



Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes

Universidad de Córdoba

Trabajo Profesional Fin de Carrera

**DETECCIÓN DE ESTRÉS HÍDRICO EN OLIVAR
MEDIANTE FLUORESCENCIA CLOROFÍLICA, MÉTODOS DE
ESPECTROSCOPIA Y TELEDETECCIÓN TÉRMICA.**

Alumno: Óscar Pérez Priego

Titulación: Ingeniero de Montes

Especialidad: General

Diciembre, 2004

Directores del Proyecto

Dr. Pablo J. Zarco Tejada

Investigador Contratado, IAS-CSIC

Dr. Elías Fereres Castiel

Catedrático, Dpto. Agronomía

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
AGRÓNOMOS Y DE MONTES**

TRABAJO PROFESIONAL FIN DE CARRERA

**DETECCIÓN DE ESTRÉS HÍDRICO EN OLIVAR
MEDIANTE FLUORESCENCIA CLOROFÍLICA, MÉTODOS DE
ESPECTROSCOPIA Y TELEDETECCIÓN TÉRMICA.**

Firma de los directores del trabajo:

Fdo: Dr. Pablo J. Zarco Tejada

Fdo: Dr. Elías Fereres Castiel

Firma del Alumno:

Fdo: Óscar Pérez Priego

Córdoba, Diciembre 2004

Dr. Pablo J. Zarco Tejada, Investigador contratado del Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC).

Dr. Elías Fereres Castiel, Catedrático del Departamento de Agronomía de la ETSIAM de la Universidad de Córdoba.

INFORMAN:

Que el trabajo Fin de Carrera titulado “Detección de estrés hídrico mediante fluorescencia clorofílica, técnicas de espectroscopía y detección térmica”, del que es autor Oscar Pérez Priego, reúne los requisitos necesarios para su defensa y tiene carácter de trabajo de investigación.

Y para que conste firman el presente informe en Córdoba a 29 de Noviembre de 2004.

VºBº del Director

VºBº del Director

Dr. Pablo J. Zarco Tejada

Dr. Elías Fereres Castiel

Agradecimientos

Agradecimientos

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que han hecho posible este trabajo:

A mis directores, Pablo J. Zarco Tejada y Elías Fereres Castiel, por darme la oportunidad de aprender.

Gracias Pablo por todo lo que me has enseñado, por tus consejos, por tu rigor científico, por el tiempo que me has dedicado. Nunca olvidaré todo lo que has hecho por mí.

A Guadalupe por su ayuda y compañía en todas las medidas de campo. A Auxi y Carmen por ayudarme a resolver cualquier duda. A F. Villalobos por su apoyo científico. A Luca e Ignacio por su apoyo técnico. A mis compañeros del laboratorio; Iñaki, Gabriel, Antonio, Carlos, Fernando, Marga y João, por las horas buenas que hemos pasado juntos en el laboratorio.

A todos y cada uno de los miembros del departamento de Agronomía del IAS-CSIC por la ayuda que me han prestado en todo momento.

A todos mis amigos, por tantos momentos inolvidables que hemos pasado juntos.

A mis padres, Rafael y María José, por su comprensión, paciencia, esfuerzo, apoyo incondicional, y cariño que me han dado. A mi abuela que siempre la recordaré. A mis hermanos; Rafael, Yolanda, Antonio, Raquel y Verónica, por desvivirse por mí. A toda mi familia. A Rocío que no tengo palabras para agradecerle todo lo que me ha dado y significa para mí.

A todos, gracias.

I. Índice.

	Página
II. Lista de Tablas.....	1
III. Lista de Figuras.....	2
1. Introducción.....	7
2. Materiales y Métodos.....	18
2.1. Localización del Experimento.....	18
2.2. Descripción del Olivar.....	18
2.3. Diseño Experimental.....	20
2.4. Medidas Realizadas y Métodos de Cálculo.....	23
2.4.1. Potencial Hídrico.....	23
2.4.2. Conductancia Estomática.....	23
2.4.3. Fotosíntesis.....	23
2.4.4. Fluorescencia Clorofílica Foliar.....	24
2.4.5. Temperatura de Copa.....	29
2.4.6. Espectrometría de Copa.....	31
2.4.7. Simulación de los Efectos de la Fluorescencia en la Reflectancia.....	35
3. Resultados.....	40
3.1. Potencial Hídrico.....	40
3.2. Conductancia Estomática.....	41
3.3. Fotosíntesis.....	43
3.4. Fluorescencia Clorofílica.....	45
3.5. Temperatura de Copa.....	48
3.6. Espectrometría de Copa y Simulación de la Reflectancia.....	56
4. Conclusiones.....	64
5. Referencias.....	66

II. Lista de Tablas.

Página

Tabla 1. Parámetros empleados en la toma de datos con el PAM-2100.....	28
Tabla 2. Parámetros de entrada del modelo FluorMODgui.....	36
Tabla 3. Medidas de emisividad de cada árbol para diferentes longitudes de onda	50

III. Lista de Figuras.

	Página
Figura I. Vista esquemática de los diferentes procesos que ocurren en la toma de energía por los tejidos fosintéticos: Reflectancia, fluorescencia, transferencia de calor y energía fotoquímica propia de los procesos fotosintéticos (Vidaver et al., 1991).....	12
Figura 1. Detalle de la imagen multiespectral tomada por el sensor CASI sobre la parcela de estudio de olivar en Julio de 2003. Los rectángulos delimitan la parcela (arriba) y la zona de estudio (abajo) donde se llevaron a cabo los ensayos.....	19
Figura 2. Esquema de tiempos mostrando cada dosis aplicada en la zona de estudio...21	21
Figura 3. Distribución de las dosis aplicadas por bloques en la zona experimental.....21	21
Figura 4. Esquema de la distribución de medidas realizadas en la zona de estudio.....22	22
Figura 5. Instrumento PAM-2100 utilizado en este trabajo.....25	25
Figura 6. Efecto Kautsky, emisión de fluorescencia desde una hoja adaptada a la oscuridad (Krause y weis, 1984)	26
Figura 7. Emisión de fluorescencia en estado adaptado a la oscuridad (izquierda) y en estado estacionario (derecha) (Krause y weis, 1984).....	27
Figura 8. Colocación y diseño de los sensores de temperatura IRTS-P sobre las copas.....	29
Figura 9a. Rango espectral y longitudes de onda de interés para la detección de fluorescencia. Las líneas azules representan las líneas de Fraunhofer para la detección de la fluorescencia, mientras que las líneas rojas representan los picos de la emisión de la fluorescencia clorofílica. El recuadro azul de la derecha nos muestra la región espectral de interés en la detección de la fluorescencia mediante las técnicas de espectroscopía planteadas en este estudio (Meroni <i>et al.</i> , 2004).....	31

Figura 9b. Vista esquemática del principio de las líneas de Fraunhofer, mostrando las bandas O ₂ -B y O ₂ -A en la irradiancia solar espectral (arriba), así como el efecto esquemático de la emisión de fluorescencia en la radiancia (abajo).....	32
Figura 9c. Irradiancia y radiancia (izquierda), mostrando el relleno espectral o <i>In-filling</i> en la señal de reflectancia (derecha).....	33
Figura 10. Colocación y diseño de la fibra óptica y sensores espectrales HR-2000 sobre la copa del árbol.....	34
Figura 11. Ejemplo de simulación de la fluorescencia emitida a nivel foliar para C _{ab} =20µg/cm ² (a, c) y C _{ab} =60 µg/cm ² (b, d) para valores de temperatura de T ^a =30° C (a,b) y T ^a =10° C (c,d) mediante el modelo FluorMODgui.....	38
Figura 12. Ejemplo de simulación de la reflectancia de cubierta para valores de C _{ab} entre 20 y 70 µg/cm ² y T ^a =30° C (izquierda) y T ^a =10° C (derecha) mediante FluorMODgui.....	38
Figura 13. Ejemplo de simulación diurna de la reflectancia de la cubierta para ángulos cenitales solares entre 10° y 70° realizada mediante el modelo FluorMODgui para la irradiancia solar (a); irradiancia del cielo (b); irradiancia total (c); radiancia sin fluorescencia (d); radiancia de la fluorescencia (e); radiancia total (f); reflectancia sin fluorescencia (g), y reflectancia con fluorescencia (h).....	39
Figura 14. Potencial hídrico por árbol (izquierda) y media por tratamiento de riego (derecha).....	41
Figura 15. Estudio diurno de conductancia estomática en tres árboles con distinto grado de estrés para el día 5 de Agosto (árbol 33-12, 40-12, 44-12; tratamientos S1, S2 y R respectivamente).....	42
Figura 16. Estudio diurno para los árboles correspondientes a los tratamientos R, S2, S1 a diferentes días de medida.....	43

Figura 17. Evolución de la conductancia estomática en tres árboles de distinto grado de estrés (R, S1, S2) a diferentes días de medidas a las 8:00 Hora Solar (izquierda) y 11:00 Hora Solar (derecha).....	43
Figura 18. Media por tratamiento de la tasa de fotosíntesis para los tres tratamientos de riego el día 18 de Agosto, con $\Psi_x=-0.925$ MPa (R), -1.7 MPa (S2), y -2.025 MPa (S1). PAR(6:30)=0.2 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. PAR(7:30)=150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$; PAR(10:00)=1300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	44
Figura 19. Media por tratamiento de la fotosíntesis durante el experimento a dos horas de medida (7:00 Hora Solar, izquierda; 10:00 Hora Solar, derecha).....	44
Figura 20. Estudios diurnos de Ft y Yield en distintos árboles de tratamiento para el 5 de Agosto (izquierda), y 26 de Agosto (derecha).....	46
Figura 21. Serie temporal de Ft a dos horas de medida 8:00 (izquierda) y 10:30 Hora Solar (derecha) para tres árboles de cada tratamiento R, S1 y S2 (arriba) y las medias para los tratamientos R y S1 (abajo).....	46
Figura 22a. Relaciones obtenidas entre Ft y potencial hídrico en distintas fechas del experimento a nivel de árbol.....	47
Figura 22b. Relaciones obtenidas entre Ft y potencial hídrico para todas las fechas del experimento a nivel de árbol (21Julio, 4 Agosto, 25 Agosto, 1 Septiembre).....	47
Figura 23. Emisividad medida en cada árbol del experimento a distintas longitudes de onda.....	48
Figura 24. Temperatura de los diez árboles (arriba izquierda) y ampliado (abajo izquierda); temperatura media por tratamiento (arriba derecha) y ampliado (abajo derecha) para el 23 de Septiembre (periodo de máximo estrés).....	50

Figura 25. Temperatura de los diez árboles (arriba izquierda) y ampliado (abajo izquierda); temperatura media por tratamiento (arriba derecha) y ampliado (abajo derecha) para el 1 de Noviembre(Periodo de recuperación de estrés).....	50
Figura 26. Serie temporal de la temperatura media por tratamiento medidos a las 14:00 Hora Solar (izquierda) y serie temporal de incrementos de temperatura en los tratamientos de mayor estrés medidos a las 14:00 Hora Solar (derecha).....	52
Figura 27. Temperatura de la copa menos temperatura del aire ($T_c - T_a$) para cada tratamiento (R, arriba; S1, centro; S2, abajo) obtenido para todos los días del experimento, indicando las ($T_c - T_a$) máximas y mínimas.....	53
Figura 28a. Relación obtenida durante toda la campaña entre T_c ($^{\circ}\text{C}$) y potencial hídrico (MPa) (arriba) y entre $T_c - T_a$ y potencial hídrico para cada día (abajo). T^a recogidas a las 10:00 Hora Solar.....	54
Figura 28b. Relación obtenida durante toda la campaña entre T_c ($^{\circ}\text{C}$) y potencial hídrico (MPa) (arriba) y entre $T_c - T_a$ y para cada día potencial hídrico (abajo). T^a recogidas a las 14:00 Hora Solar.....	55
Figura 29. Medidas de espectrometría en dos árboles de tratamiento R(izquierda) y S1(derecha) a las 10:00 Hora Solar del día 20-Agosto. De arriba abajo mostramos las gráficas de radiancia (L), irradiancia (E) en unidades arbitrarias (u.a) y reflectancia (R). En el interior de las gráficas de reflectancia (R) se muestra una ampliación de las mismas para las bandas 755-765 nm.....	57
Figura 30. Medidas diurnas para los árboles R, S2 y S1 los días 28, 22 y 23 de septiembre respectivamente.....	58
Figura 31. Efecto de la fluorescencia en la reflectancia por efecto de rellenado espectral en la banda A de absorción de oxígeno cuantificado por R760.59-R759.5 y datos de Ft (fluorescencia en estado estacionario) obtenidos con el PAM2100 para un árbol por	

tratamiento (gráficas de la izquierda). Grado de relación lineal entre ambos parámetros de medida (derecha).....	59
Figura 32. Efecto de la fluorescencia en la reflectancia utilizando el índice R740.76 / R717.83 comparando con datos de Ft (fluorescencia en estado estacionario) obtenidos con el PAM2100 para un árbol por tratamiento (gráficas de la izquierda). Grado de relación lineal entre ambos parámetros de medida (derecha).....	60
Figura 33. Simulación a diferentes Fi del efecto de la fluorescencia en la reflectancia en la banda O ₂ -A (izquierda). Diferencias del efecto de la misma entre distintos valores de T y un valor de T=30° C (derecha).....	61
Figura 34. Simulación diurna para valores fijos temperatura para una eficiencia de emisión de fluorescencia (izquierda) simulación diurna para valores fijos de temperatura sin emisión de fluorescencia (figuras de la derecha), mostrando el efecto de la fluorescencia a 760 nm.....	62
Figura 35. Simulación diurna para ángulos cenitales solares entre 40° y 60° con y sin emisión de fluorescencia.....	63
Figura 36. Simulación diurna de la amplitud del rellenado espectral (R761-R759) y el índice R741/R718 con T ^a =10° C, T ^a =30° C y sin fluorescencia frente a ángulos cenitales solares entre 40° y 60°.....	63

1. Introducción

El olivo (*Olea europaea* L.) es originario de una región geográfica que ocupa desde el sur del Cáucaso hasta las altiplanicies del Irán, Palestina y la zona costera de Siria, se extendió por Chipre hacia Anatolia, y a través de Creta hacia Egipto, hasta poblar todos los países ribereños del Mediterráneo. A partir del siglo XV, con los viajes oceánicos de Colón, Magallanes y Juan Sebastián Elcano, pasó y se extendió por el Nuevo Mundo y, en la actualidad, se cultiva también en Sudáfrica, China, Japón y Australia (Civantos, 2004).

El patrimonio oleícola existente se estima en aproximadamente 960 millones de olivos, de los que en 2001 unos 945 millones (98% del total) se situaron en los países de la cuenca mediterránea, ocupando una superficie de 9.5 millones de hectáreas (AAO, 2001). En España, la superficie dedicada a olivar, según datos de la Agencia para el Aceite de Oliva (AAO, 2001) es de 2.423.841 hectáreas, en las que se cultivan 208,7 millones de árboles aproximadamente. Asimismo, las últimas estimaciones del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA, 2001), sitúan la producción de aceituna para almazara en la campaña 1999/2000, en 3.004.500 toneladas, y la de aceite en 670.000 toneladas, de las que el 71,6 por 100 se obtuvieron en Andalucía.

Por otro lado, la aportación de los productos derivados del olivar al valor de la Producción Final Agraria Española, oscila entre el 3 y el 5 por 100, dependiendo de los años. Esta cifra se eleva considerablemente si restringimos el marco de referencia a Andalucía, donde se sitúa en el entorno del 20 por 100, alcanzando niveles altamente significativos en algunas provincias de la Comunidad Autónoma. Así, en Jaén, se produce entre el 15 y el 20 por 100 de la producción mundial de aceites de oliva.

Las cifras anteriores son indicadores claros de la importancia del sector oleícola en la economía de ciertas regiones, constituyendo un recurso esencial para una buena parte de la población, sobre todo, por la gran cantidad de mano de obra que ocupa tanto directa como indirectamente. Además de las consideraciones de índole económico, un olivar adecuadamente cultivado genera externalidades ambientales positivas, relativas a la protección del suelo y la lucha contra la erosión.

En los secanos mediterráneos el olivo ha sido cultivado tradicionalmente manteniendo producciones aceptables (Orgaz y Fereres, 2004). Los climas extremos con largos periodos estivales y de intensas sequías no han sido un impedimento para la supervivencia del olivo, aunque comprobándose que la práctica del riego aumenta considerablemente su rendimiento, incluso cuando las aportaciones de agua son muy reducidas (Orgaz y Fereres, 2004). La subida en los precios del aceite, las sequías existentes en las zonas productoras y el avance de las técnicas del riego localizado han motivado la puesta en riego del olivar en España, siendo Andalucía la principal comunidad en transformación a olivares de regadío (Orgaz y Fereres, 2004). Todas estas circunstancias junto con los efectos de las últimas sequías constituyen un panorama en el que el suministro de agua para regadíos sea insuficiente a las necesidades hídricas de los cultivos. Se nos hace imprescindible, por lo tanto, conocer las relaciones hídricas del olivo y el desarrollo de métodos de detección y medida que permitan conocer su estado hídrico a nivel de árbol.

Desde los años 80 se viene explorando en algunos árboles frutales la limitación del riego durante determinadas fases del estado fenológico del cultivo, con el objetivo de evitar la disminución de la producción reduciendo la evapotranspiración. Este conjunto de técnicas se denominan riego deficitario controlado (Chalmers *et al.*, 1981). El comportamiento estomático del olivo ha sido fruto de estudios que demuestran sus diferencias en relación al de otros cultivos, como el girasol en condiciones de amplio suministro de agua (Orgaz y Fereres, 2004). Éste y otros estudios muestran sus notables diferencias de comportamiento de tipo fisiológico, observando que la máxima apertura estomática (máxima conductancia estomática) del olivo ocurría en las primeras horas de la mañana, reduciéndose en las horas centrales del día, mientras que el girasol mantenía los estomas completamente abiertos durante todo el día. Dado que el déficit de presión de vapor (DVP) de agua es mínimo en la mañana y máximo al mediodía solar se comprende que por la mañana la mayor apertura estomática permita la absorción de CO₂ a un menor coste transpirativo que al mediodía. Por lo tanto, el cierre estomático parcial al mediodía supone que las tasas de fotosíntesis del olivo sean inferiores a las de muchos cultivos herbáceos (Orgaz y Fereres, 2004).

Los métodos tradicionales de medición del estado hídrico del olivo se basan en la cuantificación del potencial hídrico de la hoja (PH), observándose en estudios

realizados en condiciones de campo que las hojas expuestas de árboles sin limitación hídrica tienen un PH de alrededor de -1.5 MPa al mediodía en verano (Moriani *et al.*, 2002). El hecho de que la regulación estomática module la tasa de transpiración en función de la demanda evaporativa de la atmósfera, hace que el PH permanezca generalmente constante entre las primeras horas de la mañana y las últimas de la tarde. A medida que el suelo se seca, el árbol debe disminuir su PH para mantener el flujo de agua para que compense las pérdidas por transpiración. El olivo es capaz de disminuir su PH por debajo de valores que causarían la deshidratación y muerte de casi la totalidad de plantas cultivadas. Esto dota al olivo de una capacidad de extraer agua del suelo por debajo del punto de marchitez permanente (Orgaz y Fereres, 2004).

La detección de este tipo de estrés en vegetación causado por el estado hídrico, así como por otros factores bióticos o abióticos, forma parte de líneas actuales de investigación en teledetección. Dicha línea de trabajo consiste en desarrollar sensores y nuevos métodos que permitan la detección remota de estrés no detectable visualmente a partir de la interacción de la radiación con la vegetación, especialmente en la radiación reflejada que captan sensores digitales en distintas regiones espectrales. Índices de vegetación clásicos utilizados en teledetección desde hace más de 20 años, como NDVI (Rouse, 1974), cocientes simples (SR), cocientes simples modificados (MSR) (Chen, 1996) no permiten la detección de estrés en vegetación si éste no está lo suficientemente avanzado como para afectar a la estructura y/o bioquímica foliar. En este contexto, dichos métodos tradicionales de teledetección son incapaces de detectar estrés hídrico cuando sus efectos son de estrés previsual, es decir, cuando no modifica la radiación reflejada en bandas espectrales del rojo e infrarrojo cercano. Se hace imprescindible, por lo tanto, entender los efectos a nivel espectral del estrés hídrico, tanto en etapas iniciales de estrés, produciendo efectos no visuales, como en estados avanzados, produciendo efectos de cambio estructural y potencial degradación de pigmentos fotosintéticos.

El tejido fotosintético más activo en la mayoría de las plantas se encuentra en el mesófilo de las hojas, en el cual los cloroplastos contienen pigmentos especializados en absorber luz. En los cloroplastos, la energía solar es procesada por dos unidades funcionales llamadas fotosistemas, los cuales producen oxígeno y energía a través de una serie de reacciones de oxidación-reducción, conocidas como Fotosistema II (PS-II) y Fotosistema I (PS-I). Las clorofilas y carotenoides son moléculas relacionadas en la

absorción de luz, transferencia de energía, y transferencia funcional de electrones entre los dos centros de fotoreacción. Con el PS-I la planta absorbe preferentemente luz con longitud de onda mayor de 680 nm, y con el PS-II absorbe luz de menor longitud de onda de la que absorbe el PS-I (Taiz and Zeiger, 1998). En vegetación estresada, la regulación de transferencia del electrón puede ser interrumpida. La potencial reducción del contenido de clorofila disminuye la cantidad de luz absorbida por los pigmentos. La clorofila a y b (C_{ab}) son los pigmentos fotosintéticos más importantes, cuya absorción de radiación electromagnética varía con la longitud de onda, con fuerte absorción en la parte del espectro visible azul (400-500 nm) y rojo (600-700 nm), y menor en la región del verde (500-600 nm).

Extensos estudios en la detección de estrés mediante métodos de espectroscopía se han dirigido a asociar a nivel de hoja numerosos índices ópticos como indicadores de estrés; por ejemplo, los cambios en el contenido de pigmentos entre vegetación sana y enferma (e.g., Rock *et al.*, 1988; Vogelmann *et al.*, 1993; Carter *et al.*, 1994). Los índices ópticos están basados en la relación observada, a varias longitudes de onda específicas del espectro, y medidas de contenidos de pigmentos en hoja o funciones fotosintéticas en plantas. Horler *et al.* (1980; 1983) describieron los cambios en la pendiente y posición de la reflectancia en el borde rojo (680-750 nm) con la concentración de clorofila en hoja. La posición y pendiente del borde rojo cambian en los estados de senescencia a nivel de hoja por el decrecimiento de la actividad fotosintética y la propia degradación de pigmentos (Knipling, 1969). Un cambio en la posición del borde rojo a longitudes de onda más corta es conocido como un “*cambio azul*” (*blue shift*) y es asociado con la inducción severa de estrés (Chang y Collins, 1983; Horler *et al.*, 1980;1983). El *cambio azul* ha sido atribuido a reducciones en los niveles de clorofila-b (Rock *et al.*, 1988). Diversos estudios muestran con éxito la relación pigmentos-reflectancia a nivel de hoja y cubierta mediante métodos de espectroscopía y teledetección hiperespectral, como Vogelmann *et al.* (1993) que correlacionó parámetros espectrales del borde rojo y contenido clorofílico en hojas de *Arce* afectadas por una intensa plaga. El índice usado fue el R740/R720, obteniendo mejores relaciones con clorofila-a, clorofila-b y contenido total de clorofilas que otros índices utilizados por sensores de satélites como el NDVI. La posición del borde rojo ha sido incluso estudiada como estimador de índice de área foliar (IAF) y estado hídrico a nivel de copa (Filella y Peñuelas, 1994), pese a que dichas relaciones son de tipo

indirecto. La posición, amplitud y área del pico del borde rojo fueron estudiados en campo a nivel de copa con un radiómetro, mostrando su relación con el contenido clorofílico, LAI y contenido de agua. Otros estudios de Peñuelas *et al.* (1995) mostraron que el Normalized Phaeophytinization Index (NPQI), calculado como $(R_{415}-R_{435})/(R_{415}+R_{435})$, fue el índice más sensible para la detección del estrés cuando es causado por el ataque de ácaros que degradan los pigmentos. Otros índices, como el índice fotoquímico de reflectancia (PRI) es un índice fisiológico que correlaciona el estado de las xantofilas, responsables de la reducción diurna de la eficiencia fotosintética, y empleado con éxito en la detección de estrés en procesos de senescencia en hoja y efectos visuales previos de la clorosis férrica (Gamon *et al.*, 1992). Investigaciones posteriores (Peñuelas *et al.*, 1997) validaron el PRI como un índice que valora la eficiencia fotosintética a nivel de hoja en especies esclerófilas de climas mediterráneos como el *Quercus ilex* y *Phillyrea latifolia*, aunque no se ha conseguido utilizar con éxito a nivel de cubierta. Otros cocientes a nivel de cubierta han sido estudiado como indicadores de estrés en plantas, tales como R_{695}/R_{670} , R_{695}/R_{420} , R_{605}/R_{760} , R_{695}/R_{760} y R_{710}/R_{760} , siendo R_{695}/R_{420} y el R_{695}/R_{760} los cocientes que mejor se relacionaron con el estado hídrico en seis especies de plantas diferentes (Carter, 1994).

La mayoría de los mencionados índices basados en métodos de espectroscopía suelen permitir la detección del estrés solamente en estados avanzados, normalmente asociados a los mencionados cambios bioquímicos por clorosis y estructurales. En otras palabras, no permiten generalmente detectar efectos asociados a la variación diurna de la radiación interceptada por la vegetación, o a cambios que afectan directamente a la fotosíntesis. Las nuevas líneas de trabajo en teledetección pretenden detectar procesos fundamentales asociados directamente a la fotosíntesis. Estos procesos fundamentales empiezan cuando las moléculas de clorofila absorben energía, éstas hacen una transferencia de un estado estacionario a un estado excitado, volviéndose extremadamente inestables, despidiendo muy rápido parte de su energía en forma de calor, pudiendo la molécula de clorofila reemitir el fotón para retornar a su estado de mayor estabilidad. En dicho proceso de reemisión del fotón, llamado fluorescencia, la longitud de onda de reemisión es siempre mayor que la longitud de onda de absorción del electrón, debido a que una porción de la energía de excitación es convertida en calor antes de la emisión del fotón. Un segundo proceso, denominado de disipación no

fotoquímica, puede ocurrir cuando toda la energía de la clorofila excitada se convierte en calor, sin emisión del fotón. Un tercer proceso, denominado fotoquímico, es la transferencia de energía para su utilización en las reacciones fotoquímicas de la fotosíntesis. Estos tres procesos tienen un carácter competitivo, por lo que cambios en las tasas fotosintéticas y en la emisión de calor disipativo causan cambios en la emisión de fluorescencia (Figura I). Por medio de estos dos procesos fundamentales de conversión de la energía absorbida por los pigmentos fotosintéticos, como son la fluorescencia clorofílica y transferencia de calor, los estudios y avances técnicos en el campo de los sensores remotos pretenden avanzar en los métodos apropiados para su detección y cuantificación.

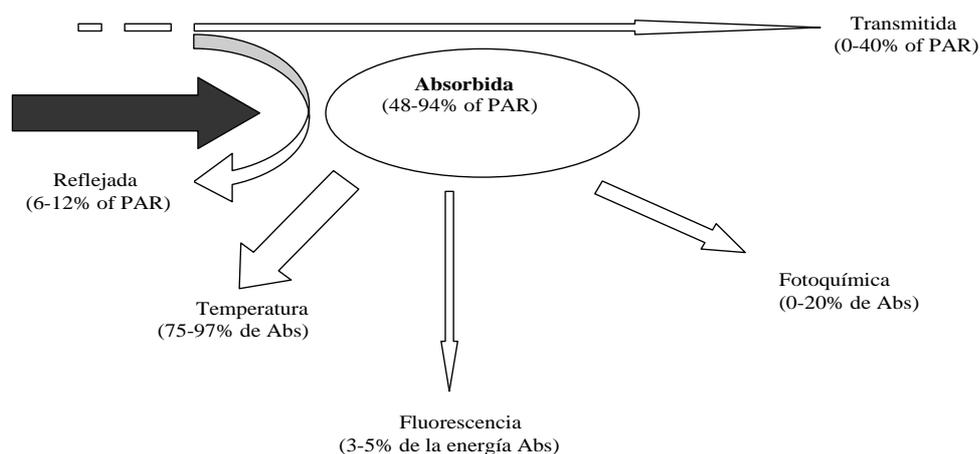


Figura I. Vista esquemática de los diferentes procesos que ocurren en la interacción de la radiación con los tejidos fotosintéticos: reflectancia, fluorescencia, transferencia de calor y energía fotoquímica propia de los procesos fotosintéticos (Vidaver *et al.*, 1991).

Las técnicas de fluorescencia clorofílica (FC) se han desarrollado en la actualidad, existiendo muchos libros de espectrofotometría generalizada y técnicas de fluorescencia microscópica, aunque la mayoría de conocimiento se encuentra en aplicaciones prácticas y usos de la fluorescencia clorofílica en biología de plantas (Mohamed *et al.*, 2003). La FC emana primeramente de C_a en el PS-II, empezando uno de los caminos en el cual los cloroplastos de las plantas disipan energía lumínica como

exceso de la energía recibida para los procesos fotosintéticos, siendo este un mecanismo de protección de los cloroplastos para prevenir daños de oxidación (Taiz and Zeiger, 1998). La Fluorescencia Clorofílica en estado estacionario y la tasa de fotosíntesis están generalmente inversamente relacionados, tal que la FC es baja cuando la fotosíntesis es alta (Schreiber *et al.*,1994; Lichtenthaler and Rinderle,1988; Schreiber and Bilger,1987; Krause and weis,1984). Sin embargo, la FC puede decrecer cuando la fotosíntesis es baja debido a un mecanismo de protección consistente en un cierre de fotosistemas denominado “*quenching*”. La detección remota de fluorescencia clorofílica en vegetación se centra en métodos basados en el cálculo de índices ópticos, análisis derivados y substracción espectral (Zarco-Tejada *et al.*, 2003).

Los primeros intentos de detección de fluorescencia en vegetación fueron llevados a cabo por McFarlane *et al.* (1980) usando la línea H- α de Fraunhofer a 656 nm, y Carter *et al.* (1990) usando las líneas H- α y O₂-B en medidas de hojas. Muestras posteriores de los efectos de la fluorescencia en la reflectancia aparente fueron realizadas por Gamon *et al.* (1997) aunque de modo no cuantitativo, continuando posteriormente otros estudios de Peñuelas *et al.* (1997), Peñuelas *et al.* (1998), Gitelson *et al.* (1999) y Gamon y Surfus (1999) mostrando relaciones indirectas de los efectos de la señal de fluorescencia en la reflectancia espectral a nivel de hoja. Con objeto de cuantificar dichos efectos se desarrolló el primer modelo foliar que simulaba la emisión de fluorescencia y sus efectos en la reflectancia y transmitancia aparentes (Zarco-Tejada *et al.*, 2000a; 2000b), denominado modelo de Fluorescencia-Reflectancia-Transmitancia (FRT). Posteriormente, una serie de experimentos con *Acer negundo ssp.* en condiciones de ambiente controlado para facilitar la inducción de fluorescencia clorofílica en estado estacionario, demostraron que la variación en la emisión de fluorescencia natural es observable en medidas de reflectancia en forma de un “*doblete-pico*” en la derivada de la reflectancia en la región 690-730 nm (Zarco-Tejada *et al.*, 2002). Los métodos de espectroscopía diferencial y el análisis derivativo de la reflectancia demostraron que la señal creada entre 688, 697, y 710 nm era función de la emisión de fluorescencia, la cual disminuía gradualmente con inducción de estrés.

En condiciones de iluminación natural como las comentadas hasta ahora, la fluorescencia clorofílica representa menos de un 3% de la radiación reflejada en la parte espectral del rojo e infrarrojo, entre 680 y 770 nm. Este efecto tan pequeño de la

fluorescencia en la reflectancia aparente hace difícil su cuantificación excepto en ciertas longitudes de onda donde el espectro solar es atenuado, denominadas líneas de Fraunhofer, siendo ésta una nueva línea de trabajo de gran interés. Moya. *et al.* (2004) diseñó un instrumento FIPAM (fluorómetro de amplitud modulada) capaz de detectar fluorescencia clorofílica a distancia. Demostró experimentalmente, utilizando la banda A de absorción del oxígeno a 760 nm, que se producía un fenómeno de rellenado espectral (“*in-filling*”) debido al efecto de emisión de la fluorescencia clorofílica en bandas muy estrechas de absorción del oxígeno atmosférico donde la radiación solar es prácticamente nula.

La amplitud de dicho rellenado espectral en bandas del oxígeno a 688 nm (banda O₂-B) y 760 nm (banda O₂-A) causan un incremento abrupto de la reflectancia, permitiendo relacionarlo directamente con la emisión de fluorescencia natural (Moya *et al.*, 2004; Zarco-Tejada *et al.*, 2004). Sin embargo, las medidas espectrales de reflectancia en la región del visible e infrarrojo tomadas en condiciones de luz natural están afectadas por otras variables de tipo atmosférico y de geometría de visión, denominados efectos de reflectancia bi-direccional (BRDF). Estos efectos bi-direccionales sobre la reflectancia podrían llevar a una interpretación equivocada del efecto real que tiene la fluorescencia en la reflectancia medida sobre una copa a lo largo de un día o a lo largo de una serie temporal.

Con objeto de cuantificar dichos efectos se está desarrollando en la actualidad el modelo físico FluorMODgui capaz de simular los efectos de la fluorescencia en la reflectancia, basándose en la teoría de la transferencia radiativa. El modelo de fluorescencia y reflectancia FluorMODgui (Zarco-Tejada *et al.*, 2004; Zarco-Tejada *et al.*, en prensa) es una integración de dos modelos independientes basados en la transferencia radiativa a nivel de hoja, FluorMODleaf (Pedrós *et al.*, 2004), y a nivel de cubierta, FluorSAIL (Verhoef, 2004). FluorMODgui permite simular los efectos de la fluorescencia en la reflectancia a través del desarrollo e integración del modelo a nivel de hoja conectado con el de cubierta, simulando de forma teórica los efectos de la fluorescencia clorofílica en la reflectancia a nivel de cubierta. El modelo a nivel de hoja, FluorMODleaf, es una continuación de trabajos previos consistentes en la simulación de la fluorescencia foliar, como por ejemplo los modelos SLOP (*Stochastic model for Leaf Optical Properties*) (Maier *et al.*, 1999; Maier, 2000), y FRT (*Fluorescence-*

Reflectance-Transmittance Model) (Zarco-Tejada *et al.*, 2000a; 2000b) que permitieron iniciar los estudios de la simulación de los efectos de la fluorescencia en la reflectancia foliar. El modelo a nivel de cubierta, FluorSAIL es una adaptación del modelo de cubierta SAIL (Verhoef, 1998) que permite utilizar la fluorescencia simulada por FluorMODleaf a nivel de hoja para modelar la fluorescencia que se obtendría a nivel de cubierta a partir de variables de hoja y cubierta de constituyentes bioquímicos y variables biofísicas.

En relación a la transferencia de calor entre la vegetación y el ambiente, hay que mencionar la multitud de estudios en los que se ha contrastado el uso de la temperatura de la vegetación como indicador de estrés. Tanner en 1963 fue el primero en utilizar sensores térmicos de infrarrojos para determinar la temperatura de las plantas. Tanner observó que la temperatura era un índice cualitativo valorable para la determinación de diferentes regímenes hídricos de las plantas así como para la estimación de la producción en los cultivos. Posteriormente, Jackson *et al.* (1977) usó la temperatura de la cubierta menos la temperatura del aire como un índice del estado hídrico de los cultivos, relacionándolo con la productividad y los requerimientos de agua por parte de las plantas. Ellos asumieron que factores ambientales como déficit de presión de vapor (DPV), radiación neta, velocidad del viento podría manifestarse en las diferencias de temperatura, siendo esto, no restrictivo para algunos casos y altamente restrictivo para otros. Jackson *et al.* (1981) demostró que el déficit de presión de vapor guarda una relación lineal con la diferencia de temperatura de la cubierta menos la del aire. Por su parte, Idso *et al.* (1981) a partir de valores de temperatura obtuvieron índices de estrés de tipo empírico como el CWSI “*Crop-Water-Stress-Index*” para incorporar las variaciones en DPV. Idso en 1982 relacionó la diferencia de temperatura de cubierta (T_c) y aire (T_a) con el déficit de presión de vapor, viendo que un factor importante era la variabilidad ambiental, sugiriendo que los valores de $T_c - T_a$ más altos pertenecían a las plantas con mayor déficit hídrico, y los valores más bajos a plantas bien regadas. Jones en 1999 utilizó termómetros de infrarrojos para la estimación de conductancia estomática como estudio en el riego programado, ya que una consecuencia del cierre estomático cuando las plantas están sujetas a condiciones de estrés hídrico es la disipación de energía en forma de calor. Posteriormente, Jones *et al.* (2002) utilizó la temperatura de cubierta para monitorizar la conductancia estomática y estimar índices de transpiración de las plantas. El índice de evaporación es solamente uno de los

muchos componentes del balance de energía de la cubierta, ya que como se mencionó anteriormente, radiación, velocidad del viento, temperatura del aire, humedad del aire son necesarios para las estimaciones de índices de transpiración.

En la última década ha progresado la tecnología de infrarrojos en el desarrollo de sensores más ligeros, con mejores ángulos de visión (FOV) y con mayor información espectral, siendo los sensores térmicos de infrarrojos (IRT) muy utilizados en la actualidad para la estimación de temperatura de superficie de la vegetación. Esto supone la posibilidad de monitorizar temperatura a diferentes escalas espaciales.

En la estimación de temperatura a escalas globales podemos diferenciar entre sensores aerotransportados como el *Airborne Thematic Mapper* (ATM), *Digital Airborne Imaging Spectrometer* (DAIS), *Airborne Hyperspectral Scanner* (AHS) que tienen bandas espectrales en la región del térmico, y sensores en satélites como el Landsat TM, *Advanced Very High Resolution Radiometer* (AVHRR) de NOAA, *Advanced Spaceborne Thermal Emission and Reflection Radiometer* (ASTER) que permiten la estimación de la temperatura superficial a resoluciones espaciales de tipo medio y global.

Los estudios conducentes a la estimación de la temperatura de superficie con alta resolución espacial son escasos. Sobrino *et al* (2004) realizaron un análisis de calidad de datos DAIS comparando datos de temperatura *in situ*. Para ello realizó una recalibración lineal de los canales térmicos del DAIS utilizando puntos de calibración, obteniendo desviaciones de 0.96° K cuando utilizaba el método del canal simple y 1.46° K con dos canales. Uno de los inconvenientes en la utilización de estos sensores en la estimación de la temperatura son las correcciones atmosféricas, estimación de la emisividad de la superficie, variabilidad de superficies y otros parámetros de tipo atmosférico.

Por todo lo dicho anteriormente, se requieren, por lo tanto, estudios que desarrollen nuevos métodos de detección de estrés en vegetación a partir de la medición remota correcta de la fluorescencia clorofílica natural, y de la temperatura. En particular, en un estudio como el presente, se pretende utilizar métodos adecuados de medición de la temperatura y fluorescencia a nivel de copa de olivo que permitan asociarse a su estado hídrico para su posterior “*scaling-up*” a nivel de satélite. Esto se

justifica dada la inexistencia de estudios acerca de la detección de estrés hídrico con sensores remotos en olivar y debido a la importancia que éste tiene como cultivo en nuestra región. Los objetivos de este trabajo son los siguientes:

1. Conocer el grado de variación de la temperatura de copa de olivo como indicador de estrés hídrico, utilizando para ello un ensayo de riego deficitario controlado.
2. Estudiar si la fluorescencia clorofílica en estado estacionario, medida con un fluorómetro en condiciones de luz natural, puede ser un indicador del estrés hídrico del olivo.
3. Demostrar si la emisión de la fluorescencia clorofílica en condiciones de luz natural a nivel de árbol es detectable con un espectrómetro de alta resolución espectral.
4. Demostrar si los efectos observados de la fluorescencia en la señal de reflectancia a nivel de cubierta son consistentes con las bases físicas en que se fundamenta un modelo de transferencia radiativa a nivel de hoja y de cubierta.

2. Materiales y Métodos.

2.1. Localización del Experimento

El experimento tuvo lugar en una parcela de 4 ha. de superficie en la finca *Alameda del Obispo*, perteneciente al Centro de Investigación y Formación Agraria (C.I.F.A.) de Córdoba, situada a 37,5°N, 4,8°O, altitud 110 m., durante los meses de Junio a Noviembre del año 2004.

El clima de la zona es Mediterráneo, con precipitaciones medias anuales que llegan a los 650 mm (Bonachela *et al.*, 1999), que se concentran entre los meses que van de otoño a primavera, con largos periodos de sequía estival. La evapotranspiración de referencia (ET_0) media anual es de 1390 mm obtenida según la ecuación de Penman-Monteith (Testi, 2003).

En cuanto a su edafología, los suelos del área experimental se clasifican como *Typic Xerofluvents* (Porta *et al.*, 1999), correspondiente a un suelo de textura arenolimoso de origen aluvial, con una capa de arenisca situada aproximadamente a 1,50 m de profundidad. El suelo tiene un contenido de agua en el límite superior (LS) de $0,23 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ y en el límite inferior (LI) de $0,07 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ (Testi, 2003).

2.2. Descripción del Olivar

La variedad de olivo utilizada para el experimento es 'Arbequino', los árboles se plantaron en 1997 con un marco de 3,5 m x 7,0 m ($408 \text{ árboles ha}^{-1}$) y con orientación N-S. Debido al drenaje superficial de la parcela y su baja tasa de infiltración, los olivos están plantados sobre caballones para evitar problemas de encharcamiento.

El sistema de mantenimiento del suelo es de no laboreo, con uso de herbicidas para el control de malas hierbas. El sistema de riego empleado es por goteo, permitiendo por lo tanto obtener varias dosis de riego dentro de una misma área experimental. La Figura 1 muestra una imagen de la parcela tomada por el sensor aerotransportado *Compact Airborne Spectrographic Imager* (CASI) en Julio de 2003, observándose la subzona donde se realizó el experimento.



Figura 1. Detalle de la imagen multiespectral tomada por el sensor CASI sobre la parcela de estudio de olivar en Julio de 2003. Los rectángulos delimitan la parcela (arriba) y la zona de estudio (abajo) donde se llevaron a cabo los ensayos.

2.3. Diseño Experimental

El diseño experimental se enmarca dentro de otras líneas de trabajo actualmente en marcha sobre estrés hídrico y riego deficitario controlado, financiadas por el proyecto AGL03-01468. La instrumentación de árboles con sensores y los métodos experimentales presentados se enmarcan en los proyectos *Estimación de Variables Biofísicas en Cultivos de Olivar y Vid mediante métodos de Teledetección Hiperespectral para su Integración en Agricultura de Precisión* (AGL2002-04407-C03-03) y *Nuevos Métodos de Detección de Estrés en Vegetación Mediante Sensores Remotos Hiperespectrales* (PIF- 200440-F035). El experimento se realizó en 6 filas de 18 olivos, sumando una superficie de 2,646 m² (Figura 1). La superficie del estudio se dividió aleatoriamente en tres dosis de riego con objeto de obtener distintos grados de estrés hídrico. Las dosis empleadas fueron las siguientes:

- **Dosis de Control (R):** 2.8 mm/ día desde el 14/06/2004 hasta el 19 de Octubre.
- **Dosis de Estrés (S1):** 0.7 mm/ día desde el 14/06/2004 hasta el 19 de Octubre.
- **Dosis Intermitente de Estrés (S2):** 0.7 mm / día desde el 14/06/2004 hasta el 5/07/2004, suspendiéndose el riego desde este día hasta el 6/09/2004. Posteriormente se reinició el riego con la misma cantidad hasta el 19 de Octubre.

La Figura 2 muestra un esquema de tiempos para cada una de las dosis de riego aplicadas. La distribución de las dosis de riego en la zona experimental se puede observar en la Figura 3, mostrando seis calles (8 a 13) con dieciocho olivos en cada una (29 a 46).

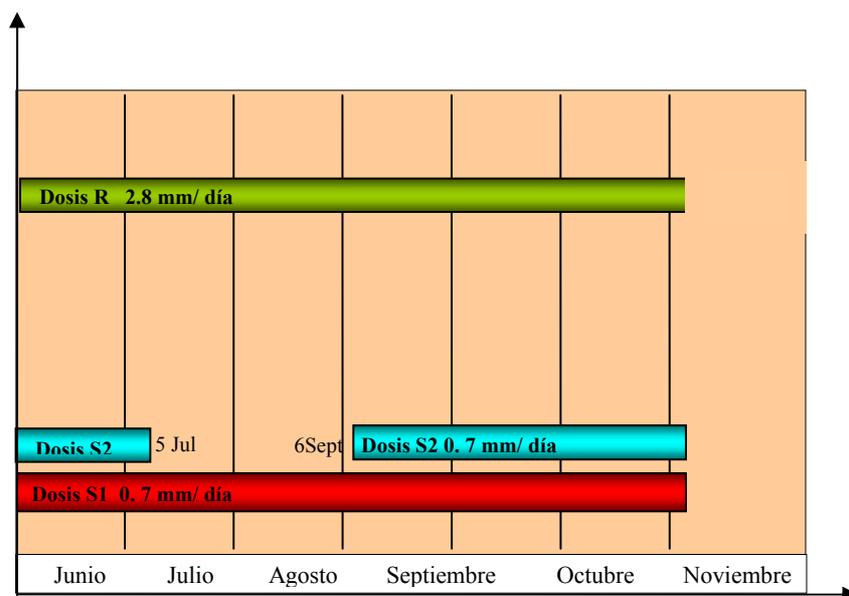


Figura 2. Esquema de tiempos mostrando cada dosis aplicada en la zona de estudio.



Figura 3. Distribución de las dosis aplicadas por bloques en la zona experimental.

Los árboles centrales de cada bloque correspondientes a cada tratamiento fueron seleccionados para la realización de un seguimiento semanal del estado fisiológico foliar representativo de cada árbol. Se midió continuamente la Temperatura (T) de la copa de diez árboles mediante sensores cenitales, realizando un seguimiento semanal del grado de estrés hídrico mediante medidas de Potencial Hídrico de xilema (Ψ_x) en 11 árboles, 4 por tratamiento para S1 y S2, y 3 árboles del tratamiento R. De los 11 árboles se escogieron dos por cada dosis de riego para la realización de medidas semanales de Fluorescencia Clorofílica (FC), Conductancia Estomática (C), Fotosíntesis (P), Temperatura de copa (T) y medidas de Espectrometría de copa (E). También como medidas complementarias se midió la Temperatura bajo copa (T_{bc}) y la Temperatura en una calle de la zona de estudio (T_c) con objeto de obtener información de la temperatura de cada componente de la parcela, suelo iluminado y en sombra, de interés para otros trabajos en marcha. El resumen de todas las medidas realizadas en cada árbol correspondiente a cada tratamiento puede observarse en la Figura 4.

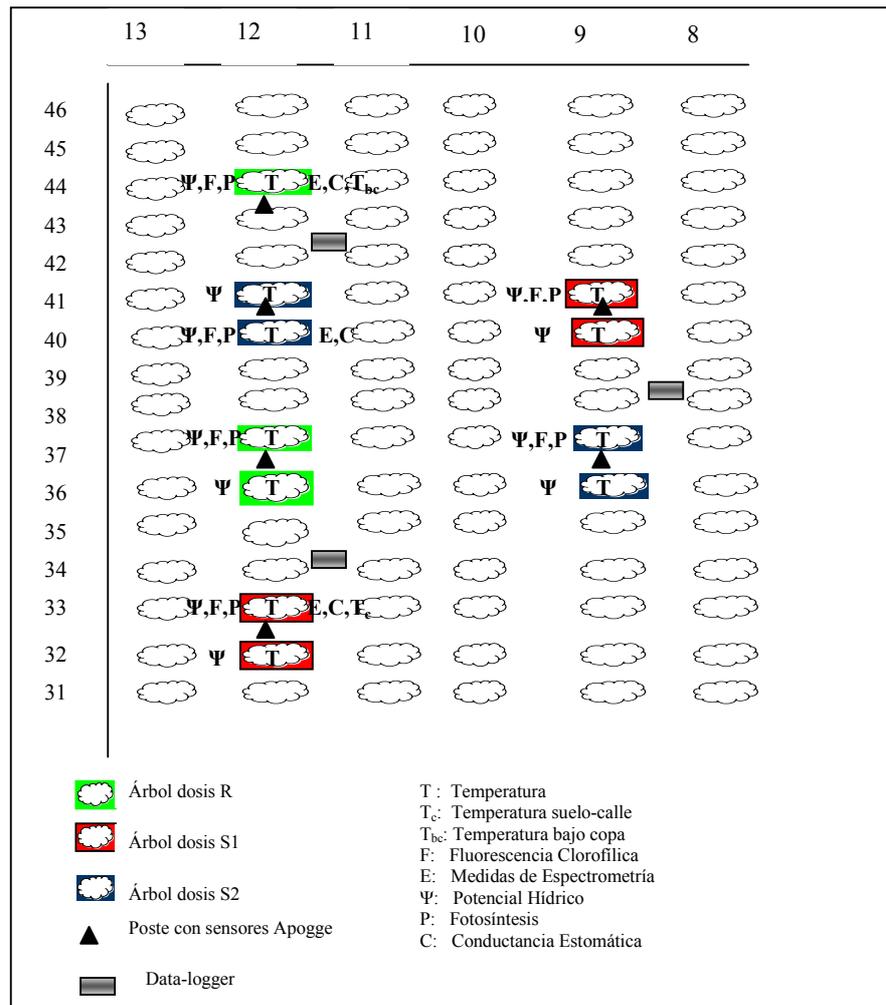


Figura 4. Esquema de la distribución de mediciones realizadas en la zona de estudio.

2.4. Medidas Realizadas y Métodos de Cálculo.

2.4.1. Potencial Hídrico.

El seguimiento del estado hídrico de los árboles se llevó a cabo mediante medidas de potencial hídrico de xilema (Ψ_x) realizadas a las 10:00 hora solar en dos hojas por árbol, sombreadas y cercanas al tronco (Moriani *et al.*, 2002). Las medidas se realizaron mediante bomba de presión Scholander (Soilmoisture equipment Corp., PWSC Model 3000, EE.UU.) en once árboles con distinto grado de estrés según las tres dosis de riego.

2.4.2. Conductancia Estomática.

El instrumento utilizado para las medidas de conductancia estomática fue el porómetro PMR-4 (PP Systems, Hitchin Herts, Gran Bretaña). En el estudio y la medición de la conductancia estomática es necesario tener en cuenta la complejidad de la regulación de la apertura estomática, ya que los estomas responden a influencias ambientales (luz, humedad, temperatura, CO₂) y endógenas (producción y liberación de hormonas en raíz y hojas) (Azcón Bieto, 1999). La sensibilidad de los estomas a las condiciones ambientales puede provocar, en las mediciones de campo especialmente, importantes variaciones de conductancia en cortos intervalos de tiempo, dificultando la obtención de medidas precisas. Para minimizar estas variaciones y obtener lecturas consistentes, es necesario realizar las mediciones de conductancia en condiciones meteorológicas despejadas y secas (Clarke, 1996). Siguiendo dichas consideraciones, las medidas de conductancia se realizaron en tres árboles, uno por cada grado de estrés, etiquetando cinco hojas soleadas por árbol, de las cuales se hizo un seguimiento semanal midiéndose cada hoja a cinco horas del día (Benavente, 2002).

2.4.3. Fotosíntesis.

El instrumento utilizado para las medidas de fotosíntesis foliar fue el CIRAS-1 (PP Systems, Hitchin Herts, Gran Bretaña). Este es un sistema abierto de intercambio de gases que dispone de cuatro analizadores simultáneos N.D.I.R. Dos de ellos miden, respectivamente, la concentración de CO₂ y la humedad relativa del aire de referencia

(aire que entra en la cámara), y los otros dos miden dichas variables en el aire de análisis (aire que sale de la cámara). Dispone de dos bombas internas con medidores de flujo con masas para mantener un flujo constante de aire a través del sistema, condición necesaria para poder realizar correctamente los cálculos de los distintos parámetros. El analizador va alojado en la unidad principal del sistema, donde también se encuentran el desecante de vapor de agua, el absorbente de CO₂ y un filtro de micropartículas. Una pequeña bombona recambiable aporta el CO₂ necesario.

La unidad principal posee un teclado y una pantalla para controlar el funcionamiento y puede conectarse a un ordenador portátil que permite monitorizar de forma gráfica y en tiempo real la evolución de todos los parámetros durante la medida. Esto es especialmente útil a la hora de elaborar curvas de respuesta de la fotosíntesis a un parámetro concreto (radiación fotosintéticamente activa, PAR, o CO₂, por ejemplo). Una vez registradas las medidas y finalizadas las mediciones, los datos quedan almacenados en la unidad principal y son transferidos a un ordenador en un archivo que puede ser abierto directamente desde una hoja de cálculo. El método de medida fue etiquetar dos hojas expuestas al sol por árbol, de las cuales se hizo un seguimiento semanal, midiéndose a tres horas del día (Jiménez Cifuentes, 1999).

2.4.4. Fluorescencia Clorofílica Foliar.

Las medidas de Fluorescencia Clorofílica se realizaron a nivel de hoja mediante muestreo foliar en campo en condiciones de luz natural con el *Pulse-Amplitude-Modulate Fluorometer* PAM-2100 (Heinz Walz GMBH, Effeltrich, Germany). La Fluorescencia Clorofílica natural puede medirse mediante diferentes formas, existiendo diversos instrumentos para tal efecto (ver Mohammed *et al.*, 1995 para una revisión general de instrumentos de fluorescencia). El fluorómetro PAM-2100 utilizado en este experimento muestra un alto grado de flexibilidad para las medidas y análisis de fluorescencia, siendo un instrumento de general aceptación en el campo de la investigación de la fluorescencia clorofílica (Flexas *et al.*, 2000).

El fluorómetro consta de una unidad principal (Figura 5), una fibra óptica (Special Fiberoptics 2010-F) y una pinza (Leaf-Clip Holder 2030-B). El PAM-2100 permite la

realización de la medida de energía emitida por la hoja en el rango espectral 670-780 nm de longitud de onda mediante la fibra óptica, correspondiendo a la región espectral donde se emite la fluorescencia clorofílica natural por los Fotosistemas I (PS-I) y II (PS-II).

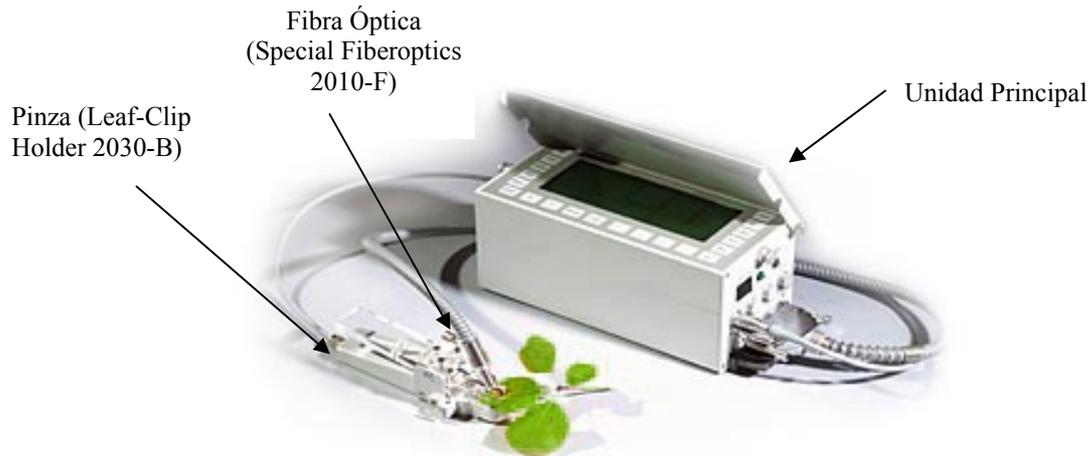


Figura 5. Instrumento PAM-2100 utilizado en este trabajo.

El instrumento PAM-2100 nos permite la realización de dos grandes grupos de medidas de fluorescencia clorofílica: i) medidas de fluorescencia clorofílica en condiciones de adaptación a la oscuridad; y ii) medidas de fluorescencia clorofílica en estado estacionario bajo condiciones naturales de iluminación.

La fluorescencia clorofílica emitida por hojas adaptadas a la oscuridad fue descrita por primera vez en los años treinta por Kautsky y Hirsch (1934) (Figura 6), demostrando que la fluorescencia clorofílica varía en función del tiempo y de la iluminación a que se ven sometidos los fotosistemas. El instrumento PAM-2100 permite la detección de dicha variación de emisión de fluorescencia, partiendo del momento en que una hoja se encuentra en estado de adaptación a la oscuridad, con emisión de fluorescencia nula, disparándose en el momento en que incide luz sobre ella. Este crecimiento llega hasta un nivel inicial llamado F_0 (fluorescencia mínima), aumentando después de una forma menos acusada con respecto al tiempo hasta un nivel máximo de fluorescencia (F_m). Finalmente la emisión de fluorescencia disminuye lentamente hasta

el estado estacionario (T) de adaptación a la luz después de haber pasado por un segundo y más leve máximo. Una serie de procesos fotosintéticos son los responsables de estos cambios transitorios de la fluorescencia durante la transición oscuridad-luz. En la Figura 6 podemos observar a modo de ejemplo los cambios medidos por el PAM-2100 de la fluorescencia con respecto al tiempo al hacer incidir luz sobre una hoja adaptada a la oscuridad previamente.

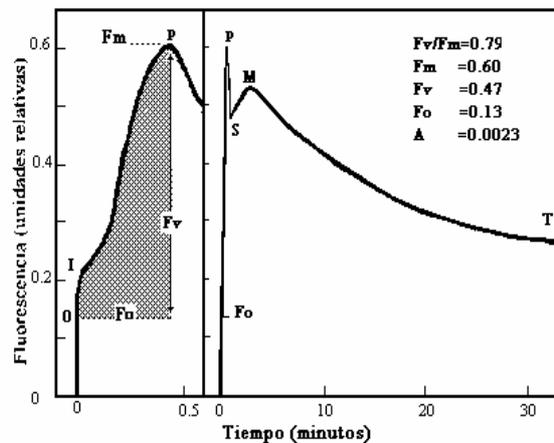


Figura 6. Efecto Kautsky, emisión de fluorescencia desde una hoja adaptada a la oscuridad (Krause y Weis, 1984).

El nivel F_0 refleja la pérdida de una parte de la energía absorbida por las moléculas-antenas antes de que éstas hayan podido transferir la energía de excitación hacia los centros de reacción (Krause y Weis, 1984). El sistema de fluorescencia modulada PAM-2100 nos permite detectar fluorescencia clorofílica tanto en condiciones de adaptación a la oscuridad como en condiciones de iluminación. La muestra foliar en condiciones de iluminación es colocada en la pinza (Leaf-Clip Holder 2030-B) del PAM-2100, encendiéndose una luz modulada de baja intensidad con una frecuencia determinada. Esta luz modulada excita los pigmentos de la antena sin llegar a excitar el centro de reacción PSII, es decir, sin activar la fotoquímica generando una fluorescencia basal o fluorescencia mínima (F_0) (Figura 7). Posteriormente se cierran todos los centros de reacción del PSII al aplicarse un pulso saturante de luz, obteniéndose así una fluorescencia máxima (F_m). Una vez que la fluorescencia llega a su nivel basal, se enciende una luz actínica de intensidad regulable aplicándose a la misma vez pulsos saturantes que nuevamente ocasionan el cierre de todos los centros de

reacción, obteniéndose la medida de la fluorescencia máxima en estado estacionario o de adaptación a la luz (F_m'). Bajo esta condición de estado estacionario se generan tres tipos de señal que el equipo modulado del PAM-2100 es capaz de discriminar: i) luz actínica reflejada por la hoja; ii) señal de fluorescencia basal o no pulsada bajo luz modulada; y iii) señal de fluorescencia pulsada bajo luz saturante. La luz actínica induce un cambio en la magnitud de la señal de fluorescencia que se relaciona con los cambios en la eficiencia del uso de la luz por el Fotosistema II. Esta señal es la que el fluorómetro amplifica y mide. La señal ambiental y la señal basal o no pulsada son descartadas.

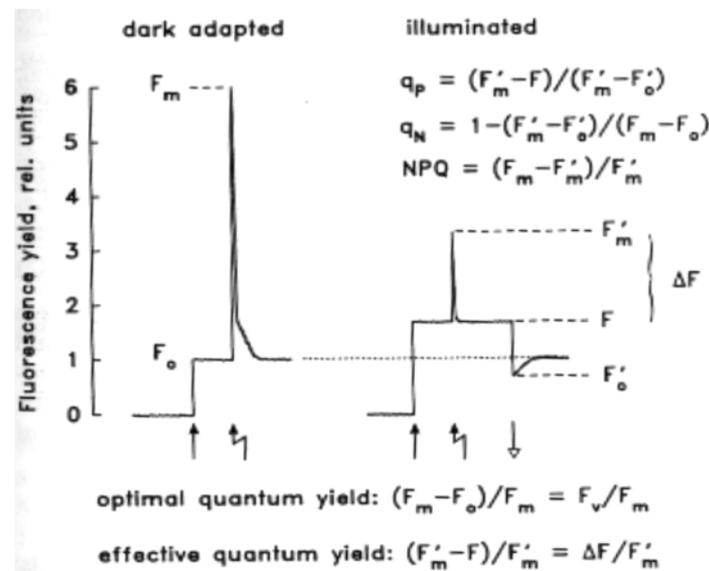


Figura 7. Emisión de fluorescencia en estado adaptado a la oscuridad (izquierda) y en estado estacionario (derecha) (Krause y Weis, 1984).

En resumen, los valores obtenidos con el instrumento PAM-2100 utilizado en este experimento para cada medida foliar son los siguientes:

- F_o Mínima producción de fluorescencia de muestras en estado de adaptación a la oscuridad.
- F_m Máxima producción de fluorescencia que se alcanza con un pulso de saturación de luz en condiciones de adaptación a la oscuridad.
- F_o' Mínima producción de fluorescencia de muestras en estado de iluminación.

F_m' Máxima producción de fluorescencia que se alcanza con un pulso de saturación de luz cuando la muestra foliar es preiluminada. F_m' es generalmente menor que F_m.

F_t Producción de fluorescencia natural, determinado por el estado energético de la planta en ese momento bajo condiciones de iluminación.

Yield Producción fotoquímica del fotosistema II (PSII). Este valor está notablemente influido por los valores del PAR y Temperatura de la hoja.

$$Yield = \frac{F_m' - F_t}{F_m'} \quad [\text{Eq 1}]$$

PAR Radiación fotosintéticamente activa, medida por un sensor en la superficie de la hoja con el Leaf-Clip Holder 2030-B.

qP Coeficiente del *quenching* fotoquímico. Este coeficiente varía entre 0 y 1.

$$q_p = \frac{F_m' - F_t}{F_m' - F_o'} \quad [\text{Eq 2}]$$

qN Coeficiente del *quenching* no-fotoquímico. Este coeficiente varía entre 0 y 1.

$$q_n = \frac{F_m - F_m'}{F_m - F_o'} \quad [\text{Eq 3}]$$

ETR Ratio aparente de transporte de electrones.

$$ETR = Yield \times PAR \times 0,5 \times 0,84 \quad [\text{Eq 4}]$$

Por referencia para futuros trabajos, los parámetros de medida con que se realizaron las medidas foliares de fluorescencia con el PAM-2100 se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros empleados en la toma de datos con el PAM-2100.

Light Meas	Act. Light	Sat. Pulse	Far Red *
1 Int: 9	2 Int: 9	3 Int: 8	4 Int: 6
5 600 Hz	6 s : 0	7 0,1s:8	8 s : 3
Gain 3	H LED	Clk s:20	Run 1
Damping 5	9 Auto20K	Pulse Seq.	Kinetic Scr

El interés principal de las medidas realizadas por el PAM-2100 en muestras foliares de olivo reside en la producción de fluorescencia natural en condiciones de adaptación a la luz (F_t). El valor de F_t es el que permitirá estudiar si la fluorescencia natural emitida por la hoja se ve afectada por el grado de estrés hídrico, y posteriormente si dicha fluorescencia naturalmente emitida en condiciones naturales de luz puede detectarse mediante sensores remotos basados en técnicas de espectroscopía a nivel de copa.

2.4.5. Temperatura de Copa.

Para la estimación de la temperatura a nivel de copa se monitorizaron diez árboles, colocándose de manera permanente sensores de infrarrojos IRTS-P (Apogee, UT, USA) sobre las copas de olivos, midiendo la radiación térmica en el rango espectral 6.5-14 μm . Dichos sensores fueron colocados un metro por encima de la copa, diseñando unos postes de seis metros de altura en los que, por medio de un brazo metálico, se instaló cada sensor de forma permanente aproximadamente en el centro de cada copa (Figura 8).

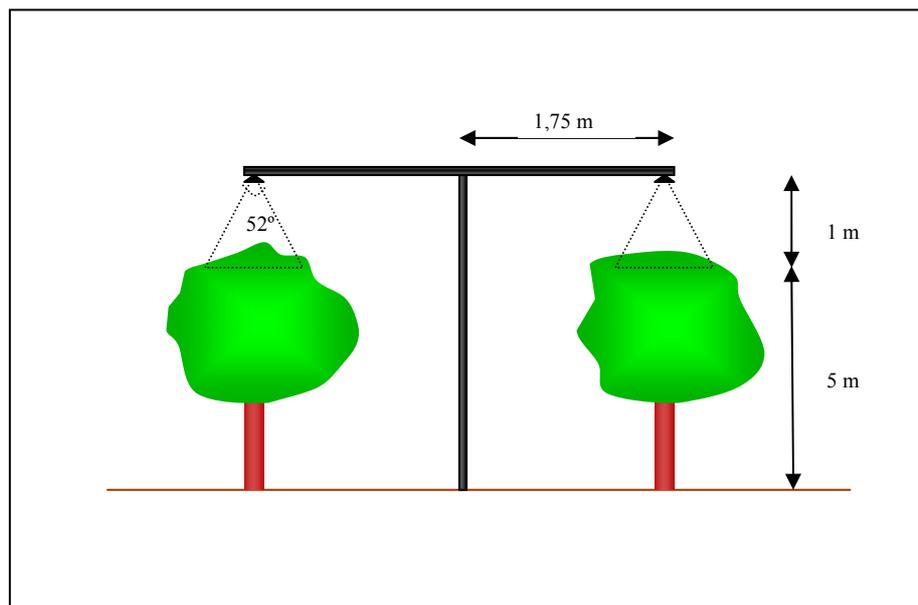


Figura 8. Colocación y diseño de los sensores de temperatura IRTS-P sobre las copas.

Los sensores de infrarrojo IRTS-P utilizados realizan una medida integrada de la copa con un campo de visión de 52°, midiendo la temperatura radiométrica, es decir, la temperatura que tendría la muestra si fuese un cuerpo negro ideal. Las medidas de temperatura radiométrica ($L(T_{\text{sensor}})$) se utilizan junto con la emisividad del cuerpo (ϵ) y la radiación descendente de la atmósfera ($R_{\text{atm}}\downarrow$) para estimar la temperatura real ($L(T_{\text{superficie}})$), aplicando la ecuación de transferencia radiativa (Eq.1).

$$L(T_{\text{sensor}}) = \epsilon \cdot L(T_{\text{superficie}}) + (1 - \epsilon) \cdot R_{\text{atm}}\downarrow \quad [1]$$

Donde L y R son radiancias [$\text{Wm}^{-2}\text{sr}^{-1}\mu\text{m}^{-1}$] y las obtenemos de sustituir la temperatura en la ley de Planck (Eq.2).

$$L(T) = \frac{C_1 \lambda^{-5}}{\exp\left(\frac{C_2}{\lambda T}\right) - 1} \quad [2]$$

Donde $C_1 = 2hc^2 = 1.1911 \cdot 10^8 \text{ W}\mu\text{m}^4 \text{m}^{-2} \text{sr}^{-1}$, $C_2 = (hc/k) = 1.43877 \cdot 10^4 \mu\text{mK}$ y el valor de λ utilizado es el de $11\mu\text{m}$, valor medio de longitud de onda de la banda en la que trabaja en sensor IRTS-P.

Se realizaron una serie de experimentos en laboratorio para evaluar los sensores IRTS-P, estudiando diferencias sistemáticas entre los 12 sensores instalados posteriormente en campo, así como la precisión obtenida por dichos sensores en comparación con termopares de superficie midiendo la temperatura del agua (Sepulcre, 2004). Los resultados del análisis de laboratorio para el rango de temperaturas de 25° a 40° coincidió con el esperado por las características de los IRTS-P (Apogee, www.apogee-inst.com) de $\pm 0.4^\circ\text{C}$, no observándose diferencias significativas entre sensores.

La emisividad de las copas de olivo del experimento se midió con un sensor espectral CIMEL (CIMEL Electronique, París, Francia) en Julio de 2004, con objeto de su utilización en la ecuación de transferencia radiativa y realización de un cálculo correcto de la temperatura real de las copas a partir de la temperatura radiométrica.

2.4.6. Espectrometría de Copa

Las medidas de espectrometría de copa tuvieron como objetivo la detección de fluorescencia clorofílica mediante el método de rellenado espectral o *in-filling* en la banda O₂-A atmosférico.

En la región espectral del visible e infrarrojo cercano (400-800 nm) hay absorción por parte de constituyentes bioquímicos (clorofila a y b) produciéndose en tal proceso la conocida emisión por fluorescencia clorofila. Uno de los métodos de detección espectroscópica de la fluorescencia clorofílica emitida se basa en utilizar líneas de Fraunhofer o bandas de absorción de constituyentes atmosféricos (ver Figura 9a). En dichas bandas la transmisión atmosférica es casi nula debido a la alta absorción de componentes atmosféricos, siendo una de éstas la producida por el oxígeno atmosférico a 687 nm y 760.5 nm (ver figura 9b). Dada la poca energía existente en dichas bandas, cualquier emisión encontrada en las mismas puede asociarse potencialmente a la emisión por fluorescencia clorofílica. Este proceso es el denominado rellenado espectral o *in-filling*, existiendo diversas bandas de estas características a lo largo del espectro electromagnético.

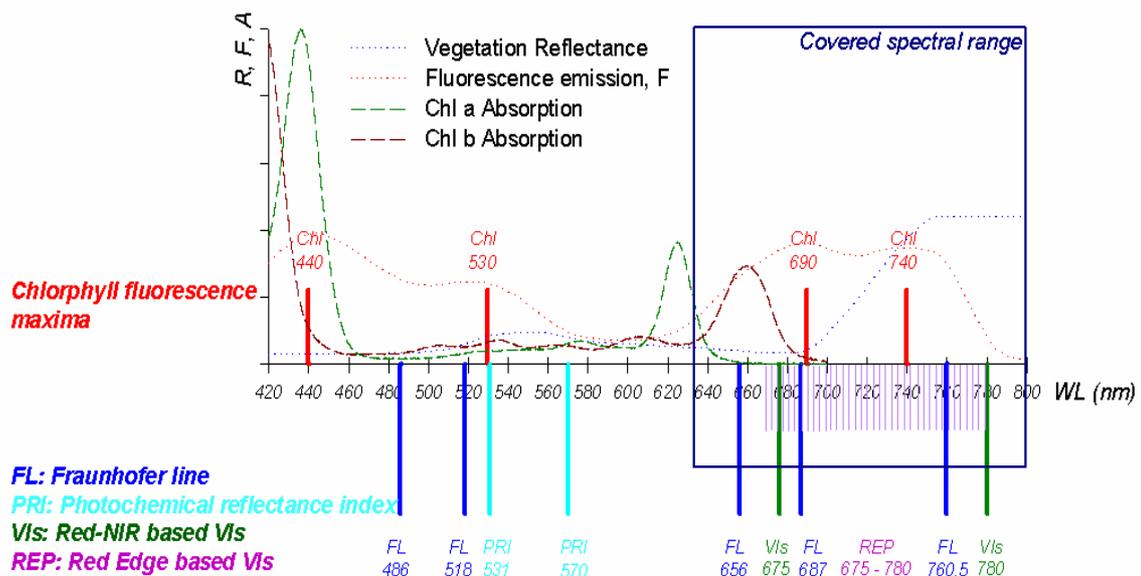


Figura 9a. Rango espectral y longitudes de onda de interés para la detección de fluorescencia. Las líneas azules representan las líneas de Fraunhofer para la detección de la fluorescencia, mientras que las líneas rojas representan los picos de la emisión de la fluorescencia clorofílica. El recuadro azul de la derecha nos muestra la región espectral de interés en la detección de la fluorescencia mediante las técnicas de espectroscopía planteadas en este estudio (Meroni *et al.*, 2004).

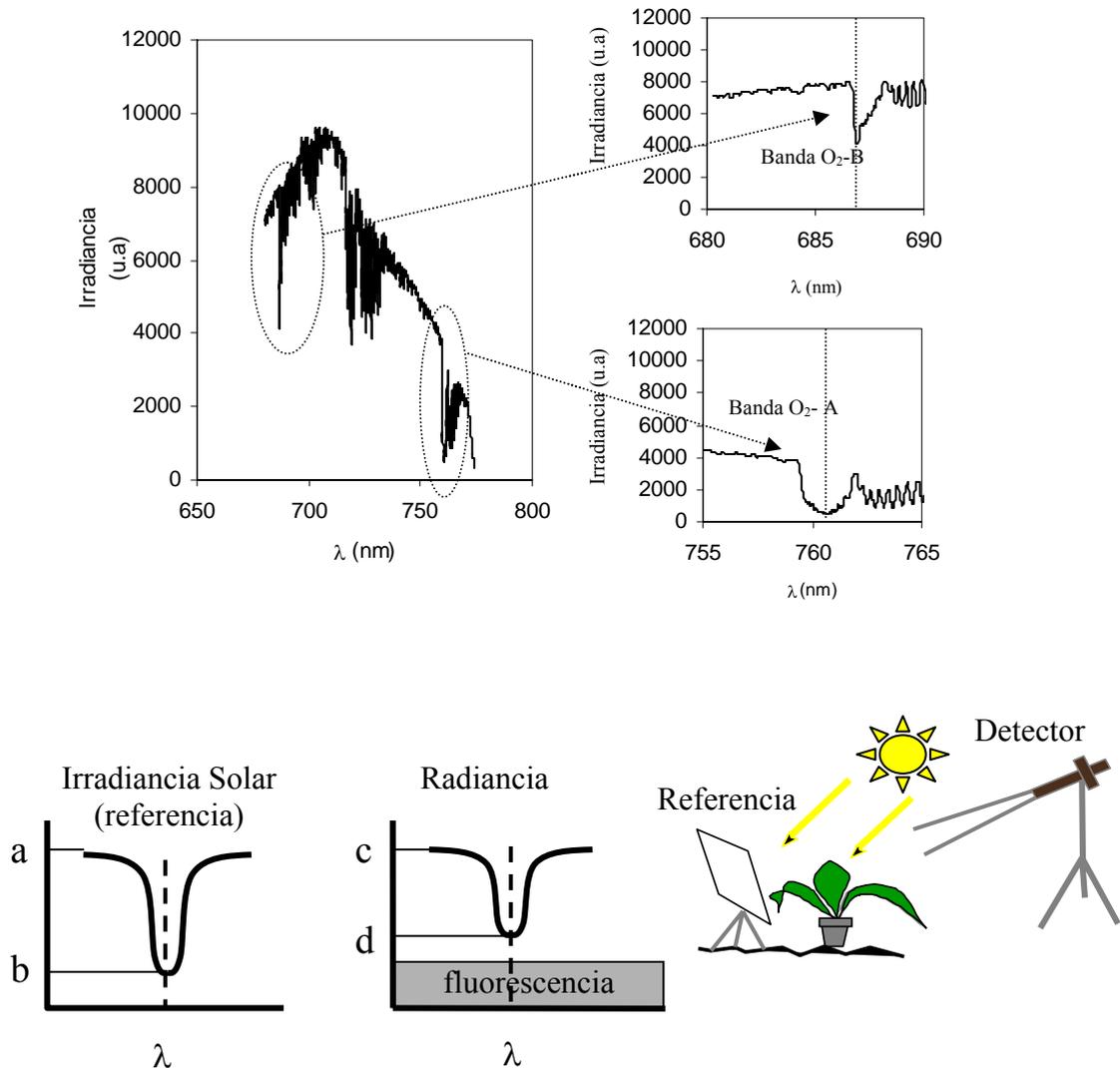


Figura 9b. Vista esquemática del principio de las líneas de Fraunhofer, mostrando las bandas O_2 -B y O_2 -A en la irradiancia solar espectral (arriba), así como el efecto esquemático de la emisión de fluorescencia en la radiancia (abajo).

El método espectroscópico empleado en la detección de la fluorescencia clorofílica será utilizar la banda O_2 -A de absorción del oxígeno a 760 nm (línea de Fraunhofer), estudiando el fenómeno del rellenado espectral debido al efecto de emisión de la fluorescencia clorofílica en bandas muy estrechas de absorción del oxígeno atmosférico donde la radiación solar incidente, irradiancia, es prácticamente nula, produciendo la emisión de la fluorescencia un rellenado espectral en la señal de la reflectancia (ver Figura 9c).

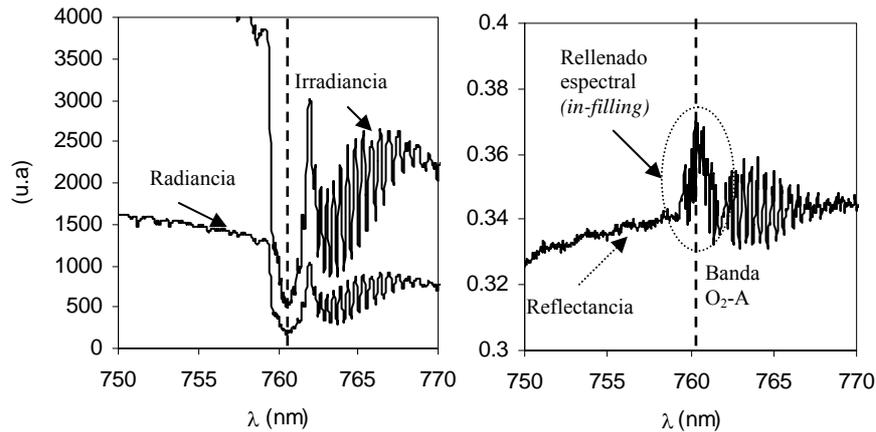


Figura 9c. Irradiancia y radiancia (izquierda), mostrando el relleno espectral ó *in-filling* en la señal de reflectancia (derecha).

Para determinar la amplitud del relleno espectral o *in-filling* en la señal de reflectancia se utilizará la diferencia entre las bandas R760.59 y R759.5, es decir, calculando la amplitud del *pico* mediante una banda dentro de la absorción del O₂-B (760.59 nm) y otra fuera de dicha banda de absorción del oxígeno atmosférico (759.5 nm).

Las medidas de espectrometría a nivel de copa se realizaron en tres árboles con distintas dosis de riego (R, S1 y S2). Para ello se construyó un poste de similar diseño a los utilizados para la monitorización de temperatura, con la diferencia de que las medidas deberían ser puntuales y no de carácter permanente como las de temperatura, requiriéndose por lo tanto la movilidad del poste a lo largo de la calle de olivos durante la toma de datos. La verticalidad en la toma de datos requerida para las medidas espectrales de irradiancia solar y radiancia de la copa se aseguró mediante la instalación de un nivelador colocado en el poste (Figura 10).

El instrumento utilizado para las medidas de espectrometría fue el espectrómetro HR-2000 (Ocean Optics, Florida, EEUU) de 2048 canales y 0,065 nm de ancho de banda *full-width half-maximum* (FWHM) en el rango 680-770 nm, conectado a fibra óptica de 600 μm de sección, 26° FOV y 10 m de longitud para la realización de la toma de medidas de radiancia de la copa de los árboles y de irradiancia solar. Para las medidas de irradiancia se utilizó un corrector coseno CC-3 VIS-NIR (Ocean Optics, Florida, EEUU), realizando las medidas de radiancia con fibra desnuda, utilizando una

cabeza regulable en el extremo del brazo del poste. El espectrómetro se conectó a ordenador mediante puerto USB, almacenando los datos espectrales mediante el programa 00IBase32 (Ocean Optics, Florida, EEUU).

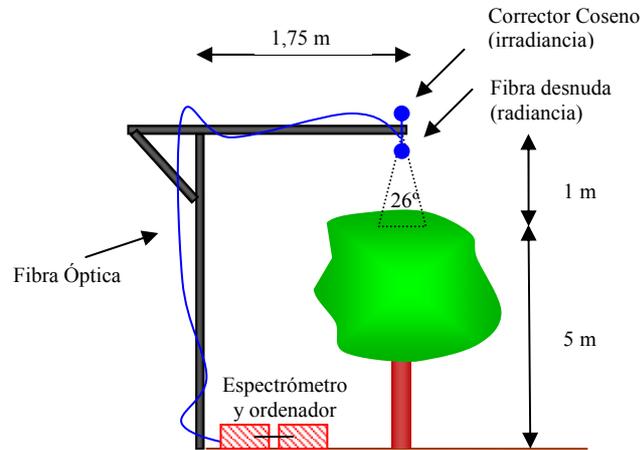


Figura 10. Colocación y diseño de la fibra óptica y sensores espectrales HR-2000 sobre la copa del árbol.

Debido a la sensibilidad del espectrómetro a las variaciones de temperatura ambiente, afectando los niveles de corriente oscura en función de la temperatura exterior, se utilizó un contenedor de temperatura estable PT-100 (Magapor, Zaragoza, España) programable a una temperatura constante de 24° C y alimentado por batería. En la calibración de las medidas de radiancia e irradiancia se empleó un panel Spectralon (Labsphere, North Sutton, EEUU) y una fuente luminosa estabilizada LS-1 (Ocean Optics, Florida, EEUU), realizando la calibración espectral de longitudes de onda mediante la fuente luminosa de emisión de líneas de mercurio-argón HG-1 (Ocean Optics, Florida, EEUU).

Las medidas de espesor óptico para caracterización atmosférica se realizaron mediante fotómetro solar Microtops II (Solar Light, Philadelphia, EEUU) midiendo a 440, 500, 675, 870 y 936 nm para el cálculo del espesor óptico a 550 nm. El fotómetro solar se conectó a un GPS modelo GPS-12 (Garmin, Kansas, EEUU) para medición simultánea de localización geográfica, altura, y posición del sol en función de la hora de las medidas de espesor óptico.

Las medidas de espectrometría se realizaron a la misma hora en dos árboles correspondientes a los tratamientos extremos R y S1, mientras que la serie de medidas diurnas se llevaron a cabo en 3 árboles correspondientes a los tratamientos R, S1 y S2. En la toma de datos de espectrometría se tomaron simultáneamente medidas de fluorescencia clorofílica a nivel de hoja con el PAM-2100 con objeto de conocer las variaciones de fluorescencia natural emitida por árboles de distinto tratamiento R, S1 y S2, así como las variaciones de fluorescencia emitida a lo largo del día durante la realización de las medidas de espectrometría de copa.

2.4.7. Simulación de los Efectos de la Fluorescencia en la Reflectancia

La hipótesis de partida de este experimento consiste en que la reflectancia medida sobre las copas de los árboles está potencialmente afectada por la fluorescencia naturalmente emitida, siendo uno de los objetivos el estudio de la viabilidad de la detección de dicha fluorescencia natural a partir de la reflectancia de copa. Sin embargo, las medidas espectrales de reflectancia en la región del visible e infrarrojo tomadas en condiciones de luz natural están afectadas por otras variables de tipo atmosférico y de geometría de visión, denominados efectos de reflectancia bi-direccional (BRDF). Estos efectos bi-direccionales sobre la reflectancia podrían llevar a una equivocada interpretación del efecto real que tiene la fluorescencia en la reflectancia medida sobre una copa a lo largo de un día o a lo largo de una serie temporal. Se pretende en esta sección, por lo tanto, no limitarnos a la experimentación y análisis de medidas espectrales tomadas sobre las copas, analizando el efecto potencial de la fluorescencia en la reflectancia. Se pretende estudiar, mediante un modelo físico actualmente en desarrollo, si los efectos de la fluorescencia sobre la reflectancia que se observan en este experimento se corresponden de forma consistente con dichos efectos simulados por un modelo físico basado en la teoría de la transferencia radiativa.

Para tal objetivo se utilizó el modelo que actualmente está en desarrollo en el marco del proyecto financiado por la Agencia Espacial Europea (ESA) desde el año 2002 titulado *Development of a Vegetation Fluorescent Canopy Model* (FluorMOD) (Miller *et al.*, 2003; Miller, 2004). El modelo de fluorescencia y reflectancia FluorMODgui (Zarco-Tejada *et al.*, 2004; Zarco-Tejada *et al.*, en prensa) es una

integración de dos modelos independientes basados en la transferencia radiativa a nivel de hoja, FluorMODleaf (Pedrós *et al.*, 2004), y a nivel de cubierta, FluorSAIL (Verhoef, 2004). FluorMODgui permite simular los efectos de la fluorescencia en la reflectancia a través del desarrollo e integración del modelo a nivel de hoja conectado con el de cubierta, simulando de forma teórica los efectos de la fluorescencia clorofílica en la reflectancia a nivel de cubierta. El modelo a nivel de hoja, FluorMODleaf, es una continuación de trabajos previos consistentes en la simulación de la fluorescencia foliar, como por ejemplo los modelos SLOP (*Stochastic model for Leaf Optical Properties*) (Maier *et al.*, 1999; Maier, 2000), y FRT (*Fluorescence-Reflectance-Transmittance Model*) (Zarco-Tejada *et al.*, 2000a; 2000b) que permitieron iniciar los estudios de la simulación de los efectos de la fluorescencia en la reflectancia foliar. El modelo a nivel de cubierta, FluorSAIL es una adaptación del modelo de cubierta SAIL (Verhoef, 1998) que permite utilizar la fluorescencia simulada por FluorMODleaf a nivel de hoja para modelar la fluorescencia que se obtendría a nivel de cubierta a partir de variables de hoja y cubierta de constituyentes bioquímicos y variables biofísicas (Tabla 2).

Tabla 2. Parámetros de entrada del modelo FluorMODgui.

FluorMODleaf		FluorSAIL	
N	Parámetro Estructural Foliar	ρ	Reflectancia foliar
C_{ab}	Contenido de clorofila a+b	τ	Transmitancia foliar
C_w	Contenido de agua en hoja	Matrices F	Matrices espectrales de excitación de la Fluorescencia
C_m	Contenido de materia seca		
Fi	Eficiencia de la fluorescencia	PAR	Radiación Fotosintéticamente Activa
T	Temperatura	IAF	Índice de Área Foliar
S	Tipo de especie		

El modelo FluorMODgui permite, por lo tanto, simular la reflectancia de cubierta con y sin el efecto de la fluorescencia, así como para distintas geometrías solares, lo que nos permitirá comprobar si las medidas de reflectancia de las copas de olivo en regiones

espectrales afectadas por la fluorescencia son consistentes con las simulaciones realizadas por el modelo. La Figura 11 muestra la simulación de la fluorescencia emitida a nivel foliar para contenidos de clorofila entre $20 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ y $60 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ para valores de temperatura de entre 10 y 30°C , observándose cómo tanto la forma de la curva de emisión de la fluorescencia como su amplitud cambian en función de ambas variables foliares. La Figura 12 muestra la simulación de la reflectancia a nivel de cubierta para valores de C_{ab} entre 20 y $70 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ y temperatura entre 10 y 30°C , observándose las mayores diferencias del efecto de la fluorescencia en la reflectancia en la región espectral del borde rojo, entre 690 y 760 nm , así como la emisión o relleno espectral en la banda O-A a 760 nm . A modo de ejemplo, la Figura 13 muestra una simulación diurna de la reflectancia de la cubierta para ángulos cenitales solares entre 10° y 70° mediante el modelo FluorMODgui para la irradiancia solar, irradiancia total, radiancia sin efectos de la fluorescencia, radiancia de la fluorescencia, radiancia total, reflectancia sin el efecto de la fluorescencia, y reflectancia con el efecto de la fluorescencia.

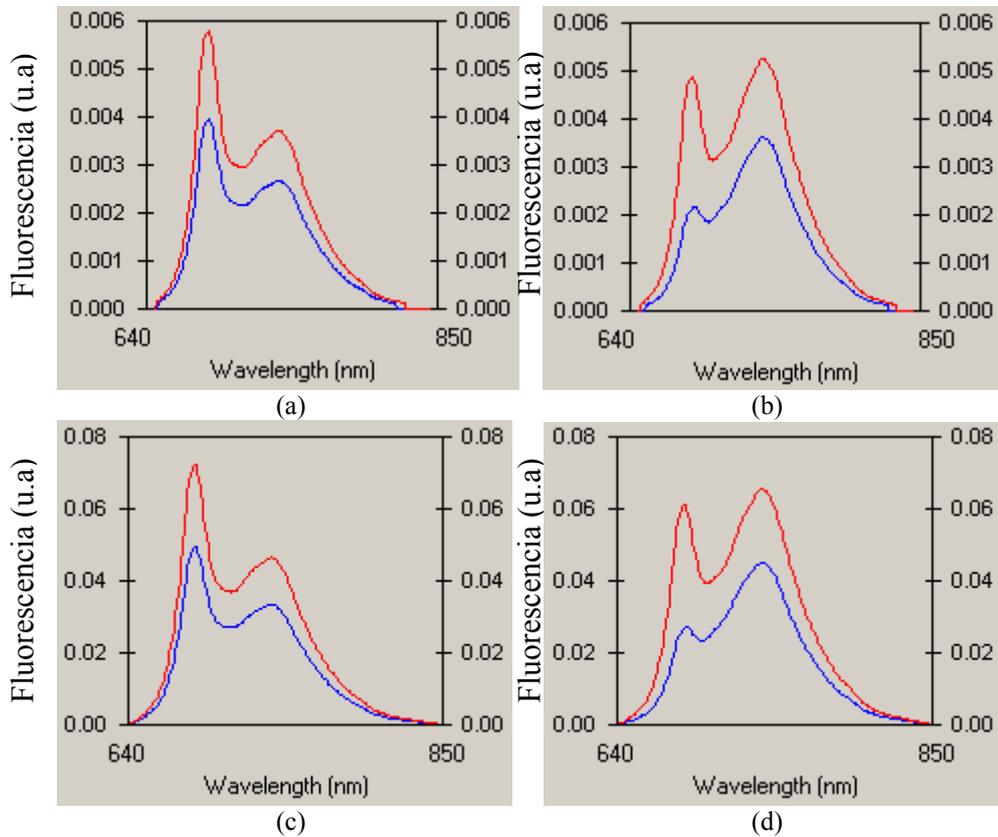


Figura 11. Ejemplo de simulación de la fluorescencia emitida a nivel foliar para $C_{ab}=20\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (a, c) y $C_{ab}=60\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (b, d) para valores de temperatura de $T^a=30^\circ\text{C}$ (a,b) y $T^a=10^\circ\text{C}$ (c,d) mediante el modelo FluorMODgui.

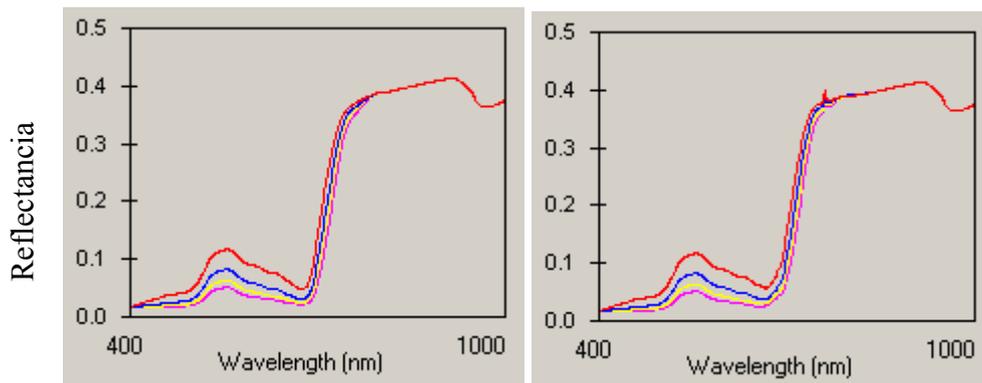


Figura 12. Ejemplo de simulación de la reflectancia de cubierta para valores de C_{ab} entre 20 y 70 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ y $T^a=30^\circ\text{C}$ (izquierda) y $T^a=10^\circ\text{C}$ (derecha) mediante el modelo FluorMODgui.

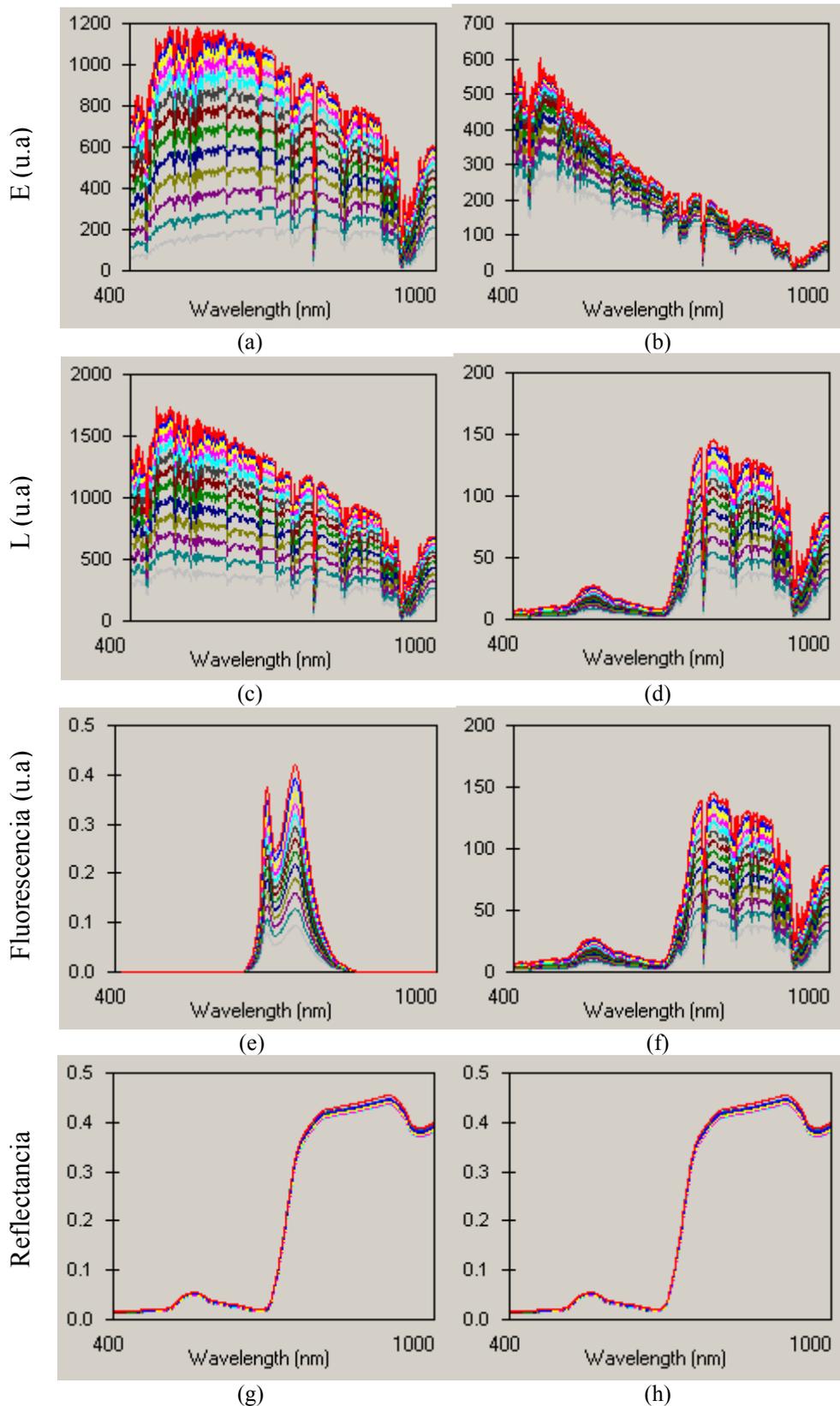


Figura 13. Ejemplo de simulación diaria de la reflectancia de la cubierta para ángulos cenitales solares entre 10° y 70° realizada mediante el modelo FluorMODgui para la irradiancia solar (a); irradiancia del cielo (b); irradiancia total (c); radiancia sin fluorescencia (d); radiancia de la fluorescencia (e); radiancia total (f); reflectancia sin fluorescencia (g), y reflectancia con fluorescencia (h).

3. Resultados.

A continuación se presentan los resultados obtenidos de las medidas de potencial hídrico, conductancia estomática, fotosíntesis, fluorescencia clorofílica, temperatura y espectroscopía realizados en árboles con distintos tratamiento de riego.

3.1. Potencial Hídrico

El potencial hídrico de xilema medido semanalmente en once árboles, cuatro por cada dosis de tratamiento S1 y S2, y tres de la dosis de tratamiento R (ver Figura 4 con el esquema de distribución de medidas) se vio afectado durante el periodo experimental debido a los efectos del estrés hídrico causado por los distintos tratamientos de riego. Los valores de Ψ_x medidos oscilaron entre -0,6 y -3,3 MPa, siendo los valores más negativos los correspondientes a los árboles de mayor estrés (tratamiento S1 y S2) y los menos negativos al tratamiento de control R de menor estrés. La Figura 14 muestra el seguimiento individualizado por árbol de las medidas de potencial hídrico en los once árboles medidos (Figura 14a) así como el potencial hídrico medio para cada tratamiento de riego (Figura 14b). Las gráficas muestran diferencias en el comportamiento de cada curva de tratamiento de riego, observándose que las mayores variaciones de potencial corresponden al tratamiento de mayor estrés (S1), llegando hasta diferencias de más de -2 MPa entre el tratamiento de mayor estrés (S1) y el tratamiento de control (R). Esta diferencia nos da una idea del grado de estrés hídrico de los tratamientos con riego deficitario ya que se compara con una dosis de control (R), en la que no se aprecia una variación notable a lo largo del experimento, manteniéndose sobre los -1 MPa durante todo el experimento. Las mayores diferencias de potencial se observan alrededor del 1 de Octubre, fecha anterior a las primeras lluvias, comprobándose la práctica recuperación alcanzada por los árboles de los 3 tratamientos en las últimas medidas realizadas en Noviembre.

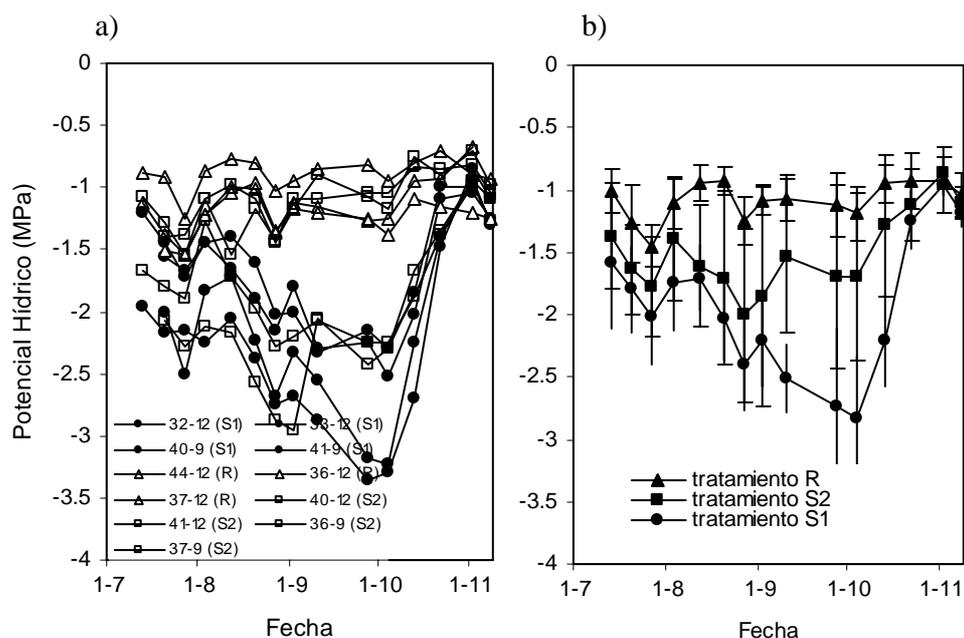


Figura 14. Potencial hídrico por árbol (izquierda) y media por tratamiento de riego (derecha).

A medida que aumentó el déficit de agua en el suelo como consecuencia de la aplicación del riego deficitario y la mayor extracción debida a la alta demanda evaporativa, el potencial hídrico disminuyó en S1 hasta llegar a un mínimo de -3 MPa a principios de Octubre (ver figura 14b). Este efecto no se dio de igual forma en el tratamiento de estrés S2, tratamiento de riego intermitente, para principios de octubre ya que la reanudación del riego a principios de septiembre (6/09/2004) provocó que el potencial medio de S2 oscilara entre -1.5 MPa entre este periodo (manteniéndose parcialmente constante su potencial medio durante el mes de septiembre). La aportación del riego en el tratamiento S2 redujo notablemente el grado de estrés con respecto al tratamiento de mayor grado de estrés S1, siendo las lluvias otoñales a principios de Octubre el factor determinante en la convergencia o recuperación de los potenciales hídricos correspondientes a los árboles de los tres tratamientos R, S1 y S2 (ver figura 14b).

3.2. Conductancia Estomática.

Las medidas de conductancia estomática realizadas en un árbol por cada tratamiento de riego capturaron el efecto causado por el estrés, observando que los tratamientos de mayor estrés S1 y S2 dieron valores menores de conductancia a lo largo

del día, tal y como se esperaba. En la Figura 15 podemos observar, a modo de ejemplo, la evolución diurna del comportamiento estomático en tres árboles con distintos grados de estrés para el día 5 de Agosto, fecha en que el potencial hídrico medido en dichos árboles fue de -2.2 MPa (S1), -1.1 MPa (S2), y -0.9 MPa (R).

Las medidas diurnas de conductancia muestran que se produce un máximo sobre las 8:30 hora solar, produciéndose a partir de este momento un decrecimiento. A lo largo del experimento, conforme el grado de estrés hídrico aumentaba, la variación diurna de conductancia estomática decrecía a las 3 horas del día en que se realizaron las medidas (Figura 16), observándose en cualquier caso una tasa de conductancia muy inferior en árboles con tratamiento S1. La serie temporal para todo el experimento de las medidas de conductancia estomática realizadas en cada árbol con distinto grado de estrés a dos horas del día 8:00 y 11:00 Hora Solar (Figura 17) muestran de forma consistente durante todo el experimento un gradiente de conductancia función del grado de estrés hídrico, observándose una recuperación bastante avanzada al finalizar el experimento además de una tendencia a aumentar a medida que avanza el otoño en los tres tratamientos.

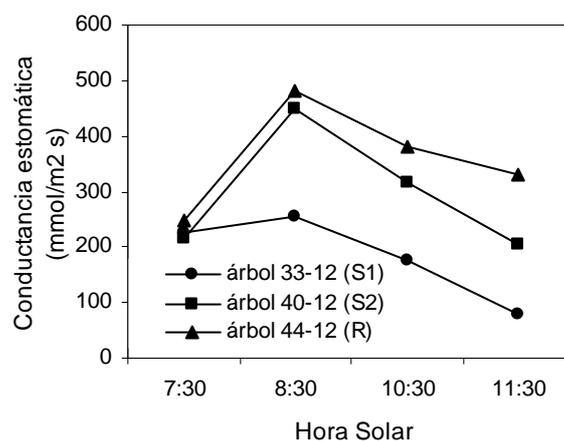


Figura 15. Estudio diurno de conductancia estomática en tres árboles con distinto grado de estrés para el día 5 de Agosto (árbol 33-12, 40-12, 44-12; tratamientos S1, S2 y R respectivamente).

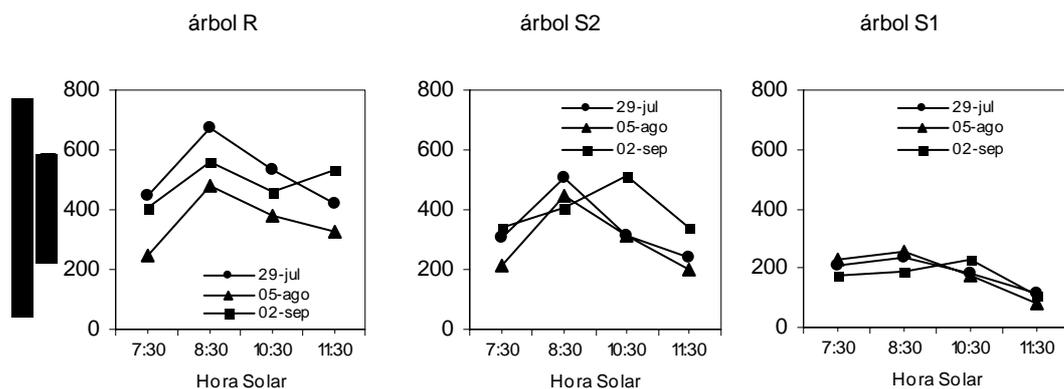


Figura 16. Estudio diurno para los árboles correspondientes a los tratamientos R, S2, S1 a diferentes días de medida.

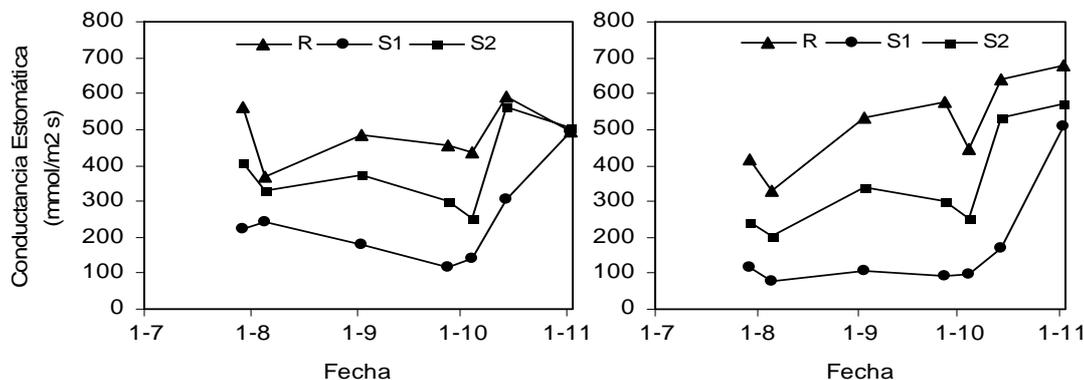


Figura 17. Evolución de la conductancia estomática en tres árboles de distinto grado de estrés (R, S1, S2) a diferentes días de medidas a las 8:00 Hora Solar (izquierda) y 11:00 Hora Solar (derecha).

3.3. Fotosíntesis

Las medidas de fotosíntesis realizadas en dos árboles por tratamiento de riego (R, S1, S2) mostraron el efecto del estrés hídrico en la tasa fotosintética. La tasa de fotosíntesis varía a lo largo del día, como otros procesos metabólicos, en proporción directa a las condiciones ambientales (temperatura, radiación fotosintéticamente activa PAR, DPV). Aunque este efecto no es sostenido debido a que el árbol alcanza un límite, la fotosíntesis cesa y empieza a decrecer. Las medidas de fotosíntesis tomadas a tres horas del día (6:30, 7:30 y 10:00 Hora Solar) para un día en que dichos árboles tenían

un potencial hídrico de -0.925 , -1.7 y -2.025 MPa para los tratamientos R, S2 y S1 respectivamente (18 de Agosto) muestran claramente (Figura 18) una reducción de la tasa fotosintética a las 10:00 Hora Solar en el árbol S1 de mayor estrés hídrico, mostrando de forma consistente para todo el experimento la mayor diferencia de la tasa fotosintética entre tratamientos de estrés a las 10:00 hora solar (Figura 19).

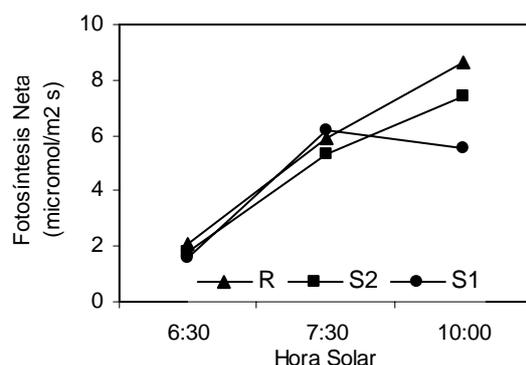


Figura 18. Media por tratamiento de la tasa de fotosíntesis para los tres tratamientos de riego el día 18 de Agosto, con $\Psi_x = -0.925$ MPa (R), -1.7 MPa (S2), y -2.025 MPa (S1). $PAR(6:30) = 0.2 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. $PAR(7:30) = 150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$; $PAR(10:00) = 1300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

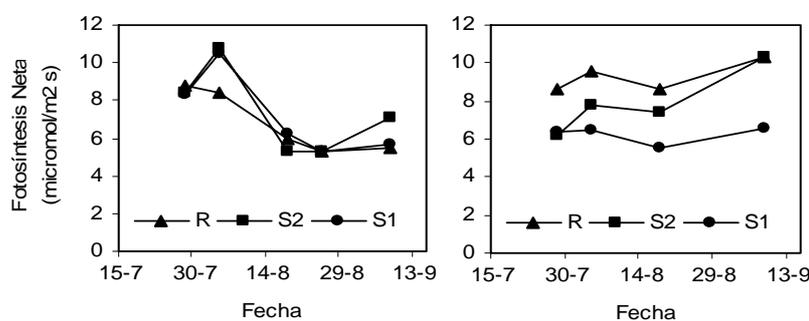


Figura 19. Media por tratamiento de la fotosíntesis durante el experimento a dos horas de medida (7:00 hora solar, izquierda; 10:00 hora solar, derecha).

Las Figuras 18 y 19 muestran que la mayor tasa de fotosíntesis se produce en los árboles del tratamiento R, como era de esperar, produciéndose un decrecimiento sobre las 7:30 hora solar en los árboles pertenecientes al tratamiento S1 (tratamiento de mayor grado de estrés). La evolución de la fotosíntesis a las 7:30 y 10:00 hora solar para la serie de medidas realizadas durante el experimento muestra de forma consistente una tasa fotosintética $R > S2 > S1$, observándose que a las 10:00 hora solar se producen las mayores diferencias en la fotosíntesis de los tres tratamientos empleados para el experimento.

3.4. Fluorescencia Clorofílica

Las medidas de fluorescencia se realizaron a diferentes horas del día en tres árboles con distinto tratamiento de riego (R/44-12, S1/33-12, S2/40-12), así como mediante la media de dos árboles por tratamiento de las dosis de riego más extremas (R y S1). Las variaciones diurnas de Ft y *Yield* en dos días para árboles de cada tratamiento (Figura 20) muestran de forma consistente una menor tasa de emisión de fluorescencia natural (Ft) en árboles S1 que en R y S2, produciéndose las mayores diferencias alrededor de las 10:00 hora solar, equivalente a las mayores diferencias de tasa fotosintética obtenidas a esa hora. Ft se hace máxima entre las 7:30 y 8:30 hora solar, decreciendo posteriormente, observándose que el mayor grado de estrés corresponde con la menor emisión de fluorescencia clorofílica.

El *Yield*, indicador de la producción fotoquímica del Fotosistema II, influido por los valores de PAR y temperatura de hoja, disminuye a lo largo de la mañana produciéndose a partir de las 8:00 hora solar una divergencia de las curvas pertenecientes a los distintos tratamientos, observándose menores valores de *Yield* para tratamientos con mayor grado de estrés. La evolución temporal para todo el experimento de Ft en las horas en que se han observado mayores diferencias en función del tratamiento (8:00 y 10:30 hora solar) para un árbol por cada tratamiento, así como para las medias de los tratamientos más extremos R y S1 (Figura 21) muestran que de forma consistente los valores de Ft son menores en árboles con mayor grado de estrés (S1).

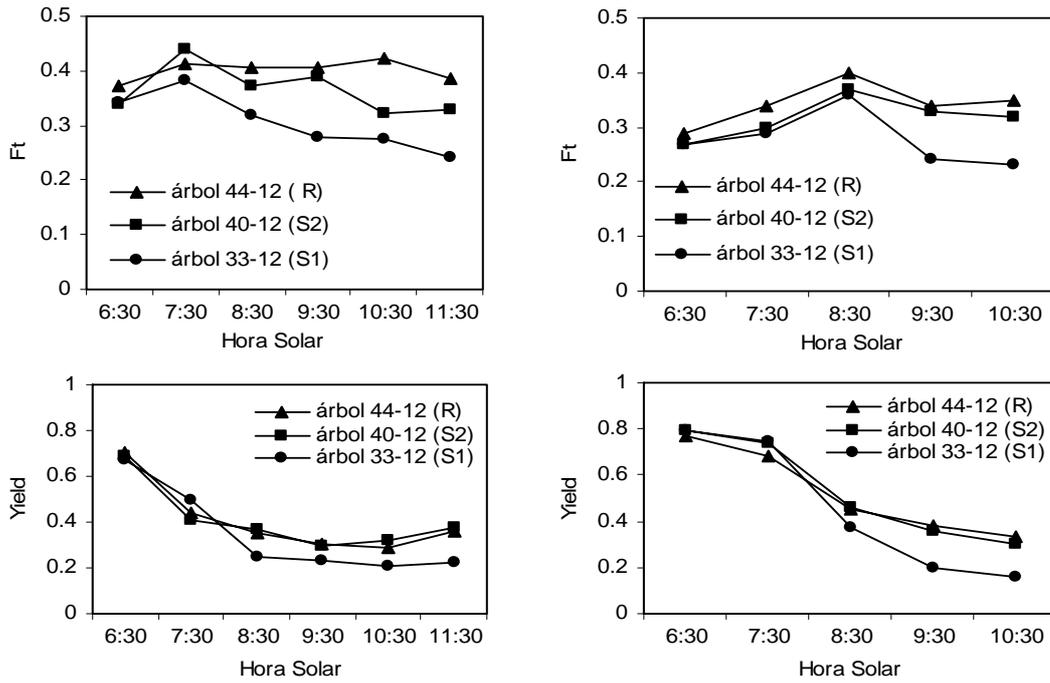


Figura 20. Estudios diurnos de Ft y Yield en distintos árboles de tratamiento para el 5 de Agosto (izquierda), y 26 de Agosto (derecha).

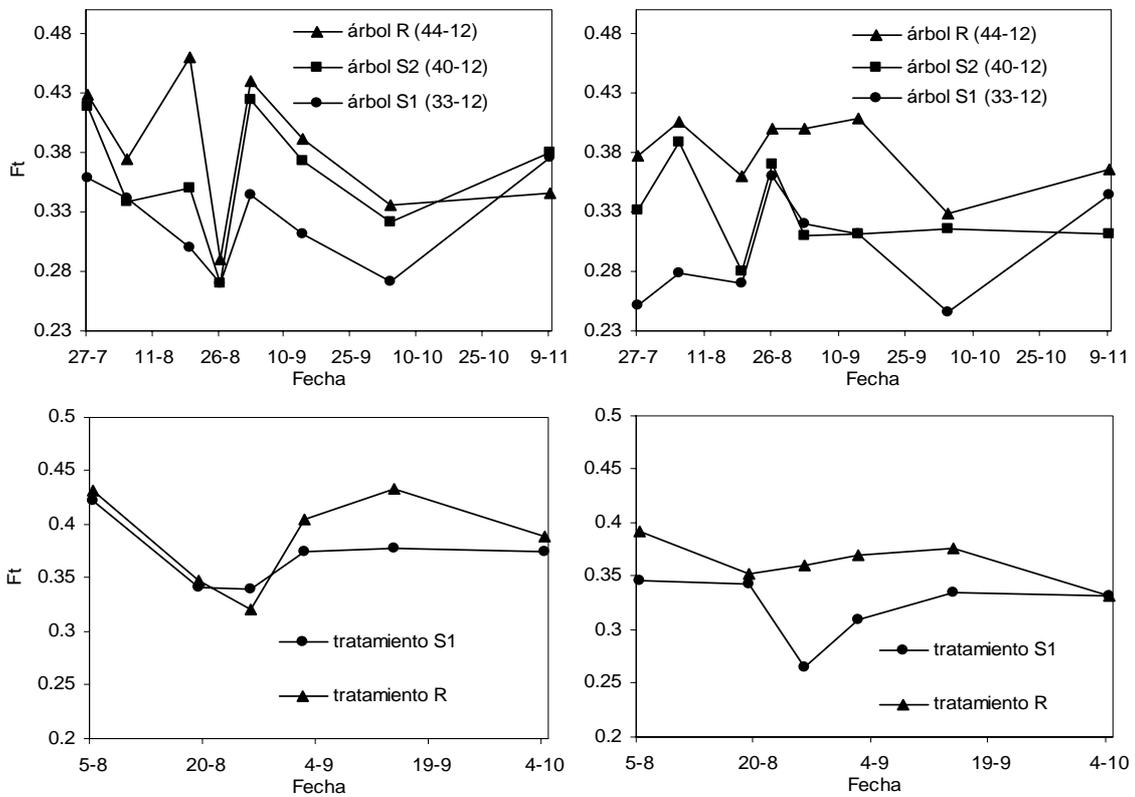


Figura 21. Serie temporal de Ft a dos horas de medida 8:00 (izquierda) y 10:30 Hora Solar (derecha) para tres árboles de cada tratamiento R, S1 y S2 (arriba) y las medias para los tratamientos R y S1 (abajo).

La relación existente entre la fluorescencia clorofílica y el potencial hídrico se estudió con objeto de conocer si Ft (medida a las 10:00 hora solar) podría ser un indicador del grado de estrés hídrico, uno de los objetivos de este trabajo. Para todos los días del experimento en que coincidieron medidas de fluorescencia y potencial hídrico se estudió su relación a nivel de árbol para días individuales (Figura 22a) y para el conjunto de días de medida (Figura 22b), observándose generalmente una correlación alta.

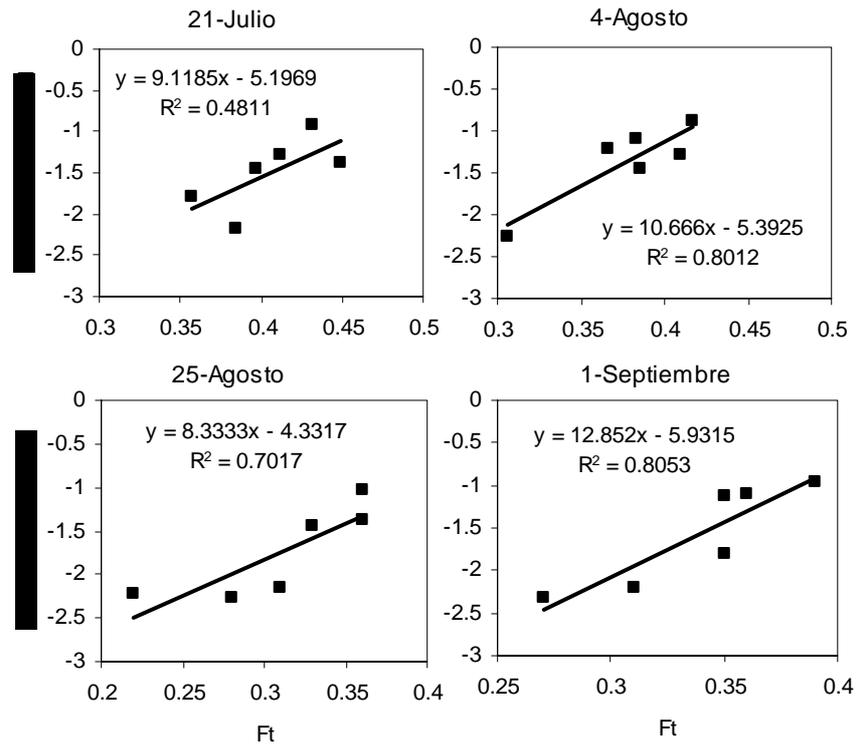


Figura 22a. Relaciones obtenidas entre Ft y potencial hídrico en distintas fechas del experimento a nivel de árbol.

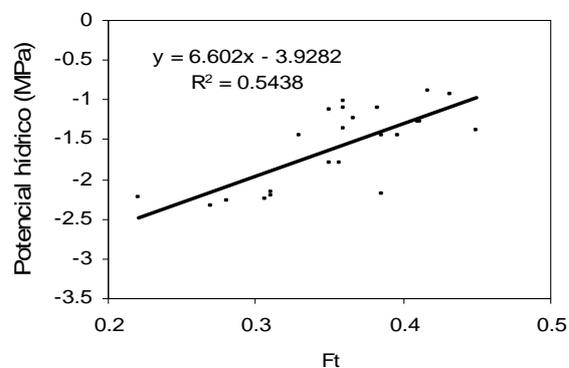


Figura 22b. Relaciones obtenidas entre Ft y potencial hídrico para un conjunto de fechas del experimento a nivel de árbol (21-Julio, 4-Agosto, 25-Agosto, 1-Septiembre).

3.5. Temperatura de Copa.

El cálculo de la temperatura de copa requirió previamente la estimación de la emisividad de los árboles mediante sensor CIMEL a distintas longitudes de onda. Los valores de emisividad de las copas fueron entre 0.98 y 0.99 (Figura 23), mostrando en la Tabla 3 los datos de la emisividad para diferentes longitudes de onda. Como se puede observar en la Figura 23, la emisividad correspondiente al árbol 37-9 fluctúa entre valores más bajos de lo normal, pudiendo estar relacionado con efectos del índice de área foliar menor y la consiguiente mezcla de emisividades de sombra y suelo vistos desde el sensor CIMEL utilizado.

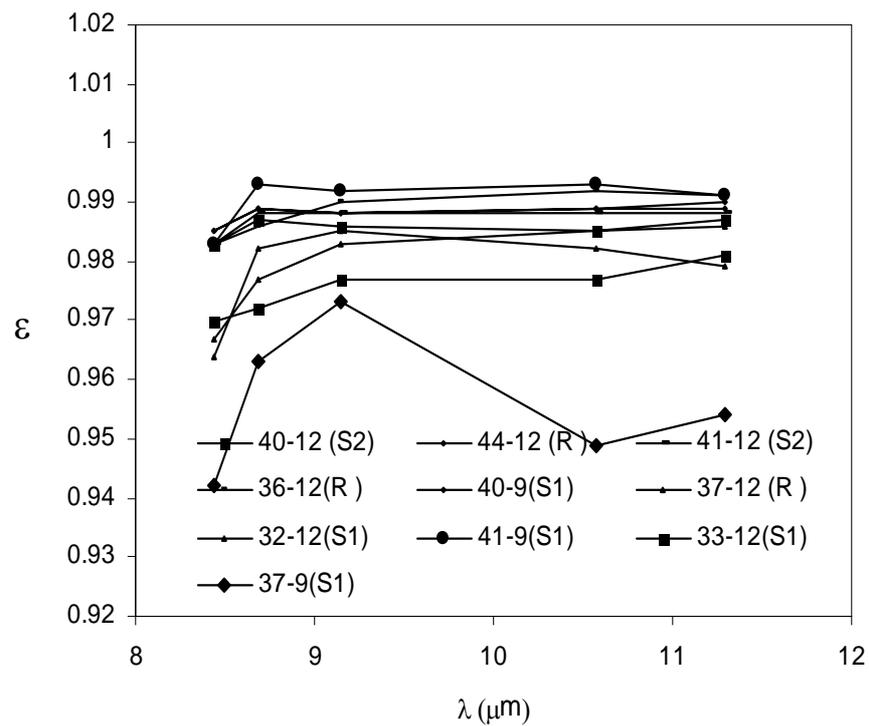


Figura 23. Emisividad medida en cada árbol del experimento a distintas longitudes de onda.

Tabla 3. Medidas de emisividad de cada árbol para diferentes longitudes de onda.

22 DE JULIO			<i>Longitudes de onda</i>					
HORA	OLIVO		11,29	10,57	9,15	8,69	8,44	Ts (K)
10:47:29	9-36	media	0,991	0,990	0,989	0,990	0,983	307,557
		desv est	0,006	0,001	0,003	0,005	0,000	0,236
10:53:18	9-37	media	0,954	0,949	0,973	0,963	0,942	307,247
		desv est	0,027	0,030	0,034	0,036	0,051	2,236
11:01:07	9-40	media	0,990	0,989	0,988	0,989	0,985	306,200
		desv est	0,004	0,005	0,005	0,004	0,004	0,620
11:07:19	9-41	media	0,991	0,993	0,992	0,993	0,983	304,920
		desv est	0,005	0,006	0,010	0,005	0,000	0,286
11:14:54	12-32	media	0,979	0,982	0,985	0,982	0,964	302,137
		desv est	0,012	0,019	0,020	0,021	0,041	0,816
11:20:47	12-33	media	0,981	0,977	0,977	0,972	0,970	301,923
		desv est	0,010	0,017	0,017	0,020	0,028	0,768
11:30:06	12-36	media	0,991	0,992	0,990	0,986	0,983	301,300
		desv est	0,005	0,006	0,001	0,003	0,000	0,079
11:35:28	12-37	media	0,986	0,985	0,983	0,977	0,967	303,360
		desv est	0,015	0,017	0,020	0,024	0,027	0,805
11:46:50	12-40	media	0,987	0,985	0,986	0,987	0,983	302,173
		desv est	0,001	0,001	0,003	0,002	0,000	0,270
11:52:24	12-41	media	0,988	0,988	0,988	0,988	0,983	302,720
		desv est	0,002	0,004	0,001	0,002	0,000	0,197
12:16:28	12-44	media	0,989	0,989	0,988	0,989	0,985	302,327
		desv est	0,002	0,003	0,005	0,003	0,003	0,156
12:20:06	12-45	media	0,995	0,993	0,996	0,985	0,989	302,217
		desv est	0,003	0,002	0,002	0,004	0,005	0,462

En el estudio de la temperatura de las copas se utilizaron los datos de diez árboles, tres por tratamiento R y S1, y cuatro del tratamiento S2, en los que fueron colocados los sensores Apogee IRTS-P. En las Figuras 24 y 25 se muestra la temperatura de copa de los diez árboles para dos días extremos seleccionados del experimento, el día 23 de Septiembre (Figura 24) en que se midieron unos potenciales hídricos medios de -1.1 MPa (R), -1.7 MPa (S2), y -2.73 MPa (S1) y el 1 de Noviembre, periodo de recuperación correspondiente a los días posteriores a las lluvias otoñales en el que se igualaron los potenciales hídricos, obteniéndose 0.92 MPa (R), 0.86 MPa (S2), y 0.95 MPa (S1) (Figura 25).

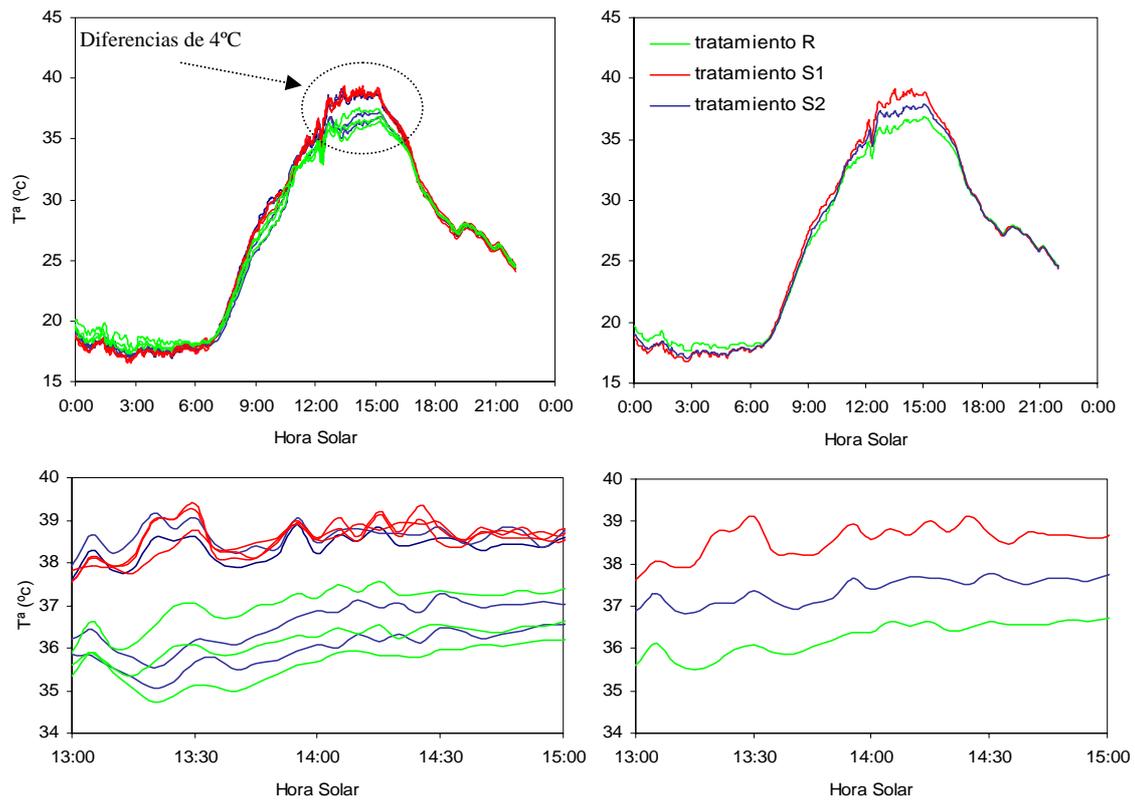


Figura 24. Temperatura de los diez árboles (arriba izquierda) y ampliado (abajo izquierda); temperatura media por tratamiento (arriba derecha) y ampliado (abajo derecha) para el 23 de Septiembre (periodo de máximo estrés).

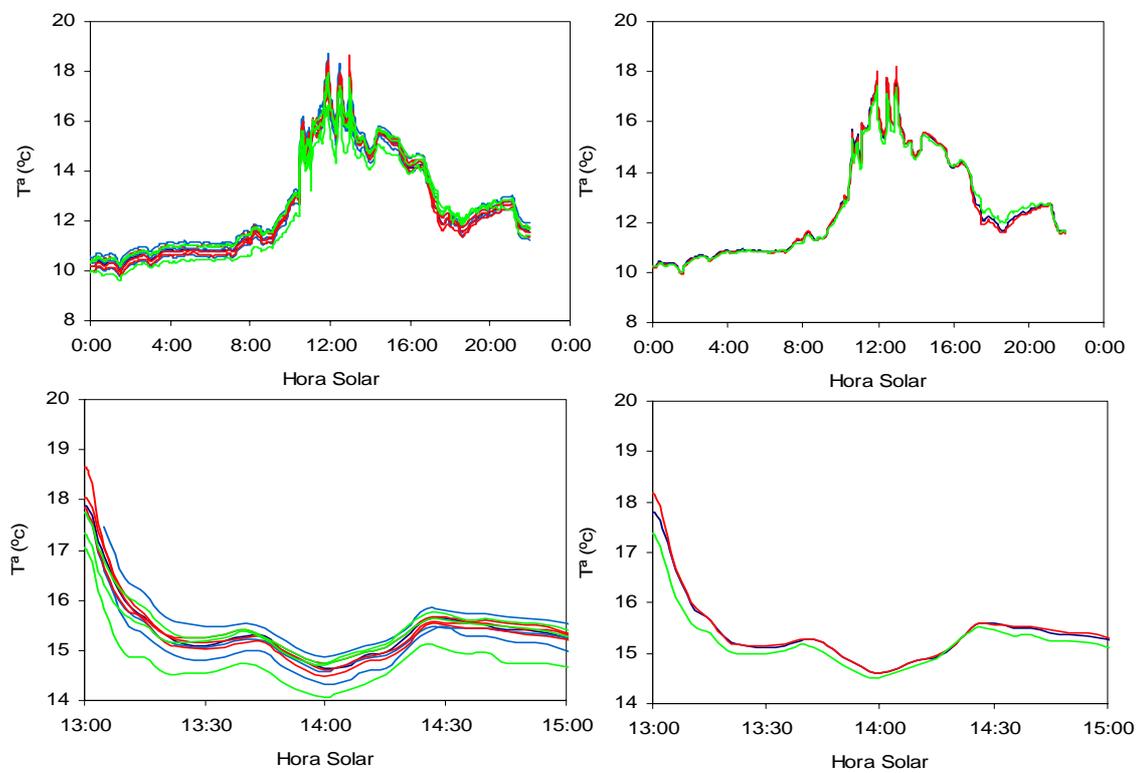


Figura 25. Temperatura de los diez árboles (arriba izquierda) y ampliado (abajo izquierda); temperatura media por tratamiento (arriba derecha) y ampliado (abajo derecha) para el 1 de Noviembre (Periodo de recuperación de estrés).

En las distintas gráficas de la Figura 24 observamos que los mayores incrementos (periodo de máximo estrés) de temperatura de copa se produjeron a partir de las 13:00 Hora Solar (Figura 24 arriba izquierda), viéndose en la Figura 24 (abajo izquierda) que las mayores diferencias (4.13 °C) de temperatura de copa a nivel de árbol entre los distintos tratamientos se centraron en los intervalos de tiempo de las 13:00 hasta las 15:00 hora solar. Para una mayor lectura observamos las gráficas de la derecha de la Figura 24 que representan las temperaturas medias de copa por tratamiento, en ellas se produjeron diferencias térmicas entre los tratamientos extremos R y S1 ($T^a_{media(S1)} - T^a_{media(R)}$) de hasta 3.08 °C a las 13:30 hora solar. Durante el periodo de recuperación (ver gráficas de la Figura 25) las diferencias entre árboles se redujeron teniendo un máximo de 1.5° C, mientras que las máximas diferencias de temperatura media entre tratamientos se redujeron hasta 0.4° C.

La evolución durante el experimento de las diferencias de temperatura media entre tratamientos (Figura 26) muestra que las diferencias máximas de temperatura entre tratamientos se obtuvieron a principios de Octubre, fecha en la que, de forma consistente, se obtuvieron las mayores diferencias de potencial hídrico, observándose la recuperación posterior.

En la Figura 27 se muestra la distribución de puntos que representan la media de temperatura de copa menos la temperatura de aire ($T_c - T_a$) por tratamiento obtenido para todos los días del experimento. En ellas se puede observar cómo la amplitud de temperaturas alcanzadas es mayor en los tratamientos de estrés S1 y S2 que en el tratamiento de control R. La relación existente para cada día durante toda la campaña entre temperatura de copa T_c (°C) y potencial hídrico (MPa), y entre temperatura de copa menos temperatura del aire ($T_c - T_a$) y potencial hídrico se muestran en Figura 28.

En dicha Figura 28 se han comparado las medidas de Ψ_x , tomadas a las 10:00 hora solar, con T_c y $T_c - T_a$ calculadas a la misma hora (Figura 28a) y a las 14:00 hora solar (Figura 28b), hora de máximas diferencias de temperatura entre árboles y de $T_c - T_a$. Esta comparación entre temperatura y potencial se realizó a dos horas distintas de medida de temperatura con objeto de estudiar la sensibilidad de la hora de medida de la temperatura como indicador de estrés en relación con la hora de medida del potencial hídrico. Ello se justifica ya que se pretende continuar esta línea de trabajo con sensores

aerotransportados y por satélite que realizan una sola medida por día, normalmente a distinta hora de pasada que la correspondiente al máximo de diferencias de temperatura y de medida de Ψ_x . Se observa que para días individuales, las mejores relaciones entre T_c y Ψ_x y entre $T_c - T_a$ y Ψ_x se obtienen para medidas de temperatura obtenidas en el periodo de mayores diferencias de temperatura entre árboles, las 14:00 hora solar. Sin embargo, si se consideran todas las medidas del verano, en lugar de realizar el análisis por días individuales, las mejores relaciones entre T_c y Ψ_x y entre $T_c - T_a$ y Ψ_x se obtienen para medidas de temperatura obtenidas a la misma hora de medida de Ψ_x (10:00 hora solar).

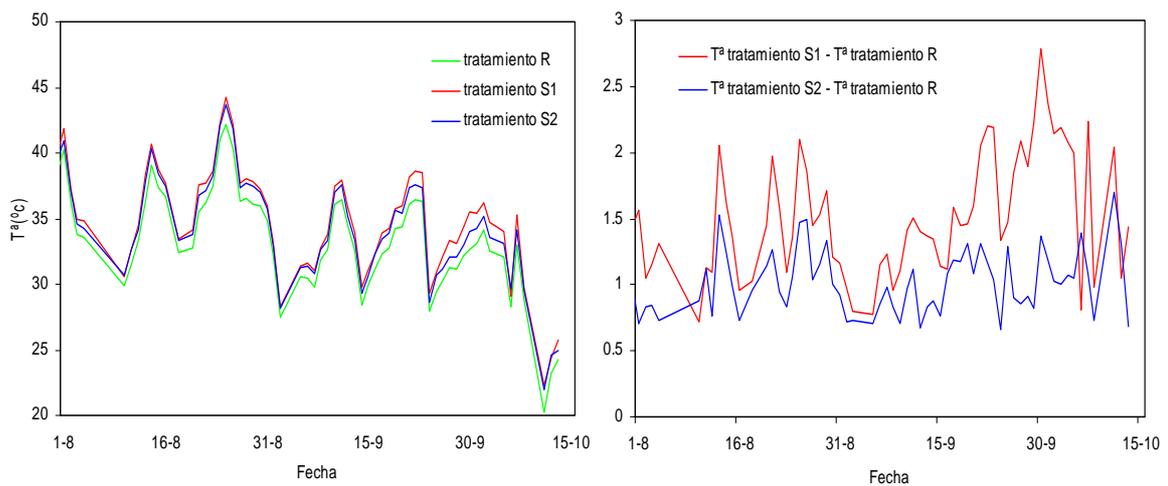


Figura 26. Serie temporal de la temperatura media por tratamiento medidos a las 14:00 hora solar (izquierda) y serie temporal de incrementos de temperatura en los tratamientos de mayor estrés medidos a las 14:00 hora solar (derecha).

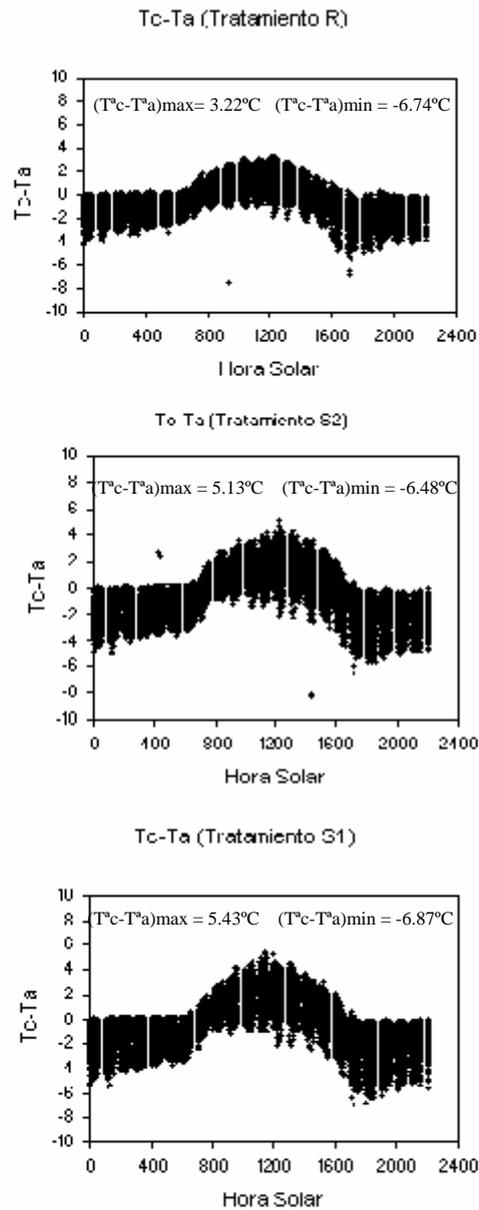


Figura 27. Temperatura de la copa menos temperatura del aire ($T_c - T_a$) para cada tratamiento (R, arriba; S1, centro; S2, abajo) obtenido para todos días del experimento, indicando las ($T_c - T_a$) máximas y mínimas.

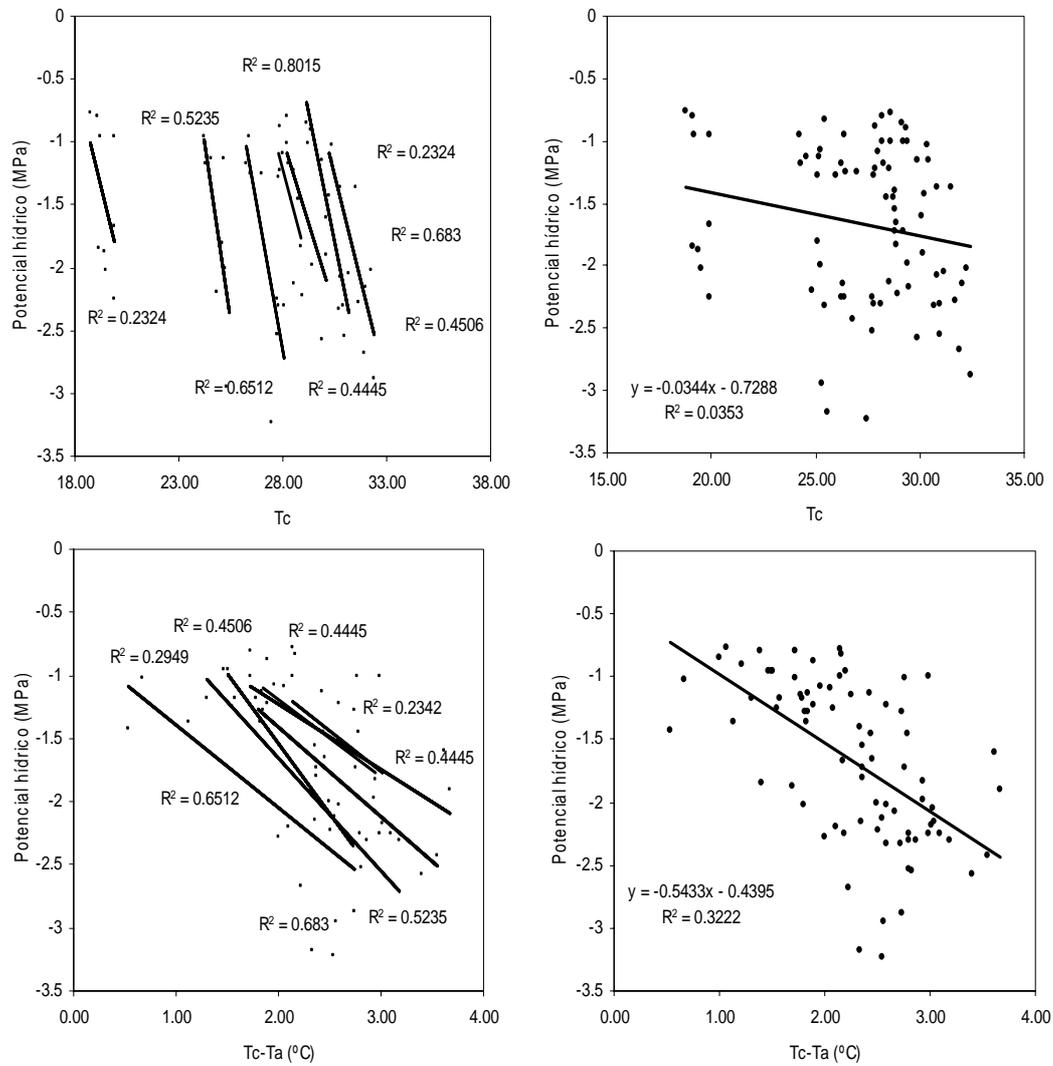


Figura 28a. Relación obtenida durante toda la campaña entre T_c (°C) y potencial hídrico (MPa) (arriba) y entre $T_c - T_a$ y potencial hídrico para cada día (abajo). T recogidas a las 10:00 Hora Solar.

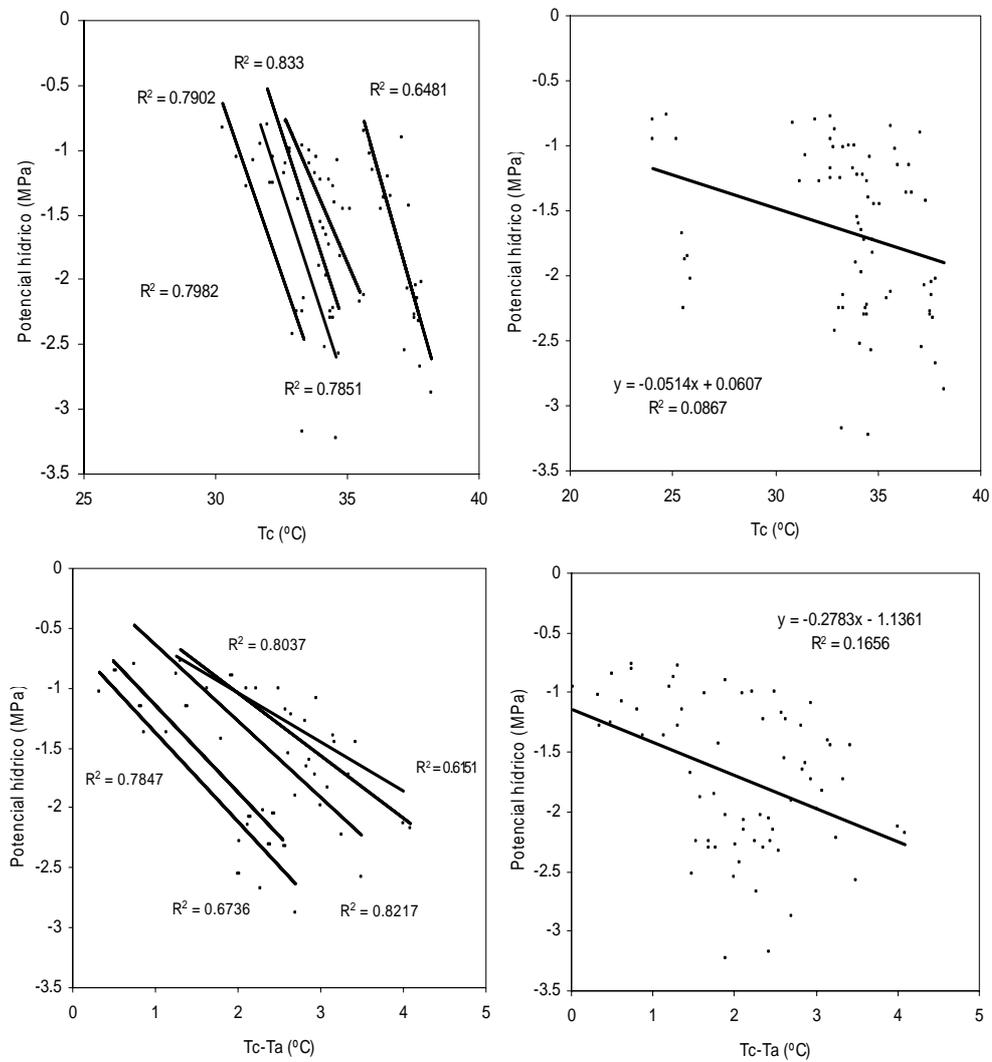


Figura 28b. Relación obtenida durante toda la campaña entre Tc (°C) y potencial hídrico (MPa) (arriba) y entre Tc-Ta y para cada día potencial hídrico (abajo). T recogidas a las 14:00 Hora Solar.

3.6. Espectrometría de Copa y Simulación de la Reflectancia.

Las medidas de espectrometría en campo realizadas de forma diurna en tres árboles de las distintas dosis de riego R, S1, S2 y en dos árboles de los tratamientos R y S1 a la misma hora permitieron estudiar la viabilidad de la detección de la fluorescencia clorofílica a partir de sus efectos en la reflectancia. Estas medidas de reflectancia fueron apoyadas de forma paralela con medidas de fluorescencia clorofílica con el PAM-2100, utilizando el modelo FluorMODgui para simular el comportamiento de la reflectancia con y sin los efectos de la fluorescencia bajo diferentes geometrías de visión.

En la Figura 29 se muestran dos medidas de reflectancia en dos árboles de los tratamientos de estrés más extremos R (44-12) y S1 (33-12), en el que el potencial hídrico de los mismos para ese día fue de -0.8 y -2.3 MPa respectivamente, observándose en la ampliación en el rango 755-765 nm el abrupto incremento de reflectancia a 760 nm coincidente con la localización de la banda de absorción de oxígeno. Como se ha comentado anteriormente, la hipótesis es que dicho abrupto incremento de la reflectancia a 760 nm es producto del rellenado espectral función de la emisión de la fluorescencia. Para cuantificar ese efecto de la fluorescencia en la reflectancia nos centramos en la amplitud del pico utilizando la diferencia de la radiancia a 760.59 y 759.5 nm, dado que la hipótesis consiste en que la amplitud de dicho *pico* es proporcional con la emisión total de fluorescencia natural (Ft). Como se puede observar en la Figura 29 la amplitud del rellenado espectral a 760 nm es mayor en el árbol R (tratamiento de menor estrés) que el árbol S1 (tratamiento de mayor estrés), por el propio efecto que produce la mayor emisión de fluorescencia clorofílica en el árbol R tal y como se ha descrito anteriormente en la Sección 3.4 de resultados de fluorescencia clorofílica.

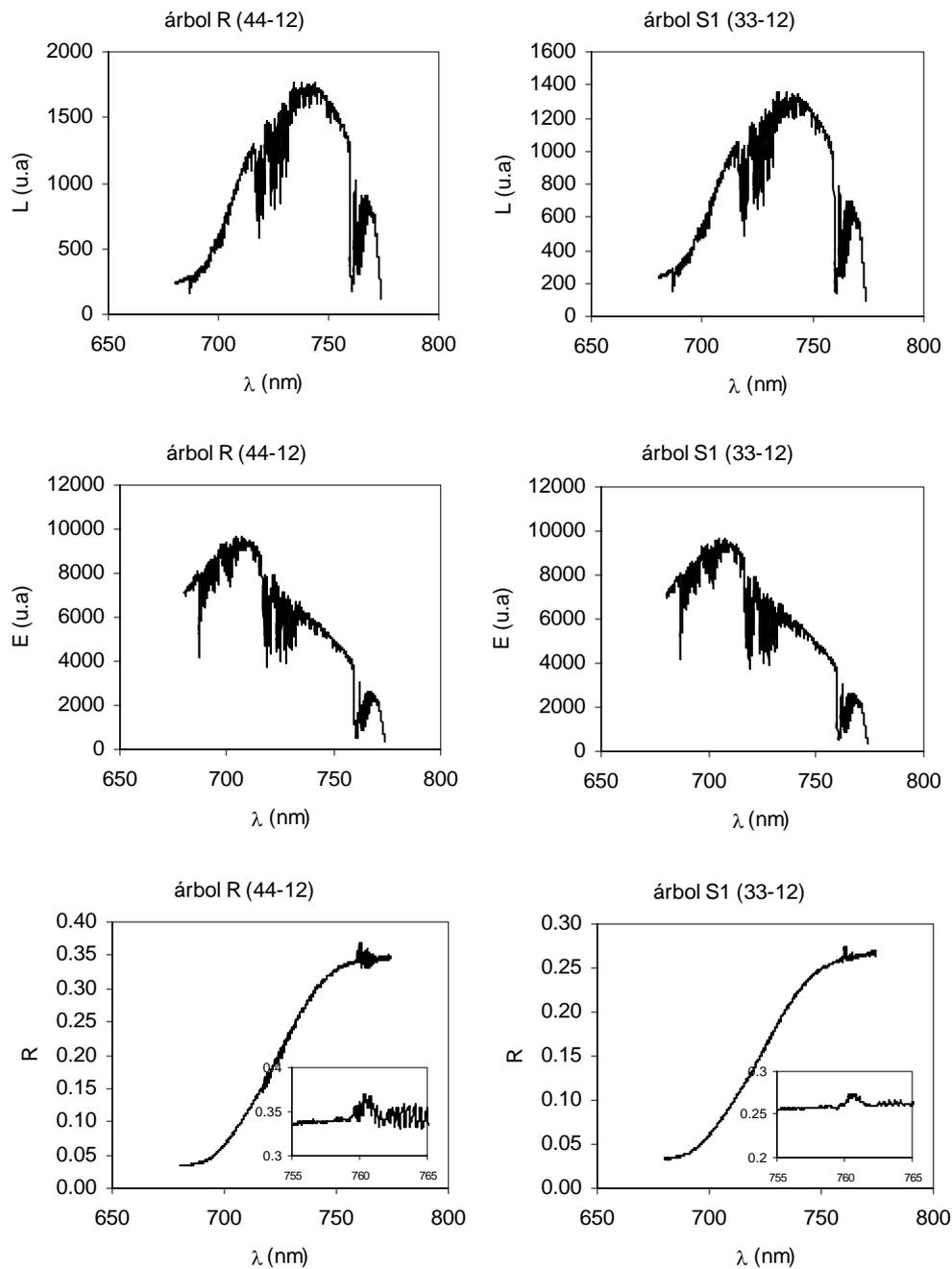


Figura 29. Medidas de espectrometría en dos árboles de tratamiento R(izquierda) y S1(derecha) a las 10:00 Hora Solar del día 20-Agosto. De arriba a abajo se muestran las gráficas de radiancia (L), irradiancia (E) en unidades arbitrarias (u.a) y reflectancia (R). En el interior de las gráficas de reflectancia (R) se muestra una ampliación de las mismas para las bandas 755-765 nm.

En la Figura 30 se muestran medidas de espectrometría a lo largo del día de reflectancia en árboles de los tratamientos R, S2 y S1 en los días en los que el potencial hídrico de los árboles fue de -0.825, -1.05 y -3.35 MPa respectivamente, observando la variación del espectro de reflectancia en función de la geometría solar, así como de la amplitud del relleno espectral.

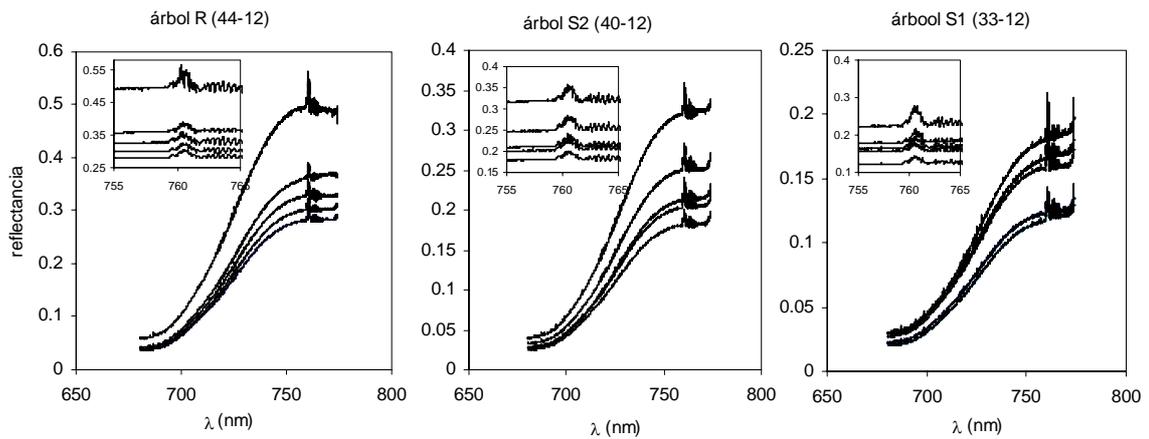


Figura 30. Medidas diurnas para los árboles R, S2 y S1 los días 28, 22 y 23 de Septiembre respectivamente.

El efecto de la fluorescencia en la reflectancia a lo largo del día se puede observar con mayor claridad apoyándonos en las medidas de fluorescencia clorofílica a nivel de hoja tomadas simultáneamente con el PAM-2100 durante el día. En la Figura 31 se muestra el grado de relación entre la amplitud del *relleno espectral* calculado como la diferencia $R_{760.59} - R_{759.5}$ y las medidas de fluorescencia clorofílica a nivel de hoja obtenidas a las mismas horas con el PAM-2100, observándose consistencia en la variación de ambas a lo largo del día. Otro índice propuesto en la literatura, calculado como $R_{740.76} / R_{717.83}$, una de cuyas bandas está afectada por fluorescencia ($R_{740.76}$), y la otra en una banda para normalización, menos afectada ($R_{717.83}$), muestra una menor relación con la fluorescencia clorofílica (Figura 32).

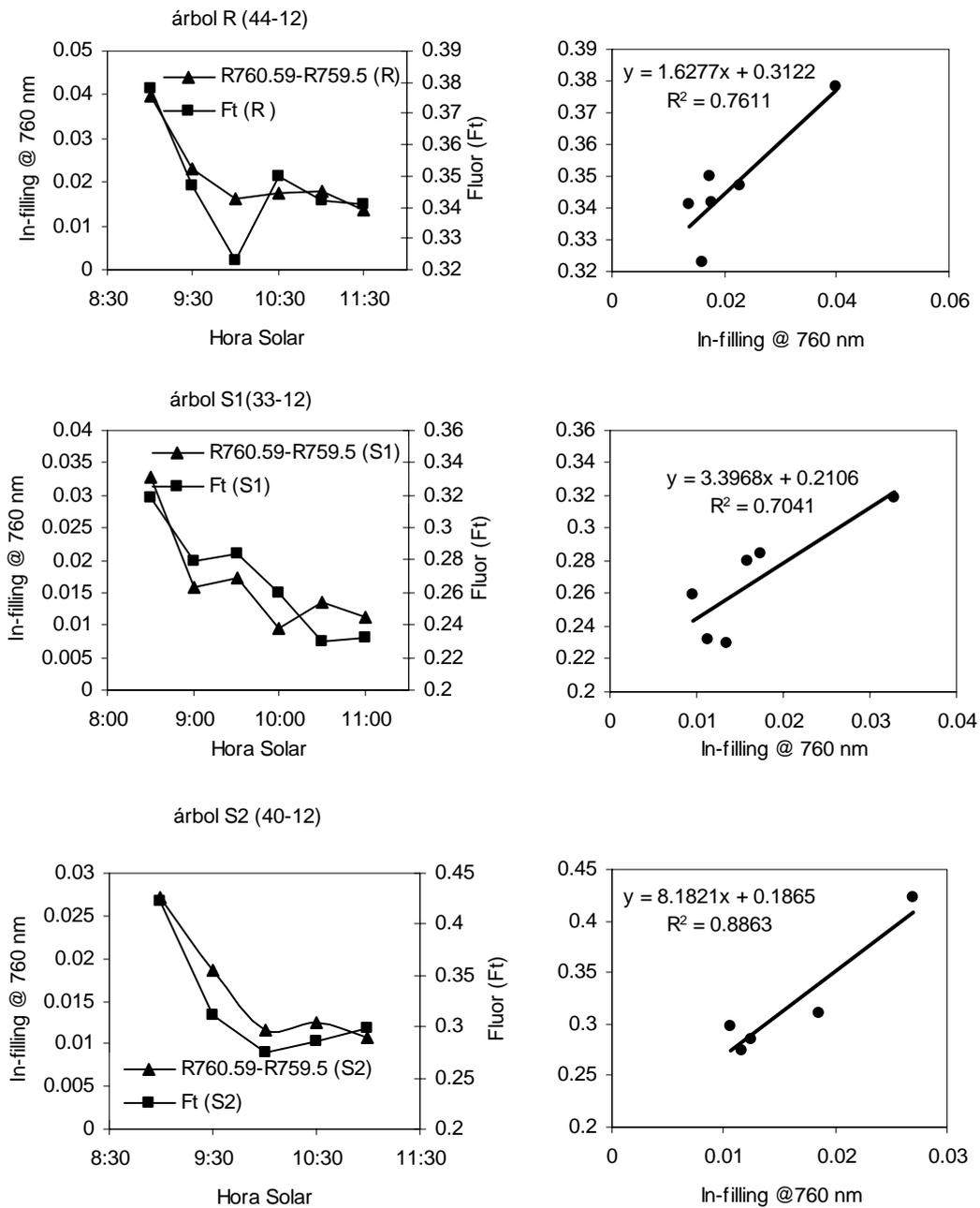


Figura 31. Efecto de la fluorescencia en la reflectancia por efecto de rellenado espectral en la banda A de absorción de oxígeno cuantificado por R760.59-R759.5 y datos de Ft (fluorescencia en estado estacionario) obtenidos con el PAM-2100 para un árbol por tratamiento (gráficas de la izquierda). Grado de relación lineal entre ambos parámetros de medida (derecha).

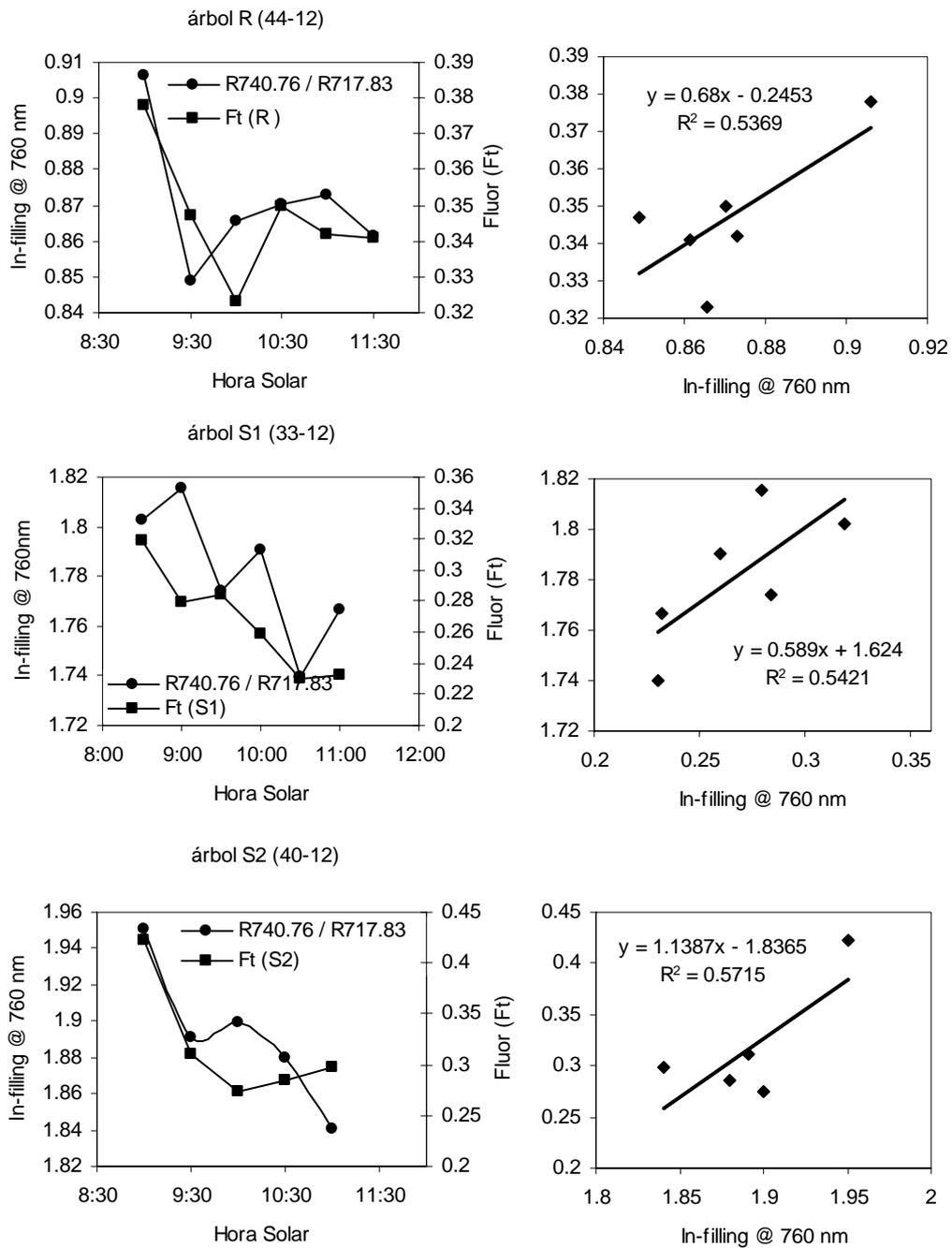


Figura 32. Efecto de la fluorescencia en la reflectancia utilizando el índice R740.76 / R717.83 comparando con datos de Ft (fluorescencia en estado estacionario) obtenidos con el PAM-2100 para un árbol por tratamiento (gráficas de la izquierda). Grado de relación lineal entre ambos parámetros de medida (derecha).

La simulación obtenida con el modelo FluorMOD, manteniendo todas las variables fijas excepto una de las variable que afecta la emisión de la fluorescencia, T^a (Figura 33) muestra que los mismos efectos observados en las medidas experimentales de reflectancia sobre las copas de olivo se obtienen de forma teórica con el modelo. Al hacer variar distintas temperaturas podemos observar en los resultados de la simulación que se produce el abrupto rellenado espectral en las bandas de absorción de oxígeno a 760 nm. El espectro de emisión de la fluorescencia mediante substracción (Figura 33) muestra que dicha emisión de la fluorescencia es mayor en dichas bandas de absorción del oxígeno a 760 nm. Como se puede observar, se cumple que el efecto de la fluorescencia en la reflectancia se encuentra en el intervalo teórico de 0-3% para todas las bandas en las que se manifiestan tal efecto (aproximadamente 650-800 nm). En la Figura 34 se muestran los resultados del modelo para una serie de medidas simulando una variación diurna, manteniendo la variable T^a fija para los valores extremos 30° C y 10°C, y variando el ángulo cenital solar entre 60° y 40°, correspondiendo a las horas solares 9:00, 9:30, 10:00, 10:30, 11:00 respectivamente en que se realizaron las medidas espectrales. Como se puede observar, a valores de T^a de 30° C los efectos de la fluorescencia en la reflectancia son escasos o inapreciables debido a la disminución de fluorescencia natural emitida, obteniendo curvas similares a aquéllas simuladas sin F_i (sin emisión de fluorescencia). Por otro lado a valores de T^a menores sí se produce un efecto de la fluorescencia en la reflectancia apreciable, indicando que dicho rellenado espectral es producto del efecto de la fluorescencia y no solamente de la variación de la geometría solar para distintos ángulos cenitales.

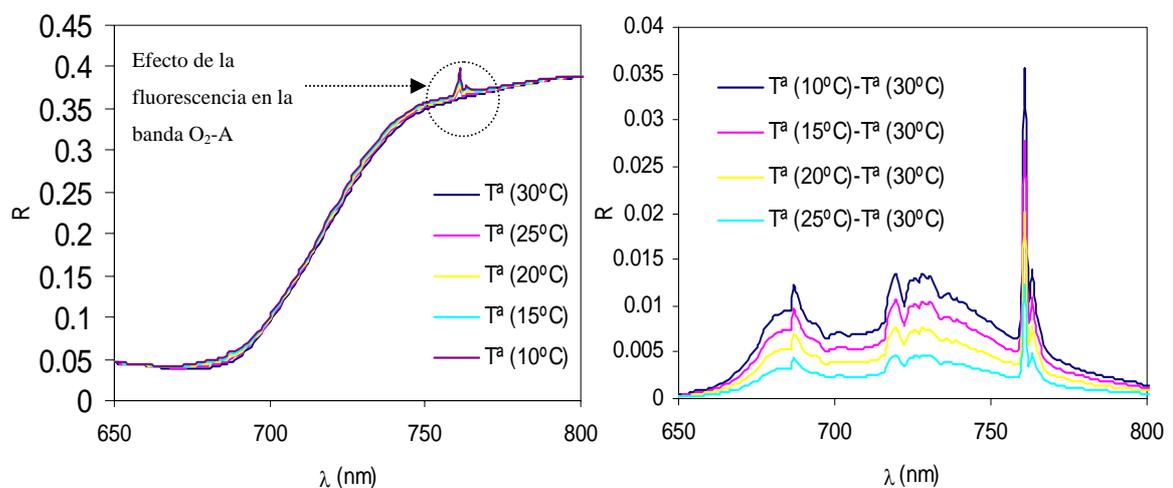


Figura 33. Simulación a diferentes F_i del efecto de la fluorescencia en la reflectancia en la banda O_2-A (izquierda). Diferencias del efecto de la misma entre distintos valores de T y un valor de $T=30^\circ$ (derecha).

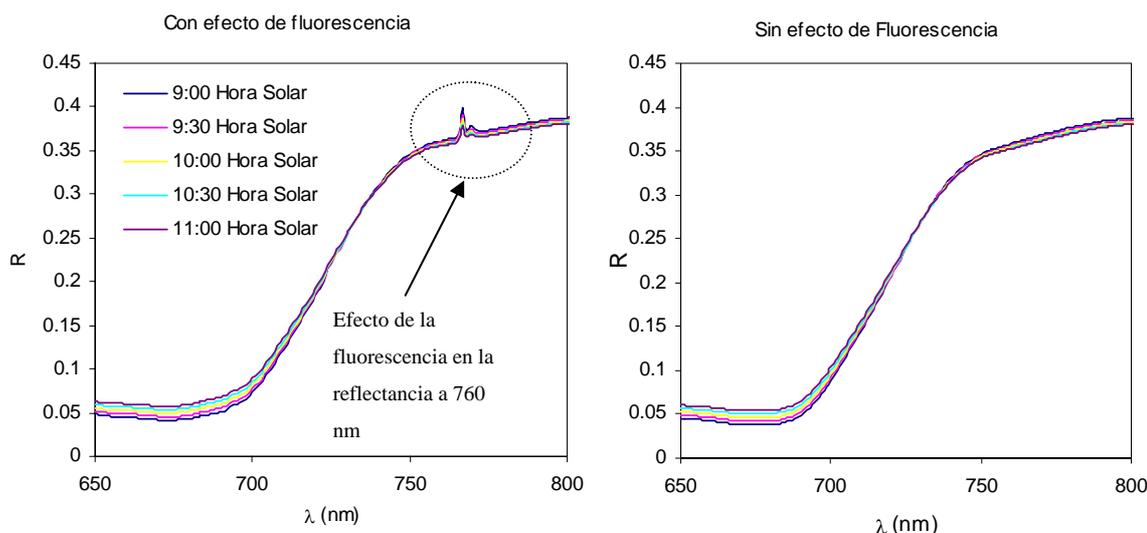


Figura 34. Simulación diurna con valores fijos de temperatura considerando la emisión de fluorescencia (izquierda). Simulación diurna para valores fijos de temperatura sin emisión de fluorescencia (derecha), mostrando el efecto nulo de la fluorescencia a 760 nm cuando no existe emisión de fluorescencia.

En la Figura 35 se observa de una forma ampliada la simulación a lo largo del día de la reflectancia con y sin efecto de la fluorescencia para un intervalo de bandas entre 758 y 764 nm, con centro en la banda de absorción de O_2 donde se produce el fenómeno del rellenado espectral y con el consiguiente incremento de reflectancia debido a la emisión de fluorescencia. La variación de la amplitud del *pico* (R761-R759) y del índice R741/R718 para valores de temperatura de 10 y 30° C y sin fluorescencia frente a distintos ángulos cenitales solares (Figura 36) muestra que el efecto de la fluorescencia en la reflectancia es potencialmente detectable, pero demuestra la influencia de la posición del sol en la correcta estimación absoluta de la fluorescencia natural emitida.

En resumen, se ha observado, con medidas de campo, el efecto de la emisión de la fluorescencia en la reflectancia en función del estrés hídrico, siendo este efecto a 760 nm más notable en el tratamiento R (tratamiento de menor grado de estrés, y por lo tanto, de mayor emisión de fluorescencia). Las relaciones obtenidas entre las medidas simultáneas de la emisión de la fluorescencia a nivel de hoja (medidas tomadas con el PAM-2100) y el efecto de la fluorescencia en la reflectancia a 760 nm a nivel de copa (medidas tomadas de espectrometría de copa) a lo largo de un diurno para cada tratamiento de riego indican la viabilidad de la detección de fluorescencia mediante bandas espectrales.

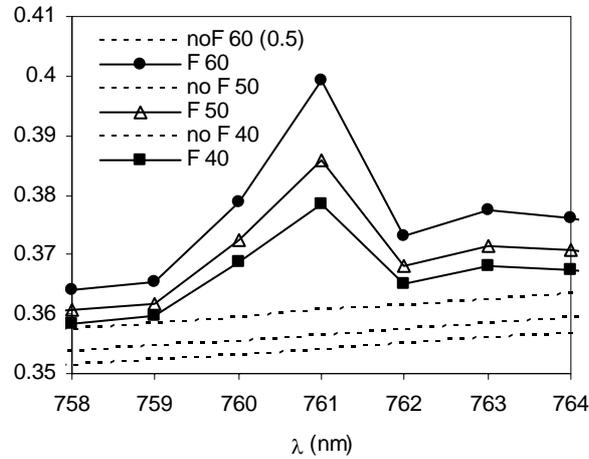


Figura 35. Simulación diurna para ángulos cenitales solares entre 40° y 60° con y sin emisión de fluorescencia.

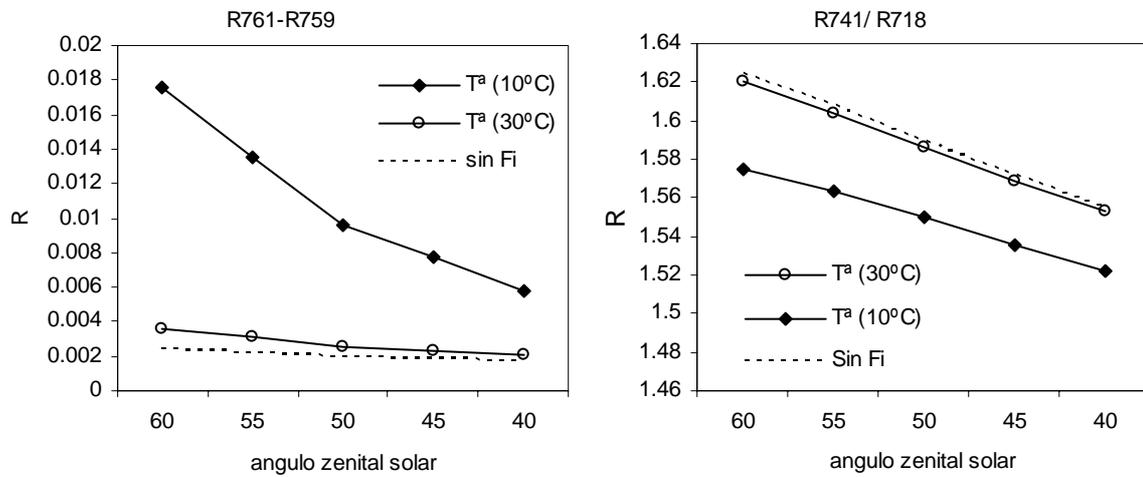


Figura 36. Simulación diurna de la amplitud del relleno espectral (R761-R759) y el índice R741/R718 con $T=10^\circ\text{C}$, $T=30^\circ\text{C}$ y sin fluorescencia frente a ángulos cenitales solares entre 40° y 60°.

4. Conclusiones.

Los resultados de las medidas de temperatura realizadas a nivel de olivo en un ensayo de riego deficitario controlado muestran diferencias significativas de la temperatura de copa entre árboles bien regados y estresados hídricamente. Estos resultados confirman observaciones realizadas en otros cultivos que demuestran el incremento de temperatura en vegetación estresada, mostrando, sin embargo, mayores diferencias de temperatura a las inicialmente esperadas en un cultivo como el olivar. Las diferencias de temperatura observadas a nivel de árbol entre los distintos tratamientos fueron de 4.13°C, siendo la diferencia de temperatura media a nivel de tratamiento de 3.08°C. Estas diferencias de temperaturas obtenidas permiten potencialmente el uso de sensores de teledetección térmicos de tipo aerotransportado y por satélite para la evaluación del estrés en olivar a gran escala espacial.

Por su parte, los resultados obtenidos en las medidas de fluorescencia clorofílica natural en el ensayo de riego deficitario controlado demuestran que la emisión de fluorescencia inducida por luz natural en estado estacionario es función del grado de estrés hídrico en olivar entre tratamientos. El buen grado de relación obtenida entre la fluorescencia clorofílica en estado estacionario a nivel de hoja y el potencial hídrico xilemático sugieren que la fluorescencia clorofílica puede utilizarse potencialmente como indicador de estrés hídrico en olivar.

Los datos de reflectancia medidos con un espectrómetro de alta resolución espectral, y las simulaciones llevadas a cabo con el modelo de transferencia radiativa FluorMODgui han demostrado que la fluorescencia clorofílica puede ser detectada mediante el método del rellenado espectral o *in-filling* utilizando la banda de absorción del oxígeno atmosférico O₂-A centrada a 760 nm, observándose un aumento abrupto de la señal de reflectancia causado por la emisión de fluorescencia en una región de baja transmisión atmosférica. Las simulaciones realizadas con el modelo FluorMODgui, que permiten añadir o eliminar los efectos de la fluorescencia en dicha región espectral a 760 nm, demuestran que dicho efecto de rellenado espectral se produce como consecuencia de la fluorescencia, no encontrándose cuando dichos efectos se eliminan.

Sin embargo, la simulación también demuestra que dichos efectos de rellenado son función no solamente de la emisión de la fluorescencia clorofílica, sino también de la variación diurna del ángulo de visión y geometría solar, debido a la variación de la relación radiación directa / difusa. Dichos resultados, por lo tanto, animan a continuar el trabajo con objeto de modelar y separar ambos efectos, emisión y geometría de visión, con objeto de estimar correctamente la emisión de la fluorescencia natural.

El presente trabajo, por lo tanto, avanza el conocimiento en el área de la detección de estrés hídrico en olivar utilizando sensores térmicos y espectrales, permitiendo potencialmente la cuantificación futura de la temperatura y fluorescencia clorofílica a nivel de árbol mediante técnicas de teledetección.

5. Referencias.

- Agencia para el aceite de oliva, AAO, (2001) (www.tierra.mapya.es).
- Bonachela, S., Orgaz, F., Villalobos, F. J., Fereres, E., (1999). Measurement and simulation of evaporation from soil olive orchards. *Irrigation Science*. 18:205-211.
- Breece, H.T., Holmes, R.A., (1971), Bidirectional Scattering Characteristics of Healthy Green Soybean and Corn Leaves *Vivo*, *Appl. Opt.* 10:119-127.
- Buschmann, C. y Lichtenthaler, H. K. (1998), Reflectance and chlorophyll fluorescence signatures in leaves, In *Applications of Chlorophyll fluorescence*, (Lichtenthaler, H. K., Ed.), Kluwer Academic Publications, Dordrecht, pp.325-332.
- Carter, G. A. (1994), Ratios of leaf reflectances in narrow wavebands as indicators of plant stress, *International Journal of Remote Sensing*. 15:697-704.
- Carter, G.A., A.F. Theisen, y R.J. Mitchell. (1990). Chlorophyll fluorescence measured using the Fraunhofer line-depth principle and relationship to photosynthetic rate in the field. *Plant Cell Environ*. 13:79-83.
- Carter, G.A., J.H. Jones, R.J. Mitchell, y C.H. Brewer. (1996). Detection of solar-excited chlorophyll a fluorescence and leaf photosynthetic capacity using a Fraunhofer line radiometer. *Remote sensing Environ*. 55:89-92.
- Chalmers, D. J., Mitchell, P. D., van Heek, L. (1981). Control of peach tree growth and productivity by regulated water supply, tree density and summer pruning. *J Amer. Soc. Hort. Sci.* 106-307-312.
- Chang, S. and Collins, W. (1983), Confirmation of the airborne biogeophysical mineral exploration technique using laboratory methods, *Economic Geology*. 1983:723-736.
- Chen, J.M. (1996), Evaluation of Vegetation Indices and a Modified Simple Ratio for Boreal Application, *Canadian Journal of Remote Sensing*. 22:229-242.
- Civantos, L. (2004). El cultivo del olivo. En: Barranco, D. Fernandez-Escobar, R., Rallo, L. (Eds), *La olivicultura en el Mundo y en España*. Mundiprensa, Junta de Andalucía, pp.19-20.
- Civantos. L. (1997), El cultivo del olivo , En: D. Barranco, R. Fernández-Escobar y L. Rallo. (Eds), *Editorial Mundi-Prensa y Junta de Andalucía*. p. 125.

- Evain, S., Flexas, J., Moya, I. (2004) A new instrument for passive remote sensing: 2. Measurement of leaf and canopy reflectance changes at 531 nm and their relationship with photosynthesis and chlorophyll fluorescence.
- Fereres, E. (1996) Irrigation scheduling and its impact on the 21st. En Camp, CR., Sadler, E. J., Yoder, R. E. (eds). Evaporation and irrigation scheduling. *Proceedings of the International conferences*. ASAE, Texas, p547.
- Filella, I. and Peñuelas, J. (1994), The red edge position and shape as indicators of plant chlorophyll content, biomass and hydric status, *Int. J. Remote Sensing*. 15-7:1459-1470.
- Flexas, J., J.-M. Briantais, Cerovic, Z., Medrano, H., y Moya, I. (2000) Steady-State and maximum chlorophyll fluorescence responses to water stress in grapevine leaves: a new remote sensing system. *Remote Sensing Environ*. 73:282-297.
- Gamon, J. A. y Surfus, J. S. (1999), Assessing leaf pigment content and activity with a reflectometer, *New. Phytol*. 143:105-117.
- Gamon, J. A., Serrano, L. y Surfus, J. S. (1997), the photochemical reflectance index: An optical indicator of photosynthetic radiation-use efficiency across species, functional types, and nutrient levels, *Oecologia*. 112:492-501.
- Gamon, J.A., Peñuelas, J., and Field, C.B. (1992), A narrow-waveband spectral index that tracks diurnal changes in Photosynthetic Efficiency, *Remote Sens. Environ*. 41:35-44.
- Gitelson, A. A., Buschman, C., y Lichtenthaler, H. K. (1999), The chlorophyll fluorescence ratio F735/F700 as an accurate measure of chlorophyll content in plants, *Remote Sensing of Environment*. 69:296-302.
- Gitelson, AA., y M.N. Merzlyak. (1996). Signatura análisis of leaf reflectance spectra: algorithm development for remote sensing of chlorophyll. *J. Plant Physiol*. 148:494-500.
- Horler, D. N. H., Barber, J. and Barringer, A. R. (1980), Effects of heavy metals on the absorbance and reflectance spectra of plants. *International Journal of Remote Sensing*. 1:121-136.
- Horler, D.N.H., Dockray M., and Barber J. (1983), The red edge of plant leaf reflectance, *Int. J. Remote Sens*. 4(2):273-288.
- Idso, S. B. (1982) Non-Water-Stressed Baselines: A key to measuring and interpreting plant water stress. *Agric. Meteorol*. 27:59-70.

- Jackson, R. D, Idso, S. B. Reginato, R. J. Pinter, JR. (1981) Canopy Temperature as a Crop Water Stress Indicator. *Water Resources Research. Vol 17. 4:1133-1138.*
- Jackson, R. D., Reginato, R. J., y Idso, S. B. (1977). Wheat canopy temperature: A practical tool for a evaluating water requirements, *Water Resour. Res.*, 13:651-656.
- Jimenez Cifuentes, C. (1999) Fotosíntesis y eficiencia en el uso del agua en genotipos de patata con baja tasa fotorrespiración. TPFC. Universidad de Córdoba. Departamento de Agronomía.
- Jones, G.,(1999) Use of the infrared thermometry for estimation of stomatal conductance as possible aid to irrigation scheduling. *Agricultural and Forest Meteorology. 95:139-149.*
- Knipling E.B. (1969), Leaf reflectance and image formation on colour infrared film, in *Remote Sensing in Ecology* (P.O. Johnson, Ed), University of Georgia, Athens, pp. 17-29.
- Knuteson, R. O., Best, F. A., DeSlover, D. H. Osborne, B. J., Revercomb, H. E., Smith, W. L.(2004) Infrared land surface remote sensing using hight spectral resolution aircraft observations. *Advances in Space Research. 33:1114-1119.*
- Krause, G. H. y Weis, E. (1984), Chlorophyll fluorescente as a tool in plant physiology. II. Interpretation of fluorescence signals, *Photosynthesis Res. 5:139-157.*
- Lichtenthaler, H.K. (1996). Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *J. Plant Physiol. 148: 4-14.*
- Lichtenthaler, H.K., y U. Rinderle. (1988). The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plant. *CRC Crit. Rev. Anal. Chem. 19 (suppl): 529-585.*
- Maier, S. W. (2000) Modeling the radiative transfer in leaves in the 300 nm to 2.5 µm wavelength region taking into consideration chlorophyll fluorescence- the leaf model SLOPE. PhD thesis, *Technische Universität München* (München). pp124.
- Maier, S. W., Lüdeker, W., & Günther, K. P. (1999). SLOP: A revised version of stochastic model for leaf optical properties. *Remote Sensing of Environment, 68:273-280.*

- Meliá, J., Moreno, J. F. (1994) El problema de la “escala espacial” en los datos de teledetección: Metodología aplicada en el proyecto EFEDA. *Revista de teledetección 1994*.
- Merlot, S. Mustilli, A. C., Genty, B., North, H., Lefebvre, V., Sotta, B. (2002) Use of infrared thermal imaging to isolate Arabidopsis mutants defective in stomatal regulation. *The Plant Journal*. 30:601-609.
- Mohamed et al., (2003) Practical Applications of Chlorophyll Fluorescence in Forestry and Ecophysiology, en Practical Applications of Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology (Jennifer R. DeEll, Ed). Ontario Ministry of Agriculture and Food Simcoe, Ontario, Canadá, pp 80-85.
- Mohammed, G. H., Binder, W. D. y Gillies, S. L. (1995) Chlorophyll fluorescence: a review of its practical forestry applications and instrumentation. *Scand. J. For. Res.* 10:383-410.
- Moran, M. S., Clarke, T. R., Inoue, Y., y Vidal, A., (1994) Estimating crop water deficit using the relation between surface-air temperature and spectral vegetation index. *Remote sensing environ.* 49:246-263.
- Moriana, A., Villalobos, F. J., y Fereres, E. (2002) Estomacal and photosynthetic responses of olive (*Olea europaea* L.) leaves to water deficits. *Plant, Cell and Environment*. 25:395-405.
- Moya, I., Camenen, L., Evain, S., Goulas, Y., Cerovic, Z. G., Latouche, G., Flexas, J., Ounis, A., (2004) A New instrument for passive remote sensing. 1. Measurements of sunlight-induced chlorophyll fluorescence. *Remote Sensing of Environment*. 91:186-197.
- Ogawa, K., Schmugge, T., Jacob, F., French, A. (2002) Estimation of broadband land surface emissivity from multi-spectral thermal infrared remote sensing. *INRA, EDP Sciences. Agronomie*. 22:695-696.
- Orgaz, F. y Fereres E. (2004). El cultivo del olivo. En: Barranco, D. Fernandez-Escobar, R, Rallo, L. (Eds), Riego, Mundiprensa, Junta de Andalucía, pp.323-344.
- Orgaz, F. y Fereres E. (2004). En: Fereres, E. 1984. Viability in Adaptive Mechanisms to water deficits in Annual and Perennial Crop Plants. *Bulletin Société Botanique de France. Actualités Botaniques*, 131: 17-32.

- Pedros, R., Jacquemoud S., Goulas Y., Louis J., Moya, I. (2004) A new leaf fluorescence model, 2nd International Workshop on Remote Sensing of Vegetation Fluorescence, 17-19 Nov. Montreal, Canada.
- Peñuelas, J., Filella, I., Lloret, P., Muñoz, F., y Vilajeliu, M. (1995), Reflectance assessment of mite effects on apple trees, *Int. J. Remote Sensing*. Vol. 16-14: 2727-2733.
- Peñuelas, J., Filella, I., Llusia, J., Siscart, D. Y Pinol, J. (1998), Comparative field study of spring and summer leaf gas exchange and potobiology of the mediterranean trees *Quercus ilex* and *Phillyrea latifolia*, *J. Exp. Bot.* 49:229-238.
- Peñuelas, J., Llusia, J., Piñol, J., y Filella, I. (1997), Photochemical reflectance index and leaf photosynthetic radiation-use-efficiency assessment in Mediterranean trees, *International Journal of remot sensing*. 18:2863-2868.
- Porta, J., López-Acevedo, M., Roquero, C. (1999) Edafología para la agricultura y el medio ambiente. 2^a Edición. Ediciones Multiprensa.
- Rock, B. N., Hoshizaki, T., and Miller, J. R. (1988), Comparison of In Situ and airborne spectral measurements of the blue shift associated with forest decline, *Remote Sens. of Environment*. 24:109-127.
- Rouse, J.W. (1974), Monitoring the vernal advancement of retrogradation of natural vegetation, NASA/GSFC, Type III, Final Report Greenbelt, MD, 371 pp.
- Scheiber, U., Bilger, W., y Neubauer, C. (1994), Chlorophyll fluorescence as a non-destructive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis, *Ecol. Stud.* 100: 49-70.
- Scheiber, U., y Bilger, W. (1987), Rapid assessment of stress effects on plant leaves by chlorophyll fluorescence measurements, *In Plant response to stress*, (Tenhunen, J. D. y Catarino, E. M., Ed.), Springer- Verlag, Berlin, Germany, pp.27-53.
- Sepulcre, G. (2004) Evaluación de sensores IRTS-P para la estimación de Temperatura. Informe interno. Departamento de Agronomía. IAS-CSIC. Córdoba.
- Sobrino, J. A., Jiménez-Muñoz, J. C., EL-Kharraz, J., Gomez, M., Romaguera, M., y Sòria, G. (2004). Single-channel and two-channel methods for land surface temperatura retrieval from DAIS data and its implication to the Barrax site. *INT. J. Remote Sensing*, vol 25. 1:215-230.

- Taiz, L and Zeiger, E. (1998), *Plant Physiology, 2nd Edition, Sinauer Associates Ltd.*, Sunderland, Massachusetts.
- Tanner, C. B. (1963), Plant temperatures, *Agron. J.* 55:210-211.
- Testi, L. (2003). Medida y modelización de la evaporación de Plantaciones de Olivo (*Olea europaea L.*). Tesis doctoral, Universidad de Córdoba, Departamento de Agronomía.
- Verhoef, W. (1984), Light scattering by leaf layers with application to canopy reflectance modeling: The SAIL model. *Remote Sens. Environ.* 16:125–141.
- Verhoef, W. (1998), Theory of radiative transfer models applied in optical remote sensing of vegetation canopies. Wageningen: Grafisch Service Centrum Van Gils.
- Verhoef, W. (2004) Extension of SAIL to model solar-induced canopy fluorescence spectra, 2nd International Workshop on Remote Sensing of Vegetation Fluorescence, 17-19 Nov., Montreal, Canada.
- Vidaver, W., W. Binder, R.C. Brooke, G.R. Lister, y P.M.A: Toivonen. (1989). Assessment of fotosynthetic activity of nursery-grown *Picea glauca* seedling using an integrating fluorometer to monitor variable Chlorophyll fluorescence. *Can. J. For. Res.* 19:1478-1482.
- Vidaver, W.E., Lister, G.R., Brooke, R.C. and Binder, W.D. (1991), A manual for the use of variable chlorophyll fluorescence in the assessment of the ecophysiology of conifer seedlings. *B.C. Ministry of Forests*, Victoria, B.C. FRDA Report 163. 60 pp.
- Vogelmann, J. E., Rock, B. N. and Moss, D. M. (1993), Red edge spectral measurements from sugar maple leaves, *International Journal of Remote Sensing.* 14:1563-1575.
- Willstatter, R., y Stoll, A. (1913), *Untersshuchunger uber die Assimilation der Kolhensaure* (Springer, Berlin).
- Yamada, N., & Fujimura, S. (1991). Nondestructive measurement of chlorophyll pigment content in plant leaves from three-color reflectance and transmittance. *Applied Optics.* 30:3964-3973.
- Zarco-Tejada, P.J., J.R. Miller, G.H. Mohammed, T.L. Noland. (2000a). Chlorophyll fluorescence effects on vegetation apparent relectance. II. Laboratory and airborne canopy-level measurements with hyperspectral data. *Remote Sensing Eviron.* 74:582-595.

- Zarco-Tejada, P.J., J.R. Miller, G.H. Mohammed, T.L. Noland., y P.H. Sampson. (2000b). Chlorophyll fluorescence effects on vegetation apparent reflectance. II. Laboratory and airborne canopy-level measurements with hyperspectral data. *Remote sensing Environ.* 74:596-608.
- Zarco-Tejada, P.J., J.R. Miller, G.H. Mohammed, T.L. Noland., y P.H. Sampson. (2001). Estimation of chlorophyll fluorescence under natural illumination from hyperspectral data. *Intl. J. Appl. Earth Observation and Geoinformation*, Special Issue on Applications of Imaging of spectroscopy 3:321-327.
- Zarco-Tejada, P.J., J.R. Miller, G.H. Mohammed, T.L. Noland., y P.H. Sampson. (2002). Vegetation stress detection through chlorophyll a+b estimation and fluorescence effects on hyperspectral imagery. *J. Environ. Quality* 31:1433-1441.
- Zarco-Tejada, P.J., Miller J.R., Pedrós R., Verhoef W., y Berger, M. (2004) FluorMODgui: A Graphic User Interface for the Spectral Simulation of Leaf and Canopy Fluorescence Effects, 2nd International Workshop on Remote Sensing of Vegetation Fluorescence, 17-19 Nov., Montreal, Canada.
- Zarco-Tejada, P.J., Pusshnik, P. C., Dobrowski, S. L. (2003). Steady-state chlorophyll a fluorescence detection from Canopy derivative reflectance and double-peak red-edge effects. *Remote Sensing of Environment*, 84, 283-294.
- Zarco-Tejada, P.J., Pérez-Priego, O., Sepulcre-Cantó, G., Miller, J.R., Fereres, E. (2004), Chlorophyll Fluorescence Detection with a High-Spectral Resolution Spectrometer through *in-filling* of the O₂-A band as function of Water in Olive Trees, 2nd International Workshop on Remote Sensing of Vegetation Fluorescence, 17-19 Nov., Montreal, Canada.