor puede influir en la precisión de la recuperación de fluorescencia. Se recomienda utilizar sensores bien calibrados y minimizar cualquier desviación espectral para obtener resultados más precisos.
- 3.2.2. **El espectrorradiómetro SVC: [Spectra Vista Corporation - HR-1024](#):** Cubre un rango espectral de 350 nm a 2500 nm, lo que permite capturar la

radiación emitida por la fluorescencia en diferentes longitudes de onda. Cuenta con una resolución espectral (FWHM) de 3.3 nm en el rango de 700 nm y de hasta 9.5 nm en 1500 nm. Es considerado adecuado para medir en las zonas de absorción atmosférica del oxígeno (O<sub>2</sub>-A y O<sub>2</sub>-B), donde se mide la emisión de fluorescencia de la clorofila. En cuanto al nivel de ruido, presenta un equivalente de ruido de radiancia de  $\leq 1.2 \times 10^{-9} \text{ W/cm}^2/\text{nm/sr}$  a los 1500 nm, lo cual indica un bajo nivel de ruido y una buena capacidad de detección de la fluorescencia.

### 3.3. El ángulo del campo de visión (FOV)

- 3.3.1. **Ángulo del FOV:** El ángulo del FOV determina el alcance del área que se captura en cada medición. Un FOV más amplio puede abarcar un área mayor, lo que puede ser beneficioso para estudios que requieren una cobertura espacial más amplia. Sin embargo, un FOV más estrecho puede proporcionar una mayor resolución espacial y reducir la influencia de áreas circundantes no deseadas.
- 3.3.2. **Variabilidad espacial:** Si hay una variación significativa en la fluorescencia dentro del área de estudio, se recomienda tomar medidas en diferentes ubicaciones representativas para capturar esa variabilidad. Esto puede implicar cambiar la posición del espectrorradiómetro o realizar múltiples mediciones en diferentes puntos de muestreo dentro del FOV.
- 3.3.3. **Promediado de medidas:** Tomar varias medidas y promediarlas puede ser útil para reducir el ruido derivado de la variabilidad espacial y aumentar la precisión de los datos. Promediar las mediciones puede ayudar a obtener resultados más representativos y confiables.
- 3.3.4. **Consideraciones de estabilidad:** La estabilidad del FOV y del instrumento también es importante para mantener la consistencia de los datos. Si hay inestabilidad en el FOV o en el espectrorradiómetro, puede haber una mayor variabilidad en las mediciones e introducir error.

### 3.4. Referencias y mediciones de control

- 3.4.1. **Referencias y mediciones de control:** La configuración más común para las mediciones de campo incluye un solo espectrorradiómetro configurado con una lente óptica frontal (o guía de luz de fibra óptica) y un panel de referencia (Spectralon). Al comienzo de las mediciones se registra el valor de referencia a partir de la radiancia en el Spectralon, con el cual se vinculan las medidas tomadas en los objetivos (dosel). Este método depende de una iluminación ambiental muy estable o de minimizar el tiempo entre el escaneo de panel de referencia y el escaneo del objetivo.
- 3.4.2. **Medidas de control de estabilidad de la luz ambiental:** Serán necesarias medidas de control regulares de las diferencias en la luz ambiental durante

las mediciones. Es posible configurar el SVC HR-1024i para que interprete medidas del panel de referencia intermedias como medidas de corrección de luz, estas medidas devuelven datos de diferencias de luz ambiental. Es recomendado definir un nivel del orden del  $\pm 2\%$  de cambio en los niveles de luz ambiente como umbral de calidad para rechazar los datos y actualizar el dato de referencia para los nuevos objetivos. Esto podría aplicarse a todo el espectro o solo a la región de interés, en este caso entre los 650 a 800 nm.

- 3.4.3. **Cercanía del panel de referencia:** Durante una secuencia de medición de la reflectancia del dosel puede ser necesario repetir el escaneo de las radiancias objetivo/referencia varias de veces por hora, ya sea para refrescar la medición de referencia o para confirmar la estabilidad de la luz ambiental. Es necesario que el panel esté situado en un punto conveniente cerca del centro del área de estudio para minimizar la distancia y los tiempos entre las mediciones de referencia y objetivos.

### 3.5. Horario

- 3.5.1. **Evitar las horas de mayor intensidad solar:** Durante las horas pico de radiación solar intensa, generalmente alrededor del mediodía, la luz solar directa puede saturar los sensores y afectar la precisión de las mediciones de fluorescencia. En estas horas, las plantas también pueden experimentar estrés por calor, lo que puede influir en los patrones de fluorescencia.
- 3.5.2. **Horas de la mañana temprano:** Si bien es posible medir fluorescencia en cualquier momento del día, si se desea encontrar un momento óptimo, durante las primeras horas de la mañana suele haber menos interferencias atmosféricas y la iluminación solar menos intensa. Esto puede ser beneficioso para capturar la fluorescencia de manera más precisa, ya que se reducen los efectos de la luz solar directa y las sombras de los cultivos son menos pronunciadas.

### 3.6. Registro de los factores ambientales

- 3.6.1. **Consideraciones ambientales:** Factores como la iluminación solar, la humedad, la temperatura y la presencia de sombra también influyen en las mediciones de fluorescencia. Se recomienda realizar las mediciones en condiciones similares y registrar las variables ambientales relevantes para un análisis posterior. Esto permitirá controlar y tener en cuenta el impacto de las condiciones ambientales en los datos obtenidos.
- 3.6.2. **Registro detallado:** Llevar un registro preciso y detallado de todos los parámetros relevantes durante las mediciones en campo. Esto incluye la ubicación geográfica de las mediciones, las condiciones ambientales (radiación solar, temperatura, humedad, etc.), la configuración de los equipos y cualquier otro factor que pueda influir en los resultados.



## 4. Código de procesamiento

Para el procesamiento de los datos obtenidos a partir del espectrorradiómetro SVC: HR-1024, se propone una sistematización que recupera los datos crudos del instrumento y los vincula con datos registrados en campo que describen al objetivo. Esta sistematización es importante porque permite una mejor comprensión de los datos y una mayor precisión en su análisis. Los datos procesados se guardan en formato xlsx, lo que permite su fácil acceso y manipulación. Para esto, se ha desarrollado un algoritmo que facilita el procesamiento de los datos y que se encuentra disponible en el repositorio de GitHub: [https://github.com/germantaveira/procesar\\_sig](https://github.com/germantaveira/procesar_sig). En este repositorio, se puede encontrar información detallada sobre el algoritmo y su implementación, así como instrucciones para su uso.

## 5. Referencias

- Damm, Alexander, André Erler, Walter Hillen, Michele Meroni, Michael E. Schaepman, Wout Verhoef, y Uwe Rascher. 2011. "Modeling the Impact of Spectral Sensor Configurations on the FLD Retrieval Accuracy of Sun-Induced Chlorophyll Fluorescence". *Remote Sensing of Environment* 115 (8): 1882–92. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2011.03.011>.
- Frankenberg, C., y J. Berry. 2018. "Solar Induced Chlorophyll Fluorescence: Origins, Relation to Photosynthesis and Retrieval". En *Comprehensive Remote Sensing*, 143–62. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.10632-3>.
- Guanter, L., L. Alonso, L. Gómez-Chova, J. Amorós-López, J. Vila, y J. Moreno. 2007. "Estimation of Solar-Induced Vegetation Fluorescence from Space Measurements". *Geophysical Research Letters* 34 (8). <https://doi.org/10.1029/2007GL029289>.
- Guanter, L., L. Alonso, L. Gómez-Chova, M. Meroni, R. Preusker, J. Fischer, y J. Moreno. 2010. "Developments for Vegetation Fluorescence Retrieval from Spaceborne High-Resolution Spectrometry in the O2-A and O2-B Absorption Bands". *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* 115 (D19). <https://doi.org/10.1029/2009JD013716>.
- Malenovský, Zbyněk, Kumud Bandhu Mishra, František Zemek, Uwe Rascher, y Ladislav Nedbal. 2009. "Scientific and technical challenges in remote sensing of plant canopy reflectance and fluorescence". *Journal of Experimental Botany* 60 (11): 2987–3004. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp156>.
- Meroni, M., M. Rossini, L. Guanter, L. Alonso, U. Rascher, R. Colombo, y J. Moreno. 2009. "Remote Sensing of Solar-Induced Chlorophyll Fluorescence: Review of Methods and Applications". *Remote Sensing of Environment* 113 (10): 2037–51. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2009.05.003>.
- Mohammed, Gina H., Roberto Colombo, Elizabeth M. Middleton, Uwe Rascher, Christiaan van der Tol, Ladislav Nedbal, Yves Goulas, et al. 2019. "Remote Sensing of Solar-Induced Chlorophyll Fluorescence (SIF) in Vegetation: 50 years of Progress". *Remote Sensing of Environment* 231 (septiembre): 111177. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2019.04.030>.
- Ni, Zhuoya, Qifeng Lu, Hongyuan Huo, y Huili Zhang. 2019. "Estimation of Chlorophyll Fluorescence at Different Scales: A Review". *Sensors* 19 (13): 3000. <https://doi.org/10.3390/s19133000>.
- Pacheco-Labrador, Javier, Andreas Hueni, Laura Mihai, Karolina Sakowska, Tommaso Julitta,

- Joel Kuusk, Dan Sporea, et al. 2019. "Sun-Induced Chlorophyll Fluorescence I: Instrumental Considerations for Proximal Spectroradiometers". *Remote Sensing* 11 (8): 960. <https://doi.org/10.3390/rs11080960>.
- Plascyk, James A. 1975. "The MK II Fraunhofer Line Discriminator (FLD-II) for Airborne and Orbital Remote Sensing of Solar-Stimulated Luminescence". *Optical Engineering* 14 (4): 339-0. <https://doi.org/10.1117/12.7971842>.
- Porcar-Castell, Albert, Zbyněk Malenovský, Troy Magney, Shari Van Wittenberghe, Beatriz Fernández-Marín, Fabienne Maignan, Yongguang Zhang, et al. 2021. "Chlorophyll a Fluorescence Illuminates a Path Connecting Plant Molecular Biology to Earth-System Science". *Nature Plants* 7 (8): 998-1009. <https://doi.org/10.1038/s41477-021-00980-4>.
- Porcar-Castell, Albert, Esa Tyystjärvi, Jon Atherton, Christiaan van der Tol, Jaume Flexas, Erhard E. Pfündel, Jose Moreno, Christian Frankenberg, y Joseph A. Berry. 2014. "Linking chlorophyll a fluorescence to photosynthesis for remote sensing applications: mechanisms and challenges". *Journal of Experimental Botany* 65 (15): 4065-95. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru191>.
- Spectra Vista Corporation (SVC). 2019. "Field Spectroscopy Guide with SVC i-series Spectroradiometers". <https://spectravista.com/wp-content/uploads/2021/05/SVC-Field-Spectroscopy-Guide-Rev-1-2019-10-22.pdf>.