

## ANÁLISIS COMPARATIVO DE MÉTODOS PARA LA MEDIDA DE LA FLUORESCENCIA EMITIDA POR LA VEGETACIÓN

M<sup>a</sup> P. Cendrero (\*), L. Alonso (\*), L. Guanter (\*\*), J. Delegido (\*), A. Forner (\*) y J. Moreno (\*).

(\* ) *LPI, Universidad de Valencia, P.O. Box 22085. E-46071 Paterna (Valencia) macenma@alumni.uv.es.*

(\*\* ) *GeoForschungsZentrum Potsdam, Remote Sensing Section, Telegrafenberg, D-14473, Potsdam, Germany.*

### RESUMEN

El incremento del CO<sub>2</sub> en la atmósfera provoca muchas de las alteraciones climáticas observadas y tiene un impacto importante en la vegetación. Las plantas utilizan el CO<sub>2</sub> para realizar la fotosíntesis, eliminándolo de la atmósfera (produciendo oxígeno); si conocemos el nivel de actividad fotosintética real evaluaremos mejor el ciclo del carbono. Para ello se han realizado investigaciones sobre nuevos métodos de seguimiento de la fotosíntesis a través de medidas de fluorescencia. Este trabajo presenta una comparativa de cuatro de estos métodos. Se basan en la medida de radiancias, explotan la absorción en las líneas de Fraunhofer para separar la emisión de fluorescencia de la radiancia reflejada y requieren medidas con alta resolución espectral. Tres de los métodos requieren 2 ó 3 canales espectrales dentro y fuera de la absorción (FLD, 3FLD, cFLD), el otro requiere medidas hiperespectrales que cubren todo el rango de interés (iFLD). Los resultados muestran que el método iFLD, ofrece los mejores resultados, su mayor número de bandas permite una mejor estimación de la reflectividad dentro de la banda de absorción. Los otros métodos presentan problemas de precisión.

### ABSTRACT

The increase of CO<sub>2</sub> in the atmosphere is responsible of many of the observed climate changes and has a big impact on vegetation. Plants use CO<sub>2</sub> for photosynthesis removing it from the atmosphere (producing oxygen), so it is imperative to know the real level of photosynthetic activity of vegetation to assess properly the carbon cycle. Some research has been done in the last years to provide new methods for monitoring the photosynthesis through fluorescence. This paper presents a comparative analysis of four of these methods to determine which one provides more accurate results. The methods are based on the measurement of radiance, making use of the absorption lines to separate the Fraunhofer Fluorescent emission from reflected radiance and requires high spectral resolution. Three of the methods require 2 or 3 spectral channels and outside the absorption (FLD, 3FLD, cFLD), while the other requires hyperspectral data, covering the entire range of interest (iFLD). The analysis is based in real data. The results show that iFLD, method gives the best results as the large number of bands allows a better estimation of the reflectance within the absorption band. While other methods have serious problems with accuracy.

**Palabras clave:** fluorescencia (F), reflectividad (r), radiancia, irradiancia, Fraunhofer Line Depth (FLD), 3FLD, cFLD, Improved FLD (iFLD).

### INTRODUCCIÓN

La fluorescencia de la clorofila consiste en la emisión de luz en el rojo e infrarrojo cercano por parte de las plantas en respuesta a la radiación fotosintética absorbida. Permite la estimación directa de la actividad fotosintética de la vegetación, un parámetro clave para los modelos del ciclo del carbono. Medir la fluorescencia es difícil pues representa una pequeña cantidad de la radiancia total medida por el sensor, está enmascarada por la luz reflejada por la planta.

Una manera de medir la fluorescencia de esta curva espectral de reflectividad es usando el métodos de discriminación por líneas de Fraunhofer

(FLD) y derivados. Estos métodos permiten estimar la emisión de fluorescencia en las bandas de alta absorción atmosférica de las líneas de Fraunhofer, en particular las del oxígeno (O<sub>2</sub>-B y A) dentro de las cuales la cantidad de radiación reflejada es comparable con la emisión de fluorescencia. El principal objetivo de este trabajo es un análisis comparativo de cuatro métodos de estimación de fluorescencia: FLD, 3FLD, cFLD, iFLD con la finalidad de analizar la precisión de cada uno de ellos.

### METODOLOGÍA

Para este estudio hemos utilizado una base de datos simulados que permiten la cuantificación

de la precisión de cada método, con valores de: fluorescencia y reflectividad real, radiancia e irradiancia en un rango espectral de 750 a 770 nm correspondiente a la absorción del O<sub>2</sub>-A y con una resolución de 0,1 nm. La simulación se realizó para dos casos: el caso ideal en que los datos están libres de ruido, y el caso realista en el que se ha incorporado un ruido similar al que produciría el espectrómetro a bordo de FLEX Explorer de ESA.

Tres de los métodos propuestos (FLD, 3FLD, cFLD) requieren 1 ó 2 canales fuera de la línea de absorción estudiada y uno dentro de ella mientras que el método iFLD requiere un conjunto de canales continuos cubriendo todo el rango espectral de interés.

FLD:

El método FLD (Plascyk 1975) requiere la medida de la irradiancia solar incidente ( $E$ ) y la radiancia de la muestra ( $L$ ) dentro y fuera de la línea de absorción, usando las longitudes de onda 760,6 y 754,4 nm respectivamente para el O<sub>2</sub> A.

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

La ecuación (1) expresa la composición de la luz procedente de una muestra de vegetación en términos de radiancia reflejada y emitida. La absorción de Fraunhofer provoca que la proporción de ambas contribuciones sea diferente por lo que usando la medida dentro y asumiendo

$$r(\lambda_{in}) \approx r(\lambda_{out}) \quad F(\lambda_{in}) \approx F(\lambda_{out})$$

se puede obtener

$$r = \frac{L(\lambda_{out}) - L(\lambda_{in})}{E(\lambda_{out}) - E(\lambda_{in})} \quad (2)$$

$$F = \frac{E(\lambda_{out}) \cdot L(\lambda_{in}) - L(\lambda_{out}) \cdot E(\lambda_{in})}{E(\lambda_{out}) - E(\lambda_{in})}$$

El principal inconveniente de este método es que supone que  $F$  y  $r$  se mantienen constantes a lo largo de espectro y especialmente dentro y fuera de la línea de absorción, lo cual no se cumple de manera general (Alonso *et al.* 2008, Gómez-Chova *et al.* 2006, Meroni & Colombo 2006, Moya *et al.* 2006).

3FLD:

Este método propone usar tres bandas para resolver la ecuación 2 subsanando las limitaciones del método anterior. La única banda de referencia ( $\lambda_{out}$ ) del FLD se reemplaza por el promedio de dos bandas fuera de la línea de la absorción ( $\lambda_{out1}=754,4$

nm,  $\lambda_{out2}=768,8$  nm), en longitudes de onda anteriores y posteriores (Marier *et al.* 2003).

cFLD:

Este método propuesto en Gomez-Chova *et al.* 2006, Moya *et al.* 2006 emplea dos factores de corrección ( $\alpha_r$  y  $\alpha_f$ ) con el fin de incluir la variación de  $r$  y  $F$  en la formulación:

$$r(\lambda_{in}) = \alpha_r r(\lambda_{out}) \quad (3)$$

$$F(\lambda_{in}) = \alpha_f F(\lambda_{out})$$

Donde  $r$  es la reflectividad aparente (afectada por la emisión de fluorescencia) definida como:

$$r(\lambda) = \frac{L(\lambda)}{E(\lambda)} \quad (4)$$

Se necesitan tres bandas (una dentro y dos fuera) para calcular el factor de corrección de reflectividad ( $\lambda_{in}$  760,6 nm,  $\lambda_{out1}$  754,4 nm,  $\lambda_{out2}$  768,8 nm).  $\alpha_r$  se deduce de la reflectividad aparente ( $r$  de la ecuación 4) por interpolación de los valores obtenidos fuera de la línea de absorción.

Al sustituir los factores de corrección en la ecuación 2:

$$r = \frac{\alpha_r E(\lambda_{out}) / \alpha_f L(\lambda_{in}) - L(\lambda_{out}) / \alpha_f L(\lambda_{in})}{\alpha_r E(\lambda_{out}) / \alpha_f - E(\lambda_{in})} \quad (5)$$

$$F = \frac{L(\lambda_{out}) / \alpha_f - L(\lambda_{in})}{\alpha_r E(\lambda_{out}) / \alpha_f - E(\lambda_{in})}$$

El factor de corrección para la fluorescencia,  $\alpha_f$ , se fija independientemente de la muestra.

iFLD:

Asume que la forma de  $r$  aparente es similar a la de  $r$  una vez que el pico en  $r$  aparente, debido al relleno de la absorción atmosférica por  $F$ , se elimina por medio de interpolación spline o cubica, superando así la suposición de linealidad del cFLD. De esta interpolación se obtiene el factor de reflectividad aparente  $\alpha_r$ .

Después de las manipulaciones matemáticas de las ecuaciones del cFLD y teniendo en cuenta que la magnitud de  $F$  es siempre mucho menor con respecto a la luz solar incidente fuera de la línea de absorción, el factor de corrección de  $F$  se puede aproximar como (Alonso *et al.*, 2008):

$$\alpha_F \approx \frac{E(\lambda_{out})}{E(\lambda_{in})} \alpha_r \quad (6)$$

Donde  $E(\lambda_{out})$  es la irradiancia fuera de la línea y  $E(\lambda_{in})$  es la irradiancia dentro de la absorción obtenida al interpolar las irradiancias de fuera de la línea para eliminar el efecto de la absorción atmosférica. (Alonso *et al.* 2007,2008).

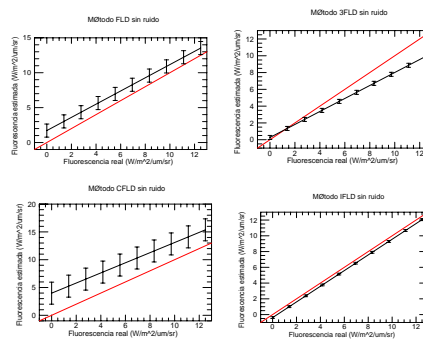
## RESULTADOS

Para determinar cuál de los cuatro métodos nos ofrece mejores resultados estimamos  $F$  y  $r$  y los comparamos con los valores reales de fluorescencia y reflectividad. En total hemos evaluado la combinación de 10 niveles de fluorescencia con 11 de reflectividad. En las gráficas siguientes mostramos un análisis comparativo de fluorescencia estimada para distintos niveles de fluorescencia real según cada uno de los métodos, habiendo utilizado datos libres de ruido. Las barras de error indican la dispersión en la estimación del valor de fluorescencia al utilizar diferentes reflectividades. La línea discontinua nos muestra la correlación que debería existir si la estimación fuera perfecta.

Observamos (Figura 1):

- El método FLD produce una sobreestimación sistemática de fluorescencia que disminuye solo ligeramente para niveles altos de  $F$  real.
- El método 3FLD al interpolar la banda de referencia reduce la dispersión de las estimaciones, aunque al considerar la fluorescencia constante espectralmente se produce una subestimación de la misma que es mayor a medida que aumenta la  $F$  real.
- El método cFLD presenta una sobreestimación en los valores de fluorescencia sistemática y una dispersión importante al cambiar la forma de la reflectividad, indicativo de que utilizar un factor corrector que no sea adecuado resulta peor que asumir factores unidad (FLD).
- El método iFLD proporciona una estimación de fluorescencia muy cercana a la real, con una dispersión en los resultados muy pequeña, lo que muestra la robustez de este método frente a la variabilidad en la reflectividad de la muestra.

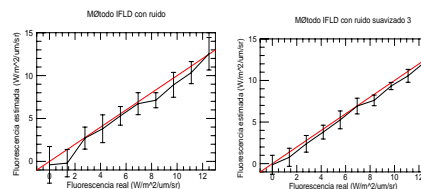
El hecho de que el método FLD considere constante los valores de  $F$  y  $r$  a lo largo del espectro y utilice dos bandas separadas espectralmente para resolver la ecuación (2) son los responsables del error tan grande obtenido. El método 3FLD corrobora esta afirmación pues, aunque al introducir una tercera banda para interpolar la reflectividad no considerando  $r$  constante los resultados mejoran, el



**Figura 1.** Comparativa de fluorescencia estimada y real para los métodos FLD, 3FLD, cFLD, iFLD.

seguir considerando  $F$  constante introduce una subestimación. cFLD asume que  $r$  y  $F$  no son constantes por medio de factores correctores. El factor de reflectividad al derivarse de la propia medida varía según el caso pero al factor de fluorescencia se le asigna un valor fijo, sin tener en cuenta que puede variar con la intensidad de  $F$  o con diferentes tipos de vegetación (Vila-Francés *et al.* 2006). Por último, el método iFLD estima ambos factores correctores  $a_r$  y  $a_F$  a partir del espectro y al usar un mayor número de bandas para interpolar mejora sustancialmente la estimación de  $r$  y  $F$  independientemente de la forma de la reflectividad real.

iFLD es el método que mejores resultados nos ofrece en el caso ideal de disponer datos libres de ruido. Al utilizar datos que incluyen en la simulación el ruido del sensor todos los métodos sufren un incremento en los errores de estimación, así como una mayor dispersión en los resultados para distintas reflectividades, pero el más afectado es el iFLD que pasa a proporcionar resultados similares a los del FLD, pero debido a que se dispone de un espectro continuo es posible aplicar un suavizado para reducir el nivel de ruido en la señal. Usando tan solo tres vecinos es posible reducir el nivel del error a la mitad y la dispersión de las estimaciones. (Figura 2).

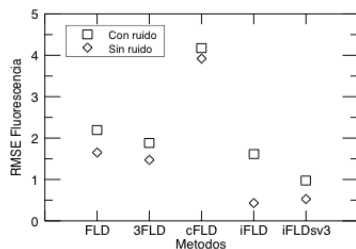


**Figura 2.** Comparativa de fluorescencia real y estimada a partir de datos con ruido usando iFLD sin suavizado (izq) y con suavizado (dcha).

La figura 3 recoge el error global cometido por cada método para la totalidad de los 110 casos simulados, separando entre la situación ideal (libre de ruido) y la realista (con ruido de sensor).

## CONCLUSIONES

Los resultados nos muestran que el método hiperspectral iFLD es el que mejores resultados nos ofrece incluso considerando el ruido, al permitir su mayor número de bandas una mejor estimación de la reflectividad dentro de la banda de absorción, y al basarse en aproximaciones más realistas. Mientras que los otros métodos presentan graves problemas de precisión, con sobrestimaciones de más del 100% especialmente para niveles de medios y bajos de fluorescencia.



**Figura 3.** RMSE total para cada uno de los métodos estudiados considerando el caso ideal (diamantes) y el caso realista (cuadrados). Queda patente la importancia de tener en cuenta la forma espectral de la reflectividad y la fluorescencia en el método de estimación; así como la necesidad de disponer de un espectro completo en la zona de absorción y adyacentes.

Para el futuro, el trabajo se centrará en realizar un análisis similar para la banda de absorción del O<sub>2</sub>-B, y un estudio para determinar la resolución espectral mínima de los datos a la cual sigue siendo posible la estimación de la fluorescencia con suficiente precisión.

## BIBLIOGRAFÍA

Plascyk, J.A. (1975). The MK II Fraunhofer line discriminator (FLD-II) for airborne and orbital remote sensing of solar-stimulated luminescence. *Optical Engineering*, 14, 339-346.

Maier, S., Günther, K.P., & Stellmes, M. 2003. Sun-induced fluorescence: a new tool for precision farming. In T. VanToai, D. Major, M. McDonald, J. Schepers, L. Tarpley (Ed.), *Digital Imaging and Spectral Techniques: Applications to Precision Agriculture and Crop Physiology* (pp. 209-222). Madison: American Society of Agronomy.

Gómez-Chova, *et al.* 2006. Solar induced fluorescence measurements using a field spectroradiometer. *Earth Observation For Vegetation Monitoring And Water Management. AIP Conference Proceedings*, 852, 274-281.

Moya, I., Ounis, A., Moise, N., & Goulas, Y. 2006. First airborne multiwavelength passive chlorophyll fluorescence measurements over La Mancha (Spain) fields. In J.A. Sobrino (Ed.), *Second Recent Advances in Quantitative Remote Sensing*, (pp. 820-825), Publicacions de la Univ. de València, Spain.

Vila-Francés, J., *et al.* 2006. Vegetations fluorescence spectrum and Kautsky effect measurements under natural solar illumination. In J.A. Sobrino (Ed.), *Second Recent Advances in Quantitative Remote Sensing*, (pp. 985-990), Publicacions de la Univ. de València, Spain.

Meroni, M., & Colombo, R. 2006. Leaf level detection of solar induced chlorophyll fluorescence by means of a subnanometer resolution spectroradiometer. *Remote Sensing of Environment*, 103, 438-448.

Alonso, L., *et al.* 2007. Sensitivity analysis of the Fraunhofer Line Discrimination method for the measurement of chlorophyll fluorescence using a field spectroradiometer. *Geoscience and Remote Sensing Symposium, IGARSS 2007*, 3756-3759.

Alonso, L., *et al.* 2008. Improved Fraunhofer Line Discrimination method for vegetation fluorescence quantification. *IEEE Geoscience and Remote Sensing Letters*, 620-624.