

TELEDETECCIÓN PASIVA DE LA ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA

I. Moya^(*), S. Evain^(*), A. Ounis^(*), J. Moreno^(**), L. Alonso^(**)
Ismael.Moya@lure.u-psud.fr

() Equipe Photosynthèse et Télédétection, LURE-CNRS, Campus Universitaire bât 209A. 91898 Orsay, France*

*(**) Dpt. de Termodinámica, Facultad de Física, Universidad de Valencia, 46100 Burjassot, España*

RESUMEN

En varias publicaciones recientes se ha discutido sobre la posibilidad de extraer la emisión de fluorescencia de la Chl a partir de medidas de reflectividad, usando el principio de Discriminación de las Líneas de Fraunhofer (FLD del inglés Fraunhofer Line Discrimination). En 1998 la cuestión se reconsideró por medio del proyecto FLEX "Fluorescence Explorer" propuesto a la ESA. El método FLD compara la profundidad de una banda de absorción en la irradiancia solar con la profundidad de la banda en la radiancia del objeto. En este contexto, un nuevo Detector Pasivo de Fluorescencia Multiespectral (PMFD), aplicado a las bandas de absorción del oxígeno atmosférico, ha sido desarrollado en el LURE. El objetivo de este artículo es presentar las primeras aplicaciones de este instrumento, para evaluar el potencial del método FLD para realizar medidas a distintos niveles de integración, de la hoja a la cubierta vegetal. También se pretende resaltar las limitaciones actuales y los pasos preparatorios necesarios hacia una misión espacial.

ABSTRACT

Several recent publications have discussed the possibility to extract Chl fluorescence emission from reflectance measurement, using the FLD (Fraunhofer Line Discrimination) principle. In 1998 the question has been reconsidered by the FLEX "fluorescence explorer" project proposed to ESA. The FLD method compares the depth of an absorption band in the solar irradiance to the depth of the line in the radiance of the target. In this context a new Passive Multiwavelength Fluorescence Detector (PMFD), applied within the atmospheric oxygen absorption bands, has been developed at LURE. The aim of the present paper is to present the first applications of this instrument in order to evaluate the potential of the FLD method for measurements at different integration levels, from leaf to canopy. It is also intended to highlight the actual limitations and the necessary preparatory steps towards a space mission.

Palabras clave: teledetección pasiva, fluorescencia, vegetación, fotosíntesis

La vegetación tiene un papel fundamental en la biosfera, no simplemente debido a la acumulación de biomasa, sino también por su papel en los ciclos bio-geoquímicos y en el intercambio con la atmósfera, en particular a través del flujo de CO₂. La clorofila es el pigmento clave en la base de los procesos de producción primaria y también el único componente de la biosfera que emite fluorescencia en el rojo (Figura 1). La emisión de fluorescencia se produce después que la luz haya sido absorbida, mediante un mecanismo directamente en competición con la conversión fotoquímica. Aunque esta emisión sea muy baja (<1% de la luz absorbida) es muy utilizada para el seguimiento de la actividad fotosintética a nivel de laboratorio. A nivel de campo la fluorescencia se puede medir a varios metros de distancias utilizando un láser de impulsos y un telescopio (Chappelle et al. 1994, Flexas et al. 2001, Moya et al. 2001, Moya et al. 2002) pero las medidas desde un avión o un satélite están fuera del alcance de esta técnica (Ounis et al. 2001).

La teledetección pasiva permite extraer la señal de fluorescencia de la radiancia de la vegetación, sin utilizar una fuente de luz externa. Esto solamente es posible a ciertas longitudes de onda en las cuales la irradiancia es muy reducida, debido a la absorción de las atmósferas terrestre o solar (líneas de Fraunhofer) (Figura 1). Un instrumento FLD, que utilizaba la línea de absorción a 656.3 nm (H α) del hidrógeno de la atmósfera solar, fue diseñado en los años 70 (Plascyck y Gabriel 1975) y aplicado al estudio de la vegetación por (McFarlane et al., 1980) y (Carter et al., 1990). No obstante, esta medida resulta muy delicada debido a la estrechez de la línea H α (FWHM = 0.144 nm) y su posición, muy al borde del espectro de emisión de la fluorescencia de la clorofila (Figura 1). Por esa razón se han buscado otras soluciones, considerando la posibilidad de utilizar las bandas de absorción del oxígeno atmosférico. Estas bandas, de mayor anchura que la H α , permiten medir la fluorescencia de la clorofila en cada uno de los dos picos de su espectro de emisión, respectivamente a 687 y 760 nm (Figura 1).

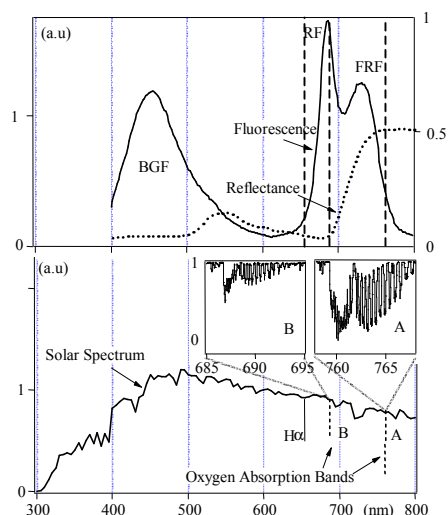


Figura 1.- Arriba: Línea continua: espectro de emisión de la fluorescencia de una hoja de viña excitada a 355 nm. Línea punteada: reflectividad de la misma hoja. Abajo: espectro solar al nivel del mar. Líneas punteadas: bandas de absorción del oxígeno atmosférico. Línea continua: bandas de absorción del hidrogeno de la atmósfera solar. Detalle de las bandas de absorción del oxígeno atmosférico (A, B).

La primera aplicación operacional del principio del FLD (Figura 2) en las bandas de absorción del oxígeno atmosférico fue presentada por Moya et al. (1998). El problema principal de la utilización de estas bandas reside en la variabilidad de la profundidad $p=a/b$ (Figura 2) que caracteriza la irradiancia. Donde p depende de la masa de aire atravesada, la cual cambia con la hora del día y el tipo de iluminación (luz directa o difusa). La medida de p se puede hacer directamente utilizando un panel de referencia (Spectralon) o utilizando un modelo de absorción atmosférica (Evain, S. 2002).

Un nuevo instrumento (PMFD: Passive Multi-wavelength Fluorescence Detector) para la medida continua de la fluorescencia de la clorofila 687 nm y a 760 nm ha sido realizado en el LURE (Evain et al. 2001, Evain et al. 2002). Además de la fluorescencia el PMFD también mide la reflectividad en las mismas longitudes de onda, y el $PRI=(R531-R570)/(R531+R570)$ que se ha mostrado estar relacionado con los mecanismos de disipación del exceso de energía absorbida por las plantas (Gamon et al. 1990, Moya et al 2001). El PMFD se

ha calibrado a nivel de hoja comparándolo con un fluorímetro activo y se ha demostrado que las

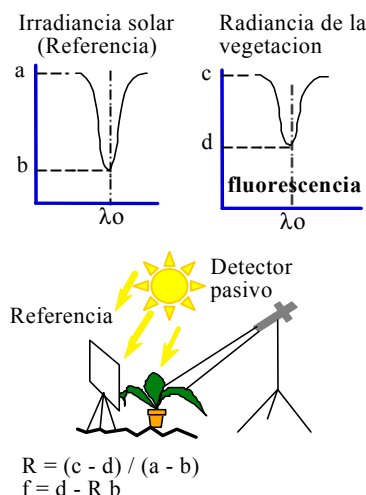


Figura 2.- El método se basa en la disminución de la profundidad de la línea de absorción de la señal de la radiancia, debido a la contribución de la fluorescencia. El cálculo supone que las longitudes de onda a las cuales se miden a y b (o c y d) son suficientemente próximas para que se pueda considerar que $R(\lambda)$ y $f(\lambda)$ son constantes.

variaciones de fluorescencia inducidas por una transición oscuridad-luz resultan idénticas medidas por los dos aparatos.

Para comprobar la capacidad de medir en campo, el instrumento se ha instalado a 10 metros de altura encima de una torre. Un ciclo diario completo se ha medido sobre un blanco de hierba natural de 0.5 m² (*lolium perene*) situado a una distancia de 14 m. En este experimento la señal de fluorescencia representa 1.3% de la radiancia del blanco a 760 nm (continuo fuera de la banda de absorción) y 25% de la radiancia total a 687. En la Figura 3 se observa una disminución del F_s al mediodía debida a la acumulación de los efectos de la alta luminosidad. Esta variación es similar a la que se observa con medidas de fluorescencia activa (Moya et al. 2002).

El índice PRI también muestra variaciones parecidas a las de la fluorescencia estacionaria (F_s), debido al control que ejercen sobre ambos parámetros, los mecanismos de disipación del exceso de energía absorbida (Figura 4). Estos mecanismos son fundamentales para la

supervivencia de las plantas expuestas a alta luz o a ciertos estreses (S. Evain, J. Flexas y I. Moya, aún no publicado).

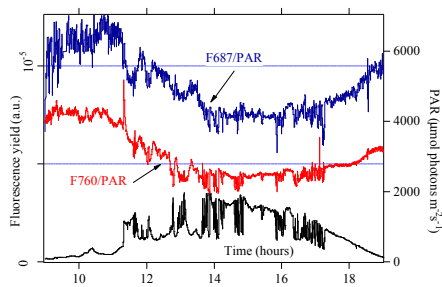


Figura 3.- Ciclo diario del rendimiento de fluorescencia relativo a 687 y a 760 nm y del PAR un día de alta luz con nubes pasajeras (20 Septiembre 2001, Avignon, Francia). Es de notar el paralelismo de las dos curvas del rendimiento y también su disminución al medio día, debida a los mecanismos de disipación del exceso de energía absorbida.

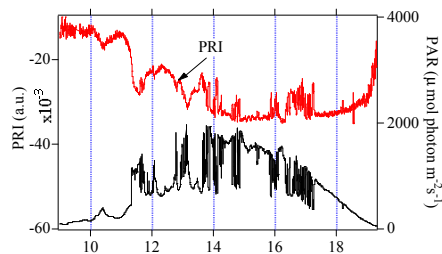


Figura 4.- Variación diurna del índice PRI. Misma muestra y mismo día que la Figura 3. El PRI baja porque durante los periodos de alta luz se acumulan la forma zeaxantina de las xantofilas y formas de bajo rendimiento de los complejos clorofila-proteína colectores de energía. Cuando la luz disminuye debido a una nube, estos mecanismos se invierten y el PRI aumenta. Es de notar el paralelismo con la fluorescencia (Figura 3).

En el marco de la validación del instrumento, se hizo una nueva serie de medidas desde la misma torre sobre un campo de maíz. En este caso el objetivo era de detectar el cambio del rendimiento de la fluorescencia de la clorofila cuando la transferencia de electrones fotosintéticos queda bloqueada después de añadir un herbicida (DCMU). Los resultados de las medidas pasivas muestran claramente a nivel de campo un aumento del rendimiento relativo de fluorescencia de

aproximadamente un factor tres (Figura 5). Este crecimiento se ha confirmado por medidas activas de contacto a nivel de hoja.

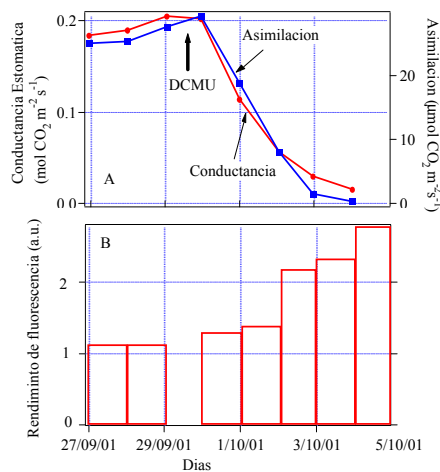


Figura 5.- Arriba: Inhibición de la asimilación y de la conductancia estomática debido a la adición saturante del DCMU. Cada punto representa la media de 8 medidas efectuadas en diferentes hojas. Las mismas hojas han sido medidas a lo largo del experimento. Abajo: Aumento del rendimiento de fluorescencia pasiva a nivel de campo (F/PAR) integrado durante una hora alrededor de medio día. Las medidas pasivas han sido confirmadas por medidas efectuadas con un fluorímetro activo de contacto.

El PMFD también se ha utilizado en el marco de la campaña de medidas SIFLEX, organizada por la ESA en Sodankylä (Finlandia) durante la primavera del 2002, para experimentar la posibilidad de seguir, con medidas de fluorescencia, la recuperación de la capacidad fotosintética de los pinos (*pinus sylvestris*) después del invierno boreal. El PMFD fue instalado encima de una torre de 20 m y midió sobre un blanco compuesto de varios árboles a una distancia de 45 m. Durante esta campaña también se experimentó, en paralelo con las medidas del PMFD, la posibilidad de extraer la información de fluorescencia de la derivada del espectro de reflectividad medido con un espectroradiómetro de alta resolución. Medidas a mayor distancia están en preparación en el marco del proyecto AIRFLEX iniciado por ESA que llevará a cabo la instalación de un instrumento pasivo utilizando las bandas del oxígeno atmosférico a bordo de un avión.

La aplicación de la técnica FLD en las bandas de absorción del oxígeno atmosférico se enfrenta con el problema de la reabsorción de la señal de fluorescencia. La situación de la banda a 760 nm es la más crítica. A esta longitud de onda, un cálculo simple de la absorción de la fluorescencia por la atmósfera indica que la disminución de la señal será de unos 10% por una altura de 1000 m. Esta atenuación no debe impedir la medida incluso desde un satélite puesto que la absorción de la atmósfera en la dirección del nadir sería de 60%.

Hasta estos últimos años, se consideraba que la única posibilidad, para hacer medidas de fluorescencia desde un satélite, reposaba en las líneas de Fraunhofer de origen solar (Plascyk 1975, Moya et al. 1992). Los resultados presentados en esta comunicación muestran que la utilización de las bandas de absorción del oxígeno atmosférico puede ser otra opción posible.

BIBLIOGRAFÍA

- Carter, G.A., Theisen, A.F. and Mitchell, R.J. 1990. Chlorophyll fluorescence measured using the Fraunhofer line-depth principle and relationship to photosynthetic rate in the field. *Plant Cell Environ.* 13: 79-83
- Chappelle, E.W., Wood, F.M., McMurtry, J.E. and Newcomb, W.W. 1984. Laser-induced fluorescence of green plants. 1: A technique for the remote detection of plant stress and species differentiation. *Appl. Opt.*, 23(1): 134-138
- Cerovic, Z.G., Samson, G., Morales, F., Tremblay, N. and Moya, I. 1999. Ultraviolet-induced fluorescence for plant monitoring: present state and prospects. *Agronomie: Agriculture and Environment*, 19: 543-578
- Evain, S., Camenen, L. and Moya, I. 2001. Three channels detector for remote sensing of chlorophyll fluorescence and reflectance from vegetation, 8th International Symposium: *Physical Measurements and Signatures in Remote Sensing*, (M. Leroy, ed.) Aussois, France, 2001, CNES, pp. 395- 400.
- Evain S. , Ounis A. , Baret F. , Goulas Y. , Louis J., Cerovic Z.G. and Moya I. 2002. Passive vegetation fluorosensing using atmospheric oxygen absorption bands. *Proceedings of the First International Symposium on Recent Advances on Remote Sensing*. Torrent, Spain 16-20 September 2002.J.A. Sobrino Ed pp 509-513.
- Evain Sébastien 2002. *Télédétection passive de la fluorescence des couverts végétaux*. PhD Thesis, Université de Paris-Sud. Orsay- France.
- Flexas, J., Briantais, J.-M., Cerovic, Z. G., Medrano, H. and Moya, I. 2000. Steady-state and maximum chlorophyll fluorescence responses to water stress in grapevine leaves: A new remote sensing system. *Remote Sens. Environ.* 73(3): 283-297.
- Flexas, J., Escalona, J.M., Evain, S., Moya, I., Osmond, C.B. and Medrano, H. 2001. Steady-state chlorophyll fluorescence (Fs) measurements as a tool to follow variations of net CO₂ assimilation and stomatal conductance during water-stressed in C₃ plants. *Physiol. Plantarum*, 114, pp 231-240
- Gamon, J.A., Field, C.B., Bilger, W., Bjorkman, O., Fredeen, A.L. and Penuelas, J. 1990. Remote sensing of xanthophyll cycle and chlorophyll fluorescence in sunflower leaves and canopies. *Oecologia*, 85: 17
- McFarlane, J. C., Watson, R. D., Theisen, A. F., Jackson, R. D., Ehrler, W. L., Pinter, P. J., Idso, S. B. and Reginato, R. J. 1980. Plant stress detection by remote measurement of fluorescence. *Appl. Opt.* 19(19): 3287-3289.
- Moya, I., Guyot, G. and Goulas, Y. 1992. Remotely sensed blue and red fluorescence emission for monitoring vegetation. *ISPRS J. Photogram. Remote Sens.*, 47: 205-231
- Moya, I., Camenen, L., Latouche, G., Mauxion, C., Evain, S. and Cerovic, Z.G. 1998. An instrument for the measurement of sunlight excited plant fluorescence, *Photosynthesis: Mechanisms and Effects*, (G. Gorab, ed.) Kluwer Acad. Pub.: Dordrecht, pp. 4265-4270
- Moya, I., Cerovic, Z.G., Evain, S., Goulas, Y., Ounis, A. and Stoll, M.-P. 2001. Télédétection de l'activité photosynthétique : de la vérité terrain à la mesue satellitaire. 8th International Symposium: *Physical Measurements and Signatures in Remote Sensing* (M. Leroy, ed.) Aussois, France: CNES, pp. 319-332
- Moya, I., Ounis, A., Cerovic, Z.G. and Y. Goulas. 2002. Active vegetation fluorosensing: present state and prospects. *Proceedings of the First International Symposium on Recent Advances on Remote Sensing*. Torrent, Spain 16-20 September 2002.J.A. Sobrino Ed pp339-342
- Ounis, A., Evain, S., Flexas, J., Tosti, S. and Moya, I. 2001. Adaptation of a PAM-fluorometer for remote sensing of chlorophyll fluorescence. *Photosynth. Res.*: in press.
- Plascyk, J. A. and Gabriel, F. C. 1975. The Fraunhofer line discriminator MKII -An airborne instrument for precise and standardized ecological

luminescence measurements. *IEEE Trans. Instrum. Meas.* 24(4): 306-313.

Plascyk, J. A. (1975). The MK II Fraunhofer line discriminator (FLD-II) for airborne and orbital remote sensing of solar-stimulated luminescence. *Opt. Eng.* 14(4): 339-346.