

ARTÍCULO

## Validación de los valores de clorofila-*a* obtenidos por el satélite MODIS-AQUA en los Bancos de Salmedina - Caribe Colombiano

### Validation of the chlorophyll-*a* data obtained by the MODIS AQUA satellite in the Salmedina banks Colombian Caribbean

Fecha recepción: 2007-09-14 / Fecha aceptación: 2007-10-19



Rodríguez Rubio E. erodriguez@dimar.mil.co

Centro de Control Contaminación del Pacífico (CCCP), Tumaco, Colombia

Jaime A Orejarena jorejarena@enap.edu.co

JG Domínguez gabrielhd76@yahoo.com

Gisela Mayo gisemayo2003@yahoo.com

Constanza Ricaurte sasyrcaurte@yahoo.com

CarlosA Andrade candrade@costa.net.co

Grupo de Investigaciones en Oceanología (GIO), Escuela Naval Almirante Padilla, Cartagena de Indias, Colombia.

#### Resumen

El conjunto de datos de clorofila obtenido por el radiotelespectrómetro de imágenes de resolución moderada (MODIS) producido por tres algoritmos, (HPLC empírico, el OC3M y semianalítico) fue comparado con datos tomados *in situ* en los bancos de Salmedina en el Mar Caribe colombiano. Todos los algoritmos sobreestiman la clorofila *in situ*, con un error mayor del 35%. Las estimaciones de concentración de clorofila más cercanas comparadas con los datos *in situ*, fueron producidas por un algoritmo semianalítico con un error cuadrático medio RMS del 39%. Estos resultados indican que para las aguas costeras del Caso 2 en el mar Caribe colombiano, el análisis semianalítico es la mejor aproximación, pero es necesario un algoritmo bio-óptico local para mejorar la precisión de las mediciones de clorofila-*a* con mediciones del MODIS en el área.

**Palabras clave:** MODIS, clorofila-*a*, Bancos de Salmedina, evaluación local, Colombia, satelitales.

#### Abstract

The set of chlorophyll-*a* data obtained by the moderate resolution image radiotelespectrometer (MODIS) produced by three algorithms, (HPLC empiric, the OC3M and semi-analytical) has been compared to the data taken *in situ* at the Salmedina banks at the Colombian Caribbean. All algorithms over-estimate the chlorophyll-*a* *in situ*, with an error over 35%. The estimate of the closest chlorophyll concentration compared to the data *in situ* it, were produced by a semi-analytical algorithm with a medium quadratic error RMS of 39%. These results indicate that for the shore waters of Case 2 at the Colombian Caribbean, the semi-analytical analysis is the best approximation, but it is necessary a local bio-optical algorithm in order to improve the accuracy of the chlorophyll-*a* with measurements of the MODIS in the area.

**Key words:** MODIS, chlorophyll-*a*, Salmedina banks, local assessment, Colombia, satellite.

## Introducción

Los primeros estudios de clorofila en el Mar Caribe colombiano fueron orientados principalmente a la descripción de los sistemas de afloramiento (surgencias) realizando medidas *in situ* tradicionales desde buques oceanográficos [1, 2, 4, 5]. Desde 1988 las herramientas de sensores remotos comenzaron a usarse para diferentes estudios principalmente en sedimentación costera y transporte de sedimentos desde plataformas satelitales especializadas en tierra como SPOT o LANDSAT [6, 7, 8, 9] y descripciones climáticas desde mosaicos regionales de imágenes del Coastal Zone Color Scanner-CZCS [10]. Recientemente, algunos estudios en el Caribe utilizaron datos del sensor NOAA AVHRR para caracterizar la variabilidad espacial y temporal de mesoescala [11, 12], el SeaWiFS y el sensor OCTS usado en la descripción de la distribución de la concentración de clorofila-a en el Mar Caribe colombiano, [13, 14]. Esos trabajos utilizaron los datos satelitales para describir los mayores patrones espacio-temporales de concentración de clorofila en escalas anuales e interanuales, usando algoritmos de carácter global para cuantificar clorofila-a sobre el área.

Los artículos citados, resaltan algunos aspectos importantes sobre la significación cuantitativa de la concentración de la clorofila-a en las aguas costeras colombianas desde datos satelitales. Sin embargo, como el área se encuentra bajo la influencia de la descarga del río Magdalena [15], el nivel de complejidad óptico de las aguas es mayor. Las descargas anuales del río Magdalena son de aproximadamente  $288 \text{ km}^3$ , la carga media de sedimento es de  $144 \times 10^6 \text{ t año}^{-1}$ , correspondientes a un campo de  $560 \text{ t km}^{-2} \text{ año}^{-1}$  para los  $257.438 \text{ km}^2$  de cuenca [16].

Las masas de agua dadas sus características, son a menudo clasificadas como aguas turbias “Caso 2”. Esta nomenclatura proviene de un método común de clasificación de aguas oceánicas o de aguas continentales que las divide en dos casos: Caso 1 y Caso 2 [17]. Es generalmente reconocido, que las

aguas del Caso 2 son más complejas que las aguas del Caso 1, en su composición y propiedades ópticas. La interpretación de una señal óptica de aguas del Caso 2 puede por lo tanto ser más difícil. En el Caso 1, las propiedades ópticas son dominadas por la clorofila-a y la covarianza de los pigmentos detríticos, en el Caso 2, existen otras sustancias, las cuales no covarían con la clorofila-a pero también afectan las propiedades ópticas. Entre estas sustancias se incluye gelbstoff (humus acuático) compuesto principalmente de ácido fúlvico y ácido húmico, sedimentos suspendidos, cocolitofóridos, detritos y bacterias [18, 19]. Sustancias no covariantes con la clorofila-a de las aguas del Caso 2 han causado errores en las estimaciones de concentración del pigmento con inexactitudes tan altas que alcanzan el 133% [20].

Desde el lanzamiento del Sensor de Visualización Marina de Campo Amplio de Visión (SeaWiFS) a bordo del satélite SeaStar en agosto de 1997, los datos globales de color del océano están disponibles para la comunidad científica en forma frecuente. El SeaWiFS es superior al CZCS [21]. La sensibilidad de su radiómetro es mucho más alta (10bits vs 8 bits) y adicionalmente, las bandas espectrales son una ayuda para hacer aplicaciones bio-ópticas y para efectuar correcciones atmosféricas. Con el espectro mejorado y la resolución radiométrica, el sensor SeaWiFS produjo mapas globales de concentración de clorofila-a usando un algoritmo radio espectral empírico [22]. Sin embargo, las correcciones para el humus acuático y absorción detrítica, que no covarían con la clorofila, no fueron hechas. El humus acuático y el detrito pueden absorber suficiente luz en longitudes de onda azul que incrementan las concentraciones aparentes de clorofila-a calculadas empíricamente, tanto como para duplicarlas [23].

Actualmente, el Espectro-Radiómetro de Imagen de Resolución Moderada (MODIS) está entregando imágenes alrededor del mundo con un espectrómetro de 36 bandas que observa el suelo, la atmósfera y los océanos entre 412 nm y 14,385 nm. Las bandas de color oceánicas en el MODIS son muy similares a las bandas del SeaWiFS con la ventaja que son más estrechas que las del SeaWiFS como resultado de la mayor apertura y rendimiento del MODIS. Las bandas más estrechas mejoran la corrección

atmosférica, incorpora mejoras significativas en la calidad radiométrica, en la capacidad que resulta de un cuidadoso análisis de los resultados y la experiencia ganada como herencia de los sensores precursores [24].

El propósito principal de este trabajo es el de probar el desempeño de varios algoritmos bio-ópticos estándar para datos del MODIS, utilizando los datos promedio diarios de concentración de clorofila-*a* producidos por el Instituto de Sensores Remotos Marinos (IMaRS) de la Universidad del Sur de la Florida: Productos para Mar Caribe Sur: Clorofila\_MODIS (HPLC empírico), Clorofila\_2 (SeaWiFS análogo - OC3M) y Clorofila\_3 (Semianalítico), en aguas Caso 2 del Caribe colombiano y compararlos con un conjunto de datos de medición de clorofila-*a* realizados sobre muestras tomadas *in situ* en los Bancos de Salmedina en un período de 16 meses entre junio de 2003 y septiembre de 2004, cada 15 días.

## Materiales y métodos

### Mediciones de clorofila-*a* desde el satélite

Los datos de concentración media diaria de clorofila fueron obtenidas en el IMaRS, de las imágenes LAC (1 km x 1 km) de clorofila diaria provistas con los 3 algoritmos para clorofila.

Chlorophyll\_MODIS = HPLC empírico  
Chlorophyll\_2 = SeaWiFS análogo - OC3M  
Chlorophyll\_3 = Semi-analítico [25].

Los datos del MODIS, fueron leídos con rutinas escritas en MATLAB para lograr acceso a los datos guardados a través del Formato Jerárquico de Datos (HDF).

### Medidas *in situ* de clorofila - a

Los datos fueron recolectados principalmente sobre los Bancos de Salmedina (figura 1) bajo varias condiciones ambientales en diferentes temporadas del año [15]. Las coberturas temporales incluyeron (i) La época seca (diciembre - marzo), caracterizada por fuertes procesos de mezcla producidos por el viento y

limitada descarga del río. (ii) La época de transición (abril - junio) con altas descargas de agua fresca y vientos bajos, (iii) La temporada seca corta (julio - agosto) “Veranillo de San Juan” y (iv) La época de lluvias (septiembre - noviembre) caracterizada por una importante descarga del río y vientos débiles. La base de datos incluye cerca de 31 medidas de clorofila-*a* ( $\text{mg} / \text{m}^{-3}$ ) derivadas espectrofotométricamente de muestras tomadas a profundidades entre 0 - 5 m para comparar con los datos del MODIS entre Junio de 2003 y septiembre de 2004.

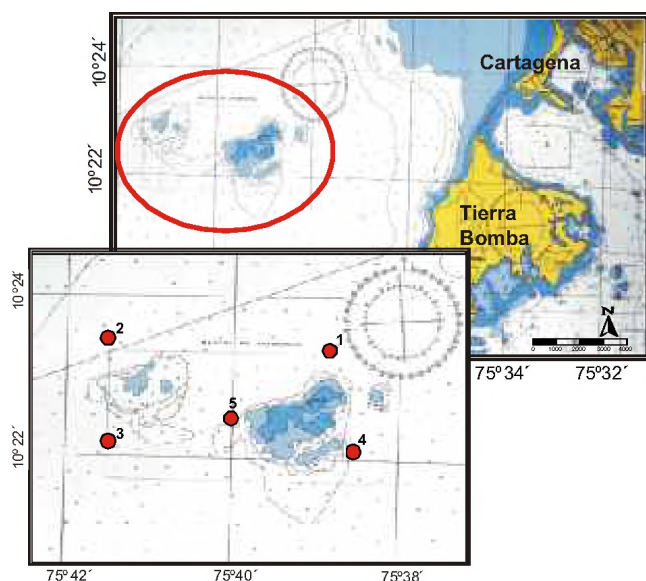
La concentración de clorofila-*a* fue determinada usando el método espectrofotométrico de *Strickland y Parsons* [26] modificado por el laboratorio del CIOH, [27]. Las muestras de agua superficial fueron filtradas a bajas presiones (menores que 0.5 atm) usando filtros de fibra de vidrio Whatman (GF/F 1.2  $\mu\text{m}$  de diámetro). Los filtros fueron colocados en tubos de centrifugación previamente cubiertos con papel aluminio, con el propósito de evitar la degradación de la clorofila por exposición directa a la luz, cerca de 5 ml de acetona fueron adicionados, los cuales fueron usados para liberar la clorofila contenida en los filtros. Las muestras fueron congeladas a  $-27^{\circ}\text{C}$ . 15 horas después los filtros fueron macerados en tubos de centrifuga adicionando 5 ml más de acetona. Las muestras fueron centrifugadas por 15 minutos y la absorbancia del extracto fue medida en un espectrofotómetro. La ecuación de *Jeffrey y Humphrey* [28] fue usada para convertir la absorbancia a 664, 647 y 630 nm de concentración de clorofila-*a*.

(Ca) Clorofila-*a* =  $11.85E_{664} - 1.54E_{647} - 0.08E_{630}$  (en  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

Donde E es la absorbancia a la longitud de onda indicada por subíndice, luego de una corrección celda a celda en blanco y la resta celda a celda en blanco corregida a una absorbancia de 750 nm.

$$\text{Clorofila} - a \text{ mg} / \text{m}^3 = \frac{Ca * v}{V * l}$$

Donde  $v$  es el volumen de acetona en mililitros y  $V$  es el volumen de agua de mar en litros.



**Figura 1.** Mapa de localización de los Bancos de Salmedina y posición de los datos medidos *in situ*, sobre el Mar Caribe colombiano, los puntos rojos señalan las 5 estaciones donde se tomaron las mediciones.

Los datos *in situ* que coincidieron tanto en lugar, espacio y tiempo de la toma de muestra con los datos obtenidos por las imágenes del MODIS, fueron promediados. El resultado final fueron 15 puntos comparables dentro del conjunto.

### Criterio de comparación

De acuerdo con Gregg y Casey [29], el conjunto de datos fue transformado logarítmicamente (base 10) antes de la comparación. El análisis incluyó un análisis de correlación, error medio cuadrático (RMS) logarítmico definido como:

$$RMS = \sqrt{\frac{\sum [\log(S) - \log(I)]^2}{n}} \times 100$$

y la diferencia promedio (DP) es definida como

$$DP = \frac{\sum [\log(S) - \log(I)]}{n} \times 100$$

Donde S indica los valores de clorofila-a del MODIS, I indica la clorofila-a *in situ*, y n el número de

muestras. El RMS es una estimación del error del conjunto de datos del MODIS, la diferencia promedio es una estimación de la tendencia y el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) del análisis de correlación indica la covarianza entre el conjunto de datos y las observaciones *in situ*. Juntas, estas mediciones estadísticas proveen información del comportamiento y la incertidumbre del conjunto de datos de clorofila del MODIS. La decisión de transformar logarítmicamente los datos antes de realizar la evaluación estadística está basada en la distribución natural de la clorofila oceánica, la cual es lognormal. [30].

## Resultados y discusión

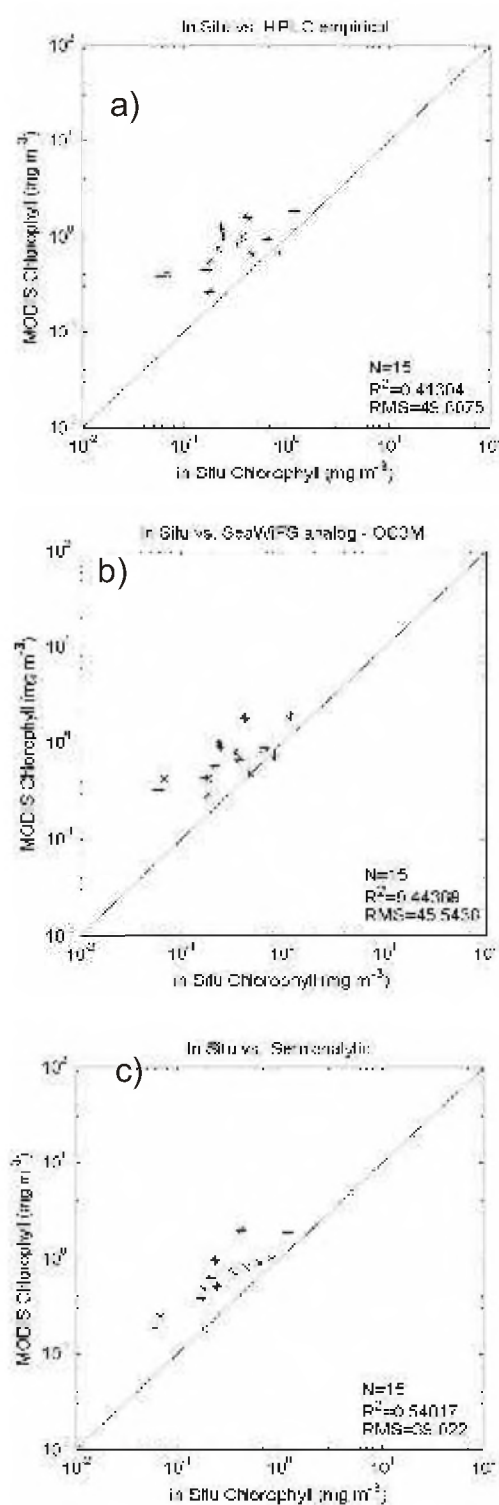
Se compararon los valores de clorofila-a medidos *in situ* y los derivados de algoritmos del MODIS (figura 2; a b c y 3). La comparación entre el algoritmo empírico para la clorofila-a MODIS HPLC y la clorofila *in situ* (figura 2a), dio como resultado un error cuadrático medio de 48.9%, con un sesgo de 42.8%. Los algoritmos SeaWiFS análogo y OC3M versus la clorofila-a *in situ* (figura 2b) resultaron con un error cuadrático medio del 45% y 38.1% de sesgo. La precisión del algoritmo semianalítico con la clorofila-a *in situ* (figura 2c) fue del 39% y con un sesgo del 34%. En general, los algoritmos de pigmento del MODIS sobreestimaron las concentraciones de clorofila medidos en los tres casos.

Se considera que el algoritmo semianalítico funcionó bien, con el mejor RMS y el menor sesgo y significa un desempeño aceptable del sensor del MODIS que produjo datos comparables con las mediciones hechas *in situ* y se considera satisfactorio porque un algoritmo produjo valores de clorofila-a alcanzando el objetivo del 35% para la precisión de datos obtenidos del MODIS. Los valores obtenidos se ajustan a lo esperado en este caso de análisis y han sido mencionados por otros autores en estudios similares (*i.e.* Eplee et al., 2001; Hooker y McClain, 2000; Gregg y Casey, 2004).

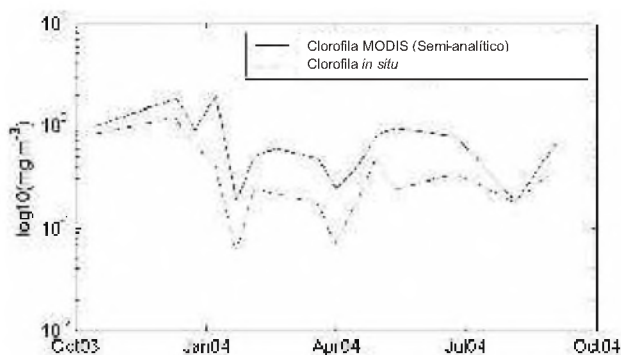
Según los mismos autores la imprecisión de estas comparaciones se debe, entre otras causas, a los errores propios en las diferentes metodologías de toma de datos, que deben ser tenidos en cuenta para futuros estudios. Entre los más importantes se pueden mencionar la presencia de materia orgánica cromófora disuelta (CDOM), presencia de aerosoles que absorben radiancia, diversidad de las especies de fitoplancton de la zona estudiada, sedimentos en suspensión, la nubosidad, el reflejo solar, y la falta de exactitud entre la medición y el paso del satélite.

Se realizó una comparación de la variación temporal de los datos obtenidos por el logaritmo semianalítico y los datos *in situ* (figura 3) dio como resultado un ajuste muy bueno con un alto coeficiente de correlación ( $R=0.83$  ( $p<0.05$ )). Este resultado corresponde con la variación intraestacional que caracteriza el Caribe colombiano; se presentó alta clorofila-*a* en la época de lluvias (septiembre - noviembre) producidas por los diferentes aportes de aguas continentales (descargas del río Magdalena y del Canal del Dique) y concentraciones más bajas en temporada seca (diciembre - febrero), a diferencia de un valor máximo en enero producido por una surgencia estacional observada en el área (Orejarena *et al.*, 2004).

A pesar de las fuentes potenciales de error en la validación los datos de clorofila-*a* a nivel local, los valores obtenidos por el algoritmo semi-analítico del satélite MODIS se trabajaron bien, pero todavía no es ideal para estudios cuantitativos que incorporen datos de clorofila-*a* desde satélites, porque los valores del sensor sobreestiman la concentración. Por esa razón es necesario trabajar en el desarrollo de un algoritmo bio-óptico tomando mediciones de muchas variables *in situ* para el desarrollo de un algoritmo local y validar los datos satelitales de clorofila-*a* producidos por el MODIS o por otros sensores como el Sea-viewing Wide Field-of-view Sensor - SeaWiFS o el The Medium Resolution Imaging Spectrometer Instrument - MERIS.



**Figura 2.** Gráfico de dispersión de los datos de clorofila-*a* *in situ* /datos de clorofila-*a* MODIS y comparación local de los estadísticos para los tres algoritmos.



**Figura 3.** Comportamiento interanual entre la clorofila-a MODIS (semianalítico) y clorofila-a *in situ*. Parejas de puntos ( $R=0.8397$ ,  $p<0.05$ ).

## Reconocimientos

Los autores agradecen al personal del Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas (CIOH), al Grupo de Señalización Marítima, la Estación de Guardacostas de Cartagena. Al señor José Ladeut por su diestra mano en el timón al bote. Al Institute for Marine Remote Sensing (IMaRS) - University of South Florida, por el acceso público a los productos obtenidos por el USF MODIS parte del proyecto “Estudio oceanográfico integral de los Bancos de Salmedina, Caribe colombiano” financiado por el Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología “Francisco José de Caldas” COLCIENCIAS, la Escuela Naval de Cadetes “Almirante Padilla” y la Universidad Nacional en Medellín.

## Referencias bibliográficas

- [1] Arias FA y Durán JC. Variación anual del fitoplancton en la Bahía de Cartagena. *Boletín Científico CIOH* 1984; 5: 61-116.
- [2] Corredor J. Dinámica espacio - temporal de la surgencia de la Península de la Guajira. En: *Memorias VIII seminario nacional de las ciencias y tecnologías del mar y congreso centroamericano y del Caribe de ciencias del mar*. CCO. 1993 pp. 206 - 221.
- [3] Corredor J. Phytoplankton response to low level nutrient enrichment through upwelling in the Colombian Caribbean basin, *Deep-Sea Res.* 1979; 26A: 731-741.
- [4] Corredor J. Aspects of phytoplankton dynamics in the Caribbean Sea. *FAO Fisheries Report* 1976; 200: 101-114.
- [5] Fajardo GE. Surgencia costera en las proximidades de la península colombiana de la Guajira, *Boletín Científico CIOH* 1979; 2: 17-19.
- [6] Andrade CA y Thomas Y-F. Sedimentos en suspensión e hidrodinámica al sureste del delta del río Magdalena, Mar Caribe (Colombia). *Boletín Científico CIOH* 1988; 8: 27-34.
- [7] Andrade CA, Arias FA, Thomas Y-F. Nota sobre la turbidez, circulación y erosión en la región de Cartagena (Colombia). *Boletín Científico CIOH* 1988; 8: 71-82.
- [8] Molina A, Molina C y Chevillot P. La percepción remota aplicada para determinar la circulación de las aguas superficiales del Golfo de Urabá y las variaciones de su línea de costa. *Boletín Científico CIOH* 1992; 11: 43-58.
- [9] Urbano J, Thomas Y, Parra C y Genet P. Dinámica de la turbidez del Canal del Dique en la Bahía de Cartagena, *Boletín Científico CIOH* 1992; 11: 03-14.
- [10] Andrade CA. Variabilidad anual del contenido de carbón orgánico en la superficie del mar Caribe occidental observado desde el CZCS. *Boletín Científico CIOH* 1995; 16: 15-24.
- [11] Lonin S, Anduckia JC, Parra C y Molares R. Validación de imágenes satelitales de temperatura superficial del mar mediante observaciones *in situ*. *Boletín Científico CIOH* 2003; 21: 28-37.
- [12] Lonina I, Lonin S, Benavides J y Andrade CA. Un método para el análisis de nubes utilizando imágenes NOAA-AVHRR, *Boletín Científico CIOH* 2001; 19: 88-98.
- [13] Cañón M y Santamaría del Ángel E. Influencia de la pluma del río Magdalena en el Caribe colombiano, *Boletín Científico CIOH* 2003; 21: 66-84.
- [14] Cañón M. Aplicación de la teledetección para la determinación de indicadores de áreas con mayor probabilidad de pesca en el sector noreste del Caribe colombiano, *Boletín Científico CIOH* 2001; 19: 80-87.
- [15] Orejarena JA, Domínguez JG, Ricaurte C, Mayo G, Andrade CA, Ospina HM y Castro W. Variaciones de la concentración de la clorofila-a y su relación con los parámetros físicos medidos en los Bancos de Salmedina durante 2003-2004, *Caribe colombiano*, *Boletín Científico CIOH* 2004; 22: 56-63.
- [16] Restrepo JD y Kjerfve B. Magdalena river: interannual variability (1975-1995) and revised water discharge and sediment load estimates. *Journal of Hydrology*, 2000; 235: 137-149.
- [17] Sathyendranath S. (Ed.), Remote sensing of ocean colour in coastal and other optically-complex waters, IOCCG Report, IOCCG Project Office, Dartmouth, Nova Scotia, 2000 vol. 3, pp. 140.
- [18] Carder KL, Chen FR, Cannizzaro JP, Campbell JW y Mitchell BG. Performance of the MODIS semi-analytical ocean color algorithm for chlorophyll-a, *Advances in Space Research* 2004; 33: 1152-1159.

- [19] Carder K, Chen FR, Lee Z, Hawes SK y Cannizzaro JP. Case 2 chlorophyll-a algorithm, MODIS ocean science team, Theoretical Basis Document, ATBD 19, Version 7, College of Marine Science, University of South Florida, St. Petersburg, 2003 p. 67.
- [20] Carder KL, Hawes SK, Baker KA, Smith RC, Steward RG y Mitchell BG. Reflectance model for quantifying chlorophyll a in the presence of productivity degradation products, *Journal of Geophysical Research*, 1991; 96, 20: 59920,611.
- [21] Hovis WA, Clark DK, Anderson FR, Austin W, Wilson WH, Baker ET, Ball D, Gordon HR, Mueller JL, El-Sayed SZ, Strum B, Wrigley RC y Yentsch CS. Nimbus 7 Coastal zone color scanner: System description and initial imagery, *Science* 1980; 210: 6063.
- [22] O'Really JE, Maritorea S y Siegel DA. Ocean color chlorophyll-a algorithms for SeaWiFS, OC2 and OC4: Version 4, in: Hooker, S.B. y E.R. Firestone (Eds.), *SeaWiFS post-launch calibration and validation analyses, Part 3*, NASA Tech. Memo. 206892, vol.11. NASA Goddard Space Flight Center, Greenbelt, MD 2000 pp. 9-23.
- [23] Hu C, Carder KL y Muller-Karger F. Atmospheric correction of SeaWiFS imagery over turbid coastal waters: a practical method, *Remote Sensing Environ.* 2000; 74: 195206.
- [24] Esaias WE, Abbott MR, Barton I, Brown OB, Campbell JW, Carder KL, Clark DK, Evans RH, Hoge FE, Gordon HR, Balch WM, Letelier R y Minnett PJ. An Overview of MODIS Capabilities for ocean science observations. *IEEE Trans. Geosci. Remote Sens.*, 1998; 36: 12501265.
- [25] Carder KL, Chen FR, Lee ZP, Hawes SK y Kamykowski D. Semi-analytic moderate-resolution imaging spectrometer algorithms for chlorophyll-a and absorption with bio-optical domains based on nitrate-depletion temperatures, *Journal of Geophysical Research* 1999; 104: 5403-5421.
- [26] Strickland JDH y Parsons HTR. A practical handbook of seawater analysis, 2nd. Ed. *Fish. Res. Bd. Can. Bull.* 1972, pp. 167.
- [27] CIOH - Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas, Manual de técnicas analíticas de parámetros fisicoquímicos y contaminantes marinos. Tercera edición. CCO. Fundación Mamonal, CIOH. 1993 p. 109.
- [28] Jeffrey SW y Humphrey GF. New spectrophotometric equation for determining chlorophyll- a, b, c1 and c2, *Biochem. Physiol. Pflanz.* 1975; 167: 194-204.
- [29] Campbell JW, The lognormal distribution as a model for bio-optical variability in the sea, *Journal of Geophysical Research* 1995; 100(C7):1323713254.
- [30] Eplee RE, Robinson WD, Bailey SW, Clark DK, Werdell PJ, Wang M, Barnes RA y McClain CR. Calibration of SeaWiFS: II. Vicarious techniques. *Applied Optics*, 2001; 40(36): 6701-6718.
- [31] Gregg WW y Casey NW. Global and regional evaluation of the SeaWiFS chlorophyll data set, *Remote Sensing of Environment* 2004; 93: 463479.
- [32] Hooker SB y McClain CR. The calibration and validation of SeaWiFS data, *progress in oceanography*, 2000; 45: 427-465.
- [33] Lorenzen CJ. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations, *Limnol. Oceanogr.* 1967; 12: 343-346.