



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS

**“Determinación de la Salud de las Plantas vía Análisis
Espectroscópico de su Corteza Foliar”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN INGENIERIA ELECTRICA

PRESENTA:

Ing. Diana Paulina Moreno Miranda

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Oleksiy V. Shulika

Salamanca, Guanajuato

Julio 2025

UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO



CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA

DIVISIÓN DE INGENIERÍAS

Determinación de la Salud de las Plantas vía Análisis Espectroscópico de su Corteza Foliar

TRABAJO DE TESIS

sometido en cumplimiento parcial de los requisitos para obtener el grado de

Maestro en Ingeniería Eléctrica

PRESENTA

Diana Paulina MORENO MIRANDA

Ing. en Comunicaciones y Electrónica, Universidad de Guanajuato, México

Jurado Científico:

Dr. José Amparo ANDRADE LUCIO

Dr. Alfredo CAMPOS MEJIA

Director:

Dr. Oleksiy V. SHULIKA

Salamanca, Guanajuato, México 2025

Declaración de Autoría

Yo, Diana Paulina MORENO MIRANDA declaro que este trabajo de investigación titulado, «**Determinación de la Salud de las Plantas vía Análisis Espectroscópico de su Corteza Foliar**» es mi propio trabajo. Yo confirmo que,

- Este trabajo fue realizado en su totalidad o en su mayor parte durante la etapa final de mis estudios en la carrera de *Maestría en Ingeniería de Eléctrica* en esta Universidad.
- Cuando alguna parte de este trabajo se haya presentado previamente para obtener un título o cualquier otra calificación en esta Universidad o cualquier otra institución, esto se ha indicado claramente.
- Cuando he consultado el trabajo publicado de otros, esto siempre se atribuye claramente.
- Donde he citado el trabajo de otros, siempre se da la fuente. Con la excepción de tales citas, esta obra es enteramente mi propio trabajo.
- He reconocido todas las principales fuentes de ayuda.
- Cuando la tesis se basa en un trabajo realizado por mí misma junto con otros, he dejado claro exactamente qué fue hecho por otros y qué aporté yo misma.

Firmado:



Fecha: 28-07-2025

UNIVERSIDAD DE GUANAJAUTO

Resumen

Campus Irapuato-Salamanca
División De Ingenierías

Maestro en Ingeniería Eléctrica

Determinación de la Salud de las Plantas vía Análisis Espectroscópico de su Corteza Foliar

por Diana Paulina MORENO MIRANDA

Se desarrolló un método no invasivo y preciso para caracterizar el estado de salud de plantas mediante espectroscopía óptica en el rango de 450 a 750 nm, utilizando mediciones in situ. La planta central de estudio fue la fresa (*Fragaria × ananassa*), cuyas hojas fueron analizadas bajo condiciones controladas a través de espectros de reflectancia en el visible. Se recopilaron 325 espectros, y a partir de estos se diseñó un sistema de análisis óptico que permitió visualizar la interacción de la radiación electromagnética con cada hoja. La interpretación de los datos se basó en índices ópticos de vegetación, dando como resultado dos índices clave: uno para la detección de enfermedad foliar y otro para identificar estrés hídrico extremo. Además, se aplicaron técnicas de reducción de dimensionalidad, tanto supervisadas (LDA) como no supervisadas (PCA), con el fin de explorar herramientas de aprendizaje automático que permitieran visualizar los distintos estados de salud de las hojas. Este enfoque aporta al manejo eficiente de recursos agrícolas y a la minimización del impacto ambiental.

ESPECTROSCOPIA, AGRICULTURA, LED, FOTÓNICA, NIR, PCA, LDA, UV-VIS

Agradecimientos

Agradezco profundamente al Dr. Oleksiy Shulika por su guía constante, paciencia y apoyo durante todo el desarrollo de este trabajo. Su acompañamiento fue clave para la realización de esta tesis.

A todos los profesores e investigadores que me orientaron y formaron a lo largo de este camino, gracias por compartir su conocimiento y por inspirarme a seguir aprendiendo.

A mi familia, gracias por su amor incondicional, por su confianza, y por estar conmigo incluso en los momentos más difíciles. Este logro también es suyo.

Este trabajo fue posible gracias al apoyo del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT), sustituido desde el 1 de enero de 2025 por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), mediante una beca nacional para estudios de posgrado. Agradezco sinceramente este respaldo.



Ciencia y Tecnología
Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación

Asimismo, agradezco el apoyo parcial de SPIE, the international society for optics and photonics, mediante la beca "2024 Optics and Photonics Education Scholarship", otorgada por el potencial de contribuir al campo de la óptica y la fotónica.

SPIE.

Gracias también a mis compañeras, compañeros y al equipo interdisciplinario que colaboró conmigo. Su entusiasmo, compromiso y creatividad enriquecieron profundamente este proyecto.



UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO

Dedicatoria

A mi familia,
A mi Chloe, te fuiste de este mundo, pero nunca de mi corazón.
A quienes me enseñaron a mirar con curiosidad el mundo,
y a nunca dejar de aprender.
A todas las mujeres que sueñan con hacer ciencia,
y a las que abren camino para que otras también lo logren.
Y a mí misma,
por no rendirme.

Índice general

Declaración de Autoría	I
Resumen	II
Introducción	1
1. Detección óptica de enfermedades vegetales. Antecedentes y estado del arte	3
1.1. Antecedentes	3
Agricultura de precisión	4
1.2. Estado del Arte	5
1.2.1. Espectroscopia en la agricultura	5
1.2.2. Monitoreo de la salud de las plantas	5
1.2.3. Modelos matemáticos	6
Modelos ópticos para la caracterización de hojas	6
1.2.4. Modelo pila de placas	6
1.2.5. Modelo PROSPECT	7
1.2.6. Modelo Kubelka-Munk	7
1.2.7. Retos y avances en el análisis óptico en plantas	7
1.2.8. Monitoreo del contenido de agua en plantas	8
1.2.9. Uso de imágenes	8
2. Interacción de Radiación Electromagnética con la Materia	10
2.1. Propiedades de la radiación electromagnética	10
2.1.1. Espectro electromagnético	11
2.2. Interacción de la luz con los materiales	12
2.2.1. Unidades de medición en espectroscopia	12
2.3. Absorbancia	12
2.3.1. Absorción	13
2.3.2. Leyes de Absorción	14
2.4. Reflectancia	14
2.4.1. Definición y relación matemática	15
2.4.2. Ecuaciones de Fresnel	15
Reflexión	16
2.5. Transmitancia	16
2.5.1. Transmisión	17
2.5.2. Esparcimiento de la luz	17

2.6.	Propiedades ópticas fundamentales	18
2.6.1.	Refracción	18
2.6.2.	Índice de refracción	18
2.7.	Espectroscopia Visible-Infrarrojo cercano	19
2.7.1.	Principios básicos	19
2.7.2.	Aplicaciones para medir propiedades de materiales biológicos	20
2.8.	Propiedades ópticas de las hojas	21
2.8.1.	Parámetros ópticos relevantes	23
	Reflexión especular y reflexión difusa	24
2.9.	Relación entre propiedades ópticas de las hojas y salud de las plantas	25
2.9.1.	Indicadores ópticos de salud vegetal	25
2.9.2.	La estructura de la hoja y su interacción con la luz	26
2.9.3.	Índices de vegetación	26
	Borde rojo	27
2.10.	Reducción de Dimensionalidad	28
2.10.1.	Efectos de enfermedades en las propiedades ópticas	29
3.	Experimento	31
3.1.	Materiales y equipo	31
3.2.	Metodología	32
3.2.1.	Preparación de las muestras	32
3.2.2.	Configuración experimental	33
3.2.3.	Procedimiento de medición	33
3.2.4.	Validación	36
3.2.5.	Procesamiento de datos	37
3.3.	Análisis espectral	37
3.3.1.	Suavizado Savitzky-Golay	37
3.3.2.	Resultados preliminares	37
3.3.3.	Limitaciones y desafíos	43
3.3.4.	Limitaciones para la implementación del modelo PROSPECT	43
4.	Resultados	44
4.1.	Espectros de reflectancia	44
4.2.	Parámetros determinados	47
4.2.1.	Índices descartados	47
4.2.2.	Índice Óptico de Enfermedad Vegetal (IOEV) (450-750 nm)	48
4.2.3.	Escala IOEV	49
4.2.4.	Índice de deshidratación (450-750 nm)	50
4.2.5.	Análisis de reducción de dimensionalidad	54
4.3.	Discusión de resultados	55
4.4.	Aportaciones del trabajo	58
	Conclusiones	60

Trabajos presentados

62

Bibliografía

63

Lista de Abreviaciones

SWIR	Short Wave Infrared
NIR	Near InfraRed
MIR	Mid InfraRed
PCA	Principal Component Analysis
LDA	Linear Discriminant Analysis
GPS	Global Positioning System
VAI	Vegetation Analysis Index
IA	Inteligencia Artificial
UAV	Unmanned Aerial Vehicle
VIS	Visible Infrared Spectrum
SWIR	Short Wave InfraRed
GRVI	Green Ratio Vegetation Index
VARI	Visible Atmospherically Resistant Index
REI	Red Edge Index

Índice de figuras

1.1. Pasado, presente y futuro de la agricultura, donde en la ultima imagen nos muestra un futuro previsto donde la agricultura de precisión planea estar impuesta en casi cada unos de los procesos que conlleva el cultivo de alimentos. <i>Imagen tomada de [8].</i>	5
1.2. Imagen térmica aérea de un cultivo con zonas de estrés hídrico. Las áreas en rojo representan mayor temperatura foliar asociada a menor contenido de agua. <i>Imagen tomada de [19].</i>	9
2.1. Representación del espectro electromagnético. <i>Imagen adoptada de [25].</i> . .	11
2.2. Reflexión de la luz en una superficie plana. El rayo reflejado permanece en el mismo plano que el rayo incidente y la normal al punto de incidencia, y el ángulo de reflexión es igual al de incidencia. <i>Imagen tomada de [30].</i>	16
2.3. Representación de como sucede la dispersión o esparcimiento. La luz incidente interactúa con una partícula o estructura, generando luz esparcida en distintas direcciones. Se muestran dos tipos principales: esparcimiento de Rayleigh, característico de partículas mucho más pequeñas que la longitud de onda, y esparcimiento de Mie, cuando las partículas tienen un tamaño comparable. Adaptado del concepto descrito por Bohren y Huffman [32].	18
2.4. Representación de como un rayo luminoso se comporta en diferentes medios como el aire y el vidrio. <i>Imagen tomada de [33]</i>	19
2.5. Transición vibracional en una molécula diatómica por absorción de un fotón. Al absorber radiación, el sistema pasa del estado vibracional fundamental $\nu = 0$ al primer nivel $\nu = 1$, modificando su energía potencial en función de la distancia de equilibrio. <i>Imagen tomada de [34].</i>	20
2.6. Efectos de los diferentes colores en el espectro solar en el desarrollo y crecimiento de las plantas. <i>Imagen adaptada de [37].</i>	22
2.7. Representación de la interacción de la luz con una hoja, tanto internamente como superficialmente, la hoja provoca una dispersión de la luz dentro debido a sus componentes como agua, aire y pigmentos. <i>Imagen adaptada de [7].</i>	23

- 2.8. Representación de los tipos de reflexión de la luz sobre superficies con diferentes texturas en la a) Reflexión especular: donde los rayos reflejados conservan un ángulo definido y uniforme y b) Reflexión difusa en una superficie rugosa, donde los rayos se dispersan en múltiples direcciones debido a las irregularidades de la superficie. *Figura elaborada por la autora.* 25
- 2.9. Comparación del Índice de Borde Rojo (REI) entre hojas sanas, enfermas y secas de fresa. El índice disminuye en hojas enfermas y secas, lo que refleja la pérdida de estructura celular y clorofila asociada al estrés fisiológico. *Figura generada por la autora.* 28
- 2.10. Representación de una hoja sana y de la gama de longitudes de onda que interactúan con la superficie foliar de una planta de fresa. Se observa claramente el aumento en la reflectancia alrededor de los 700 nm, conocido como “borde rojo” (*red edge*). Esta figura incluye dos configuraciones ópticas probadas, las cuales se detallan posteriormente en la sección de experimentación. *Figura elaborada por la autora.* 29
- 2.11. En el proceso de patogénesis, los hongos patógenos modifican las características estructurales y químicas de la hoja entrando a sus células y cambiando principalmente la cantidad de clorofila como en manchas foliares, lo que provoca un cambio en su comportamiento óptico. *Imagen adaptada de [7].* 30
- 3.1. Representación esquemática de una hoja de fresa dividida en cuatro secciones. Las mediciones espectrales se realizaron puntualmente en el centro de cada una de las regiones indicadas. *Figura elaborada por la autora.* . . . 33
- 3.2. Representación de la gama de longitudes de onda que interactúan con la superficie foliar de la planta de fresa. Se obtienen valores de reflectancia en función de la longitud de onda, observándose una línea vertical alrededor de los 700 nm, correspondiente al denominado borde rojo. *Figura elaborada por la autora.* 34
- 3.3. Esquema del arreglo óptico en modo reflectancia. La fuente de luz está posicionada a 90° , mientras que la fibra colectora se ubica a 45° con respecto a la superficie foliar. *Figura elaborada por la autora.* 34
- 3.4. Arreglo óptico en modo reflectancia, donde la fuente de luz se posiciona a 90° y la fibra colectora a 45° respecto a la muestra. En esta imagen, la muestra es sulfato de bario, y se observa el haz puntual de iluminación y la región de recolección espectral. *Foto propia.* 35
- 3.5. Arreglo completo utilizado para la adquisición espectral en hojas de fresa. Consta de una fuente de luz halógena, una base impresa en 3D con fibras colocadas en ángulos fijos, el espectrómetro Aurora 4000 y una computadora portátil con el software de adquisición. Este montaje corresponde al sistema en modo reflectancia descrito en la Figura 3.3. *Figura elaborada por la autora.* 35

3.6. Fotografía de ejemplo de las hojas a las que se realizaron las mediciones espectrales. Los gráficos correspondientes pueden observarse en la Figura 3.8. <i>Foto propia.</i>	36
3.7. Ejemplo de aplicación del filtro de Savitzky-Golay sobre un espectro de reflectancia de hoja. Se observa la diferencia entre el espectro original y el suavizado. <i>Figura elaborada por la autora.</i>	38
3.8. Gráfica de reflectancia correspondiente a cuatro hojas de fresa en distintas condiciones fisiológicas. En este caso, las mediciones fueron realizadas puntualmente en la parte superior derecha de cada hoja. <i>Figura generada por la autora.</i>	38
3.9. Representación de la metodología utilizada para estimar el nivel de deshidratación en hojas de fresa a partir de parámetros espectrales. <i>Figura elaborada por la autora.</i>	39
3.10. Esquema de la metodología utilizada para el cálculo de los índices espectrales VARI y RSI al igual que las mediciones siguientes mostradas en los resultados. <i>Figura elaborada por la autora.</i>	39
3.11. Espectro de reflectancia correspondiente al lado "A" de una hoja de fresa. <i>Figura generada por la autora.</i>	40
3.12. Espectro de reflectancia correspondiente al lado "B" de una hoja de fresa. <i>Figura generada por la autora.</i>	41
3.13. Espectro de reflectancia correspondiente al lado "C" de una hoja de fresa. <i>Figura generada por la autora.</i>	41
3.14. Espectro de reflectancia correspondiente al lado "D" de una hoja de fresa. <i>Figura generada por la autora.</i>	42
3.15. Espectro de reflectancia de una hoja deshidratada, obtenido con una lámpara que permitió extender el rango de medición hasta los 1000 nm. Se observa un cambio significativo después de los 750 nm, superando el límite espectral alcanzado en otras mediciones. <i>Figura generada por la autora.</i>	42
4.1. Espectros de reflectancia en el rango de 400 a 750 nm de hojas de fresa (<i>Fragaria × ananassa</i>) bajo tres condiciones fisiológicas: sana, enferma y deshidratada. Se observa un incremento en la reflectancia en la región del rojo (>700 nm), asociado al fenómeno del borde rojo (<i>red edge</i>), con diferencias significativas en la forma espectral entre las muestras. <i>Figura generada por la autora.</i>	45
4.2. Reflectancia cruda y reflectancia suavizada mediante el filtro de Savitzky-Golay en el rango de 450–750 nm para el lado A de hojas de fresa. La suavización mantiene la forma general del espectro con mínimas modificaciones, lo que indica que las señales originales son estables y de buena calidad. Este proceso mejora la precisión para el cálculo de índices espectrales sin alterar la información espectral significativa. <i>Figura generada por la autora.</i>	46

- 4.3. Ejemplo representativo de la apariencia de las hojas utilizadas en este estudio. Las mediciones se iniciaban siempre con la hoja sana, no excediendo los 30 minutos entre muestras. La hoja deshidratada presentaba pérdida notable de turgencia, aunque aún conservaba el color verde. *Imagen tomada por la autora.* 46
- 4.4. Distribución del Índice Óptico de Enfermedad Vegetal (IOEV) calculado para 20 hojas de fresa clasificadas como sanas, deshidratadas y enfermas. Los puntos individuales representan el valor promedio del IOEV de los cuatro lados de cada hoja, mientras que las líneas horizontales indican el promedio general por categoría. *Figura generada por la autora.* 50
- 4.5. Hojas de fresa en las diferentes condiciones (sana con apariencia verde, enferma con cambios de coloración derivados de algún padecimiento, hoja deshidratada/seca que aun conserva el color verde pero cambios en su estructura interna debido a la ausencia de agua). *Imagen tomada por la autora.* 51
- 4.6. Gráfica representativa que muestra cambios significativos en el espectro de reflectancia de una hoja completamente deshidratada (seca) entre los 550 nm y 700 nm. A partir de este comportamiento espectral surgió la propuesta de desarrollar un índice específico para evaluar el estrés hídrico. *Figura generada por la autora.* 52
- 4.7. Comparación del Índice de Estrés Hídrico Avanzado (IEHA) en 20 hojas sanas (azul) y 20 hojas secas (rojo). Todas las hojas fueron recolectadas en estado sano; la mitad fueron evaluadas de inmediato, mientras que la otra mitad se dejaron secar de forma controlada hasta alcanzar un estado de deshidratación extrema. La gráfica muestra un aumento consistente del IEHA en las hojas secas, lo que demuestra la sensibilidad del índice para detectar pérdidas severas de agua en tejido foliar. *Figura generada por la autora.* 53
- 4.8. Proyección de los espectros foliares mediante Análisis de Componentes Principales (PCA). No se observa una separación clara entre las clases fisiológicas de las hojas (sana, enferma y deshidratada), lo que sugiere una baja capacidad discriminativa de esta técnica para este conjunto de datos. *Figura generada por la autora.* 55
- 4.9. Matriz de confusión del modelo LDA aplicado a los espectros de hojas. Se observa una alta capacidad de clasificación, con 108 hojas sanas, 105 hojas enfermas y 111 hojas secas correctamente clasificadas. Solo se registró un error de clasificación, correspondiente a una hoja enferma etiquetada como sana. La precisión total fue del 99.69%. *Figura generada por la autora.* . 56
- 4.10. Proyección de los espectros foliares mediante Análisis Discriminante Lineal (LDA). Se observa una clara separación entre hojas sanas, enfermas y secas (deshidratadas), lo que indica una alta capacidad discriminativa del modelo. *Figura generada por la autora.* 56

Lista de Símbolos

Símbolo	Nombre	Unidades
ν	Frecuencia	Hz
λ	Longitud de onda	nm
ϵ	Emisividad (o permitividad relativa, según contexto)	–

Introducción

El color verde en algunas plantas es un indicador crucial de su bienestar y productividad; en cambio, las alteraciones en su coloración nos demuestran que algo no está bien en su salud. En la búsqueda de métodos efectivos para evaluar y comprender los cambios en la salud vegetal, se ha recurrido al estudio de las propiedades ópticas de las plantas como un medio preciso y no destructivo para detectar signos de estrés o enfermedad. La hipótesis principal de esta investigación se basa en la premisa de que las enfermedades o deficiencias nutricionales de las plantas provocan los cambios en las propiedades ópticas de las hojas y, por lo tanto, pueden identificarse y caracterizarse cualitativa y cuantitativamente a través de la espectroscopia óptica. Se propone en este trabajo un enfoque propio, inspirado en lo planteado por Bauriegel *et al.* (2011) [1], que busca comprender las alteraciones en los espectros de reflectancia como una representación directa de la salud de la planta, permitiendo la identificación temprana de problemas y la comprensión de su evolución. Por ello, como parte de este estudio, se recopilaron datos espectrales de reflectancia de la corteza de hojas de fresa. Estos datos conforman una base experimental esencial para el cálculo e interpretación de los índices de vegetación relacionados con la salud vegetal para caracterizar el estado de salud de las plantas de manera cuantitativa.

El método de medición en el modo de reflectancia es rápido para operar y se puede adecuar con el fin de trabajar directamente en el campo, para permitir la rápida recolección de los datos de las hojas *in situ*. Estudios recientes han demostrado que combinaciones espectrales dentro del rango 540–740 nm son sensibles a cambios en el estado hídrico de las plantas [2]. Según Moshou *et al.* (2014), el contenido de clorofila y el desplazamiento del borde rojo en la reflectancia espectral pueden funcionar como indicadores tempranos de estrés hídrico, permitiendo detectar alteraciones fisiológicas antes de que se presenten síntomas visibles. En este trabajo, se retoma dicha propuesta como fundamento para aplicar estos indicadores a las hojas de fresa en condiciones experimentales [3].

Este trabajo se divide en dos secciones principales: metodología en donde se explica con claridad el experimento y resultados. En la sección de metodología, se presenta el marco teórico y experimental, incluyendo la toma de mediciones de espectros de transmitancia y reflectancia, así como el desarrollo de modelos matemáticos que previamente se han desarrollado por diversos autores para analizar la interacción de la radiación electromagnética con la corteza foliar. La sección de experimento y resultados detalla las actividades experimentales, incluyendo el uso de filtrado y agrupación de las hojas sanas, enfermas y secas (totalmente deshidratadas) para cuantificar el estado de salud

de las plantas a través de la espectroscopía y un índice adecuado a las longitudes de onda disponibles para este trabajo que es el visible y el comienzo del infrarrojo cercano (450-750 nm) justo donde comienza el borde rojo, un gran indicador del estado de salud de las hojas y su deshidratación. Al final se logró hacer un propio índice para los datos obtenidos durante toda la etapa del experimento: uno para detectar los cambios de coloración indicando el estado de salud e incluso la gravedad en la que se encontraba la hoja, y otro que nos decía el estado de deshidratación extrema. Y al final, analizando estadísticamente un total de 325 datos correspondientes a los 3 tipos de hojas, se probaron dos métodos de reducción de dimensionalidad, siendo uno descartable y el otro cumpliendo la función que se necesitaba, que era hacer una separación visible de los 3 tipos de estados de salud de las hojas.

Se espera que este estudio contribuya significativamente a la comprensión de la salud vegetal en plantas de fresa, ofreciendo una metodología efectiva para la evaluación no invasiva y la detección temprana de enfermedades, así como para el seguimiento de la evolución del estado de las plantas en diversos entornos y condiciones.

Capítulo 1

Detección óptica de enfermedades vegetales. Antecedentes y estado del arte

1.1. Antecedentes

Algunas plantas pueden estar enfermas sin mostrar síntomas visibles, lo que impide determinar su estado a simple vista. En esas condiciones contienen patógenos capaces de contaminar el resto del cultivo. Debido a eso se resalta la importancia de detectar enfermedades en las plantas desde sus primeros síntomas. La espectroscopía se encuentra disponible como una herramienta para la agricultura moderna. Algunos rangos del espectro electromagnético que se han consolidado como herramientas se encuentran en el visible (400-700 nm), infrarrojo cercano (NIR) (750-1100 nm) y medio (MIR)(2500-5000 nm) para monitorear la salud de los cultivos usando reflectancia como técnica para su evaluación de parámetros, obteniendo esta información de las superficies de las hojas [4]. Además, se ha asociado la espectroscopia de reflectancia foliar con sensores ópticos directos en las plantas que acompañan a la siembra para determinar la cantidad adecuada de fertilizantes, como el nitrógeno. El nitrógeno es muy utilizado en la agricultura para el crecimiento de las plantas; sin embargo, un exceso tiene consecuencias negativas en su desarrollo (crecerá poco) lo que la hace susceptible a ataques de plagas y enfermedades derivadas de los hongos, así como en el desperdicio de estos suplementos y la contaminación ambiental que conlleva [5].

La espectroscopía óptica ha demostrado ser efectiva en la detección temprana de diversas enfermedades vegetales. Algunos ejemplos incluyen:

- **Detección de estrés hídrico:** Cambios en la reflectancia y transmitancia de las hojas pueden indicar deshidratación antes de que se observen síntomas visibles [6].
- **Identificación de infecciones fúngicas:** Las infecciones por hongos alteran los pigmentos y la estructura celular de las hojas, lo que se refleja en los espectros ópticos [7].
- **Diagnóstico de deficiencias nutricionales:** La deficiencia de nutrientes afecta la síntesis de clorofila y otros compuestos, modificando el espectro de absorción [8].

Agricultura de precisión

La agricultura de precisión se enfoca en identificar y responder a las variaciones dentro de la zona de cultivo, buscando implementar las acciones adecuadas, de la forma correcta, en el lugar y momento oportunos. Es un enfoque que integra tecnologías innovadoras y procesos avanzados, relacionando las variables espaciales obtenidas del mapeo con la aplicación de estrategias eficientes de gestión empresarial [8].

Los estudios de mediciones con dispositivos con esferas integradoras, se han realizado para comparar su precisión en la toma de mediciones de reflectancia [9].

Además hemos tenido avances evolutivos en cómo las tecnologías se han adaptado a la agricultura, como lo muestra la Figura 1.1, donde evidentemente muestra un proceso lento de evolución, y aún estando en el presente, las personas aún no han adquirido las habilidades para desarrollar con mejor precisión las tecnologías. Por eso la misión de los trabajos como este es la promoción de estas aplicaciones. A continuación enuncio algunos junto con sus ejemplos que ya son aplicados.

Tecnología de precisión: Fotónica

- Técnicas de detección para monitoreo en tiempo real.
- Esquemas de detección de enfermedades, fenotipo de plantas, control de calidad de alimentos.

Ingeniería avanzada

- Maquinaria pesada industrial
- Agri-bots con visión artificial
- Vehículos aéreos no tripulados para aplicaciones de gran superficie

Tecnología de la información

- Pantalla inteligente para seguimiento GPS.
- Tecnología de enjambre
- Inteligencia artificial

Un estudio de 2020 sobre un medidor de clorofila para la programación de riego de trigo se basa en la cantidad de este pigmento para la determinación de riego y el momento adecuado para regar. El medidor toma lecturas instantáneas de las plantas basadas en la cuantificación de la intensidad de la luz roja (650 nm) absorbida por la hoja. Muchos investigadores han encontrado una relación entre el cambio en el contenido de clorofila en las hojas de trigo y el déficit de agua del suelo o el estrés hídrico [10].

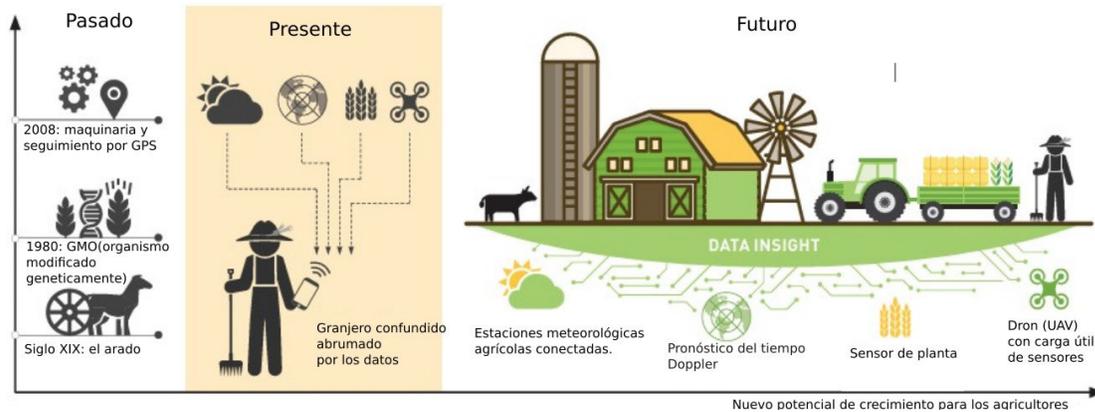


FIGURA 1.1: Pasado, presente y futuro de la agricultura, donde en la ultima imagen nos muestra un futuro previsto donde la agricultura de precisión planea estar impuesta en casi cada unos de los procesos que conlleva el cultivo de alimentos. *Imagen tomada de [8].*

1.2. Estado del Arte

1.2.1. Espectroscopia en la agricultura

La espectroscopia es el estudio de la materia usando radiación electromagnética y que permite analizar la interacción entre materia y energía cuando un sistema atómico o molecular absorbe o emite luz. Durante este proceso, el sistema cambia de un nivel de energía a otro. Según la condición de frecuencia establecida por Bohr, la diferencia entre los niveles de energía debe coincidir con la energía de la luz absorbida o emitida. Este fundamento es clave para investigar los niveles energéticos en espectroscopia. Examinar la interacción entre la luz y la materia constituye una herramienta esencial para entender gran parte de lo que conocemos sobre el universo y nuestro entorno [11].

La espectroscopia de reflectancia/transmitancia es una herramienta para evaluar el contenido del agua, pigmentos y nutrientes aprovechando las variaciones de estas que se producen en las hojas de las plantas, según su composición química y física. Los beneficios de usar reflectancia y transmitancia son la rapidez y el enfoque no invasivo. Estas técnicas se muestran ventajosas por sobre los métodos tradicionales de análisis al detectar los pequeños cambios sutiles con mayor antelación, por ejemplo, el cambio de pigmentación de una hoja. Herramientas como espectroscopios portátiles y drones que se han adaptado al monitoreo de cultivos ayudan a que se optimicen riegos y fertilización. Estas técnicas impulsan la agricultura sostenible con el medio ambiente [12].

1.2.2. Monitoreo de la salud de las plantas

Los métodos tradicionales, como la observación de síntomas a simple vista, resultan imprecisos y subjetivos. Por otro lado, la evaluación de parámetros físico-químicos en laboratorio requieren tomar muestras físicas y destructivas de la planta ofrece una mayor precisión que la observación visual, pero implica un proceso más lento, daños a la

planta y un mayor consumo de recursos, como reactivos de laboratorio [8]. En un artículo reciente se estudia el Photosystem (PSI) sobre la fotoinhibición que pueden sufrir las plantas con los cambios de estación, principalmente el invierno, también se hablan sobre indicadores que relacionan las propiedades ópticas con su estado de estrés, y que este estrés puede ser detectado mediante métodos no destructivos, estos estudios hablan principalmente de que es afectada la eficiencia fotosintética [13]. El análisis fenotípico de plantas mediante herramientas ópticas y digitales ha cobrado relevancia en los últimos años, particularmente gracias al desarrollo de modelos de visión computacional basados en inteligencia artificial (IA). Estas técnicas permiten cuantificar de forma automática características fisiológicas como la densidad y morfología estomática, el contenido de pigmentos o patrones de transpiración, que tradicionalmente requerían mediciones manuales y destructivas [14]. Las técnicas de visión artificial con imágenes representan una alternativa no destructiva eficaz para evaluar características externas de plantas, lo cual permite un monitoreo eficiente del crecimiento vegetal de igual forma, pero el poco alcance de los equipos. Para la detección, aún lo hace inviable para ser replicado en el campo [15].

1.2.3. Modelos matemáticos

Modelos ópticos para la caracterización de hojas

Las enfermedades alteran las propiedades ópticas de las hojas, la interacción de la luz con las hojas de las plantas (en su modo de transmitancia y reflectancia) va a depender de la composición interna de las hojas (compuestos químicos y características físicas).

1.2.4. Modelo pila de placas

Este modelo describe la transmisión y reflexión de la luz en una pila de capas delgadas, en nuestro caso tomamos estas capas como las hojas de la planta, cada capa tiene su propio índice de refracción y espesor y las interfaces entre las capas causan variaciones en sus reflexiones en interferencias.

La teoría de placas planas se amplía para considerar el impacto de los espacios de aire intercelulares, introduciendo así el concepto de índice de área vacía (VAI) para las hojas. Este índice representa el número promedio de espacios de aire que un rayo atraviesa al pasar por la hoja. Los parámetros obtenidos de esta teoría incluyen la medición del contenido de agua y aire en la hoja, así como el índice de refracción efectivo y el coeficiente de absorción. En el intervalo de longitudes de onda de 750 a 1350 nm, las hojas de las plantas absorben muy poca radiación electromagnética. Estos parámetros ópticos son cruciales para predecir cómo una hoja responde a la radiación.

El índice de refracción efectivo de una hoja común se asemeja al índice de refracción de la cera epicuticular. Por otro lado, el coeficiente de absorción efectivo resulta de la

combinación de los coeficientes de absorción de la clorofila y el agua líquida. Este modelo de placas se emplea para estimar el contenido de humedad en las hojas a partir de mediciones de reflectancia y transmitancia [16].

1.2.5. Modelo PROSPECT

Es un modelo de transferencia radiativa basado en el modelo de placas generalizado y desarrollado por Allen, que representa las propiedades ópticas de las hojas de las plantas en las longitudes de onda desde los 400 nm a 2500 nm [17].

La estructura básica del modelo se puede representar con la siguiente fórmula:

$$R = \frac{K_m}{K_m + s} (1 - e^{- (K_m + s)N}), \quad (1.1)$$

$$T = \frac{S}{K_m + s} (1 - e^{- (K_m + s)N}), \quad (1.2)$$

donde R es la reflectancia, T es la transmitancia, K_m es el coeficiente de absorción, s es el coeficiente de dispersión, y N es el número de capas de hojas.

1.2.6. Modelo Kubelka-Munk

Es un modelo que es utilizado para describir la absorbancia y reflectancia de un material y es aplicado para los que son difusamente reflectantes. Se basa en 2 coeficientes, el de absorción K y el de dispersión S [18] que satisfacen el sistema de ecuaciones diferenciales de Kubelka-Munk:

$$-d \cdot i = -(S + K) \cdot i \cdot d \cdot x + S \cdot j \cdot d \cdot x, \quad (1.3)$$

$$d \cdot j = -(S + K) \cdot j \cdot d \cdot x + S \cdot i \cdot d \cdot x, \quad (1.4)$$

donde i y j representan las intensidades de la luz que se propaga dentro de una muestra plano-paralela que dispersa la luz, hacia su superficie no iluminada e iluminada respectivamente; x es la distancia desde la superficie no iluminada, y S, K son constantes.

Estas ecuaciones se obtienen a partir de un modelo simplificado de propagación de la luz en un material [18].

1.2.7. Retos y avances en el análisis óptico en plantas

La integración de la informática con tecnologías como el posicionamiento preciso mediante GPS, el análisis de datos a través de inteligencia artificial (IA) y herramientas avanzadas como drones (UAV) y enjambres de nanorobots facilita la recolección de datos ópticos en áreas de difícil acceso. Técnicas como la espectroscopía y la imagenología destacan por su capacidad para generar grandes volúmenes de información. No obstante, el uso generalizado de estas tecnologías agrícolas enfrenta limitaciones significativas,

incluyendo altos costos y un impacto aún reducido a gran escala debido a su adopción restringida [8].

Entre los métodos complementarios de monitoreo óptico, la termografía infrarroja ha demostrado ser útil en la teledetección del estrés vegetal. Por ejemplo, el uso de cámaras térmicas montadas en drones (UAV) permite detectar cambios rápidos en la temperatura superficial de las plantas bajo condiciones de estrés, como la deshidratación o el déficit hídrico. Esta capacidad para detectar variaciones térmicas en tiempo real hace que la teledetección térmica sea una herramienta eficaz en agricultura de precisión para la detección temprana del estrés hídrico [19].

1.2.8. Monitoreo del contenido de agua en plantas

La teledetección ha demostrado ser una herramienta efectiva para monitorear el contenido de agua en plantas a través de índices espectrales sensibles a la absorción en bandas específicas del infrarrojo cercano (NIR) y el visible. Hay diversas técnicas espectrales que permiten estimar cambios en el estado hídrico de la vegetación sin contacto físico con el tejido vegetal, lo cual es clave para aplicaciones agrícolas y de manejo hídrico en el campo y laboratorio para detectar estrés hídrico a distintas escalas [20]. Investigaciones recientes han demostrado que factores como el calor, la falta de agua y el exceso de luz afectan directamente la eficiencia de la fotosíntesis, particularmente a través de la regulación de Rubisco, la apertura estomática y la eficiencia del fotosistema II (PSII). En un análisis reciente se recopilan hallazgos que revelan cómo el estrés por temperatura y la dinámica de luz generan oscilaciones en la asimilación de CO_2 , afectando la productividad. Diversos estudios han explorado el uso de índices espectrales para estimar el contenido de agua en las plantas y monitorear el estrés hídrico. En particular, Zhang y Zhou (2015) evaluaron diez índices hiperespectrales para estimar el contenido de agua en el dosel de maíz, encontrando que índices como el CIgreen, NRred edge y CIred edge son altamente sensibles a variaciones del contenido de agua y espesor equivalente foliar. Este tipo de enfoques respalda el desarrollo de nuevos índices sensibles a condiciones específicas de estrés hídrico [21]; esto respalda la importancia de estudiar hojas en condiciones estresadas, como se realiza en el presente trabajo [22].

1.2.9. Uso de imágenes

Nosotros usamos una medición directa con la hoja, pero ya hay antecedentes de que no es necesario recurrir a estos métodos para obtener un estado de salud de las plantas como es este estudio de 2016 donde usan imágenes de clorofila sin espectrómetro. Donde desarrollan un sistema de imágenes portátil y de bajo costo usando una cámara RGB y un algoritmo de reconstrucción hiperespectral. Se valida la correlación entre los datos obtenidos con este sistema y en comparación con los análisis que se obtienen bioquímicamente en laboratorio. El método permite visualizar la distribución espacial de la clorofila en las hojas, lo cual es útil para la fenotipificación de plantas y el estudio de los efectos del estrés. Finalmente, se muestra la viabilidad de este sistema para monitorizar la salud de las plantas de forma no destructiva [23].

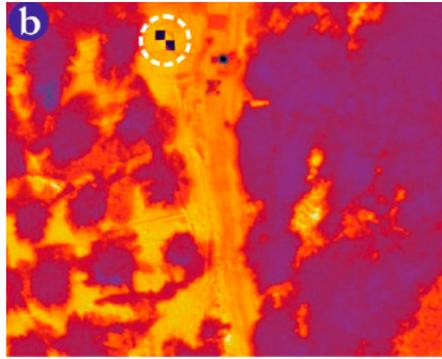


FIGURA 1.2: Imagen térmica aérea de un cultivo con zonas de estrés hídrico. Las áreas en rojo representan mayor temperatura foliar asociada a menor contenido de agua. *Imagen tomada de [19].*

En la agricultura de precisión, las imágenes térmicas obtenidas mediante vehículos aéreos no tripulados (UAV) permiten detectar variaciones de temperatura en la vegetación que se asocian con condiciones de estrés hídrico. Estas diferencias térmicas reflejan cambios fisiológicos en las plantas, como el cierre estomático y la reducción de la transpiración, que provocan un aumento en la temperatura foliar. La Figura 1.2 ilustra un ejemplo de este tipo de análisis térmico aplicado a un campo agrícola, donde las zonas más cálidas indican menor contenido de agua en el follaje vegetal [19]. En la siguiente imagen 1.2 vemos el ejemplo de aplicación reciente del uso de imágenes UAV.

Capítulo 2

Interacción de Radiación Electromagnética con la Materia

En este capítulo se muestra la teoría fundamental que sustenta la aplicación de las técnicas ópticas y espectroscópicas en el estudio del estado de salud de las plantas, enfatizando el utilizado en este trabajo que es la espectroscopia en el rango visible y en la frontera del infrarrojo cercano. Se abordan los conceptos clásicos y clave de las técnicas ópticas que tuvieron relación en este estudio, como son: reflectancia, transmitancia, absorbancia y la relación de la luz en los tejidos, como la superficie de las hojas; además de abordar el tema de los índices de vegetación y posibles aplicables a este estudio. Se proporciona el sustento físico y la teoría necesaria para la interpretación de los datos espectrales que se obtuvieron experimentalmente.

2.1. Propiedades de la radiación electromagnética

La radiación electromagnética es un fenómeno que se manifiesta en forma de ondas electromagnéticas que se propagan a través del espacio vacío o de distintos medios materiales. Está compuesta por campos eléctricos y magnéticos que oscilan perpendicularmente entre sí y en la dirección de propagación, que transporta energía a través del espacio.

La radiación electromagnética abarca un amplio espectro de longitudes de onda, que van desde las ondas de radio de baja energía hasta los rayos gamma de alta energía. Cuando incide sobre un material, puede experimentar varios fenómenos, incluida la absorción, la reflexión, la refracción y la dispersión, dependiendo de las propiedades del material y de la longitud de onda de la radiación. La interacción de la radiación electromagnética con la materia es fundamental para la espectroscopia, una técnica analítica utilizada para estudiar la composición química, la estructura molecular y otras propiedades de las muestras. La espectroscopia que utiliza radiación electromagnética en el rango de la luz visible se conoce como espectroscopia óptica (métodos ópticos de análisis). Esta técnica se centra en el análisis de la interacción de la luz visible con la materia, lo que permite estudiar las propiedades ópticas de los materiales, como la absorción, la reflexión y la dispersión [24].

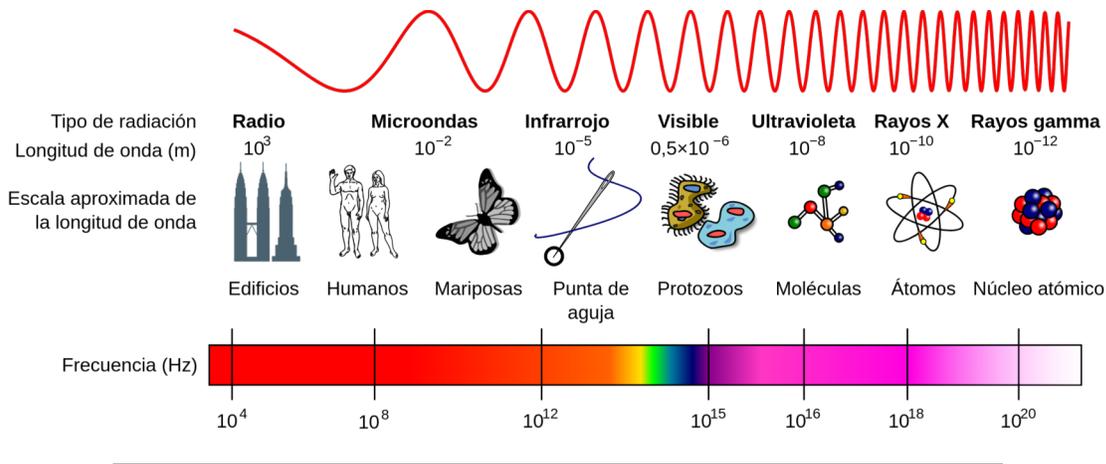


FIGURA 2.1: Representación del espectro electromagnético.
 Imagen adoptada de [25].

2.1.1. Espectro electromagnético

El espectro electromagnético (Fig. 2.1) representa la gama completa de frecuencias de la radiación electromagnética, que incluye desde las ondas de radio, con las longitudes de onda más largas y frecuencias más bajas, hasta los rayos gamma, caracterizados por sus longitudes de onda extremadamente cortas y frecuencias altas. En el contexto de la óptica, la región visible, que abarca longitudes de onda entre aproximadamente 400 y 700 nm, es de particular interés.

La relación entre la longitud de onda (λ), la frecuencia (ν), y la velocidad de la luz (c) en el vacío está dada por la ecuación fundamental:

$$c = \lambda \cdot \nu, \tag{2.1}$$

donde $c = 2,99792458 \times 10^8$ (m/s) representa la velocidad de la luz en el vacío. Esta ecuación es esencial para describir las propiedades de las diferentes regiones del espectro electromagnético.

El espectro se clasifica en distintas regiones según su longitud de onda y frecuencia. Estas incluyen las ondas de radio, microondas, infrarrojo, luz visible, ultravioleta, rayos X y rayos gamma. Cada una de estas regiones presenta propiedades únicas que determinan sus aplicaciones tecnológicas. Por ejemplo, las ondas de radio se emplean ampliamente en telecomunicaciones, mientras que los rayos X son esenciales en aplicaciones médicas como la radiografía.

Además, el espectro electromagnético tiene una importancia histórica y experimental significativa. Los avances en su estudio han sido posibles gracias al desarrollo de técnicas experimentales que permiten caracterizar cada región del espectro. En óptica, este conocimiento es crucial para comprender fenómenos como la dispersión, la reflexión y la transmisión de la luz, que son fundamentales en una amplia variedad de aplicaciones tecnológicas [26].

2.2. Interacción de la luz con los materiales

La espectroscopía se fundamenta en cómo la radiación electromagnética interactúa con átomos y moléculas, generando patrones característicos de absorción o emisión. Visualmente, la percepción de colores está vinculada al proceso óptico implicado, como la absorción o reflexión de la luz por el objeto observado.

La luz puede interactuar con la materia de tres formas principales: reflejándose, transmitiéndose o siendo absorbida. En numerosos casos, estas interacciones ocurren de manera combinada, involucrando dos o incluso los tres efectos simultáneamente.

La mayoría de las técnicas espectroscópicas se basan en el principio de la absorción de luz. La velocidad de propagación de la luz es menor en cualquier medio distinto al vacío y varía según su longitud de onda. Cuando un medio es transparente a una longitud de onda específica, la luz puede transmitirse a través de él. Algunos materiales son transparentes únicamente en ciertas regiones del espectro o para longitudes de onda particulares. La suma de las intensidades de las tres interacciones (reflexión, transmisión y absorción) equivale a la intensidad inicial, lo que se conoce como la ley de conservación [27]:

$$I_0 = I_r + I_t + I_a. \quad (2.2)$$

2.2.1. Unidades de medición en espectroscopia

En espectroscopía, las unidades empleadas son las siguientes:

Longitud de onda λ : se mide en metros y sus subdivisiones, que incluyen: Ångströms ($1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ m}$), nanómetros ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$) y micrómetros ($1 \text{ }\mu\text{m} = 10^{-6} \text{ m}$).

Frecuencia ν : la frecuencia ν se mide en ciclos por segundo, cuya unidad es el Hertz.

Otra forma de describir la frecuencia de la luz es mediante el número de ondas por unidad de longitud, como metros o centímetros. Este tipo de frecuencia se denomina número de onda, cuyas unidades son m^{-1} o cm^{-1} . En antiguas referencias se usa mucho la unidad conocida como Kayser (K o Ky), $1 \text{ Ky} = 1 \text{ cm}^{-1}$.

El número de onda (también llamado frecuencia espacial) mide la cantidad de ciclos por unidad de distancia o radianes por unidad de distancia. Mientras que la frecuencia temporal corresponde al número de ondas por unidad de tiempo, el número de onda se refiere al número de ondas por unidad de distancia.

2.3. Absorbancia

La absorbancia, también conocida como densidad óptica, es una medida cuantitativa que describe la reducción de la intensidad luminosa al atravesar un material. Este fenómeno es resultado de la interacción de la luz con las partículas absorbentes presentes en el medio, lo que provoca una disminución de la energía de la onda electromagnética. La absorbancia es de gran utilidad en el análisis óptico y químico de materiales, ya que proporciona información sobre sus propiedades intrínsecas.

La relación matemática que describe este comportamiento se fundamenta en la *Ley de Beer-Lambert*, que establece que la intensidad de la luz disminuye de manera exponencial conforme atraviesa un medio absorbente. La ecuación básica se expresa como:

$$I(x) = I_0 e^{-\alpha x}, \quad (2.3)$$

donde $I(x)$ es la intensidad de la luz tras recorrer una distancia x dentro del material, I_0 representa la intensidad inicial, y α es el coeficiente de absorción característico del medio.

A partir de esta relación, la absorbancia se define como:

$$A = -\log_{10} \left(\frac{I}{I_0} \right), \quad (2.4)$$

donde A es la absorbancia, y I/I_0 representa la fracción de luz transmitida, también conocida como transmitancia relativa.

Es importante destacar que la absorbancia y la transmitancia están inversamente relacionadas. Un incremento en la absorbancia implica una disminución en la cantidad de luz transmitida a través del material, lo cual puede expresarse como:

$$A = -\log_{10}(T), \quad (2.5)$$

siendo T la transmitancia relativa.

La magnitud de la absorbancia depende de tres factores principales: la concentración de partículas absorbentes presentes en el medio, la longitud del trayecto óptico que recorre la luz (x) y las propiedades ópticas inherentes al material, como el coeficiente de absorción.

Desde una perspectiva física, este fenómeno está estrechamente relacionado con el índice de refracción complejo del material. La parte imaginaria de este índice, conocida como k , es directamente responsable de las pérdidas de energía debido a la absorción de la luz en el medio [28].

2.3.1. Absorción

La absorción es un proceso en el que los átomos o moléculas interactúan con la luz, específicamente con los fotones que la componen. Cuando un átomo o molécula absorbe un fotón, su energía aumenta y pasa a un estado de mayor energía. Este aumento de energía es igual a la energía del fotón absorbido.

Cuando medimos la absorción de radiación, estamos evaluando cómo una muestra interactúa con la luz en función de su frecuencia o longitud de onda. La muestra absorbe energía de la radiación, es decir, captura los fotones que la atraviesan. La cantidad de energía absorbida varía dependiendo de la frecuencia de la luz, y esta variación se representa en lo que llamamos espectro de absorción. El espectro de absorción nos muestra cómo la muestra absorbe la luz en diferentes longitudes de onda [27].

2.3.2. Leyes de Absorción

La Ley de Beer-Lambert es la relación entre la atenuación de la luz (luz monocromática) que ha pasado a través de una sustancia y las propiedades de esa sustancia establece que la absorbancia es proporcional a la longitud del camino, b , a través de la muestra y la concentración de las especies absorbentes denominada, C :

$$A \propto b \cdot C, \quad (2.6)$$

A la constante de proporcionalidad a veces se le da el símbolo a , dando a la ley de Beer-Lambert un aspecto alfabético:

$$A = a \cdot b \cdot C, \quad (2.7)$$

La constante a se llama absorptividad. Más formalmente, la constante de proporcionalidad está representada por ε y se denomina coeficiente de extinción:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot C, \quad (2.8)$$

Si ε tiene unidades molares, se llama coeficiente de extinción molar o absorptividad molar. La absorptividad molar varía con la longitud de onda, y la ley de Beer-Lambert se escribe con mayor precisión en función de λ . El coeficiente de extinción (ε) es una constante para una sustancia dada, siempre que la temperatura y la longitud de onda sean constantes [27].

$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda) \cdot b \cdot C. \quad (2.9)$$

La mayoría de las sustancias son especies absorbentes de concentración baja a media y siguen la ley de Beer-Lambert. La ley de Beer-Lambert puede no seguirse bien debido al efecto de saturación, concentración de la muestra, cambios en el índice de refracción de la muestra, interacción soluto-disolvente, efecto de luz parásita o pleocroísmo de la luz del espectrofotómetro. Debido a la relación directa entre la absorbancia y la concentración, como muestra la ley de Beer-Lambert, la absorbancia suele ser una modalidad más útil para la espectroscopia que la transmitancia [27].

2.4. Reflectancia

La reflectancia es un fenómeno fundamental en la interacción de la luz con la materia, abordandole desde la teoría electromagnética, utilizando como base las ecuaciones de Maxwell para describir el comportamiento de la luz reflejada en una interfaz entre dos medios con diferentes propiedades ópticas.

2.4.1. Definición y relación matemática

La reflectancia (R) se define como la fracción de la intensidad de luz incidente que es reflejada por una superficie. Matemáticamente, esta se expresa como:

$$R = \left| \frac{E_r}{E_i} \right|^2, \quad (2.10)$$

donde E_r representa la amplitud del campo eléctrico reflejado y E_i corresponde a la amplitud del campo eléctrico incidente [29].

2.4.2. Ecuaciones de Fresnel

Las ecuaciones de Fresnel proporcionan una descripción más detallada de la reflectancia, considerando el ángulo de incidencia (θ_i) y los índices de refracción de los medios involucrados (n_1, n_2). Estas ecuaciones, derivadas de las condiciones de contorno de las ecuaciones de Maxwell, son [26]:

$$R_{\parallel} = \left| \frac{n_2 \cos \theta_i - n_1 \cos \theta_t}{n_2 \cos \theta_i + n_1 \cos \theta_t} \right|^2, \quad (2.11)$$

$$R_{\perp} = \left| \frac{n_1 \cos \theta_i - n_2 \cos \theta_t}{n_1 \cos \theta_i + n_2 \cos \theta_t} \right|^2, \quad (2.12)$$

donde:

R_{\parallel} es la reflectancia para luz polarizada paralela al plano de incidencia.

R_{\perp} es la reflectancia para luz polarizada perpendicular al plano de incidencia.

θ_t es el ángulo de transmisión, obtenido mediante la ley de Snell: $n_1 \sin \theta_i = n_2 \sin \theta_t$.

Algunos aspectos a considerar son los siguientes:

1. **Dependencia de la longitud de onda:** La reflectancia varía con la longitud de onda de la luz incidente, influyendo en fenómenos como la interferencia en capas delgadas.
2. **Superficies dieléctricas y metálicas:** En materiales dieléctricos, la reflectancia está dominada por los índices de refracción relativos, mientras que en metales se introduce una constante dieléctrica compleja ($\epsilon = \epsilon_r + i\epsilon_i$) para considerar los electrones libres.
3. **Dependencia angular y polarización:** La reflectancia es máxima en la reflexión total interna y mínima en el ángulo de Brewster, donde $R_{\parallel} = 0$.

El tratamiento exhaustivo de Born y Wolf permite una comprensión profunda de cómo optimizar o reducir la reflectancia según las necesidades específicas. Esto es crucial en aplicaciones como sensores fotónicos, sistemas láser y tecnologías de energía solar. Además, su enfoque generalizado abarca sistemas multicapa y estructuras complejas, ampliando su aplicabilidad en el diseño de dispositivos ópticos modernos [29].

Las leyes de la reflexión

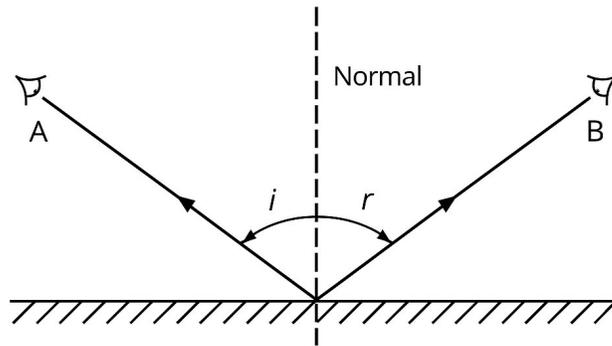


FIGURA 2.2: Reflexión de la luz en una superficie plana. El rayo reflejado permanece en el mismo plano que el rayo incidente y la normal al punto de incidencia, y el ángulo de reflexión es igual al de incidencia.

Imagen tomada de [30].

Reflexión

La reflexión es un fenómeno físico en el que la luz u otra forma de radiación electromagnética altera su dirección al incidir sobre una superficie, retornando al medio original. Este concepto se describe de manera cualitativa [26].

La reflexión se refiere al cambio en la dirección del vector de propagación de una onda de luz al interactuar con una superficie. Cuando esta superficie es lisa, el ángulo formado entre el vector de propagación incidente y la normal a la superficie reflectante θ_i , será igual al ángulo que forma el vector de propagación reflejado con esa misma normal θ_r . Este principio es comúnmente expresado como «el ángulo de incidencia es igual al ángulo de reflexión» [27].

2.5. Transmitancia

La transmitancia, representada como T , describe la fracción de luz que atraviesa un material óptico. Se define como la relación entre la intensidad de la luz transmitida (I_t) y la intensidad de la luz incidente (I_i), y se calcula mediante la expresión:

$$T = \frac{I_t}{I_i}.$$

Este parámetro, que puede expresarse en forma decimal o porcentual, refleja el grado de transparencia del material: valores altos de T indican una mayor cantidad de luz transmitida.

La transmitancia está vinculada a otros fenómenos ópticos, como la reflectancia (R) y la absorbancia (A), a través de la conservación de la energía. Esta relación se describe como:

$$T + R + A = 1.$$

En materiales ideales, que no absorben energía luminosa, la ecuación se simplifica a:

$$T + R = 1.$$

Una característica importante de la transmitancia es su dependencia de la longitud de onda de la luz incidente. Esto ocurre debido a la interacción entre la radiación electromagnética y las propiedades electrónicas del material, las cuales varían con su composición y estructura interna.

El análisis de la transmitancia es esencial en el diseño y evaluación de dispositivos ópticos, como lentes, filtros y vidrios, y es ampliamente utilizado en aplicaciones que requieren precisión en la manipulación y detección de luz, tales como espectrómetros y sensores ópticos [26].

2.5.1. Transmisión

La transmisión de la luz es el fenómeno físico mediante el cual la onda electromagnética (tomando como ejemplo la luz visible) atraviesa un medio material sin ser absorbida completamente ni tampoco reflejada. La fracción de energía que logra atravesar el medio va a depender de las propiedades ópticas del material, del índice de refracción, el grosor del material, la rugosidad de su superficie y la presencia de algunas superficies con impurezas, así como de la estructura interna [31].

La luz transmitida puede sufrir fenómenos como:

- Refracción: El cambio de dirección al pasar de un medio a otro con diferente índice de refracción.
- Dispersión interna: La luz puede ser redirigida dentro del medio antes de salir.

2.5.2. Esparcimiento de la luz

El esparcimiento de la luz es aquel fenómeno óptico en el que una onda electromagnética es desviada de su trayectoria original al interactuar con partículas presentes en un medio. En esta interacción no se implica la absorción necesariamente, sino que sucede un cambio en la dirección de propagación de la luz. El esparcimiento ocurre por irregularidades del medio, y ocurre porque tienen dimensiones comparables o menores que la longitud de onda incidente, generando distintos patrones de redistribución angular de la radiación. A este fenómeno lo clasifican como Rayleigh (es para partículas pequeñas) respecto a la longitud de onda, Mie (para partículas de tamaño similar) o esparcimiento múltiple cuando la luz sufre múltiples desviaciones antes de salir del medio representado en la Figura 2.3. El estudio del esparcimiento suele ser fundamental para entender fenómenos ópticos en sistemas naturales y biológicos, incluyendo las atmósferas planetarias y materiales vegetales [32].

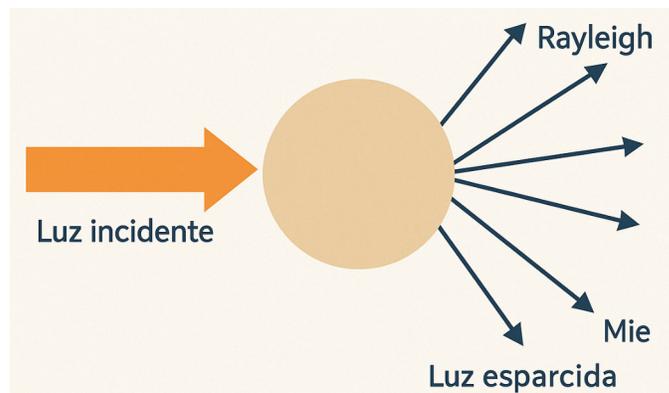


FIGURA 2.3: Representación de como sucede la dispersión o esparcimiento. La luz incidente interactúa con una partícula o estructura, generando luz esparcida en distintas direcciones. Se muestran dos tipos principales: esparcimiento de Rayleigh, característico de partículas mucho más pequeñas que la longitud de onda, y esparcimiento de Mie, cuando las partículas tienen un tamaño comparable. Adaptado del concepto descrito por Bohren y Huffman [32].

2.6. Propiedades ópticas fundamentales

2.6.1. Refracción

Es el fenómeno por el cual un rayo de luz cambia su dirección y velocidad al pasar oblicuamente de un medio transparente a otro con distinto índice de refracción. Este cambio se debe a la variación de la velocidad de propagación de la luz en cada medio. Pierre Fermat (1605-1665) estableció su muy famoso principio que dice que la luz al viajar de un punto a otro, atravesando uno o más medios con diferentes densidades, sigue la trayectoria que le tome el mínimo tiempo de recorrido. Hamilton probó que el concepto de rayo de luz se puede usar con bastante precisión si la frecuencia de la luz es bastante alta, demostrando así que la óptica geométrica es solo un caso particular de la óptica de ondas. Con esto se validaba el concepto de rayo luminoso, que tanto se ha usado para diseñar sistemas ópticos [33].

2.6.2. Índice de refracción

La velocidad de la luz disminuye considerablemente al propagarse a través de un medio transmisor, como el agua o una lente, en comparación con su velocidad en el vacío. El índice de refracción n se define como la relación entre la velocidad de la luz en el vacío (c) y su velocidad en el medio (c'). Debido a esta diferencia de velocidades, cuando la luz pasa de un medio a otro bajo un ángulo, el vector de propagación en el nuevo medio formará un ángulo diferente respecto a la normal, esta relación es conocida como la **ley de Snell** [27] y puede visualizarse en la Figura 2.4.

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2. \quad (2.13)$$

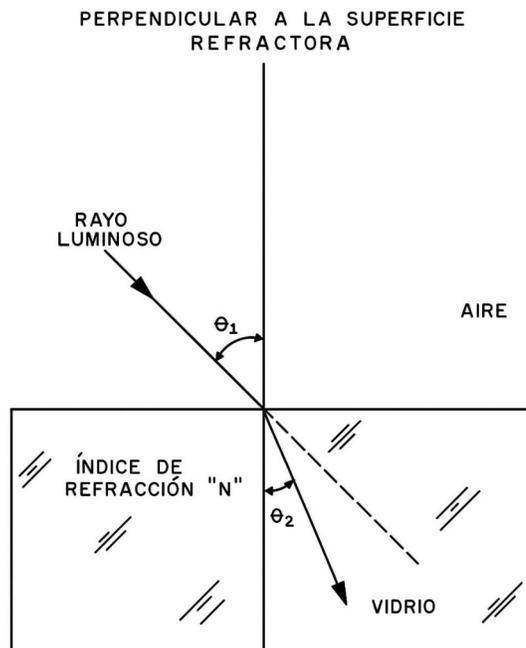


FIGURA 2.4: Representación de como un rayo luminosa se comporta en diferentes medios como el aire y el vidrio.

Imagen tomada de [33]

Algunos índices por mencionar son el de vacío, que su valor es $n = 1$, el del aire es $n_{\text{air}} \approx 1,0003$ (que depende de la temperatura y la densidad del aire), el del agua es $n_{\text{H}_2\text{O}} \approx 1,333$. En general, el índice de refracción es tanto mayor cuanto mayor sea la densidad del material [33].

2.7. Espectroscopia Visible-Infrarrojo cercano

2.7.1. Principios básicos

La espectroscopia en el rango visible-infrarrojo cercano abarca desde los 400 a 2500 nm, no siendo nuestro caso completamente, pero es una técnica no destructiva y rápida que permite caracterizar la composición y estructura de los materiales biológicos, incluidas las hojas de las plantas, y está fundamentada en 3 principales fenómenos ópticos [34], [35]:

- Absorción:** Las moléculas presentes en las hojas como son los pigmentos, agua, lípidos y proteínas, absorben la luz en longitudes de onda específicas. En el visible infrarrojo estas transiciones (Figura 2.5) incluyen absorciones electrónicas y vibracionales o sobre-tonos de enlaces como oxígeno-hidrógeno o carbono-hidrógeno. La ley de Beer-Lambert describe la atenuación de la intensidad según el coeficiente de absorción y espesor dado como el espectro de absorción.

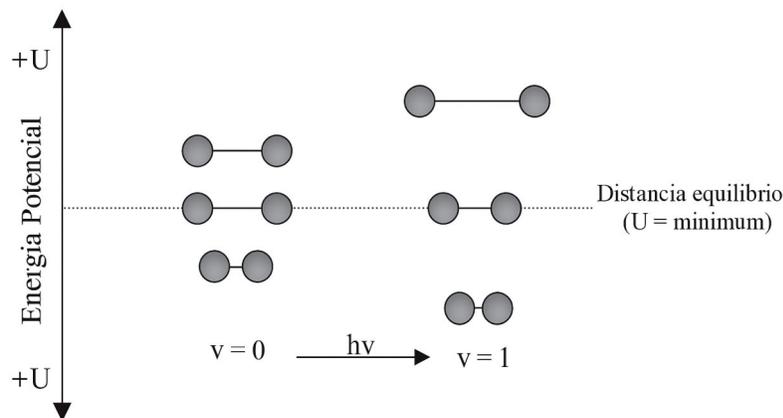


FIGURA 2.5: Transición vibracional en una molécula diatómica por absorción de un fotón. Al absorber radiación, el sistema pasa del estado vibracional fundamental $\nu = 0$ al primer nivel $\nu = 1$, modificando su energía potencial en función de la distancia de equilibrio.

Imagen tomada de [34]

- **Dispersión:** La interacción de la luz con la hoja de una planta genera dispersión en 700-1100 nm, la mayoría de la luz se dispersa debido a la composición aire-agua dentro del mesofilo.
- **Reflectancia y transmitancia:** Ya mencionados en este capítulo.

2.7.2. Aplicaciones para medir propiedades de materiales biológicos

La espectroscopia VIS-NIR es una técnica que promete mucho para la detección de hongos en plantas asintomáticas, como lo cito a continuación, donde la utilizaron para encontrar dos cepas en tomate. La espectroscopia en el visible e infrarrojo cercano se usa para analizar las propiedades de los materiales; en este caso, una hoja es usada para detectar los cambios fisiológicos y bioquímicos de las plantas que son causadas por enfermedades. Algunos de los beneficios de usarla en el visible e infrarrojo son los siguientes:

- Es una técnica no destructiva, lo que significa que las plantas no tienen que ser destruidas cuando se analiza.
- Es rápida y sensible, lo que puede ayudar mucho en la detección de enfermedades.
- Puede utilizarse para discriminar diferentes cepas de patógenos que atacan a las plantas.

Un ejemplo de lo que ha detectado la espectroscopia en el visible infrarrojo son las enfermedades como Huanglobin (HLB) en los cítricos y el tizón tardío en los tomates, y detectó dos cepas de *Fusarium oxysporum*, un hongo que causa la marchitez en las hojas de tomate.

Una limitación es que los mecanismos fisiológicos y anatómicos de las plantas en la expresión de los síntomas de las enfermedades todavía no han llegado a comprenderse completamente. Esto dificulta el desarrollo de los modelos predictivos basados en los datos que se obtienen de la espectroscopía en VIS-NIR.

Otra de las cosas a tomar en cuenta de los modelos basados en espectroscopia VIS-NIR es que pueden verse afectados por factores como las condiciones ambientales y la variedad de planta. Se necesitan investigaciones muy específicas para desarrollar los modelos predictivos robustos que apliquen para cada variedad de plantas y variedad de condiciones [4].

También es utilizado en la industria agroalimentaria para la detección de sólidos solubles, licopeno y polifenoles en puré de tomates. En este estudio citado [36], se analizaron cinco variedades de tomates bajo diferentes tratamientos de riego, obteniendo espectros de reflectancia en las regiones visible e infrarroja, que se correlacionaron con análisis químicos realizados en laboratorio.

En la región visible, se utiliza para identificar colores rojo, amarillo y naranja. En particular, las regiones espectrales amarilla (570-590 nm), naranja (590-620 nm) y roja (620-750 nm) del espectro de reflectancia están bien correlacionadas con el color de los tomates. Esto hace que la banda de 600 nm represente la combinación de la coloración rojo-amarillo, siendo esta combinación más expresiva al analizar la primera derivada de los espectros, que se refiere a la tasa de cambio de la reflectancia con respecto a la longitud de onda.

En la región cercana a los 600 nm, donde el tomate absorbe luz azul y verde y refleja luz roja y amarilla, la primera derivada de los espectros muestra un pico pronunciado. Este comportamiento indica un cambio característico que se asocia con la presencia de licopeno. Por lo tanto, se concluye que en la banda de 600 nm en la región visible se puede detectar la presencia de licopeno.

2.8. Propiedades ópticas de las hojas

La luz juega el papel más dominante en el crecimiento de las plantas entre todos los parámetros ambientales. Esta influencia está atribuida a 3 aspectos clave:

- La intensidad de la luz.
- El foto-periodo.
- Distribución espectral.

La intensidad de la luz está referida a la cantidad de luz que reciben las plantas dentro del rango de radiación foto-sintéticamente activa (400-700 nm). Sin embargo, la luz ultravioleta (UV) y el rojo lejano también juegan un papel en el crecimiento de las plantas. El foto-período se refiere a la duración de la exposición de la luz que reciben las plantas dentro de un periodo de 24 horas y la distribución espectral describe la intensidad de los diferentes colores en el espectro de radiación, ya que varios colores ejercen

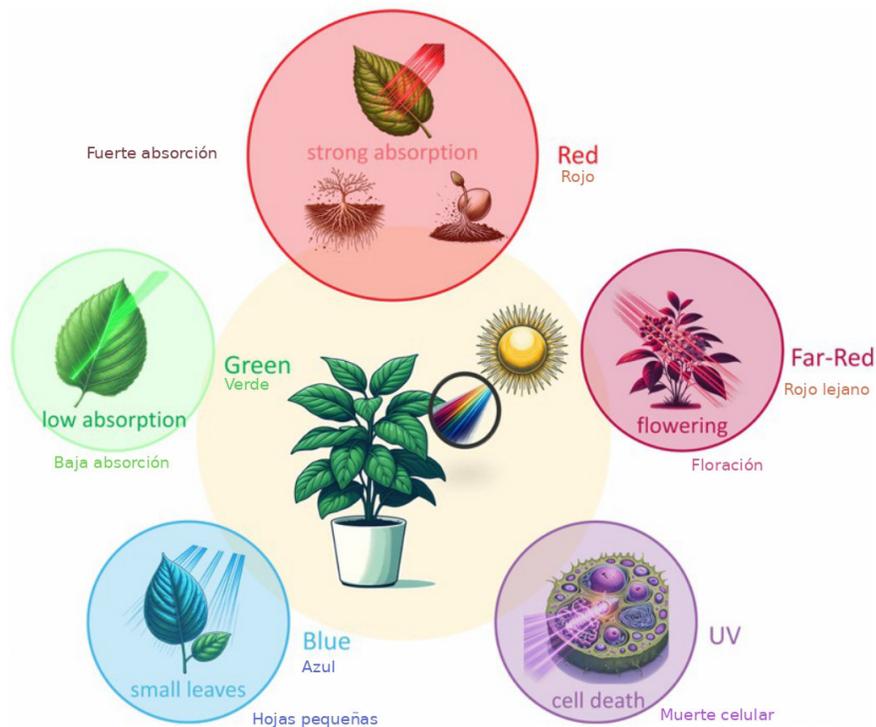


FIGURA 2.6: Efectos de los diferentes colores en el espectro solar en el desarrollo y crecimiento de las plantas. *Imagen adaptada de [37].*

distintos efectos en el crecimiento de las plantas. Los diversos efectos de la luz en el crecimiento de las plantas se describen en la Figura 2.6. La luz ultravioleta excesiva puede reducir la fotosíntesis y potencialmente causar la muerte celular; la luz azul inhibe la expansión celular, reduciendo el área foliar, y la mayoría de las plantas exhiben una absorción débil de la luz verde. La luz roja lejana ayuda en la regulación de la floración. Los componentes de onda corta (menos de 600 nm) generalmente muestran un potencial menor para el crecimiento de las plantas a comparación con los componentes de onda larga. Sin embargo, el espectro solar real alcanza su punto máximo en el rango del verde, lo que lleva a una utilización óptima de la energía solar por parte de las plantas. La exposición a intensidades lumínicas extremas puede causar fotooxidación y pérdida de funcionalidad fotosintética, fenómeno conocido como fotoinhibición. Si bien existen mecanismos de protección como el apagamiento no fotoquímico, su eficacia varía según la especie y se señala que gran parte de la investigación en fotoprotección se ha realizado en organismos modelo como *Arabidopsis* o *Chlamydomonas*, que no son particularmente tolerantes a alta luz; esto representa una brecha de conocimiento importante, ya que organismos especializados como *Chlorella ohadii* poseen estrategias únicas y más eficientes para soportar condiciones de luz extrema [38].

Las propiedades ópticas de las hojas que incluyen los parámetros de absorción y dispersión de diferentes longitudes de onda de la luz solar, permiten la detección de algunas propiedades funcionales de las hojas. La mayor parte de la luz visible que llega a las hojas por parte del sol es absorbida, y en longitudes de 700 nm, justo más allá de

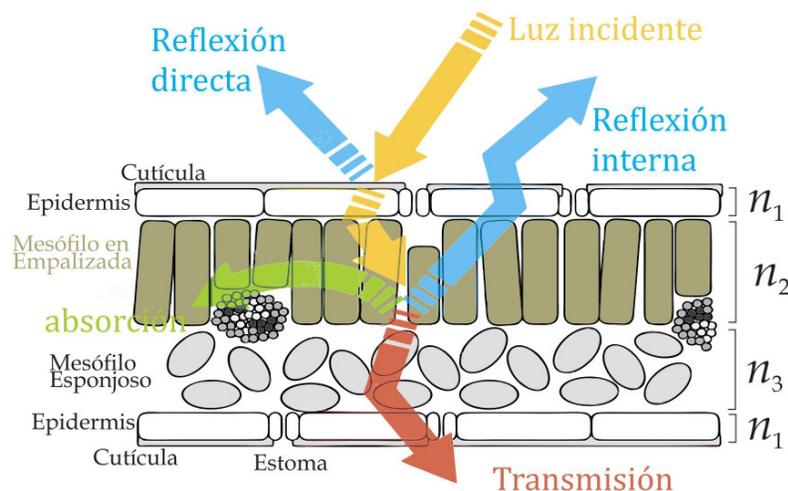


FIGURA 2.7: Representación de la interacción de la luz con una hoja, tanto internamente como superficialmente, la hoja provoca una dispersión de la luz dentro debido a sus componentes como agua, aire y pigmentos. *Imagen adaptada de [7].*

las bandas visibles rojas, este patrón se invierte abruptamente para reflejar aproximadamente la mitad de la luz entrante de 700 a 1000 nm. Las plantas semilleras tienen 3 tipos básicos de hojas. Las hojas que son monocotiledóneas, dicotiledóneas de angiospermas suelen tener una lámina ancha, y las coníferas. A pesar de la similitud de todas, existen diferencias específicas de los taxones en la reflectancia en todo el espectro generado [39].

La fotosíntesis es el proceso bioquímico fundamental que proporciona energía química a casi toda la vida en la tierra, está directamente influenciado por las propiedades ópticas como: **reflectancia**, **transmitancia**, **absorbancia**, tanto a plantas terrestres como acuáticas. Este proceso comienza con la absorción de fotones en los complejos antena de pigmentos proteína, seguido por un transporte rápido y altamente eficiente de la energía de excitación a un centro de reacción donde ocurre la separación de cargas. La alta eficiencia de la conversión de luz a carga de 95 por ciento se basa en una transferencia de energía eficiente que tienen las plantas saludables; la fotosíntesis también es afectada cuando hay algún síntoma de estrés en las plantas [40]. La fotosíntesis es el proceso central que regula la producción de biomasa vegetal y el ciclo global del carbono, su comprensión es clave para enfrentar los desafíos actuales del cambio climático y mejorar la eficiencia de cultivos. En este contexto, el estudio del comportamiento óptico de las hojas bajo diferentes condiciones fisiológicas permite observar respuestas asociadas a procesos fotosintéticos afectados por el estrés ambiental [22].

2.8.1. Parámetros ópticos relevantes

La **transmitancia** es la fracción de luz que entra en una hoja y finalmente es dispersada por la superficie opuesta. La **absorción** de la luz es determinada por las moléculas que absorben la luz dentro de las hojas, equilibrada por las propiedades estructurales que dispersan la luz, como los espacios de aire y las interfaces agua/aire. En la longitud

de onda del visible, son los pigmentos fotosintéticos, las clorofilas y los carotenoides los que absorben fuertemente, dejando poco que ver en el espectro obtenido. Sin embargo, en el **infrarrojo cercano**, no hay compuestos que absorban de manera fuerte, por lo que una alta proporción es reflejada. La luz a menudo se dispersa varias veces, lo que aumenta la probabilidad de absorción antes de ser reflejada fuera de la hoja. La **dispersión** dentro de la hoja está relacionada con la estructura interna, especialmente en las interfaces de la membrana celular y del aire, donde la luz puede reflejarse y difractarse. La dispersión múltiple de fotones hace que la reflectancia del infrarrojo cercano (NIR) sea mucho mayor que la reflectancia de las longitudes de onda visibles o del infrarrojo de onda corta, donde las absorciones por pigmentos y agua dan como resultado procesos de dispersión simple.

A medida que la luz pasa dentro y a través de las paredes celulares epidérmicas y hacia las células del mesófilo, se dispersa en nuevas direcciones, basándose en las diferencias de velocidad con la que se mueven diferentes longitudes de onda entre la solución celular y los espacios de aire. El **índice de refracción** determina cuánto se dobla la luz entre diferentes medios, como describe la ley de Snell-Descartes, que dice que los componentes bioquímicos de la hoja determinan la velocidad de la luz que la atraviesa en relación con su velocidad en el vacío. Cada longitud de onda se dobla en un ángulo diferente, provocando la separación de los colores. Los ángulos de incidencia y refracción en las interfaces entre el mesófilo y las paredes celulares influyen en las propiedades ópticas de la hoja al afectar la probabilidad de que la luz se disperse múltiples veces por el interior y escape directamente de la hoja tras la primera interacción con una superficie o esta sea absorbida [39].

Reflexión especular y reflexión difusa

La reflectancia es la fracción de luz que suele reflejarse desde la superficie de la hoja. Está compuesta por dos partes: la reflectancia especular, que es reflejada directamente desde la superficie en la dirección en que la luz ha incidido, y la reflectancia difusa, que dispersa la luz en todas las direcciones desde la superficie. La luz puede dispersarse especularmente en algunas longitudes de onda y dispersarse difusamente en otras; depende de la escala de rugosidad que presente la hoja medida. La reflectancia especular, en particular, ocurre cuando la luz incide sobre una superficie muy lisa, es decir, una cuya rugosidad está compuesta por partículas mucho más pequeñas que la longitud de onda de la luz incidente. Si la superficie de la hoja es rugosa, es decir, está compuesta por partículas de un tamaño comparable a la longitud de onda de la luz, esta se dispersará de forma difusa como la Figura 2.8. La reflexión especular es una propiedad de la hoja, que está determinada por la estructura y la composición de la cutícula; por esta razón, las diferencias entre especies están relacionadas a cuestiones de la variedad de plantas [39].

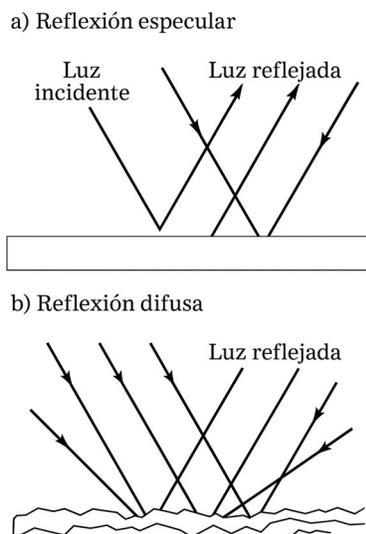


FIGURA 2.8: Representación de los tipos de reflexión de la luz sobre superficies con diferentes texturas en la a) Reflexión especular: donde los rayos reflejados conservan un ángulo definido y uniforme y b) Reflexión difusa en una superficie rugosa, donde los rayos se dispersan en múltiples direcciones debido a las irregularidades de la superficie.

Figura elaborada por la autora.

2.9. Relación entre propiedades ópticas de las hojas y salud de las plantas

Los parámetros ópticos, como el coeficiente de absorción (k), la reflectancia infinita (R) y el coeficiente de dispersión (s), sirven para caracterizar cómo las hojas de las plantas interactúan con la luz. La reflexión y transmitancia de la hoja de una planta se entienden a través de la reflexión de la luz en la interfaz entre la pared celular y el aire del tejido esponjoso del mesófilo. Se sugiere que la reflectancia de las hojas proviene de las características difusas de las paredes celulares de las plantas. Por lo general, la reflectancia de una hoja disminuye en todas las longitudes de onda cuando la hoja está impregnada de agua o una mezcla de aceite. Esto indica que la mayor parte de la reflectancia proviene del interior y se reduce cuando las interfaces entre la pared celular y el aire son eliminadas [16].

2.9.1. Indicadores ópticos de salud vegetal

Una cosa particular sobre el contenido de clorofila en hojas verdes oscuras como es en el caso de la fresa, es que al estar expuestas al sol sus niveles promedio de clorofila $a + b$ son de 400 a 700 mg/m^2 de área foliar y las hojas de sombra tienen de 380 a 570 mg/m^2 de área foliar. Debido a que las hojas expuestas al sol poseen paredes celulares más gruesas, un menor contenido de agua en las hojas y un mayor peso seco que las

hojas de sombra, exhiben en base al peso seco, es decir, un contenido de clorofila y carotenoides considerablemente menor que las hojas de sombra.

La relación en peso de la clorofila es un indicador del equipo de pigmentos funcional y la adaptación a la luz del aparato fotosintético. La clorofila b se encuentra exclusivamente en el sistema de antena de pigmentos, mientras que la clorofila a está presente en los centros de reacción de los fotosistemas y en la antena de pigmentos. La relación en peso de las clorofilas a y b con respecto a los carotenoides totales es un indicador del verdor característico saludable de las plantas [41].

2.9.2. La estructura de la hoja y su interacción con la luz

En **absorción** tenemos a los **componentes fotosintéticos** las clorofilas a y b presentes en los cloroplastos de todas las plantas superiores absorben fuertemente la luz visible, particularmente las longitudes de onda rojas y azules. Esto explica la baja reflectancia cuando son irradiadas con esta longitud de onda (400-700 nm). Luego tenemos a los **pigmentos carotenoides** que también están presentes en los cloroplastos, capturan la luz donde las clorofilas son menos eficientes y los transforman para que ocurra la reacción de la fotosíntesis.

El **agua** absorbe fuertemente en la región del SWIR (infrarrojo de onda corta), principalmente después de los 1400 nm. Sin embargo, para fines de esta tesis no se cuenta con esa longitud de onda para comparar dicha absorción. Existen otros compuestos en la hoja, como la celulosa, lignina, nitrógeno, azúcares y ceras, que también absorben energía en el infrarrojo. No obstante, estas características suelen estar superpuestas, lo que dificulta su identificación de manera individual.

Como ocurre, la **reflexión** de la cutícula cerosa de las hojas varía según el grosor y composición entre especies; esto determinará la cantidad de luz reflejada especularmente (la superficie) y difusamente (desde adentro de la hoja). La forma de sus células epidérmicas, la forma convexa de las células epidérmicas puede enfocar la luz hacia el interior de la hoja, aumentando así la captura lumínica. Los **espacios intercelulares**, que son estos espacios de aire que hay dentro de las hojas entre las células del mesófilo, influyen en la dispersión de la luz, afectando la reflectancia en el infrarrojo cercano [39].

La fusión de sensores ópticos, como los de reflectancia espectral y fluorescencia de clorofila, ha demostrado mejorar significativamente la precisión en la detección de estrés hídrico y enfermedades en plantas, por lo que en esta tesis se sigue replicando un enfoque basado en mediciones ópticas no invasivas para tener las bases que posteriormente nos ayudarían a comprender los sensores [3].

2.9.3. Índices de vegetación

El uso de índices de vegetación que emplean bandas del visible, como el GRVI o el VARI, ha demostrado ser más sensible a cambios fenológicos tempranos, como la pérdida de pigmentación verde o el inicio del cambio de coloración foliar. El autor Motohka et al. (2010) reportan que el valor de GRVI cercano a cero puede utilizarse como umbral para detectar transiciones fisiológicas clave en la fenología vegetal, superando la

sensibilidad limitada del NDVI ante cambios sutiles de coloración. Los índices espectrales derivados del visible, como el Índice de Vegetación Verde-Rojo (GRVI, por sus siglas en inglés), han demostrado ser útiles para el monitoreo del estado fisiológico de la vegetación. A diferencia de otros índices como el NDVI, que dependen del infrarrojo cercano, los índices visibles permiten realizar evaluaciones en contextos donde solo se dispone de sensores de bajo costo o de reflectancia limitada al rango visible. Motohka et al. (2010) propusieron el GRVI como una alternativa más sensible al cambio fenológico temprano, especialmente en especies caducifolias. Dicho índice se define como:

$$\text{GRVI} = \frac{G - R}{G + R}, \quad (2.14)$$

donde G y R representan las reflectancias en las bandas verde y roja, respectivamente.

El valor del GRVI tiende a ser positivo en tejidos vegetales activos con alto contenido de clorofila y disminuye hacia cero o valores negativos conforme avanza el estrés, la senescencia o la pérdida de pigmentación. Este comportamiento lo hace útil para detectar etapas tempranas de deterioro fisiológico que podrían pasar desapercibidas para otros índices.

Dado que el presente trabajo se enfoca en detectar cambios sutiles en hojas de fresa bajo distintas condiciones fisiológicas, se consideró apropiado utilizar índices del visible como el VARI (Visible Atmospherically Resistant Index) y desarrollar un índice óptico propio (IOEV), inspirados en la misma lógica de respuesta espectral planteada por Motohka *et al.* [42].

Borde rojo

El borde rojo cubre el rango de longitud de onda entre los máximos de absorción de la banda roja y el infrarrojo cercano (690-750 nm) donde se observa un fuerte aumento de la reflectancia en las plantas sanas como en la Figura 2.10. Marca la transición de una fuerte absorción por la clorofila en el visible a una reflectancia que es dominada por la estructura en el infrarrojo cercano. La posición de la pendiente máxima de la característica de este borde rojo, es particularmente sensible a los cambios en el contenido de clorofila porque la característica de absorción roja se satura fácilmente a los contenidos de clorofila relativamente bajos [43]. El borde rojo se desplaza hacia longitudes de onda más largas a medida que aumenta el contenido de la clorofila en la cubierta vegetal. Sin embargo, el sinfín de técnicas utilizadas para estimar el REP (Red Edge Position) se han diseñado inicialmente para pequeños volúmenes de datos espectrales continuos en lugar de grandes volúmenes de datos discontinuos que han utilizado en mediciones remotas satelitales [44]. El REP se define como:

$$\text{REP} = \frac{R_{750} - R_{705}}{R_{750} + R_{705}}, \quad (2.15)$$

donde R_{750} es la reflectancia de la hoja a 750 nm (en el infrarrojo cercano); R_{705} es la reflectancia de la hoja a 705 nm (en el borde rojo del espectro).

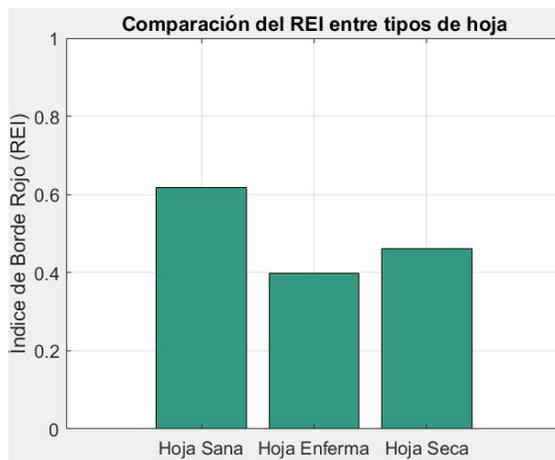


FIGURA 2.9: Comparación del Índice de Borde Rojo (REI) entre hojas sanas, enfermas y secas de fresa. El índice disminuye en hojas enfermas y secas, lo que refleja la pérdida de estructura celular y clorofila asociada al estrés fisiológico. *Figura generada por la autora.*

Calculamos el índice de borde rojo para algunas de nuestras mediciones con los 3 tipos de hojas: sana, enferma y deshidratada(seca) En el histograma se nota la diferencia, Figura 2.9.

2.10. Reducción de Dimensionalidad

La reducción de dimensionalidad es una técnica que permite simplificar conjuntos de datos con muchas variables, como ocurre con los espectros ópticos que contienen mediciones en cientos de longitudes de onda. Uno de los métodos más utilizados es el Análisis de Componentes Principales (PCA, por sus siglas en inglés), el cual transforma los datos originales en un nuevo conjunto de variables no correlacionadas llamadas componentes principales. Estas nuevas variables son combinaciones lineales de las originales y se ordenan según la cantidad de variación que explican en los datos. Según Jolliffe y Cadima (2016) [45], PCA es una técnica adaptativa que mejora la interpretación de grandes volúmenes de datos al mismo tiempo que minimiza la pérdida de información. Esta herramienta es ampliamente utilizada en distintos campos, incluyendo la espectroscopía aplicada en agricultura, ya que facilita la detección de patrones relevantes ocultos en los datos originales. Además del PCA, existen métodos supervisados como el Análisis Discriminante Lineal (LDA), que también permiten reducir la dimensionalidad, pero optimizando la separabilidad entre clases predefinidas. A diferencia del PCA, que maximiza la varianza total sin considerar la clase de pertenencia, el LDA busca proyecciones del espacio de características que maximizan la distancia entre clases y minimizan la dispersión dentro de cada clase. Belhumeur *et al.* (1997) [46] demostraron que el uso de LDA en lugar de PCA permite una mejor discriminación cuando se busca clasificar observaciones entre múltiples categorías, especialmente cuando las

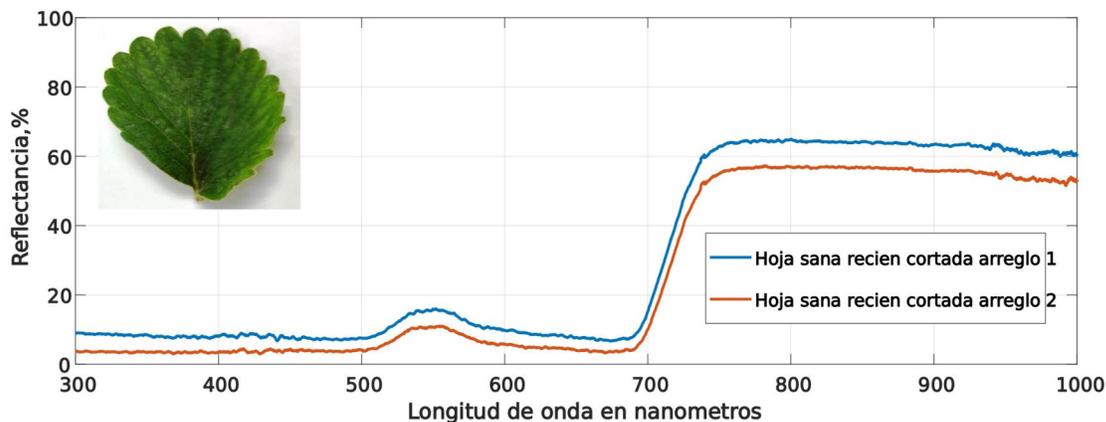


FIGURA 2.10: Representación de una hoja sana y de la gama de longitudes de onda que interactúan con la superficie foliar de una planta de fresa. Se observa claramente el aumento en la reflectancia alrededor de los 700 nm, conocido como “borde rojo” (*red edge*). Esta figura incluye dos configuraciones ópticas probadas, las cuales se detallan posteriormente en la sección de experimentación. *Figura elaborada por la autora.*

diferencias entre clases son más relevantes que la variabilidad. Esta propiedad es particularmente útil en tareas de clasificación, como el reconocimiento de estados de salud vegetal a partir de datos espectrales, como por ejemplo, también se puede evaluar el rendimiento a través de una matriz de confusión que es una herramienta para evaluar el modelo de clasificación. Nos dice cuántas muestras fueron clasificadas correctamente y cuántas no, por clase [47].

2.10.1. Efectos de enfermedades en las propiedades ópticas

Las enfermedades pueden alterar el microambiente de las propiedades fotofísicas de la clorofila, dañando proteínas, modificando el pH, afectando la disponibilidad de metales, lo que podría llevar a cambios detectables en el espectro de absorción de la clorofila y, por lo tanto, en la transmitancia y reflectancia de las hojas. Ejemplos de enfermedades que afectan y alteran características ópticas, por ejemplo, la *Xanthomonas fragariae* en hojas de fresas.

El efecto de la ligación axial en el espectro de absorción, la ligación con formato causa corrimientos al rojo significativos tanto para la clorofila a como para la clorofila b. Si una enfermedad induce cambios en el entorno de la clorofila que afectan a su ligación axial, esto podría manifestarse como cambios espectrales en las hojas [48].

Durante el desarrollo de enfermedades, los patógenos pueden provocar alteraciones estructurales y químicas en los tejidos foliares que afectan directamente las propiedades ópticas de las hojas. Estas modificaciones incluyen la degradación del tejido, la formación de lesiones necróticas o cloróticas, y la aparición de estructuras fúngicas visibles, como esporas o micelio, que influyen en la forma en que la hoja refleja, transmite o absorbe la luz. Como resultado, se generan patrones espectrales específicos que pueden

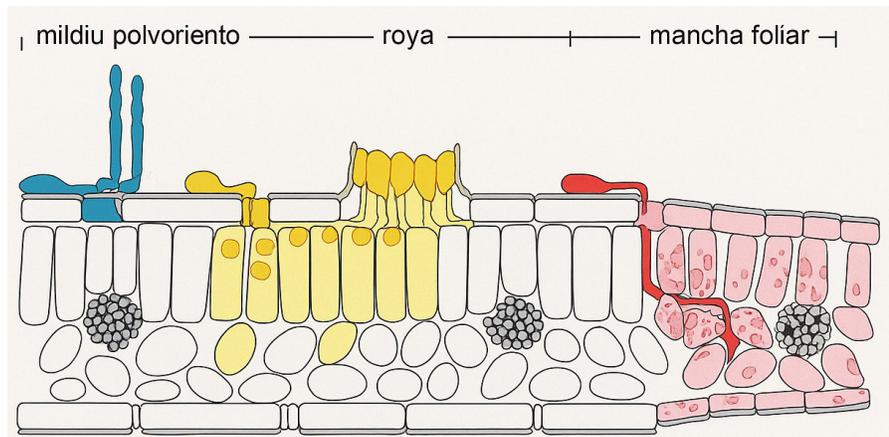


FIGURA 2.11: En el proceso de patogénesis, los hongos patógenos modifican las características estructurales y químicas de la hoja entrando a sus células y cambiando principalmente la cantidad de clorofila como en manchas foliares, lo que provoca un cambio en su comportamiento óptico. *Imagen adaptada de [7].*

ser detectados mediante sensores ópticos, facilitando la identificación temprana y diferenciación de distintas enfermedades foliares en cultivos como la remolacha azucarera, el trigo o el tomate; en la siguiente Figura 2.11 se puede observar cómo se contagiaría de enfermedades patógenas una hoja [7].

Capítulo 3

Experimento

Este capítulo será dedicado a la presentación de la parte experimental donde mostramos y explicamos los arreglos experimentales y las metodologías para llevar a cabo la caracterización de corteza foliar.

El estado físico de la corteza foliar está reflejado en el cambio de las propiedades ópticas de las hojas, ya que las enfermedades afectan la estructura interna de la hoja [7] cambiando los índices de refracción y absortividad de cada capa de la hoja. Nuestra hipótesis principal consta en que estos cambios son únicos para cada tipo de causas (enfermedades, deficiencias de microelementos/alimentación) y, por lo tanto, pueden ser identificados de manera cualitativa y cuantitativa usando la espectroscopia de reflectancia/transmitancia VIS-NIR [49].

El método para recoger muestras de las hojas es seleccionando hojas con apariencia sana (verde oscuro sin manchas y adultas) y hojas enfermas (amarillas o con manchas). Posteriormente, con el arreglo experimental que está constituido por fibra óptica, fuente y base se hace la recogida de los espectros, ya sea en transmitancia o reflectancia, con el espectrómetro Aurora 4000, que capta rangos entre los 250-1100 nm, abarcando el visible y el inicio del infrarrojo cercano, que es el utilizado para esta tesis.

3.1. Materiales y equipo

Fuente de luz halógena. Emite en un rango de 200 a 750 nm aproximadamente. Se utiliza como fuente de iluminación estable en el espectro visible y parte del infrarrojo cercano para realizar mediciones reflectancia y transmitancia de muestras orgánicas como las hojas e inorgánicas.

Fuente de luz (200–1000 nm). Fuente de amplio espectro que cubre desde el ultravioleta hasta el infrarrojo cercano. Se utilizó para obtener respuestas espectrales más allá de los 750 nm y alcanzamos a obtener un poco más de información del infrarrojo cercano.

Espectrómetro AURORA 4000. Dispositivo de alta sensibilidad con un rango espectral de 250 a 1100 nm. Permite la adquisición de datos espectrales detallados para el análisis cuantitativo de propiedades ópticas como la transmitancia y reflectancia de hojas de fresa.

Fibras ópticas. Se emplean para guiar la luz desde la fuente hasta la muestra y, posteriormente, hacia el espectrómetro. Su diseño flexible y capacidad de transmitir luz en un amplio rango espectral las hace esenciales para experimentos de espectroscopía.

Adaptador de fibras ópticas con 3 entradas. Conector Thorlabs diseñado para dividir o combinar haces de luz provenientes de distintas fibras. Facilita la configuración experimental al permitir la medición simultánea de diferentes trayectorias ópticas (por ejemplo, iluminación y detección). Este particular adaptador nos ayudó a mantener los ángulos firmes en las mediciones de reflectancia.

Materiales utilizados. El sulfato de bario es utilizado en espectroscopia como una sustancia que refleja el 98 por ciento de la luz, por lo que es una referencia para calibrar los espectros, antes de la colocación de las muestras. El sulfato de bario fue utilizado por la disposición inmediata que se tiene de él, aunque nos preguntamos si había otros materiales que pudieran tener esta propiedad de reflejar a ese porcentaje. Anteriormente se utilizaba el óxido de magnesio, pero lo que lo hacía deficiente era su fragilidad; en cambio, el sulfato de bario tiene las propiedades de reflectancia que se desean para un estándar de trabajo en colorimetría. Además, tiene un grado aceptable de rigidez y puede aplicarse fácilmente a cualquier superficie e incluso granulado como en nuestro caso [50].

3.2. Metodología

Este método es tradicional, es pequeño, prometedor, portable y ligero, se pueden realizar mediciones en campo y realizarlas sin destruir la hoja. Se puede adquirir la información en espectroscopía de reflectancia y posteriormente obtener su transmitancia; el sistema está adecuado para las hojas pequeñas y delgadas como las hojas de la planta de fresa, pero puede ser adaptable a otras cortezas de hojas sin ningún problema.

3.2.1. Preparación de las muestras

Las hojas utilizadas en este estudio se seleccionan de plantas adultas de fresa que están produciendo fruto, de la manera más natural posible como en la figura 3.6. No se realiza limpieza ni preparación de las hojas, salvo evitar tocar sus cortezas, para simular las condiciones reales del campo donde crecen. Las mediciones se efectúan en los primeros minutos después del corte, incluyendo hojas verdes con apariencia saludable, así como aquellas que presentan cambios de color. También se conservan las hojas previamente cortadas, que han sido almacenadas y que muestran un alto grado de deshidratación. El experimento se realiza en un laboratorio con una temperatura promedio de 23°C, bajo iluminación artificial proporcionada por lámparas LED de colores rojo, azul y blanco (Figura 3.2). Las hojas son medidas en 4 puntos de su corteza para tener más información de ella; las hojas regularmente no son homogéneas y puede haber

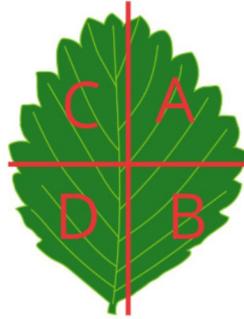


FIGURA 3.1: Representación esquemática de una hoja de fresa dividida en cuatro secciones. Las mediciones espectrales se realizaron puntualmente en el centro de cada una de las regiones indicadas.

Figura elaborada por la autora.

cambios distintos de coloraciones que van cambiándose con el paso de la enfermedad o la senescencia.

3.2.2. Configuración experimental

La configuración experimental cumplió con el propósito esperado, se puede observar en las figuras 3.3, 3.4, 3.5 el establecido y con el que se pretende seguir trabajando en el futuro. Previo a cada sesión de medición, se realizó una calibración espectral utilizando sulfato de bario mencionado en la Sección 3.1 como referencia de reflectancia blanca, y un espectro de oscuridad para compensar la señal base del espectrómetro. Con cada calibración se tomaban 12 muestras respectivas de cada tipo de muestra: sana, enferma y deshidratada; las mediciones tomaban de 5 a 7 minutos.

3.2.3. Procedimiento de medición

Todas las mediciones se realizan por el lado superior de la hoja por la siguiente razón: el lado superior de las hojas contiene más clorofila y otras sustancias necesarias para la fotosíntesis en comparación con el lado inferior. Además, esta cara de la hoja es plana, lo que reduce la interferencia de los estomas, facilitando las mediciones de reflectancia y transmitancia [51].

Las hojas se colocan cuidadosamente sobre el arreglo experimental en modo reflectancia, asegurándose de que el contacto con el sistema sea lo más ligero posible. Para las mediciones, las fibras ópticas se posicionan a 90 grados para la fuente de luz y a 45 grados para el espectrómetro que recoge la luz reflejada.

Se tomaron tres tipos de muestras, en total 27 de cada una de las siguientes partidas en 4, como se ve en la Figura 3.1 (tomando 4 muestras de cada hoja) aunque anteriormente solo se obtenía una media puntual de cada hoja en la parte superior derecha:

- Hojas verdes saludables.
- Hojas con cambios de color visibles, pero aún no deshidratadas.
- Hojas previamente cortadas, ya con un alto grado de deshidratación.

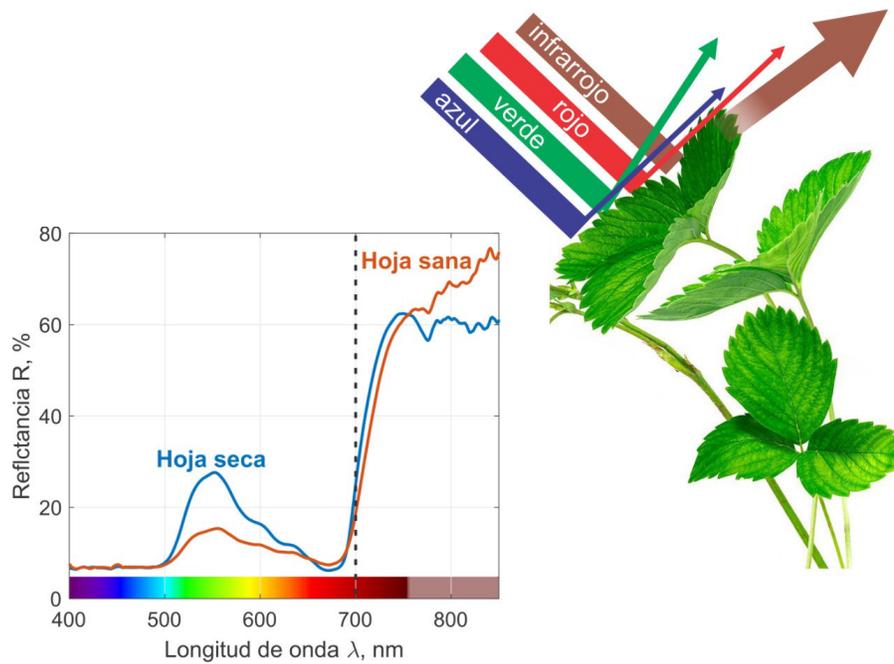


FIGURA 3.2: Representación de la gama de longitudes de onda que interactúan con la superficie foliar de la planta de fresa. Se obtienen valores de reflectancia en función de la longitud de onda, observándose una línea vertical alrededor de los 700 nm, correspondiente al denominado borde rojo. *Figura elaborada por la autora.*

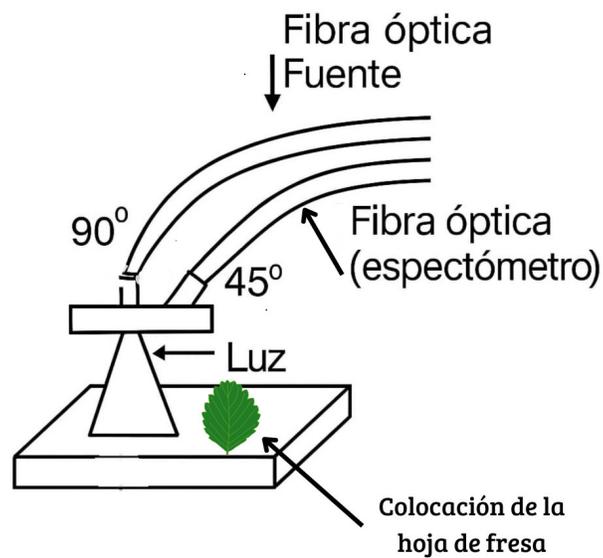


FIGURA 3.3: Esquema del arreglo óptico en modo reflectancia. La fuente de luz está posicionada a 90°, mientras que la fibra colectora se ubica a 45° con respecto a la superficie foliar. *Figura elaborada por la autora.*



FIGURA 3.4: Arreglo óptico en modo reflectancia, donde la fuente de luz se posiciona a 90° y la fibra colectora a 45° respecto a la muestra. En esta imagen, la muestra es sulfato de bario, y se observa el haz puntual de iluminación y la región de recolección espectral. *Foto propia.*

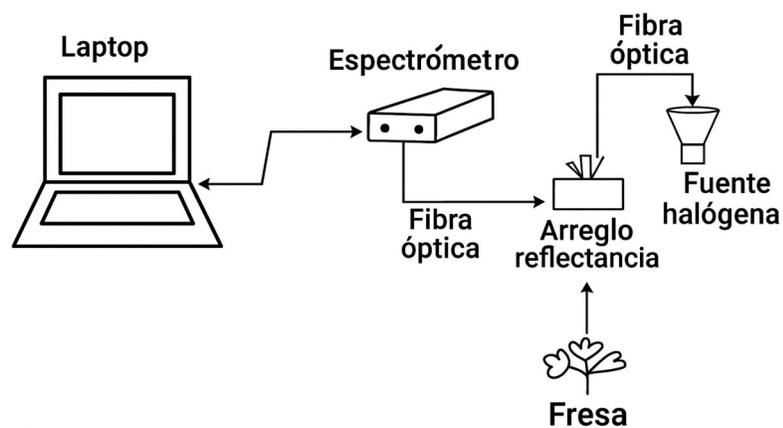


FIGURA 3.5: Arreglo completo utilizado para la adquisición espectral en hojas de fresa. Consta de una fuente de luz halógena, una base impresa en 3D con fibras colocadas en ángulos fijos, el espectrómetro Aurora 4000 y una computadora portátil con el software de adquisición. Este montaje corresponde al sistema en modo reflectancia descrito en la Figura 3.3.

Figura elaborada por la autora.



FIGURA 3.6: Fotografía de ejemplo de las hojas a las que se realizaron las mediciones espectrales. Los gráficos correspondientes pueden observarse en la Figura 3.8. *Foto propia.*

3.2.4. Validación

Para garantizar la reproducibilidad de los resultados medidos, se implementaron medidas de control en el sistema de medición. Inicialmente, se utilizó un sistema en reflectancia con ajustes manuales de ángulo con equipo de laboratorio solo acomodando las fibras ópticas, lo que dificultaba replicar las condiciones experimentales. Para corregirlo, se fijaron los ángulos de incidencia y detección con un dispositivo Thorlabs donde había un arreglo de 90 grados y dos de 45 grados, logrando mediciones consistentes y comparables entre sesiones de medición. Se utilizó un espectrómetro Aurora 4000 General series (modelo GE 200–1100 nm), capaz de medir en un rango espectral de 200 a 1100 nm. Este equipo cuenta con un detector Toshiba TCD1304DG de arreglo lineal CCD de 3648 píxeles y ofrece una resolución óptica menor a 0.75 nm FWHM, dependiendo de la configuración de rendija y rejilla. El espectrómetro posee un diseño óptico Czerny-Turner simétrico ($f/4$), una alta relación señal/ruido (300:1), y una corrección de linealidad superior al 99.8 por ciento, asegurando mediciones estables y precisas. Se mantuvieron constantes los parámetros de integración de tiempo (1.1 s). El espectrómetro tiene un rango de 4 ms a 10 s, corrección de oscuridad y procesamiento de datos. Además, el espectrómetro presenta un bajo nivel de luz parásita (<0.05 por ciento a 600 nm) y un amplio rango dinámico ($3,4 \cdot 10^6$). Se evaluó la influencia de la iluminación en el laboratorio: las mediciones se realizaron tanto con luz artificial encendida como apagada, observándose que no afectaba significativamente los resultados. No obstante, para minimizar cualquier posible variación, todas las mediciones finales se realizaron con la luz del laboratorio apagada. Todo esto permitió minimizar los errores de medición, conservar las mismas especificaciones experimentales, y garantizar la reproducibilidad y confiabilidad de los resultados obtenidos. Además al final para la precisión de la clasificación con la reducción de dimensionalidad supervisada se usó una matriz de confusión como métrica [52].

3.2.5. Procesamiento de datos

El filtrado de datos es un procedimiento fundamental y necesario en el análisis de información, especialmente a aquellos que producen resultados continuos. El objetivo principal es la eliminación de la mayor cantidad de ruido que se superpone con la información bajo observación, sin la degradación indebida de la información subyacente [53].

Ruido aleatorio: En cualquier experimento donde se extrae información cuantitativa siempre hay «ruido», que suele ser indistinguible de la información verdadera; por eso se busca reducirlo.

3.3. Análisis espectral

3.3.1. Suavizado Savitzky-Golay

Este método computacional fue elegido para procesar estos datos, con el fin de reducir específicamente el ruido en la señal pero conservando la forma, altura y anchura de los picos, ajustando a un polinomio local.

Su respuesta como filtro pasa bajo es más plana y el recorte de frecuencia más abrupto, lo que permite reducir el ruido sin excluir componentes de importancia en la señal suavizada de frecuencia útil. Además de suavizar, este filtro permite derivar la señal suavizada sin distorsionar los picos; lo hace útil para técnicas espectrales avanzadas, a diferencia de filtros más simples que suelen ser muy agresivos con el aplanamiento de los picos. Esto lo lleva a convertirse en una herramienta excelente y estandarizada para espectroscopía [54].

La aplicación de este filtro la podemos ver en la Figura 3.7, donde los hemos aplicado en la parte C de una de las hojas de fresa. Desde el software, nosotros hemos aplicado un suavizado de 7, es decir, el espectro ya venía con suavizado, por lo que puede ser difícil distinguir el original del suavizado.

3.3.2. Resultados preliminares

Los primeros gráficos obtenidos muestran el tipo de hojas que comúnmente eran escogidas para las mediciones en reflectancia. En esos gráficos podemos observar cambios drásticos, principalmente en el visible y en el desplazamiento a la izquierda del llamado borde rojo que ya hemos abordado anteriormente.

También se tomaron mediciones en hojas con tiempo de deshidratación para evaluar la afectación de la pérdida de agua en reflectancia e infrarrojo cercano. Fueron capturados con la siguiente metodología descrita en la Figura 3.9:

Obtuvimos el **RSI (Red-edge Spectral Index)** combina bandas del espectro visible y del borde rojo, siendo útil para detectar estrés en la vegetación. Disminuye con estrés hídrico o celular, ya que se altera la estructura reflectante interna de la hoja [55].

$$RSI = \frac{R_{750}}{R_{670}}, \quad (3.1)$$

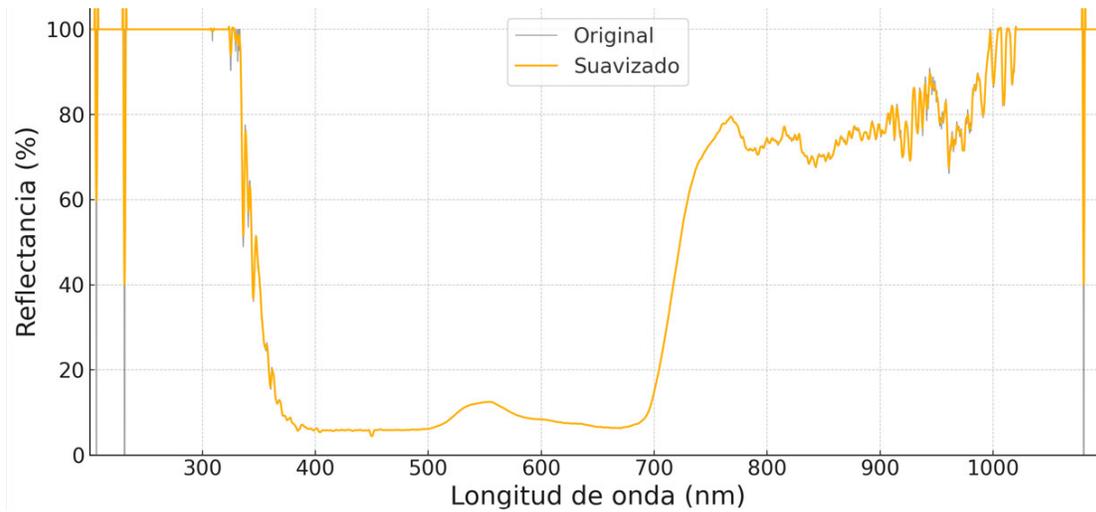


FIGURA 3.7: Ejemplo de aplicación del filtro de Savitzky-Golay sobre un espectro de reflectancia de hoja. Se observa la diferencia entre el espectro original y el suavizado. *Figura elaborada por la autora.*

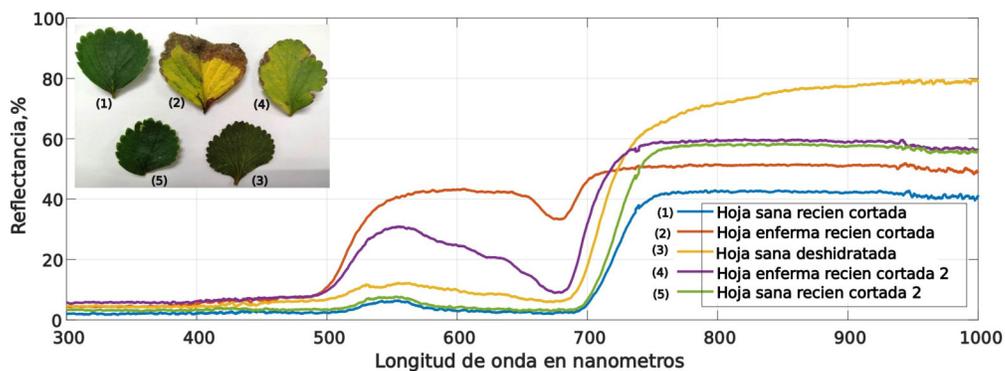


FIGURA 3.8: Gráfica de reflectancia correspondiente a cuatro hojas de fresa en distintas condiciones fisiológicas. En este caso, las mediciones fueron realizadas puntualmente en la parte superior derecha de cada hoja. *Figura generada por la autora.*



FIGURA 3.9: Representación de la metodología utilizada para estimar el nivel de deshidratación en hojas de fresa a partir de parámetros espectrales. *Figura elaborada por la autora.*

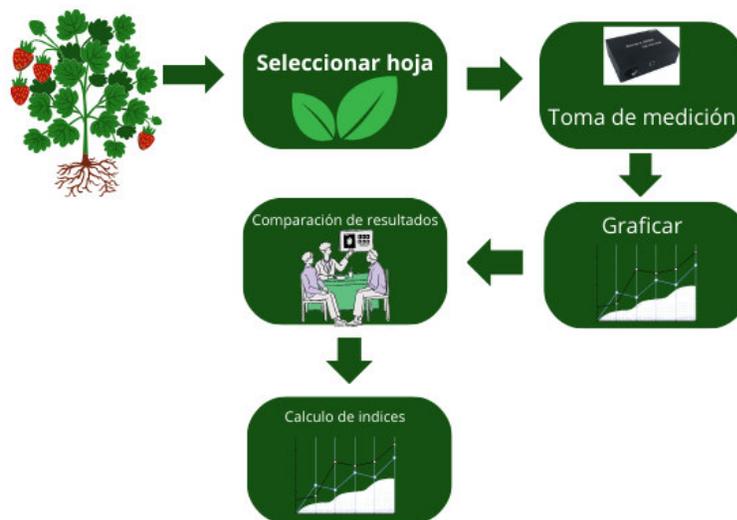


FIGURA 3.10: Esquema de la metodología utilizada para el cálculo de los índices espectrales VARI y RSI al igual que las mediciones siguientes mostradas en los resultados. *Figura elaborada por la autora.*

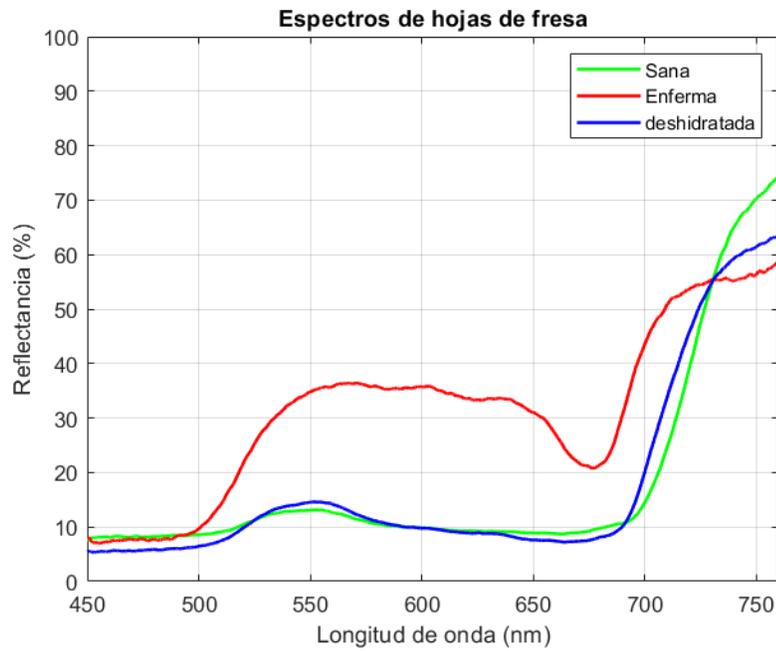


FIGURA 3.11: Espectro de reflectancia correspondiente al lado “A” de una hoja de fresa. *Figura generada por la autora.*

donde R_{750} es la reflectancia en el infrarrojo cercano, R_{670} es la reflectancia en el rojo.

El **VARI (Visible Atmospherically Resistant Index)** resalta el contenido verde en la vegetación. Es útil cuando solo se dispone de imágenes RGB o del espectro visible [56].

$$VARI = \frac{R_{550} - R_{650}}{R_{550} + R_{650} - R_{450}}, \quad (3.2)$$

donde R_{550} es la reflectancia en el verde, R_{650} es la reflectancia en el rojo, R_{450} es la reflectancia en el azul.

CUADRO 3.1: Valores de índices en el Lado A

Estado	VARI	RSI
Sana	0.286	0.746
Enferma	0.265	0.616
Deshidratada	0.439	0.560

CUADRO 3.2: Valores de índices en el Lado B

Estado	VARI	RSI
Sana	0.286	0.746
Enferma	0.265	0.616
Deshidratada	0.439	0.560

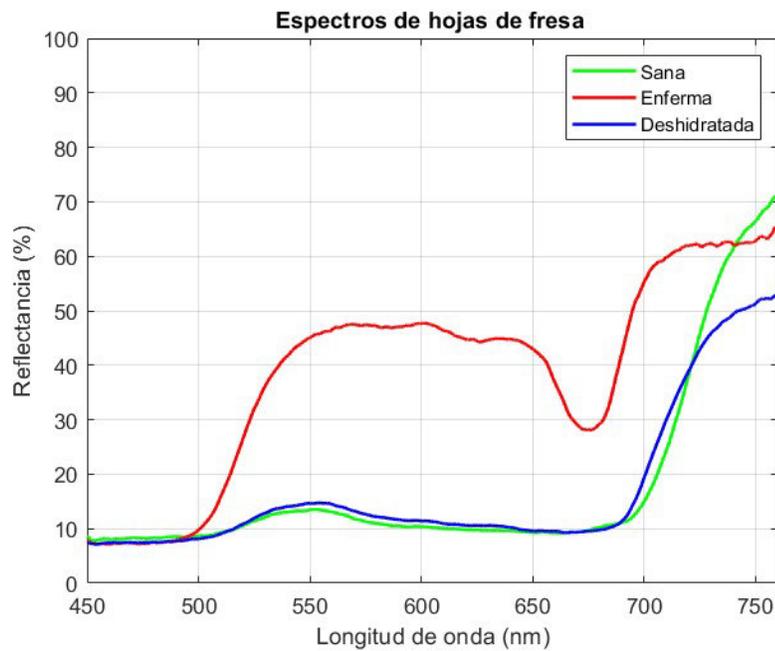


FIGURA 3.12: Espectro de reflectancia correspondiente al lado “B” de una hoja de fresa. *Figura generada por la autora.*

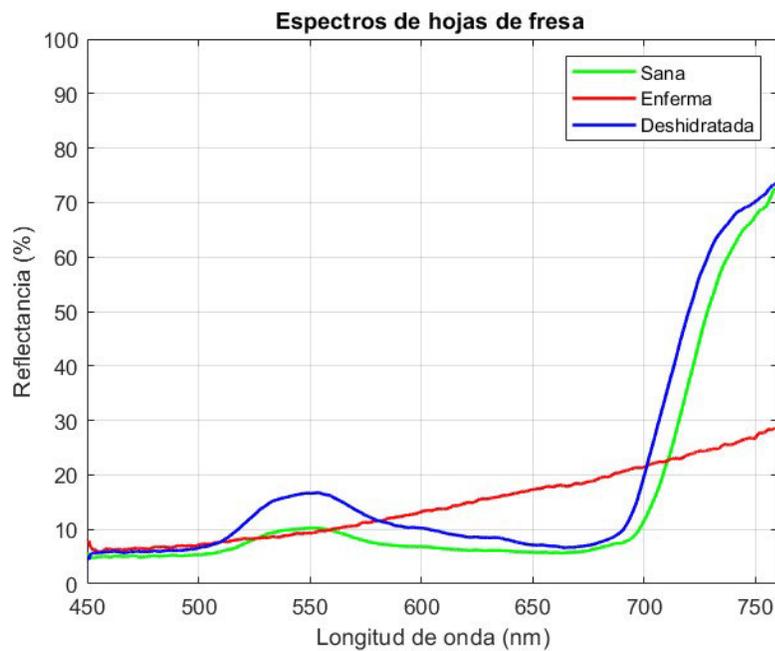


FIGURA 3.13: Espectro de reflectancia correspondiente al lado “C” de una hoja de fresa. *Figura generada por la autora.*

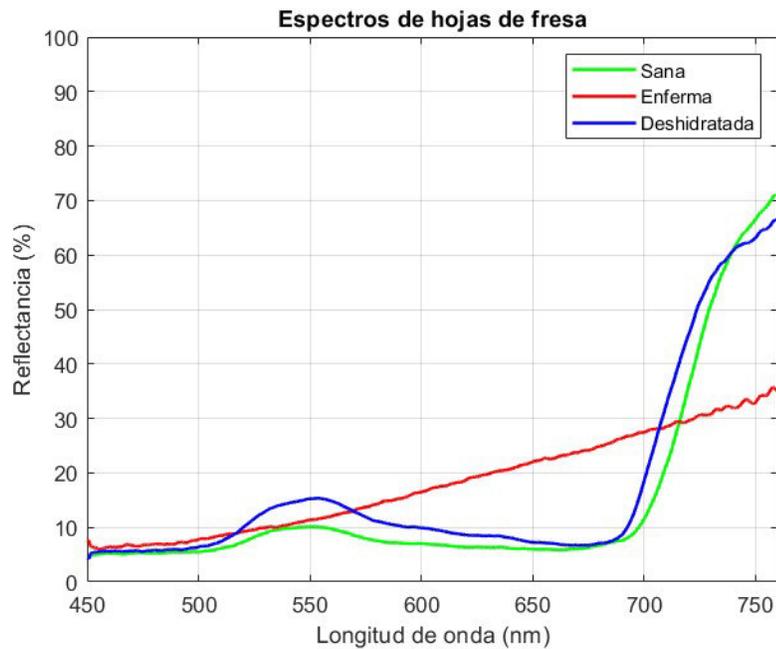


FIGURA 3.14: Espectro de reflectancia correspondiente al lado “D” de una hoja de fresa. *Figura generada por la autora.*

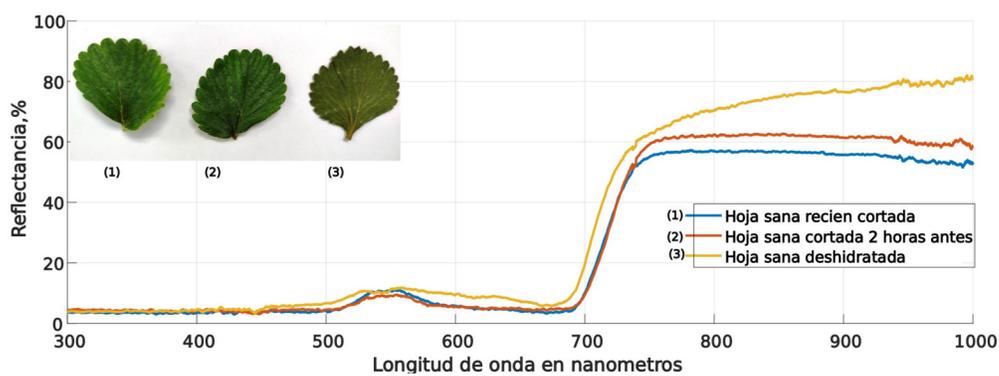


FIGURA 3.15: Espectro de reflectancia de una hoja deshidratada, obtenido con una lámpara que permitió extender el rango de medición hasta los 1000 nm. Se observa un cambio significativo después de los 750 nm, superando el límite espectral alcanzado en otras mediciones. *Figura generada por la autora.*

3.3.3. Limitaciones y desafíos

La medición no destructiva sobre la hoja solo se centraba en un punto de un solo lado de esta; esto solo nos proporcionaba información sobre un área específica de la hoja. Esto se modificó partiendo la hoja en cuatro, para tener cuatro puntos de medición; sin embargo, la hoja no es homogénea, por lo que aún no se captura la distribución espacial heterogénea del contenido de clorofila dentro de ella [23].

Un desafío fue construir un sistema óptico en reflectancia donde se pudieran acomodar dos fibras ópticas con el mismo ángulo siempre, es decir, para poder repetir estas mediciones y hacerlas reproducibles. Para ello, se compró un adaptador que colocara las fibras a 90 y 45 grados. Después de esto, se pudo obtener la confianza de medir, y se comprobó que cada vez que se repetían las mediciones se obtenían los mismos datos, los cuales eran confiables.

El estrés hídrico es un factor crítico que limita el desarrollo de los cultivos. Aunque existen métodos ópticos que permiten inferir este tipo de estrés a partir de la temperatura de la hoja, en el presente trabajo no se logró determinar esta variable de forma directa. Sin embargo, el análisis realizado permite abrir nuevas líneas de investigación relacionadas con el comportamiento fisiológico de las plantas, particularmente en lo referente al cierre estomático, el cual reduce la transpiración y, por ende, el enfriamiento evaporativo. Este proceso provoca un aumento en la temperatura foliar, que puede ser medido con sensores térmicos. Además, se ha reportado que ciertos patógenos como *Verticillium dahliae* inducen estrés hídrico al reducir la transpiración, lo cual, paradójicamente, disminuye la temperatura foliar debido a la menor actividad metabólica [19].

3.3.4. Limitaciones para la implementación del modelo PROSPECT

Durante el desarrollo de este trabajo se exploró la posibilidad de aplicar el modelo radiativo PROSPECT-5 con el fin de estimar parámetros biofísicos de las hojas de fresa. Sin embargo, su implementación requería condiciones que no pudieron ser satisfechas dentro del alcance del presente estudio. Entre las principales limitaciones se encuentran: ausencia de datos experimentales directos: no se contó con mediciones físicas o de laboratorio del contenido de clorofila, agua o materia seca de las hojas analizadas, lo que imposibilitó validar o restringir los parámetros estimados mediante el modelo. Por lo anterior, se decidió no incorporar el modelo PROSPECT en el análisis principal. No obstante, se reconoce su potencial valor como herramienta de diagnóstico espectral, por lo que se sugiere como línea futura de trabajo con apoyo de mediciones biofísicas complementarias [17], [57].

Capítulo 4

Resultados

Este capítulo presenta los resultados obtenidos tras el análisis espectral de hojas de fresa (*Fragaria × ananassa*) en tres condiciones fisiológicas: sanas, enfermas y deshidratadas. Se adquirieron un total de 325 espectros en el rango de 400 a 750 nm, bajo condiciones experimentales controladas, mediante un sistema óptico de medición en modo reflectancia.

Los espectros fueron suavizados usando el filtro de Savitzky–Golay, observese en la figura 4.2 para preservar la forma espectral original sin pérdida significativa de información. Posteriormente, se descartaron varios índices espectrales ampliamente utilizados en teledetección vegetal (NDVI, SR, PRI), debido a que requieren bandas fuera del rango espectral disponible o muestran comportamientos inconsistentes en vegetación moderadamente estresada.

Como parte del análisis, se propusieron dos índices espectrales personalizados: el Índice Óptico de Enfermedad Vegetal (IOEV), diseñado para detectar alteraciones de pigmentación relacionadas con enfermedad o senescencia, y el Índice de Estrés Hídrico Avanzado (IEHA), sensible a cambios estructurales asociados a deshidratación severa. Ambos índices mostraron buena capacidad para diferenciar hojas según su estado fisiológico.

Para evaluar la posibilidad de clasificación automática, se aplicaron técnicas de reducción de dimensionalidad: Análisis de Componentes Principales (PCA) y Análisis Discriminante Lineal (LDA). Mientras que el PCA no logró una separación clara entre clases, el LDA sí evidenció agrupamientos coherentes según la condición foliar, mostrando así su potencial como herramienta exploratoria en estudios futuros de clasificación supervisada.

Los resultados obtenidos permiten sentar bases sólidas para el desarrollo de herramientas ópticas de diagnóstico rápido, no destructivo, y aplicable in situ al monitoreo de cultivos agrícolas en condiciones reales.

4.1. Espectros de reflectancia

Se pueden observar los espectros de reflectancia obtenidos de las hojas de fresa en la Figura 4.1, correspondientes a 3 condiciones de salud como se ve en la Figura 4.3. Las mediciones se realizaron de los 400 a 750 nm, utilizando un espectrómetro y una

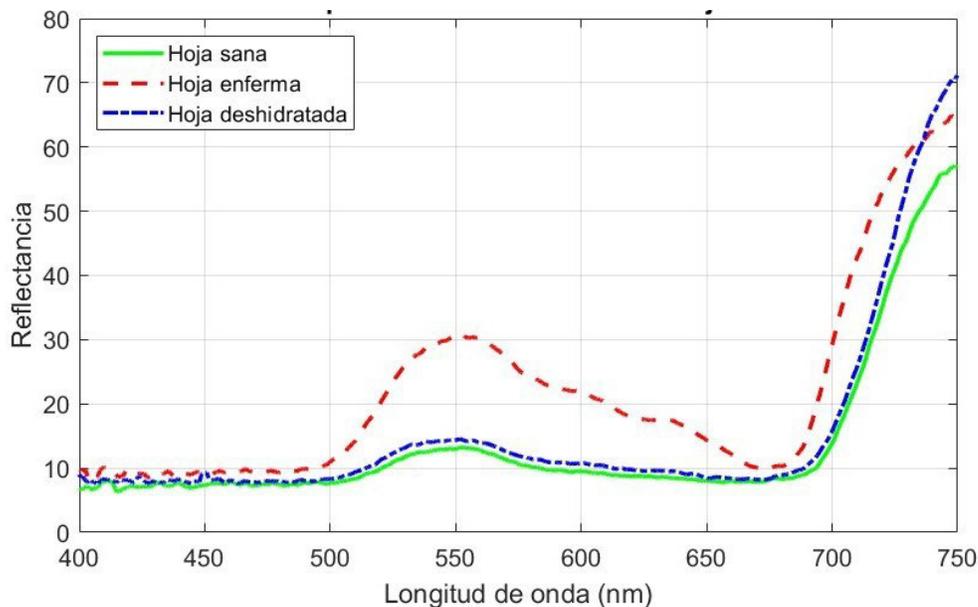


FIGURA 4.1: Espectros de reflectancia en el rango de 400 a 750 nm de hojas de fresa (*Fragaria × ananassa*) bajo tres condiciones fisiológicas: sana, enferma y deshidratada. Se observa un incremento en la reflectancia en la región del rojo (>700 nm), asociado al fenómeno del borde rojo (*red edge*), con diferencias significativas en la forma espectral entre las muestras.

Figura generada por la autora.

fuentes halógenos e integrados a un sistema en modo reflectancia como está explicado en el apartado de la metodología, Sección 3.2.

En los espectros de reflectancia se observa que las **hojas sanas** presentan una baja reflectancia en el azul, es decir, por los 400-500 nm, y en el rojo aproximadamente entre los 600 y 680 nm; esto se debe a la absorción de clorofila. La reflectancia aumenta de manera notoria a partir de los 700 nm, generando este aumento con una característica pendiente característica del borde rojo descrito en la sección 2.9.1. En comparación, las **hojas enfermas** muestran una reflectancia más alta en el rojo y en todo el visible y una pendiente menos pronunciada; esto es característico y debido a la pérdida del verde que es necesario para realizar la fotosíntesis en hojas verdes como la de fresa [13]. Las **hojas deshidratadas** se mantienen en reflectancia muy parecida a la sana en el rango del visible, pero presentan una reflectancia mayor en el comienzo del infrarrojo cercano (700, 750 nm), lo cual podría indicar alteraciones en la estructura interna que afectan la dispersión de la luz, como el mesófilo foliar que se ve afectado por el estrés hídrico, reduciendo la absorción y aumentando la reflectancia [35].

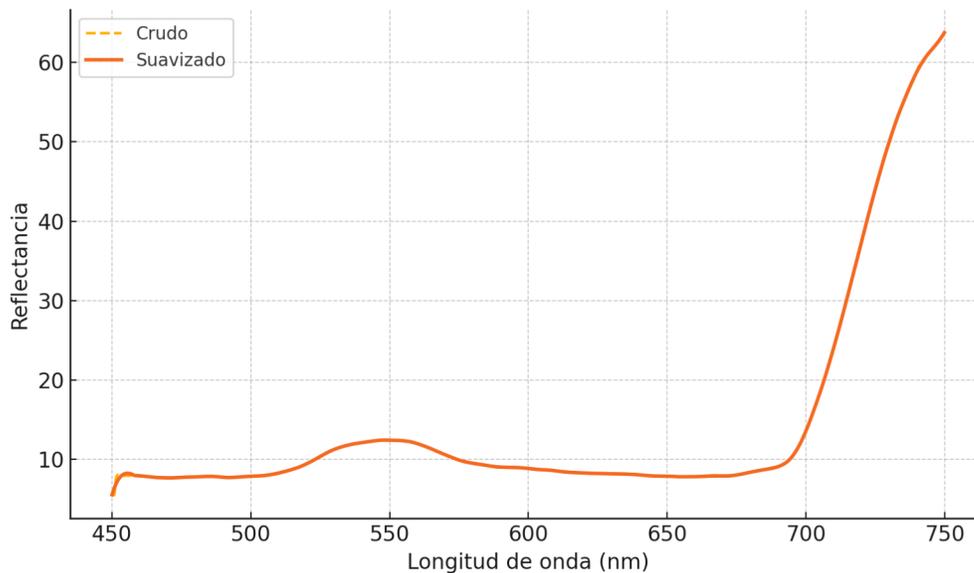


FIGURA 4.2: Reflectancia cruda y reflectancia suavizada mediante el filtro de Savitzky-Golay en el rango de 450–750 nm para el lado A de hojas de fresa. La suavización mantiene la forma general del espectro con mínimas modificaciones, lo que indica que las señales originales son estables y de buena calidad. Este proceso mejora la precisión para el cálculo de índices espectrales sin alterar la información espectral significativa.

Figura generada por la autora.



FIGURA 4.3: Ejemplo representativo de la apariencia de las hojas utilizadas en este estudio. Las mediciones se iniciaban siempre con la hoja sana, no excediendo los 30 minutos entre muestras. La hoja deshidratada presentaba pérdida notable de turgencia, aunque aún conservaba el color verde. *Imagen tomada por la autora.*

4.2. Parámetros determinados

A partir de los espectros ópticos obtenidos se calcularon diversos parámetros que permiten evaluar el estado fisiológico de las hojas de fresa. Estos parámetros están basados en relaciones espectrales sensibles a la presencia de pigmentos fotosintéticos, contenido de agua y alteraciones estructurales del tejido vegetal. La aplicación de estos índices ópticos permite caracterizar de forma no destructiva las condiciones de salud foliar bajo distintos tipos de estrés, como enfermedad y deshidratación [35], [42].

4.2.1. Índices descartados

La principal razón por la que algunos índices fueron descartados fue por las limitaciones en el instrumental; los datos recogidos solo muestran información de utilidad entre los 450-750 nm. Durante el proceso de análisis espectral, se evaluaron diversos índices vegetativos conocidos en la literatura, tales como el NDVI, SR (Simple Ratio), y PRI, con el objetivo de correlacionarlos con el estado de salud foliar. Sin embargo, estos índices fueron descartados en esta investigación debido a una o más de las siguientes razones:

- **Limitaciones espectrales:** muchos de estos índices requieren bandas en el infrarrojo cercano superiores a 800 nm (como NDVI o SR), las cuales no fueron accesibles con el sistema espectral empleado (rango limitado a 400–750 nm).
- **Poca sensibilidad a cambios sutiles:** algunos índices estándar no permitieron distinguir con claridad entre hojas sanas, enfermas y deshidratadas, especialmente en regiones del visible donde se manifestaban diferencias fisiológicas más notorias.
- **Comportamiento inconsistente:** algunos índices arrojaban resultados contradictorios entre hojas de la misma clase, lo cual restaba confiabilidad al análisis.

El PRI requiere un control estricto de la iluminación y presenta fluctuaciones que dificultan su interpretación sin datos fisiológicos adicionales, en estudios con espectros de rango reducido o con variabilidad en la superficie foliar. Como el presente trabajo, el PRI presenta fluctuaciones difíciles de interpretar sin datos simultáneos de asimilación de CO₂ [58]. Por su parte, NDVI y SR se basan en bandas superiores a 800 nm, fuera del rango medido por el sistema espectral empleado, además de presentar problemas de saturación en vegetación con alta cobertura [59], [60]. Por estas razones, se optó por desarrollar e implementar índices espectrales propios, adaptados al rango de medición y a las características fisiológicas específicas del cultivo de fresa. Estos índices, como el IOEV y el índice de estrés hídrico propuesto, demostraron una mejor sensibilidad en la detección de alteraciones por enfermedad y deshidratación, respectivamente. Esto es consistente quienes destacan que la elección del índice debe estar adaptada al sensor, al cultivo y al tipo de estrés analizado [42], [61].

CUADRO 4.1: Índices espectrales descartados en este estudio

Índice	Fórmula	Bandas requeridas	Rango	Motivo de descarte
NDVI	$\frac{R_{NIR} - R_{Red}}{R_{NIR} + R_{Red}}$	850 nm, 680 nm	NIR + Rojo	No se tienen bandas >800 nm; índice pierde sensibilidad sin el NIR completo.
SR	$\frac{R_{NIR}}{R_{Red}}$	850 nm, 680 nm	NIR + Rojo	Requiere banda en NIR no disponible; además puede saturarse en hojas sanas.
PRI	$\frac{R_{531} - R_{570}}{R_{531} + R_{570}}$	531 nm, 570 nm	Visible	Sensible a iluminación variable; requiere datos complementarios de asimilación para interpretación confiable.

4.2.2. Índice Óptico de Enfermedad Vegetal (IOEV) (450-750 nm)

Respetando el rango disponible, se creó un índice especial para este trabajo, determinándolo a partir de los cambios de pigmentación y deshidratación de los 3 tipos de hoja como se visualiza en la Figura 4.3. A partir del análisis estadístico y visual de los espectros medidos en hojas sanas y enfermas, se propuso un índice experimental basado en la diferencia de reflectancia entre dos puntos dentro del borde rojo (Índice óptico de enfermedad vegetal):

$$IOEV = \frac{R_{550} - R_{670}}{R_{670} + R_{750}}, \quad (4.1)$$

donde la R_λ representa la reflectancia de la hoja a la longitud de onda λ en nanómetros.

El numerador ($R_{550} - R_{670}$) captura la diferencia entre la reflectancia en el rango del verde, dominado por la presencia de clorofila, y el rojo, asociado a la absorción por estrés o degradación de pigmentos. El denominador ($R_{670} + R_{750}$) incorpora una normalización que toma en cuenta la respuesta en el inicio del infrarrojo cercano (750 nm), la cual tiene relación con la estructura celular interna y los niveles de hidratación del tejido vegetal [62]. Este índice refleja la pendiente del borde rojo, que disminuye notoriamente en hojas afectadas por cambios de color y senescencia, principalmente.

Esto nos quiere decir que los valores bajos del IOEV están asociados a hojas sanas con alta concentración de clorofila (una coloración verde) y estructura celular intacta, mientras que valores elevados indican estrés, ya sea por deshidratación o enfermedad [35].

Este índice fue aplicado a espectros suavizados mediante el filtro Savitzky-Golay (Figura 4.2) en el rango de 450 a 750 nm. Posteriormente, se analizó por secciones (lados

A, B, C y D) como previamente se visualiza en la Figura 3.1 de cada hoja para capturar variaciones espaciales internas, y se promediaron los resultados para representar el comportamiento global por hoja; este caso, la Figura 4.5 es una de las promediadas.

El siguiente Cuadro 4.2 muestra algunos de los valores que se pudieron obtener con el índice planteado:

CUADRO 4.2: Valores del índice IOEV calculado para 20 hojas de fresa bajo tres condiciones fisiológicas

Hoja	Sana	Deshidratada	Enferma
1	0.0793	0.0770	0.2696
2	0.0811	0.0638	0.2083
3	0.0831	0.0732	0.2411
4	0.0973	0.0821	0.2886
5	0.0632	0.0874	0.1035
6	0.0693	0.0931	0.1564
7	0.0684	0.0824	0.1168
8	0.0698	0.0908	0.1198
9	0.0624	0.0851	0.1019
10	0.0557	0.0966	0.1312
11	0.0690	0.0854	0.1537
12	0.0679	0.0643	0.1427
13	0.0741	0.0635	0.1358
14	0.0646	0.0821	0.1343
15	0.0690	0.0537	0.1261
16	0.0921	0.0880	0.1141
17	0.0553	0.0748	0.1329
18	0.0577	0.0908	0.1536
19	0.0597	0.0818	0.1322
20	0.0571	0.0800	0.1653

En la siguiente Figura 4.4 podemos observar la distribución de los valores del índice (IOEV) donde se pueden observar tendencias diferenciadas, especialmente se nota en las hojas enfermas el cual muestra una mayor dispersión de valores significativamente altos; es la respuesta a coloraciones muy distintivas de la senescencia de las hojas (amarillos y cafés). Este comportamiento valida de manera preliminar el uso del IOEV como un posible descriptor óptico de enfermedad de las hojas de las plantas:

4.2.3. Escala IOEV

Con la finalidad de comprensión visual del índice óptico de enfermedad vegetal, se desarrolló una versión primera de una escala con valores cualitativos que relaciona los rangos numéricos obtenidos del índice del estado de salud de las hojas de fresa. Esta escala incluso muestra umbrales extremos porque las hojas analizadas presentaban

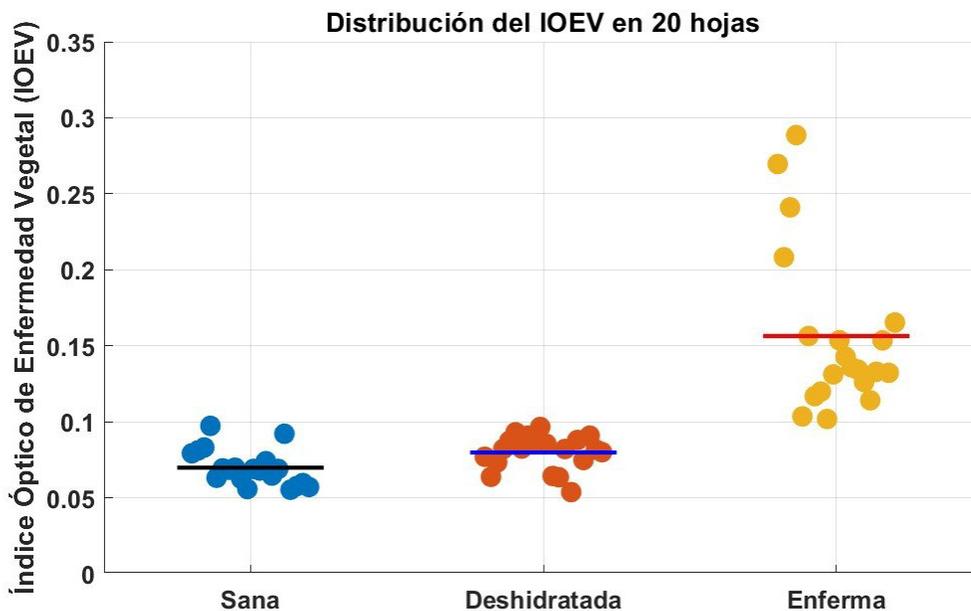


FIGURA 4.4: Distribución del Índice Óptico de Enfermedad Vegetal (IOEV) calculado para 20 hojas de fresa clasificadas como sanas, deshidratadas y enfermas. Los puntos individuales representan el valor promedio del IOEV de los cuatro lados de cada hoja, mientras que las líneas horizontales indican el promedio general por categoría. *Figura generada por la autora.*

coloraciones senescentes. La construcción de esta escala tiene el objetivo de expandirla, refinarla con un mayor número de muestras y abarcando más longitudes de onda, también incorporando distintos grados de daño y condiciones de enfermedad. De esta forma se busca consolidar un instrumento útil para ayudar al agricultor a tomar decisiones y a la clasificación automatizada de los cultivos en dispositivos portátiles para diagnosticar las enfermedades en el campo, el cuadro 4.3 se observa la escala de clasificación del índice IOEV, basada en espectros de reflectancia obtenidos de 20 hojas de fresa con diferentes condiciones fisiológicas. Cada intervalo representa un nivel estimado de salud foliar, determinado a partir de valores promedio observados experimentalmente.

CUADRO 4.3: Escala del Índice IOEV para hojas de fresa

Muy Sana	Sana	Zona Intermedia	Enferma	Extremadamente Enferma
0.00 – 0.06	0.06 – 0.10	0.10 – 0.13	0.13 – 0.26	0.26 – 0.35

4.2.4. Índice de deshidratación (450-750 nm)

Como se ha mencionado en la Sección 2.7, un ejemplo de lo que ha detectado la espectroscopia en el Visible Infrarrojo es la detección de las enfermedades como Huanoglobina (HLB) en los cítricos y el tizón tardío en los tomates, y detectó dos cepas de *Fusarium oxysporum*, un hongo que causa la marchitez en las hojas de tomate [4]. Se hizo



FIGURA 4.5: Hojas de fresa en las diferentes condiciones (sana con apariencia verde, enferma con cambios de coloración derivados de algún padecimiento, hoja deshidratada/seca que aun conserva el color verde pero cambios en su estructura interna debido a la ausencia de agua). *Imagen tomada por la autora.*

una comparación con la hoja que es verde y sana y la hoja deshidratada. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Jain *et al.* (2021), quienes destacan que la disminución del contenido de agua afecta principalmente la reflectancia en el infrarrojo cercano debido a cambios en la estructura celular y la reducción del enfriamiento evaporativo, fenómeno detectable por sensores ópticos [20]. El índice fue creado bajo las condiciones y los alcances de equipo, los 550 y los 700 nm particularmente en condiciones extremas de estrés hídrico como se visualiza en la Figura 4.6, porque la hoja está completamente seca y solo así se puede observar en los espectros una diferencia en el porcentaje de reflectancia. Se diseñó con base en los cambios espectrales observables entre hojas sanas y secas en la región visible y el borde rojo. La estructura del índice es coherente con lo propuesto en el siguiente artículo [2] quienes desarrollaron índices NDI personalizados para estimar la actividad fotosintética y el estrés hídrico en trigo a partir de combinaciones espectrales entre 545–740 nm.

$$\text{IEHA} = \frac{R_{700} - R_{550}}{R_{700} + R_{550}}, \quad (4.2)$$

donde R_{700} es la reflectancia a 700 nm (zona de transición al NIR), R_{550} es la reflectancia a 550 nm (visible medio, sensible a cambios estructurales).

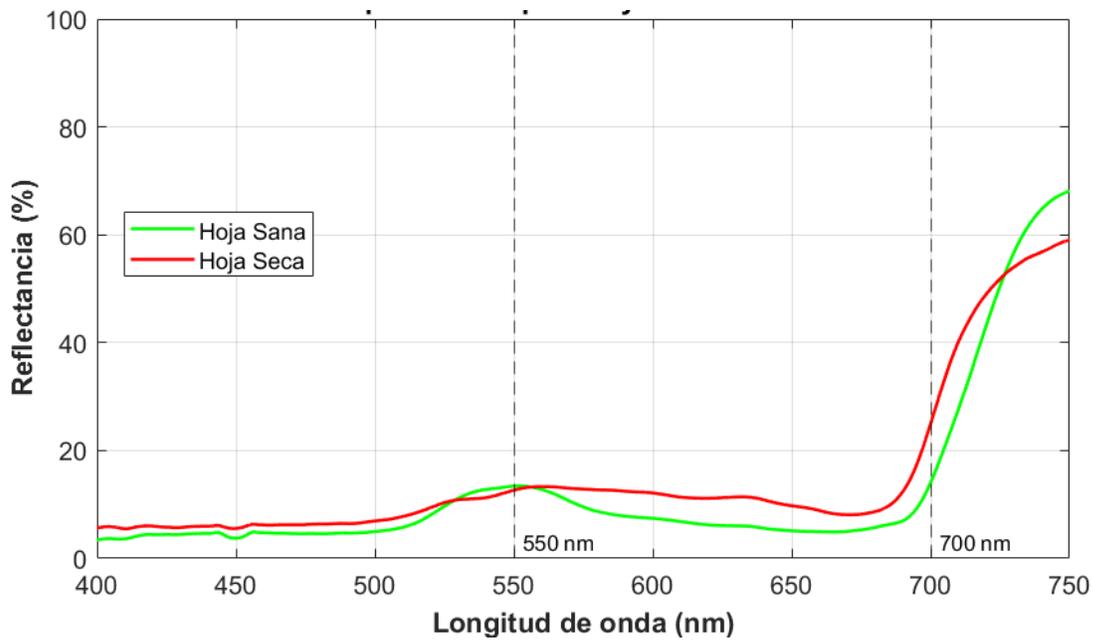


FIGURA 4.6: Gráfica representativa que muestra cambios significativos en el espectro de reflectancia de una hoja completamente deshidratada (seca) entre los 550 nm y 700 nm. A partir de este comportamiento espectral surgió la propuesta de desarrollar un índice específico para evaluar el estrés hídrico. *Figura generada por la autora.*

CUADRO 4.4: Valores del índice IEHA en hojas sanas y deshidratadas

Hoja	IEHA (Sana)	IEHA (Seca)
1	0.0324	0.0473
2	0.0458	0.0516
3	0.0247	0.0635
4	0.0141	0.0453
5	0.0666	0.1269
6	0.0679	0.1082
7	0.0571	0.1249
8	0.0520	0.1201
9	0.0493	0.1186
10	0.0520	0.1201
11	0.0235	0.3279
12	0.0089	0.3265
13	0.0493	0.0781
14	0.0552	0.0654
15	0.0342	0.0541
16	0.0438	0.0743
17	0.0683	0.0982
18	0.0808	0.0882
19	0.0355	0.0533
20	0.0819	0.0893

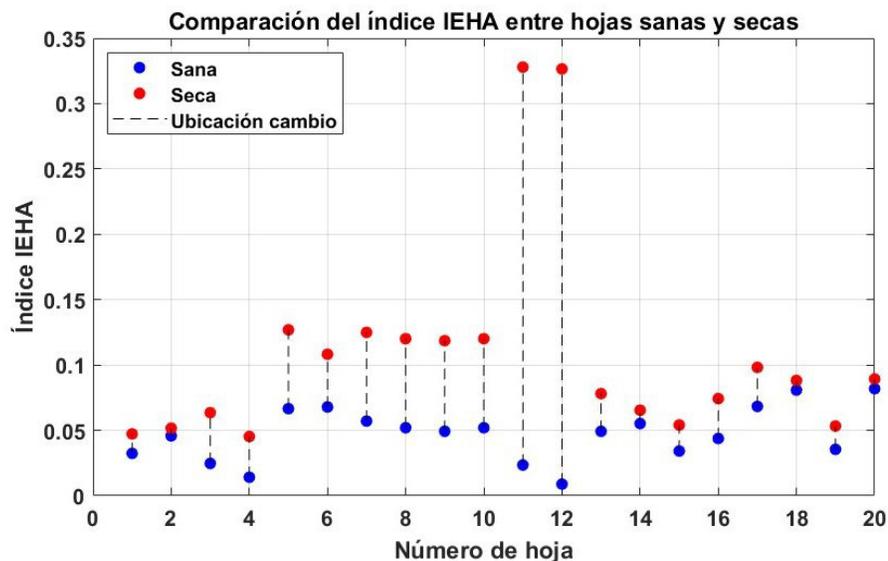


FIGURA 4.7: Comparación del Índice de Estrés Hídrico Avanzado (IEHA) en 20 hojas sanas (azul) y 20 hojas secas (rojo). Todas las hojas fueron recolectadas en estado sano; la mitad fueron evaluadas de inmediato, mientras que la otra mitad se dejaron secar de forma controlada hasta alcanzar un estado de deshidratación extrema. La gráfica muestra un aumento consistente del IEHA en las hojas secas, lo que demuestra la sensibilidad del índice para detectar pérdidas severas de agua en tejido foliar. *Figura generada por la autora.*

El cuadro 4.4 muestra los valores del Índice de Estrés Hídrico Avanzado (IEHA) calculados para 20 pares de hojas de fresa, comparando hojas sanas y hojas secas. Aunque el índice permite observar diferencias entre ambos grupos, su sensibilidad en el rango visible resulta limitada, particularmente en condiciones de estrés hídrico que no son extremas.

Esta limitación sugiere que el IEHA, en su forma actual, es más útil para detectar estados avanzados de deshidratación, pero no es suficientemente sensible para identificar fases tempranas del estrés hídrico. Lo anterior refuerza la necesidad de extender el análisis hacia regiones espectrales más allá de los 750 nm, particularmente en el infrarrojo cercano (NIR), donde la respuesta óptica al contenido hídrico del tejido vegetal es más pronunciada, esto debido a la pérdida de turgencia foliar que es una manifestación visible del estrés hídrico severo. Cuando la hoja se deshidrata, las células pierden agua, lo que provoca el colapso estructural del tejido y una reducción del volumen celular, condiciones que fueron observadas en el presente experimento para clasificar a las hojas como «secas» [63].

A pesar de ello, esta tabla es útil así como la Figura 4.7 como referencia base para futuras comparaciones y como parte del desarrollo de un índice más robusto y específico en estudios posteriores.

4.2.5. Análisis de reducción de dimensionalidad

Se recopilaron 325 espectros correspondientes a tres tipos de hojas: sanas, enfermas y deshidratadas. Para facilitar su análisis e interpretación, se aplicaron técnicas estadísticas de reducción de dimensionalidad, específicamente Análisis de Componentes Principales (PCA) y Análisis Discriminante Lineal (LDA). Estas herramientas permiten representar gráficamente los datos espectrales de alta dimensionalidad en espacios de dos o tres dimensiones, resaltando patrones de agrupamiento y separabilidad entre clases.

Cabe destacar que la clasificación utilizada en este análisis fue manual; es decir, las etiquetas (sana, enferma o deshidratada) se asignaron con base en el nombre del archivo. En el caso de PCA, que no utiliza etiquetas, se observó cierta dispersión entre las clases, ya que esta técnica proyecta los datos maximizando la varianza general, sin considerar la información de clase. En cambio, el LDA mostró una mayor capacidad de separación entre las categorías, al proyectar los datos en función de su pertenencia de clase, lo que permitió visualizar si los espectros de un mismo tipo de hoja se agrupaban de manera coherente y cuáles quedaban fuera del rango esperado.

Este análisis es de carácter exploratorio y descriptivo; sin embargo, constituye un paso importante hacia una clasificación automática. En trabajos futuros se propone ampliar el conjunto de datos para incluir más condiciones foliares y aplicar algoritmos de aprendizaje automático supervisado o no supervisado, como clustering, para automatizar la identificación del estado de las hojas a partir de sus espectros.

Dada la eficiencia para clasificar que presentó visualmente LDA (Análisis discriminante lineal) sobre el conjunto de espectros de reflectancia normalizados para evaluar la capacidad de separación entre hojas sanas, enfermas y deshidratadas. El modelo fue entrenado y evaluado sobre las 325 muestras disponibles.

Los resultados obtenidos fueron altamente satisfactorios, mostrando una **precisión total del 99.69 %**. A continuación, se presenta el reporte de clasificación:

CUADRO 4.5: Reporte de clasificación del modelo LDA sobre los espectros de hojas.

Clase	Precisión	Recall	F1-Score	Soporte
Sana	0.99	1.00	1.00	108
Enferma	1.00	0.99	1.00	106
Seca	1.00	1.00	1.00	111
Total	1.00	1.00	1.00	325

El Cuadro 4.5 nos dice lo siguiente: la precisión indica: de todas las veces que el modelo clasificó una hoja como perteneciente a una clase «X», ¿cuántas veces fue correcto? El recall responde a: de todas las hojas que realmente eran de la clase «X», ¿cuántas fueron correctamente detectadas? El F1-score es una medida armonizada entre precisión y recall, ideal en este tipo de casos donde pueden existir ligeros desbalances entre

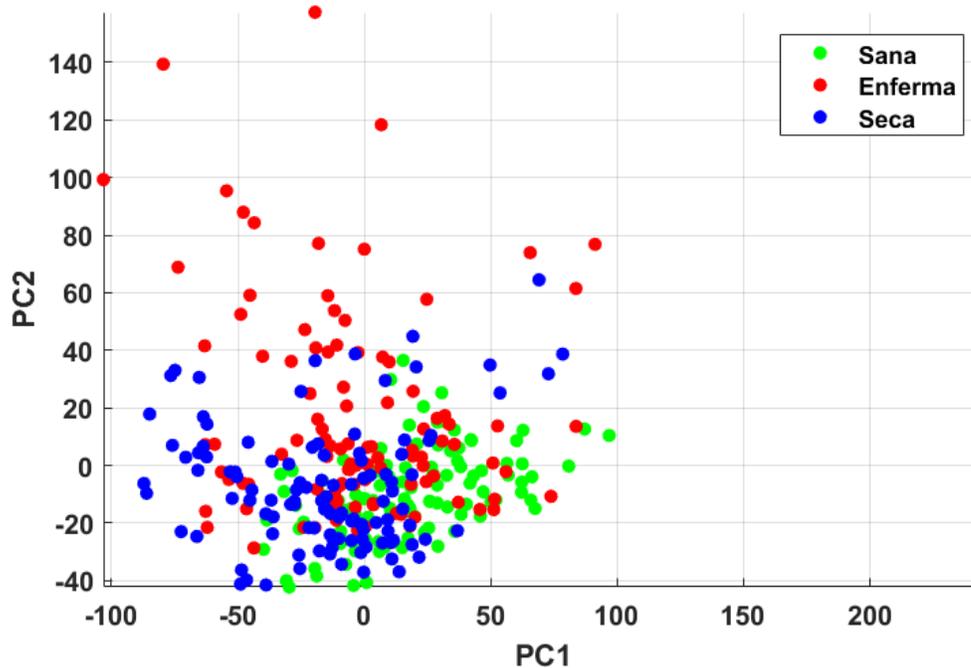


FIGURA 4.8: Proyección de los espectros foliares mediante Análisis de Componentes Principales (PCA). No se observa una separación clara entre las clases fisiológicas de las hojas (sana, enferma y deshidratada), lo que sugiere una baja capacidad discriminativa de esta técnica para este conjunto de datos. *Figura generada por la autora.*

clases [47], [64]. Este desempeño sugiere que las características espectrales procesadas con LDA permiten una clasificación efectiva de las hojas según su condición fisiológica. A diferencia del análisis con PCA, donde no fue posible observar una separación clara entre las clases, el espacio discriminante generado por LDA logra una segmentación óptima de los grupos, como se muestra en la Figura 4.10.

4.3. Discusión de resultados

Los resultados de esta tesis no pueden ser directamente comparables con estudios que usaron métodos diferentes, a menos que se realicen estudios de calibración iguales y específicos como los ya mencionados en la metodología [9].

La configuración experimental en modo reflectancia fue diseñada debido a la necesidad de obtener estas mediciones sin que se viera afectada por la luz externa y además contiene componentes accesibles y replicables, por lo que esto sugiere dar partida a que se puede adaptar a otros cultivos y condiciones reales en el campo. Aunque este trabajo fue realizado en un ambiente controlado de laboratorio, los patrones espectrales observados coinciden con las referencias reportadas en estudios de campo abierto; esto valida la justificación y objetivo del trabajo.

La importancia de señalar que se limitó de los 400-750 nm recalca por qué no fueron

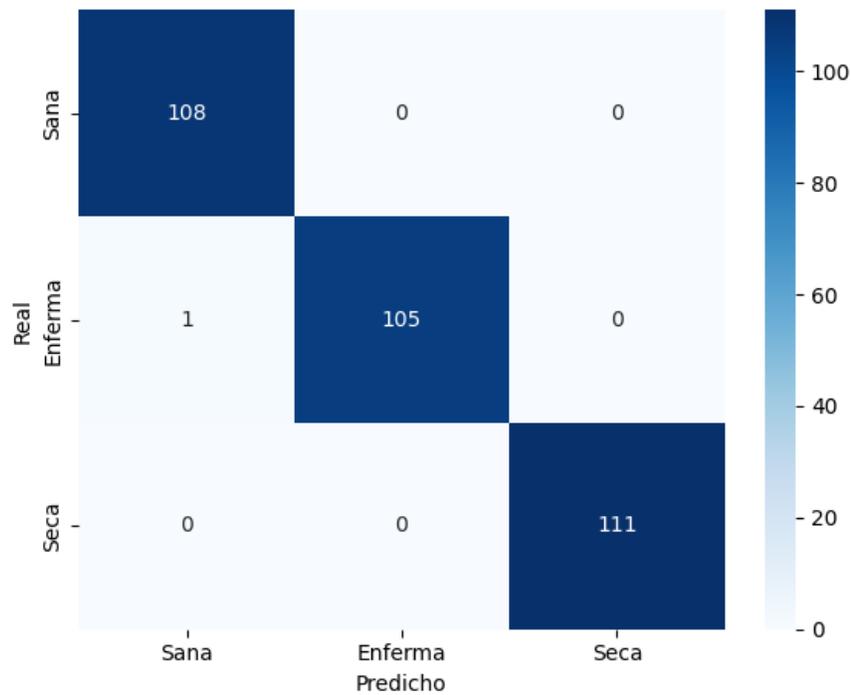


FIGURA 4.9: Matriz de confusión del modelo LDA aplicado a los espectros de hojas. Se observa una alta capacidad de clasificación, con 108 hojas sanas, 105 hojas enfermas y 111 hojas secas correctamente clasificadas. Solo se registró un error de clasificación, correspondiente a una hoja enferma etiquetada como sana. La precisión total fue del 99.69%. *Figura generada por la autora .*

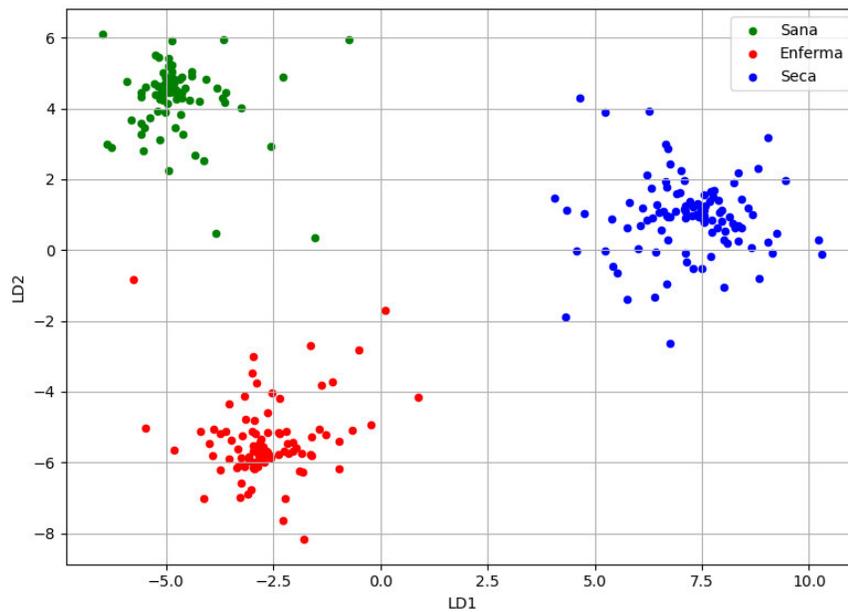


FIGURA 4.10: Proyección de los espectros foliares mediante Análisis Discriminante Lineal (LDA). Se observa una clara separación entre hojas sanas, enfermas y secas (deshidratadas), lo que indica una alta capacidad discriminativa del modelo. *Figura generada por la autora.*

incluidos gran variedad de índices ópticos de vegetación que necesitaban otras variables como coeficiente de absorción y porcentaje de masa seca. Además de que estas mediciones fueron realizadas de manera puntual y hoja por hoja, futuras investigaciones podrían integrar el uso de imágenes hiperespectrales y térmicas.

Se calculó el Índice Óptico de Enfermedad Vegetal (IOEV), una métrica diseñada en esta tesis para clasificar el estado de salud foliar a partir de valores espectrales. En el Cuadro 4.3 se muestra su distribución para tres grupos de hojas: sanas, deshidratadas y enfermas. Las hojas sanas se concentraron en los rangos "muy sana"(0.00–0.06) y "sana"(0.06–0.10), mientras que las hojas deshidratadas se mantuvieron en la franja "zona intermedia"(0.10–0.13), sin alcanzar valores característicos de enfermedad representados en la Figura 4.4. Por otro lado, las hojas clasificadas como enfermas mostraron valores IOEV mayores y dispersos, ubicándose en los rangos «enferma» (0.13–0.26) y «extremadamente enferma» (0.26–0.35), lo cual concuerda con su condición fisiológica observada. Esta separación sugiere que el IOEV es un índice sensible a alteraciones estructurales o pigmentarias asociadas a enfermedades, y que podría ser útil para distinguir entre daño fisiológico por estrés hídrico y enfermedad activa, aportando una nueva herramienta de clasificación espectral. Los resultados del índice IOEV adaptado a las longitudes de onda nos demuestran que las hojas deshidratadas de fresa muestran mayor reflectancia en el NIR, lo cual puede interpretarse como una respuesta menos eficiente ante estrés lumínico [38].

A lo largo del análisis realizado con el Índice de Estrés Hídrico Avanzado (IEHA), se observó que su capacidad para discriminar entre hojas sanas y hojas con deshidratación es limitada cuando se trabaja únicamente en el rango visible del espectro electromagnético (400–750 nm). Si bien en condiciones de deshidratación avanzada los valores del índice presentan una diferencia apreciable, esta distinción se reduce considerablemente en etapas tempranas del estrés hídrico, comprometiendo así su efectividad como herramienta de diagnóstico preventivo, ya que en la deshidratación leve de las hojas es imperceptible para estos rangos de longitudes de onda.

Esta observación evidencia una debilidad muy grande al uso exclusivo del visible para detectar estrés hídrico, ya que las bandas más sensibles al contenido de agua en el tejido vegetal se encuentran en el infrarrojo cercano (NIR). En consecuencia, aunque el IEHA puede ser útil en condiciones extremas, no se recomienda como único parámetro para evaluar el estado hídrico de las plantas. Esto refuerza la necesidad de incorporar longitudes de onda superiores a 900 nm en futuros estudios y el desarrollo de sensores más específicos para la detección temprana del estrés hídrico.

Con el objetivo de explorar métodos estadísticos para clasificar hojas de fresa en diferentes estados fisiológicos (sana, enferma y deshidratada), se aplicaron técnicas de reducción de dimensionalidad: Análisis de Componentes Principales (PCA) y Análisis Discriminante Lineal (LDA).

En la Figura 4.8, se muestra la proyección de los datos mediante PCA. Este método, aunque útil para visualizar la varianza global de los espectros, no logra una separación clara entre las clases, lo que indica que la información de clase no está alineada con las

componentes principales.

Por otro lado, la Figura 4.10 ilustra la proyección con LDA. Este método sí incorpora la información de clase durante la reducción dimensional, logrando separar de forma efectiva los tres grupos de hojas. Esto sugiere que LDA es una herramienta más adecuada para la clasificación supervisada en este contexto, y representa una dirección prometedora para futuros modelos de clasificación automatizada.

Este análisis confirma que, aunque PCA permite observar patrones generales, LDA proporciona una separación mucho más informativa cuando se cuenta con etiquetas de clase; se destaca que PCA es un método no supervisado que maximiza la varianza total sin necesariamente separar clases, por lo que no garantiza la separación de grupos fisiológicos. En contraste, métodos supervisados como LDA funcionan mejor para clasificación, al aprovechar etiquetas previas de clase, lo que lo hace más efectivo en problemas de clasificación supervisada al observar que LDA era mejor para diferenciar esta clase aplicamos la métrica de matriz de confusión que permite identificar el número de muestras correctamente clasificadas por clase y aquellos errores cometidos por el modelo. A partir de ella, se derivan métricas como: precisión, recall y F1-score. En el presente estudio, estas métricas fueron cercanas a 1.00 en las tres clases (sana, enferma y seca), lo que indica un alto desempeño del modelo LDA. La precisión representa la proporción de verdaderos positivos entre todas las predicciones positivas, mientras que el recall refleja la capacidad del modelo para detectar todas las instancias de una clase. El F1-score combina ambas métricas para ofrecer una visión equilibrada del desempeño por clase [47], [64]-[66].

Los resultados obtenidos en esta tesis tienen aplicaciones en el desarrollo de sistemas ópticos portátiles para monitorear en tiempo real el estado de las hojas de las plantas. Los índices aportados permiten anticipar los cambios en las hojas debido al estrés, lo cual puede contribuir a la toma de decisiones si logramos que sea más sensible el sistema.

4.4. Aportaciones del trabajo

Este trabajo de tesis representa una contribución en el campo de la óptica aplicada a la agricultura de precisión, mediante el diseño, implementación y validación de un sistema de diagnóstico espectral no destructivo para hojas de fresa (*Fragaria × ananassa*) bajo diferentes condiciones fisiológicas. A continuación, se resumen las principales aportaciones científicas, metodológicas y tecnológicas del estudio:

- Se diseñó y construyó un sistema óptico replicable para la adquisición de espectros de reflectancia en el rango de 400–750 nm, utilizando instrumentación de laboratorio accesible y adaptable a condiciones de campo.
- Se propusieron y validaron dos nuevos índices espectrales específicos: el Índice Óptico de Enfermedad Vegetal (IOEV), sensible a variaciones en pigmentación asociadas a enfermedad, y el Índice de Estrés Hídrico Avanzado (IEHA), diseñado

para detectar deshidratación severa a través de cambios en la pendiente espectral del infrarrojo cercano.

- Se caracterizaron experimentalmente 325 espectros correspondientes a hojas en tres estados fisiológicos (sanas, enfermas y deshidratadas), con lo cual se construyó una base de datos útil para futuros estudios de clasificación automatizada.
- Se aplicaron técnicas de reducción de dimensionalidad, particularmente el Análisis Discriminante Lineal (LDA), demostrando su capacidad para separar clases fisiológicas de forma más efectiva que el Análisis de Componentes Principales (PCA).
- Se establecieron fundamentos teóricos y prácticos para el desarrollo de sensores ópticos portátiles, orientados al monitoreo agrícola preventivo y a la toma de decisiones informadas en tiempo real.

Conclusiones

Lograr mediciones precisas con un arreglo para medir en reflectancia requirió tiempo y varios ajustes experimentales. El control manual de los ángulos de incidencia resultó inviable, lo cual es relevante, ya que estos ángulos afectan significativamente los resultados en reflectancia, a diferencia de la transmitancia donde el ángulo no influye pero el grosor del material sí; esto pone en ventaja a reflectancia para ser utilizada en la caracterización de más especies de plantas, no solo de las hojas de fresa. Aunque inicialmente se planeó el uso de una esfera integradora, se encontró una solución práctica y eficaz al cubrir la superficie de la hoja con el mismo adaptador de fibra, lo que permitió aislarla adecuadamente de la luz ambiental externa. En cuanto a las muestras de las hojas, se determinaron 3 estados que fueran visiblemente diferentes en coloración. Exceptuando la hoja seca/deshidratada, se esperaba que en el visible solo en casos extremos nos arrojase un resultado evidente en el espectro observado, porque a pesar de no contener agua, su coloración seguía siendo verde y en casos donde la hoja no estaba tan deshidratada no había cambio alguno en el espectro, como se puede observar en la Figura 3.15.

Uno de los principales logros de este trabajo fue la creación de dos índices espectrales originales: el Índice Óptico de Enfermedad Vegetal (IOEV) y el Índice de Estrés Hídrico Avanzado (IEHA), diseñados específicamente para operar dentro del rango espectral disponible (400–750 nm). Ambos índices demostraron sensibilidad y estabilidad al ser aplicados sobre una base experimental de 325 espectros, evidenciando su utilidad como herramientas de diagnóstico óptico no destructivo. En trabajos futuros se propone aplicar técnicas de reducción de dimensionalidad como PCA, LDA o t-SNE para representar visualmente los espectros y explorar la posibilidad de clasificación automática del estado de las hojas, agregando más variantes y que ahora sí se determine si las plantas están enfermas y no solo cambios de coloración. Estas técnicas permitirían aprovechar toda la información espectral, y no solo los índices seleccionados, para detectar patrones asociados a estrés o enfermedad vegetal. Esto surgió de la necesidad de hacer clasificaciones y agrupaciones más rápidas, pero en el caso de este trabajo, PCA y LDA solo tuvieron el fin de visualizar los datos; aunque aprovechando que LDA usa etiquetas de clases y es reducción de dimensionalidad supervisada a diferencia de PCA, pudimos aplicar una métrica para observar su rendimiento y mostró una clara capacidad para distinguir entre hojas sanas, enfermas y deshidratadas, alcanzando una precisión del 99.69 por ciento. Esto demuestra que LDA no solo es útil como método de proyección supervisado, sino también como un clasificador robusto en el contexto del análisis espectral vegetal, porque en el cálculo de los índices IEHA y IOEV se hicieron de forma

manual y una por una, alentando el proceso de la separación de los estados de la salud de las hojas.

En el análisis de Componentes Principales (PCA) no se logró una separación clara entre clases; el Análisis Discriminante Lineal (LDA) permitió una mejor agrupación de los estados foliares, lo que sugiere su viabilidad como parte de futuros sistemas inteligentes de clasificación.

Los resultados obtenidos permiten sentar las bases para el desarrollo de sistemas ópticos espectrales portátiles orientados a la agricultura de precisión. La metodología propuesta, basada en instrumentación accesible, algoritmos simples y métricas personalizadas, representa una alternativa eficaz y adaptable para el monitoreo temprano de enfermedades y estrés hídrico en cultivos agrícolas. Este trabajo abre la puerta a futuras investigaciones que integren análisis multiespectral, inteligencia artificial y validación en condiciones de campo.

Trabajos presentados

1. Diana Paulina Moreno Miranda, «*Análisis de métodos espectroscópicos en agricultura*» [ponencia presentada], Encuentro Universitario de Óptica y Fotónica, Universidad de Guanajuato, México, 2022.
2. Diana Paulina Moreno Miranda, Oleksiy Shulika, «*Agricultura de precisión y fotónica como pilares de su desarrollo*» [póster presentado], Congreso «Óptica y Fotónica para Aplicaciones 2023», México, noviembre 2023.
3. Diana Paulina Moreno Miranda, Oleksiy Shulika, «*Caracterización óptica: coeficiente de reflectancia en hojas de fresa*» [póster ganador], Congreso «Optical Memories: Open Celebration – International Day of Light 2024», Universidad de Guanajuato, Salamanca, México, mayo 2024.
4. Diana Paulina Moreno Miranda, Oleksiy Shulika, «*Desarrollo sostenible a través de la agrifotónica*», Primer Congreso de Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), Universidad de Guanajuato, México, sep. 2024; DOI: [10.13140/RG.2.2.22241.83040](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.22241.83040)
5. Diana Paulina Moreno Miranda, Oleksiy Shulika, «*Caracterización óptica de hojas de fresa*» [póster presentado], Congreso de la Juventud Científica de Guanajuato 2024, Centro de Investigaciones en Óptica (CIO), León, Guanajuato, México, sep. 2024; DOI: [10.13140/RG.2.2.27550.24641](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.27550.24641)
6. Diana Paulina Moreno Miranda, «*Fotónica aplicada a la agricultura sostenible: reducción del uso del agua vía caracterización óptica en plantas*» [propuesta presentada], Premio Estatal Juvenil del Agua, Guanajuato, México, Marzo 2025.
7. Diana Paulina Moreno Miranda, Oleksiy Shulika, «*Fotónica en la agricultura*» [conferencia], Congreso Agropecuario del Centro Interdisciplinario del Noreste (CINUG 2025), Sede Tierra Blanca, México, Mayo 2025.
8. Diana Paulina Moreno Miranda, Erick R. Baca-Montero, Oleksiy Shulika, «*Optical Memories: Open Celebration of International Day of Light*,» 2025 IEEE Conference on Education and Training in Optics and Photonics (ETOP), art. MC2.5, 4 pages (19 May 2025); DOI: [10.1109/ETOP64842.2025.11030699](https://doi.org/10.1109/ETOP64842.2025.11030699)
9. Diana Paulina Moreno Miranda, Oleksiy Shulika, «*Detección de estrés y deshidratación en hojas de fresa usando espectroscopía VIS-NIR y los índices VARI y RSI*» [póster ganador], Week of Optical and Photonic Engineering and Technology 2025, Universidad de Guanajuato, Salamanca, México, mayo 2025; DOI: [10.13140/RG.2.2.11400.33284](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.11400.33284)

Bibliografía

- [1] E. Bauriegel, A. Giebel, M. Geyer et al., «Early detection of Fusarium infection in wheat using hyper-spectral imaging,» *Computers and Electronics in Agriculture*, vol. 75, n.º 2, págs. 304-312, 2011. DOI: [10.1016/j.compag.2010.12.006](https://doi.org/10.1016/j.compag.2010.12.006).
- [2] F. Abdullaev, D. Churikova, P. Pirogova et al., «Search of Reflectance Indices for Estimating Photosynthetic Activity of Wheat Plants Under Drought Stress,» *Plants*, vol. 14, n.º 1, pág. 91, dic. de 2024, ISSN: 2223-7747. DOI: [10.3390/plants14010091](https://doi.org/10.3390/plants14010091).
- [3] D. Moshou, X.-E. Pantazi, D. Kateris et al., «Water stress detection based on optical multisensor fusion with a least squares support vector machine classifier,» *Biosystems Engineering*, vol. 117, págs. 15-22, 2014. DOI: [10.1016/j.biosystemseng.2013.07.008](https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2013.07.008).
- [4] J. Marin, L. Hoyos-Carvajal y V. Botero Fernandez, «Detección de plantas asintomáticas de *Solanum lycopersicum* L. infectadas con *Fusarium oxysporum* usando espectroscopia de reflectancia VIS,» *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, vol. 12, págs. 436-446, ago. de 2018. DOI: [10.17584/rcch.2018v12i2.7293](https://doi.org/10.17584/rcch.2018v12i2.7293).
- [5] J. J. Bonnin, R. Franco Ibars, P. A. Vera Ojeda et al., «Capacity of a terrestrial optical sensor as a tool to detect nitrogen deficiency in cotton crop por cultivation,» *Investigación Agraria*, vol. 21, n.º 1, págs. 11-22, jun. de 2019, ISSN: 2305-0683. DOI: [10.18004/investig.agrar.2019.junio.11-22](https://doi.org/10.18004/investig.agrar.2019.junio.11-22).
- [6] O. A. N. Montoya, «Estudio de la dinámica de hidratación de plantas bajo estrés hídrico por medio de espectroscopía e imagen de terahertz,» Tesis de mtría., Centro de Investigaciones en Optica A.C, 2016.
- [7] A.-K. Mahlein, «Plant Disease Detection by Imaging Sensors – Parallels and Specific Demands for Precision Agriculture and Plant Phenotyping,» *Plant Disease*, vol. 100, n.º 2, págs. 241-251, 2016. DOI: [10.1094/pdis-03-15-0340-fe](https://doi.org/10.1094/pdis-03-15-0340-fe).
- [8] G. Ariunbold, A. Byopadhyay, K. Parameswaran et al., «Advanced Spectroscopy in Precision Agriculture,» *Optics and Photonics News*, vol. 30, n.º 11, pág. 40, 2019. DOI: [10.1364/opn.30.11.000040](https://doi.org/10.1364/opn.30.11.000040).
- [9] A. Hovi, P. Forsström, M. Möttus et al., «Evaluation of Accuracy and Practical Applicability of Methods for Measuring Leaf Reflectance and Transmittance Spectra,» *Remote Sensing*, vol. 10, n.º 1, pág. 25, dic. de 2017, ISSN: 2072-4292. DOI: [10.3390/rs10010025](https://doi.org/10.3390/rs10010025).

- [10] A. A. A. El-Halim y H. Omae, «Performance Assessment of Chlorophyll Meter to Determine When to Irrigate Wheat under Different Soil Moisture Deficit Conditions: An Initial Study,» *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, vol. 51, n.º 7, págs. 976-984, mar. de 2020, ISSN: 1532-2416. DOI: [10.1080/00103624.2020.1744626](https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1744626). eprint: <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1744626>.
- [11] G. Kirchhoff y R. Bunsen, «Chemische Analyse durch Spectralbeobachtungen,» *Annalen der Physik*, vol. 186, n.º 6, págs. 161-189, ene. de 1860, ISSN: 1521-3889. DOI: [10.1002/andp.18601860602](https://doi.org/10.1002/andp.18601860602).
- [12] J. M. B. Herrera, «Determinación del nivel de nutrientes foliares mediante espectroscopía de reflectancia,» Tesis de maestría., Universidad nacional de Colombia, 2014.
- [13] S. Grebe, A. Porcar-Castell, A. Riikonen et al., «Accounting for photosystem I photoinhibition sheds new light on seasonal acclimation strategies of boreal conifers,» *Journal of Experimental Botany*, vol. 75, n.º 13, H. Griffiths, ed., págs. 3973-3992, abr. de 2024, ISSN: 1460-2431. DOI: [10.1093/jxb/erae145](https://doi.org/10.1093/jxb/erae145).
- [14] G. D. Tan, U. Chaudhuri, S. Varela et al., «Machine learning-enabled computer vision for plant phenotyping: A primer on AI/ML and a case study on stomatal patterning,» *Journal of Experimental Botany*, vol. 75, n.º 21, págs. 6683-6703, 2024. DOI: [10.1093/jxb/erae395](https://doi.org/10.1093/jxb/erae395).
- [15] Y.-H. F. Yeh, T.-C. Lai, T.-Y. Liu et al., «An automated growth measurement system for leafy vegetables,» *Biosystems Engineering*, vol. 117, págs. 43-50, ene. de 2014, ISSN: 1537-5110. DOI: [10.1016/j.biosystemseng.2013.08.011](https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2013.08.011).
- [16] H. W. Gausman y W. A. Allen, «Optical Parameters of Leaves of 30 Plant Species,» *Plant Physiology*, vol. 52, n.º 1, págs. 57-62, jul. de 1973, ISSN: 1532-2548. DOI: [10.1104/pp.52.1.57](https://doi.org/10.1104/pp.52.1.57).
- [17] S. Jacquemoud y F. Baret, «PROSPECT: A model of leaf optical properties spectra,» *Remote Sensing of Environment*, vol. 34, n.º 2, págs. 75-91, 1990. DOI: [10.1016/0034-4257\(90\)90100-z](https://doi.org/10.1016/0034-4257(90)90100-z).
- [18] P. Kubelka, «New Contributions to the Optics of Intensely Light-Scattering Materials. Part II: Nonhomogeneous Layers,» *Journal of the Optical Society of America*, vol. 44, n.º 4, págs. 330-335, 1954.
- [19] G. Messina y G. Modica, «Applications of UAV Thermal Imagery in Precision Agriculture: State of the Art and Future Research Outlook,» *Remote Sensing*, vol. 12, n.º 9, pág. 1491, mayo de 2020, ISSN: 2072-4292. DOI: [10.3390/rs12091491](https://doi.org/10.3390/rs12091491).
- [20] M. Jain, V. Mani, A. Thakur et al., «Remote sensing for plant water content monitoring: A review,» *Environmental Monitoring and Assessment*, vol. 193, n.º 4, págs. 1-22, 2021. DOI: [10.1007/s10661-021-08991-7](https://doi.org/10.1007/s10661-021-08991-7).

- [21] F. Zhang y G. Zhou, «Estimation of Canopy Water Content by Means of Hyperspectral Indices Based on Drought Stress Gradient Experiments of Maize in the North Plain China,» *Remote Sensing*, vol. 7, n.º 11, págs. 15 203-15 223, nov. de 2015, ISSN: 2072-4292. DOI: [10.3390/rs71115203](https://doi.org/10.3390/rs71115203).
- [22] M. T. Page y M. A. Parry, «Shining light on photosynthesis,» *Journal of Experimental Botany*, vol. 76, n.º 6, págs. ---, 2025. DOI: [10.1093/jxb/eraf096](https://doi.org/10.1093/jxb/eraf096). dirección: <https://doi.org/10.1093/jxb/eraf096>.
- [23] T. Kim, J.-I. Kim, M. A. Visbal-Onufrak et al., «Nonspectroscopic imaging for quantitative chlorophyll sensing,» *J. Biomed. Opt.*, vol. 21, n.º 1, pág. 016 008, ene. de 2016, ISSN: 1083-3668. DOI: [10.1117/1.jbo.21.1.016008](https://doi.org/10.1117/1.jbo.21.1.016008).
- [24] E. Olsen, *Métodos ópticos de análisis*, REVERTE, ed. GERSA, 1990, ISBN: 84-2914324-6.
- [25] Wikipedia contributors, *Espectro electromagnético – Wikipedia, The Free Encyclopedia*, https://es.wikipedia.org/wiki/Espectro_electromagnético, Accedido el 14 de junio de 2025.
- [26] E. Hecht, *Optics*, 3. ed. Reading, Mass.: Addison-Wesley, 1998, 694 págs., Bibliography: p681-684. - Includes index. - Previous ed.: 1987, ISBN: 0201838877.
- [27] D. W. Ball, *Field guide to spectroscopy*. SPIE Press, 2006, pág. 110, ISBN: 9780819463524.
- [28] B. E. A. Saleh, *Fundamentals of Photonics* (Wiley Series in Pure and Applied Optics), 2nd edition, M. C. Teich, ed. Chicester: John Wiley & Sons, 2013, 1202 págs., Description based upon print version of record, ISBN: 9781118585818.
- [29] M. Born, *Principles of optics, Electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light*, Seventh (expanded) edition, 13th printing, E. Wolf y A. B. Bhatia, eds. Cambridge [u.a.]: Cambridge University Press, 2017, 952 págs., ISBN: 9780521642224.
- [30] A. M. Cetto, *La luz: en la naturaleza y en el laboratorio*. México: Fondo de Cultura Económica, 1987.
- [31] F. L. Pedrotti, L. M. Pedrotti y L. S. Pedrotti, *Introduction to Optics*, 3rd. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2017, ISBN: 9781108428260.
- [32] C. F. Bohren y D. R. Huffman, *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*, 1st. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2008, ISBN: 978-3-527-40666-1.
- [33] H. Daniel Malacara, *Optica Tradicional Y Moderna*. Fondo de Cultura Economica USA, 2007, ISBN: 9789681666187.
- [34] C. Pasquini, «Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications,» *J. Brazilian Chem. Soc.*, vol. 14, n.º 2, págs. 198-219, 2003. DOI: [10.1590/S0103-50532003000200006](https://doi.org/10.1590/S0103-50532003000200006).
- [35] S. Jacquemoud y S. L. Ustin, *Leaf Optical Properties*, P. Van der Geest y V. Porcarcano, eds. Cambridge University Press, 2019. DOI: [10.1017/9781108686457](https://doi.org/10.1017/9781108686457).

- [36] P. Szuvandzsiev, L. Helyes, A. Lugasi et al., «Estimation of antioxidant components of tomato using VIS-NIR reflectance data by handheld portable spectrometer,» *International Agrophysics*, vol. 28, n.º 4, ene. de 2014, ISSN: 2300-8725. DOI: [10.2478/intag-2014-0042](https://doi.org/10.2478/intag-2014-0042).
- [37] Z. Xu, Y. Yu e I. Papakonstantinou, «Performance Metrics and Loss Mechanisms in Horticulture Luminescent Solar Concentrators,» *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, vol. 31, n.º 6: Photon. for Climate Chng. Págs. 1-12, nov. de 2025, ISSN: 1558-4542. DOI: [10.1109/jstqe.2025.3540601](https://doi.org/10.1109/jstqe.2025.3540601).
- [38] G. Levin y G. Schuster, «Light tolerance in light-tolerant photosynthetic organisms: a knowledge gap,» *J. Experim. Botany*, vol. 75, n.º 20, págs. 6199-6202, 2024. DOI: [10.1093/jxb/erae338](https://doi.org/10.1093/jxb/erae338). dirección: <https://doi.org/10.1093/jxb/erae338>.
- [39] S. L. Ustin y S. Jacquemoud, «How the Optical Properties of Leaves Modify the Absorption and Scattering of Energy and Enhance Leaf Functionality,» en *Remote Sensing of Plant Biodiversity*, J. Cavender-Bares, J. A. Gamon y P. A. Townsend, eds. Cham: Springer International Publishing, 2020, págs. 349-384, ISBN: 978-3-030-33157-3. DOI: [10.1007/978-3-030-33157-3_14](https://doi.org/10.1007/978-3-030-33157-3_14).
- [40] E. Gruber, C. Kjær, S. B. Nielsen et al., «Intrinsic Photophysics of Light-harvesting Charge-tagged Chlorophyll a and b Pigments,» *Chemistry – A European Journal*, vol. 25, n.º 39, págs. 9153-9158, jul. de 2019, ISSN: 1521-3765. DOI: [10.1002/chem.201901786](https://doi.org/10.1002/chem.201901786).
- [41] H. K. Lichtenthaler y C. Buschmann, «Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy,» *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, vol. 1, n.º 1, ago. de 2001, ISSN: 2572-5602. DOI: [10.1002/0471142913.faf0403s01](https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01).
- [42] T. Motohka, K. N. Nasahara, H. Oguma et al., «Applicability of Green-Red Vegetation Index for Remote Sensing of Vegetation Phenology,» *Remote Sensing*, vol. 2, n.º 10, págs. 2369-2387, 2010. DOI: [10.3390/rs2102369](https://doi.org/10.3390/rs2102369). dirección: <https://www.mdpi.com/2072-4292/2/10/2369>.
- [43] H. Croft y J. Chen, «Leaf Pigment Content,» en *Comprehensive Remote Sensing*. Elsevier, 2018, págs. 117-142, ISBN: 9780128032213. DOI: [10.1016/b978-0-12-409548-9.10547-0](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.10547-0).
- [44] J. Dash y P. J. Curran, «The MERIS terrestrial chlorophyll index,» *International Journal of Remote Sensing*, vol. 25, n.º 23, págs. 5403-5413, dic. de 2004, ISSN: 1366-5901. DOI: [10.1080/0143116042000274015](https://doi.org/10.1080/0143116042000274015).
- [45] I. T. Jolliffe y J. Cadima, «Principal component analysis: a review and recent developments,» *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, vol. 374, n.º 2065, pág. 20150202, abr. de 2016, ISSN: 1471-2962. DOI: [10.1098/rsta.2015.0202](https://doi.org/10.1098/rsta.2015.0202).

- [46] P. N. Belhumeur, J. P. Hespanha y D. J. Kriegman, «Eigenfaces vs. Fisherfaces: Recognition using class specific linear projection,» *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 19, n.º 7, págs. 711-720, 1997.
- [47] F. Provost, *Data science for business, What you need to know about data mining and data-analytic thinking*, First edition, T. Fawcett, ed. O'Reilly, 2013, 1387 págs., ISBN: 9781449374297.
- [48] D. Joven-Sancho, L. Demonti, A. Martín et al., «Electrophilicity of neutral square-planar organosilver(iii) compounds,» *Chem. Comm.*, vol. 59, n.º 28, págs. 4166-4168, 2023, ISSN: 1364-548X. DOI: [10.1039/d3cc00493g](https://doi.org/10.1039/d3cc00493g).
- [49] M. H. Damian, «Modelos espectrales para estimar propiedades biofísicas y bioquímicas de la cobertura forestal,» Tesis de maestría, Universidad nacional mayor de San Marcos, 2021.
- [50] W. Budde, «Standards of Reflectance,» *Journal of the Optical Society of America*, vol. 50, n.º 3, pág. 217, mar. de 1960, ISSN: 0030-3941. DOI: [10.1364/josa.50.000217](https://doi.org/10.1364/josa.50.000217).
- [51] D. A. Sims y J. A. Gamon, «Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages,» *Remote Sensing of Environment*, vol. 81, n.º 2-3, págs. 337-354, ago. de 2002, ISSN: 0034-4257. DOI: [10.1016/s0034-4257\(02\)00010-x](https://doi.org/10.1016/s0034-4257(02)00010-x).
- [52] CNILASER, *Aurora4000 High Resolution Spectrometer – Technical Specifications*, Consultado en abril de 2025, CNILASER, 2025. dirección: <https://www.cnilaser.com/aurora4000.htm>.
- [53] A. Savitzky y M. J. E. Golay, «Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures,» *Analytical Chemistry*, vol. 36, n.º 8, págs. 1627-1639, 1964. DOI: [10.1021/ac60214a047](https://doi.org/10.1021/ac60214a047).
- [54] Wikipedia contributors, *Savitzky–Golay filter – Wikipedia, The Free Encyclopedia*, https://en.wikipedia.org/wiki/Savitzky–Golay_filter, Accedido el 14 de junio de 2025, 2024.
- [55] A. A. Gitelson y M. N. Merzlyak, «Remote estimation of chlorophyll content in higher plant leaves,» *Int. J. Remote Sens.*, vol. 18, n.º 12, págs. 2691-2697, ago. de 1997, ISSN: 1366-5901. DOI: [10.1080/014311697217558](https://doi.org/10.1080/014311697217558).
- [56] A. A. Gitelson, Y. J. Kaufman y M. N. Merzlyak, «Use of a green channel in remote sensing of global vegetation from EOS-MODIS,» *Remote Sensing of Environment*, vol. 58, n.º 3, págs. 289-298, dic. de 1996, ISSN: 0034-4257. DOI: [10.1016/s0034-4257\(96\)00072-7](https://doi.org/10.1016/s0034-4257(96)00072-7).
- [57] J.-B. Féret, A. Gitelson, S. Noble et al., «PROSPECT-D: Towards modeling leaf optical properties through a complete lifecycle,» *Remote Sensing of Environment*, vol. 193, págs. 204-215, mayo de 2017, ISSN: 0034-4257. DOI: [10.1016/j.rse.2017.03.004](https://doi.org/10.1016/j.rse.2017.03.004).

- [58] J. A. Gamon, L. Serrano y J. S. Surfus, «The photochemical reflectance index: an optical indicator of photosynthetic radiation use efficiency across species, functional types, and nutrient levels,» *Oecologia*, vol. 112, n.º 4, págs. 492-501, 1997. DOI: [10.1007/s004420050337](https://doi.org/10.1007/s004420050337).
- [59] C. J. Tucker, «Red and photographic infrared linear combinations for monitoring vegetation,» *Remote sensing of Environment*, vol. 8, n.º 2, págs. 127-150, 1979.
- [60] C. F. Jordan, «Derivation of leaf-area index from quality of light on the forest floor,» *Ecology*, vol. 50, n.º 4, págs. 663-666, 1969. DOI: [10.2307/1936256](https://doi.org/10.2307/1936256).
- [61] J. Peñuelas, I. Filella, C. Biel et al., «The Reflectance at the 950–970 nm Region as an Indicator of Plant Water Status,» *International Journal of Remote Sensing*, vol. 14, n.º 10, págs. 1887-1905, 1993. DOI: [10.1080/01431169308954010](https://doi.org/10.1080/01431169308954010).
- [62] D. M. Gates, H. J. Keegan, J. C. Schleter et al., «Spectral Properties of Plants,» *Applied Optics*, vol. 4, n.º 1, págs. 11-20, 1965, Accedido el 25 de junio de 2025. dirección: <https://ftp.forest.sr.unh.edu/Ollinger/PapersforFranklin/Gates%20et%20al.%201965.pdf>.
- [63] L. Taiz, E. Zeiger, I. M. Møller et al., *Plant Physiology and Development*, 6th. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 2015, ISBN: 9781605352558.
- [64] D. M. W. Powers, «Evaluation: from precision, recall and F-measure to ROC, informedness, markedness and correlation,» 2020. DOI: [10.48550/ARXIV.2010.16061](https://doi.org/10.48550/ARXIV.2010.16061).
- [65] S. Wold, K. Esbensen y P. Geladi, «Principal component analysis,» *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, vol. 2, n.º 1–3, págs. 37-52, ago. de 1987, ISSN: 0169-7439. DOI: [10.1016/0169-7439\(87\)80084-9](https://doi.org/10.1016/0169-7439(87)80084-9).
- [66] Y. Liu y W. Rayens, «PLS and dimension reduction for classification,» *Computational Statistics*, vol. 22, n.º 2, págs. 189-208, mar. de 2007, ISSN: 1613-9658. DOI: [10.1007/s00180-007-0039-y](https://doi.org/10.1007/s00180-007-0039-y).