

Desarrollo y validación de un modelo bio- óptico para la teledetección del fitoplancton en aguas continentales



Antonio Ruiz Verdú

Directores: Dr. José F. Moreno Méndez y Dr. Jesús V. Delegido
Gómez

Programa de doctorado en teledetección

Universitat de València

Tesis presentada para la obtención del grado de *Doctor en teledetección*



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

JOSÉ FELICÍSIMO MORENO MÉNDEZ, Profesor Catedrático de Universidad adscrito al Departament de Física de la Terra i Termodinàmica de la Facultat de Física de la Universitat de València

JESÚS VALERIANO DELEGIDO GÓMEZ, Profesor Catedrático de Universidad adscrito al Departament de Física de la Terra i Termodinàmica de la Facultat de Física de la Universitat de València

CERTIFICAN

Que la tesis doctoral titulada “**Desarrollo y validación de un modelo bio-óptico para la teledetección del fitoplancton en aguas continentales**”, presentada por Antonio Ruiz Verdú ha sido realizada bajo su dirección y es favorable para optar por el grado de Doctor por la Universidad de Valencia en el programa de doctorado en Teledetección.

Y para que así conste, en cumplimiento de la legislación vigente, firmamos en Burjassot, a 1 de junio de 2023

JOSE FELICISIMO
MORENO|
MENDEZ

Firmado digitalmente
por JOSE FELICISIMO|
MORENO|MENDEZ
Fecha: 2023.05.31
18:04:02 +02'00'

Fdo.: José F. Moreno Méndez

JESUS
VALERIANO|
DELEGIDO|
GOMEZ

Firmado digitalmente
por JESUS VALERIANO|
DELEGIDO|GOMEZ
Fecha: 2023.05.31
18:04:36 +02'00'

Fdo.: Jesús V. Delegido Gómez

*Caminante, son tus huellas
el camino y nada más;*

*Caminante, no hay camino,
se hace camino al andar.*

Antonio Machado. Proverbios y Cantares.

Agradecimientos

A mis padres, que nunca han dejado de apoyarme. Siempre ahí en las buenas y sobre todo en las malas. Gracias por vuestro empuje y amor incondicional, sin el que nunca habría acabado esta tesis, que es vuestra. Y gracias al que antes me dieron mis abuelos, que imagino orgullosos en su eterno mar, junto al que vine a acabarla.

A Ramón. Estás en el origen de todo, alumbraste la idea, pusiste los medios, la energía y el conocimiento. Y me diste al mismo tiempo libertad y apoyo total. Gracias a ti, y a Chelo, por cuidarme tanto.

Al equipo del CEDEX que me acompañó en la aventura. Ángel, Ramiro, Omar, Jose, compañeros de rutas, risas y sudores. Nunca naufragamos. Caridad, Ana, vuestro trabajo callado es la médula de la tesis. Y a todos con los que compartí esos años, que fueron alegres y fructíferos.

A Jesús y a Pepe, por haber creído en mí, por haberme dado la oportunidad de embarcarme de nuevo en este viaje. Por vuestra guía y enseñanza. Y por vuestra paciencia.

A Carolina, por soportarme, por escucharme, por compartir mis elucubraciones e ideas. Por ayudarme a convertirlas en algo tangible. Esta tesis no existiría sin tu trabajo y colaboración.

A Pilar, esencial, siempre salvándome de mis tropiezos burocráticos y mis desfallecimientos, con una sonrisa, una solución y una palabra de ánimo.

A todos los que, ahora y antes en el IPL, habéis compartido trabajo y pasión por el color del agua y los secretos que esconde. Os debo unos cuantos brindis.

A mis primeros y antiguos amigos, que nunca han entendido del todo lo que hago y me han querido igual.

A mi familia más cercana. Pablo, Amy, Coral. Por la ternura y cariño que me habéis dado en este largo tránsito y por todo lo compartido y por compartir.

A Valeria. Para ayudarte en tu vuelo. Para que crezcas libre en el conocimiento y la alegría. Me tendrás siempre.

A Alejandra. Por aparecer de entre las aguas y por tu amor. Sin ti no hubiera llegado. Contigo quiero caminar la vida.

Abreviaturas y Acrónimos

Advertencia preliminar:

Esta Tesis está escrita en español, o castellano, que es la lengua materna de su autor y uno de los dos idiomas cooficiales de la Universidad de València. Pero la Ciencia, en el siglo XXI, se escribe fundamentalmente en inglés, por lo que la transcripción o traducción de muchos términos científicos es, a menudo, problemática. En esta tesis se ha intentado siempre utilizar las traducciones de uso frecuente o aceptado en la comunidad científica hispanoparlante, aunque hay términos que son muy difíciles de encontrar escritos en castellano, por lo que en esos casos se ha optado por utilizar directamente el inglés, en *cursiva*. En la lista que resume, a continuación, las principales abreviaturas y acrónimos usados en el texto, se muestra su significado en los dos idiomas, siempre que sea posible.

Por razones similares, en la notación matemática, el símbolo decimal se ha representado por un punto en todas las cifras del texto, aun cuando lo correcto hubiera sido utilizar una coma. Pero se ha preferido mantener una coherencia con toda la información gráfica, en ocasiones preparada previamente para su presentación o publicación en inglés. Esperemos que el lector avisado sepa entender estas licencias de estilo y este uso entremezclado del inglés y el español, que es, en el contexto científico, difícilmente evitable en la actualidad.

ACRÓNIMO	ESPAÑOL	INGLÉS
ADA	Aproximación de la Difracción Anómala	Anomalous Diffraction Approximation
Allo	Aloxantina	Alloxanthin
AOP	Propiedades Ópticas Aparentes	Apparent Optical Properties
APC	Aloficocianina	Allophycocyanin
ATP	Adenosin Tri Fosfato	Adenosine Triphosphate
Bet	b-Caroteno	b-Carotene
CDOM	Materia Orgánica Disuelta Colora	Colored Dissolved Organic Matter
Chl_a	Clorofila a	Chlorophyll a
Chl_b	Clorofila b	Chlorophyll b
Chl_c	Clorofila c	Chlorophyll c
CLMS	Microscopía Confocal Láser de Barrido	Confocal Laser Scanning Microscopy
DDX	Diadinoxantina	Diadinoxanthin
DIN	Nutrientes Inorgánicos Disueltos	Dissolved Inorganic Nutrients
Din	Dinoxantina	Dinoxanthin
Dix	Diatoxantina	Diatoxanthin
DMA	Directiva Marco del Agua	Water Framework Directive
DOM	Materia Orgánica Disuelta	Dissolved Organic Matter

EAP	Poblaciones Algales Equivalentes	Equivalent Algal Populations
Ech	Equineona	Echineone
ESD	Diámetro Esférico Equivalente	Equivalent Spherical Diameter
FOV	Campo de Visión	Field of View
Fuc	Fucoxantina	Fucoxanthin
FWHM		Full Width at Half Maximum
GUI	Interfaz Gráfica de Usuario	Graphical User Interface
HAB	Floración de Algas Nocivas	Harmful Algal Bloom
IOP	Propiedades Ópticas Inherentes	Inherent Optical Properties
LHC	Complejo captador de luz	Light Harvesting Complex
Lut	Luteína	Lutein
LUT	Tabla de búsqueda	Look-Up Table
MAE	Error absoluto medio	Mean Absolute Error
Mix	Mixoxantofila	Mixoxantophyl
NADP(H)	Nicotiamida-Adenina Dinucleotido fosfato	Nicotiamide-Adenine Dinucleotide Phosphate
Neo	Neoxantina	Neoxanthin
NPQ		Non Photochemical Quenching
OAC	Componente(s) Ópticamente Activo(s)	Optically Active Component(s)
OWT	Tipos Ópticos de Aguas	Optical Water Types
PC	Ficocianina	Phycocyanin
PE	Ficoeritrina	Phycoerithrin
Per	Peridina	Peridinin
PFT	Grupos Funcionales del Fitoplancton	Phytoplankton Functional Types
Phe	Feofitina a	Pheophytin a
POM	Materia Orgánica Particulada	Particulate Organic Matter
PPC	Carotenoides fotoprotectores	Photo Protector Carotenoids
PS I	Fotosistema I	Photosystem I
PS II	Fotosistema II	Photosystem II
PSC	Clases de tamaños del fitoplancton	Phytoplankton Size Classes
PSC	Carotenoides fotosintéticos	Photosynthetic Carotenoids
PSD	Distribución de tamaños de partículas	Particle Size Distribution
RMSE	Error Cuadrático Medio	Root Mean Square Error
RRMSE	Error Cuadrático Medio Relativo	Relative Root Mean Square Error
RT	Transferencia Radiativa	Radiative Transfer
RTE	Ecuación de Transferencia Radiativa	Radiative Transfer Equation
SICF	Fluorescencia de la Clorofila Inducida por el Sol	Sun Induced Chlorophyll Fluorescence
SIG	Sistema de Información Geográfica	
TSI	Índice de Estado Trófico	Trophic State Index
Vio	Violaxantina	Violaxanthin
VRTE	Ecuación de Transferencia Radiativa Vectorial	Vector Radiative Transfer Equation
XC	Ciclo de las Xantofilas	Xantophyll Cycle
Zea	Zeaxantina	Zeaxanthin

Índice

Agradecimientos	vii
Abreviaturas y Acrónimos	ix
Índice	1
1. Introducción.....	3
1.1. Propósito, hipótesis y objetivos.....	7
2. Antecedentes y fundamentos teóricos.....	9
2.1. Interacción de la luz con los medios acuáticos.....	9
2.1.1. Radiometría.....	14
2.1.2. Propiedades ópticas inherentes.....	16
2.1.2.1. Propiedades volumétricas	17
2.1.2.2. Propiedades de partícula.....	21
2.1.2.3. Relación entre propiedades de partícula y volumétricas	25
2.1.3. Propiedades ópticas aparentes.....	28
2.1.3.1. Reflectividad	29
2.1.4. Transferencia radiativa.....	32
2.2. El fitoplancton.....	35
2.2.1. Tipos de fitoplancton	37
2.2.2. Pigmentos fotosintéticos del fitoplancton.....	41
2.2.2.1. Espectros de absorción de los pigmentos fotosintéticos	43
2.2.3. Quimiotaxonomía	44
2.2.4. Fotosíntesis del fitoplancton	46
2.2.5. Fluorescencia	50
2.2.6. Fotoaclimatación.....	53
2.2.6.1. Ciclo de las xantofilas y NPQ	55
2.3. Modelos bio-ópticos.....	57
3. Metodología.....	61
3.1. Campañas de muestreo	61
3.1.1. Diseño de la campaña de caracterización	62
3.1.1.1. Selección de masas de agua	62
3.1.1.2. Planificación de las campañas de muestreo	64
3.1.2. Medidas y determinaciones in situ.....	65
3.1.2.1. Obtención y conservación de las muestras.....	67

3.1.3. Radiometría de campo.....	68
3.1.3.1. Reflectividad (Remote sensing reflectance).....	69
3.1.3.2. Otras AOP.....	70
3.1.4. Medidas y determinaciones en laboratorio.....	70
3.1.4.1. Análisis de clorofilas y carotenoides por HPLC.....	70
3.1.4.2. Análisis de ficobiliproteínas.....	71
3.1.4.3. Sólidos en suspensión.....	71
3.1.4.4. Coeficientes de absorción.....	71
3.1.4.5. Determinación taxonómica del fitoplancton.....	72
3.2. Desarrollo y validación del modelo bio-óptico	72
4. Resultados y discusión.....	75
4.1. Caracterización bio-óptica de lagos y embalses ibéricos	75
4.1.1. Resultados relevantes para el desarrollo del modelo bio-óptico.....	84
4.2. Desarrollo del modelo bio-óptico	92
4.2.1. Arquitectura y diseño	92
4.2.2. Fitoplancton.....	99
4.2.2.1. Generación de los espectros de absorción a partir de la composición pigmentaria	102
4.2.2.2. Efecto de empaquetamiento	110
4.2.2.3. Cálculo de la concentración intracelular de Clorofila-a.....	113
4.2.2.4. Generación de espectros de absorción por grupos taxonómicos	117
4.2.2.5. Simulación de la dispersión y retrodispersión.....	126
4.2.2.6. Rendimiento cuántico de la fluorescencia	130
4.2.3. Detritus.....	131
4.2.4. CDOM.....	134
4.2.5. Partículas no algales (NAP)	135
4.2.6. Condiciones de contorno de HydroLight.....	137
4.3. Validación del modelo bio-óptico	142
4.3.1. Resultados globales.....	145
4.3.2. Resultados por punto.....	149
4.3.3. Análisis de sensibilidad	162
4.3.4. Estimación de la SICF	168
4.3.4.1. Estimación del rendimiento cuántico	175
5. Conclusiones	181
5.1. Conclusiones generales.....	181
5.2. Perspectivas	186
Referencias bibliográficas	189

1. Introducción

El agua es el medio en el que se desarrolla la vida en la Tierra. Con muy contadas excepciones, todas las relaciones metabólicas que sustentan a los seres vivos se producen en una solución acuosa. Toda la compleja evolución de los seres vivos, desde los primeros registros fósiles de hace unos 3500 millones de años hasta que hace 500 millones de años comenzó la lenta conquista del medio terrestre, se produjo en un medio acuático (Cavalier-Smith, 2006). Y la evolución de los organismos terrestres es en gran medida la historia de las adaptaciones para obtener el agua y mantenerla en las células, para que la maquinaria metabólica pueda funcionar (Morowitz, 1993).

Los seres humanos no somos una excepción. Más del 60% de nuestra masa es agua y la necesitamos para mantener nuestras funciones vitales (Watson et al., 1980). La historia de la humanidad también ha sido y es la de la búsqueda de fuentes de agua, primero para nuestra supervivencia directa, luego para sustentar la ganadería y la agricultura (Finlayson, 2014), y en la edad contemporánea también para infinidad de procesos industriales en la producción de bienes y servicios y para gran parte de nuestras actividades de ocio y recreación. Sin olvidar el placer estético y el bienestar físico que proporciona la simple observación del agua en todas sus formas, fluyente o calma, que ha inspirado a artistas de todas las épocas y ha sido fuente de mitos y creencias ancestrales (Witzel, 2015).

Las actividades humanas dependen de la disponibilidad de agua dulce en cantidad y calidad suficiente, pero al mismo tiempo son causa de una disminución del agua disponible y del empeoramiento de su calidad (Gleick, 1993). El estudio de la calidad del agua es en gran parte el estudio del color del agua, ya que muchos cambios de calidad se manifiestan en cambios de

coloración, que pueden ser percibidos a simple vista y evaluados cualitativamente, pero que también se pueden cuantificar y correlacionar con la concentración de los llamados Constituyentes Ópticamente Activos (OAC) de los medios acuáticos (Mobley, 1994).

Las propiedades ópticas de la molécula de agua determinan el color de los *ecosistemas lénticos* (lagos, embalses, humedales) y sobre todo condicionan la calidad y cantidad de luz disponible en profundidad. Esa luz es la que utilizan los organismos *autótrofos* que habitan las aguas abiertas para realizar la fotosíntesis, convirtiendo parte de ella en energía química (Kirk, 1994). Este conjunto de organismos se denomina *fitoplancton* y tiene un papel clave en los ecosistemas acuáticos, pues es el principal grupo de productores primarios y está en la base de los flujos de materia y energía que constituyen las redes tróficas.

El fitoplancton tiene una larga historia evolutiva que ha desembocado en una gran diversidad taxonómica. Incluye a organismos procariotas (las Cianobacterias son el grupo principal) y eucariotas, conocidos comúnmente como algas. Son generalmente organismos unicelulares, aunque pueden formar agregados o colonias multicelulares. Y presentan una gran variedad de formas y tamaños, que son respuestas evolutivas a la necesidad de garantizar la flotabilidad en la columna de agua, encontrar las condiciones de iluminación adecuadas y obtener los nutrientes esenciales para su metabolismo (Reynolds, 2006). El fitoplancton realiza fotosíntesis oxigénica, con la Clorofila-a como pigmento principal. Pero acompañado por pigmentos accesorios (otras clorofilas, carotenoides o ficobiliproteínas, principalmente), que pueden participar en la fotosíntesis o actuar como fotoprotectores y son a menudo específicos de un grupo taxonómico, por lo que tienen valor indicador.

Los distintos tipos de fitoplancton absorben y dispersan luz de manera diferente, en función de su composición pigmentaria, de su tamaño y de su estructura intracelular. El resultado de estas interacciones modifica el valor absoluto y la forma de la *reflectividad espectral*, definida como el cociente entre la luz solar incidente y la que emerge de una masa de agua, detectable por sensores remotos. Pero el fitoplancton coexiste con otras sustancias disueltas y partículas en suspensión, de origen orgánico o inorgánico, que también absorben y dispersan luz, por lo que la reflectividad es el resultado de la interacción conjunta de todos los OAC de una masa de agua.

Allí donde son el OAC dominante, como en los océanos, los organismos del fitoplancton son los principales responsables de la variabilidad de respuestas espectrales observables desde un sensor remoto (Mobley, 2022). Con el desarrollo de misiones espaciales de observación de la Tierra específicas para el estudio del color del océano, como MODIS o Sentinel-3, se ha avanzado en la cuantificación de la biomasa del fitoplancton a escala planetaria, a partir de la concentración de Clorofila-a estimada por teledetección, con errores relativos del orden del 20% (Tilstone *et al.*, 2021), y para estimar la producción primaria marina y su distribución espacial y temporal (Lee *et al.*, 2015), que es una información clave en los modelos climáticos. Cuando la resolución espectral lo permite, es posible, además, no solo estimar la biomasa total, sino la contribución relativa de diferentes tipos de fitoplancton, clasificados en Grupos Funcionales (PFT, *Phytoplankton Functional Types*) de acuerdo con su composición pigmentaria, su tamaño o su papel en los ciclos biogeoquímicos (IOCCG, 2014).

En las aguas costeras y continentales, la cuantificación de la biomasa y tipos de fitoplancton es más compleja. Otros OAC, como materia orgánica disuelta o partículas minerales en suspensión pueden alcanzar elevadas concentraciones y llegar a dominar la respuesta espectral. Y la propia variabilidad del fitoplancton es también mayor que en los océanos. Esto hace que la reflectividad observada varíe notablemente de un lago a otro, dependiendo de su morfología, altitud, clima, geología, usos de suelo e impactos humanos en la cuenca. Pero también muestre un gran dinamismo temporal y espacial dentro de un mismo lago, en función de las condiciones meteorológicas, el régimen de mezcla y estratificación o los aportes de caudal y nutrientes de los tributarios.

El seguimiento de la biomasa y composición del fitoplancton es clave para evaluar el estado ecológico y la calidad de las aguas continentales. Y el uso de imágenes obtenidas mediante teledetección tiene un gran potencial para ello, en un momento en el que ya están en órbita sensores multispectrales con una alta resolución temporal y espacial, como Sentinel-2, y, sobre todo, misiones hiperespectrales como EnMAP, PRISMA, PACE o FLEX. Los sensores con una elevada resolución espectral y una adecuada resolución radiométrica tienen, en principio, la capacidad para registrar las sutiles variaciones de la reflectividad espectral debidas a diferencias en la composición pigmentaria, tamaño y forma celular.

Sin embargo, el desarrollo de algoritmos para la estimación de la biomasa y composición del fitoplancton en aguas continentales es, hoy en día, muy

limitado (Kravitz *et al.*, 2021). La principal causa es que apenas existen campañas de muestreo en lagos en las que se haya obtenido, de forma simultánea en los mismos puntos de medida: una determinación taxonómica del fitoplancton; un análisis de su composición pigmentaria; un análisis de la concentración de otros OAC y medidas de reflectividad espectral u otras propiedades ópticas aparentes.

Sin esas bases de datos, el conocimiento de las propiedades ópticas del fitoplancton en lagos sólo puede ser fragmentario y basado en aproximaciones que no recogen la variabilidad esperada. Y los algoritmos obtenidos sólo pueden aspirar a estimar una o dos variables (Clorofila y Ficocianina) con la exactitud y precisión requeridas en los modelos ecológicos o en las aplicaciones de seguimiento y control de la calidad del agua (Pahlevan *et al.*, 2022). Existen algunos ejemplos de estudios detallados, pero circunscritos a un solo lago o a un grupo pequeño de lagos de características homogéneas (Zhang *et al.*, 2010; Matthews *et al.*, 2013; Giardino *et al.*, 2014). Y algunas iniciativas de reunir bases de datos amplias con datos de lagos de diversas regiones del planeta, con buen nivel de detalle en la información de reflectividad y la concentración de los principales OAC (Spyrakos *et al.*, 2020; Lehmann *et al.*, 2023), pero insuficiente en la caracterización taxonómica y pigmentaria del fitoplancton.

Esta tesis aspira a proporcionar ese conocimiento, mediante dos estudios paralelos y complementarios. Por un lado, realizando, por vez primera, la caracterización bio-óptica de una muestra de lagos y embalses de la península ibérica, representativa de un amplio gradiente de condiciones climáticas, geomorfológicas y ecológicas. Y por otro, mediante el desarrollo de un modelo matemático, validado con datos de la caracterización bio-óptica, que permita la simulación de la reflectividad de cualquier lago o masa de agua a partir de la composición pigmentaria, tipo y tamaño del fitoplancton y concentración del resto de OAC.

1.1. Propósito, hipótesis y objetivos

El título de la tesis, *desarrollo y validación de un modelo bio-óptico para la teledetección del fitoplancton en aguas continentales*, condensa su contenido y **propósito**:

- *Desarrollo*, porque se ha construido un programa informático que contiene algoritmos y funciones que simulan la interacción de la luz solar con las poblaciones de fitoplancton y con el resto de los componentes ópticamente activos presentes en las aguas continentales.
- *Validación*, porque se ha llevado a cabo una extensa campaña de medidas ópticas y limnológicas en embalses y lagos de la península ibérica, que ha servido para caracterizar la variabilidad esperada y para verificar el desempeño del modelo y estimar su exactitud y precisión.
- *Modelo bio-óptico*, porque simula las propiedades ópticas del fitoplancton y de otros constituyentes de las masas de agua a partir de su concentración y propiedades físicas y bioquímicas.
- *Teledetección*, porque, aunque en esta tesis no se ha procesado ni una sola imagen, el modelo es capaz de simular la reflectividad espectral observable por cualquier sensor remoto y aspira a ser una herramienta para el desarrollo de algoritmos de obtención de variables biogeoquímicas a partir de imágenes multi- e hiperespectrales.
- *Fitoplancton*, porque es el componente más complejo y relevante de los ecosistemas acuáticos que puede ser estudiado mediante teledetección, el que ha recibido el mayor esfuerzo de caracterización y el que está simulado con mayor detalle en el modelo.
- *Aguas continentales*, porque, aunque el modelo puede simular cualquier tipo de agua, se ha validado en embalses y lagos y su propósito es contribuir al conocimiento de este tipo de ecosistemas, de mayor complejidad y diversidad que las aguas oceánicas, pero mucho menos estudiados hasta ahora.

Como síntesis de su contenido y propósitos, el modelo se ha denominado, en el idioma de la Ciencia: *PHYtoplankton-Based Optical Model (PHYBOM)* y así es citado frecuentemente en el texto. El nombre destaca el énfasis en la simulación del fitoplancton, aun cuando es un modelo general para la simulación global de la respuesta espectral de una masa de agua.

La **hipótesis** principal de esta tesis es que *es posible estimar y modelizar la contribución de los distintos grupos del fitoplancton a la reflectividad espectral de las aguas continentales, partiendo de su composición pigmentaria y tamaño celular.*

Para verificar esta hipótesis, los **objetivos** principales de la tesis son:

- Estudiar y caracterizar, de forma conjunta, las poblaciones naturales del fitoplancton y sus propiedades ópticas en una muestra representativa de lagos y embalses de la península ibérica.
- Desarrollar y validar un modelo bio-óptico de simulación de la reflectividad espectral, con un error aceptable para aplicaciones de teledetección, que recoja la variabilidad del fitoplancton, materia orgánica disuelta y partículas no algales, así como otras variables ambientales.

El objetivo último es disponer de una herramienta de simulación versátil, capaz de generar bases de datos extensas y realistas de reflectividad, que puedan usarse en el desarrollo y validación de algoritmos para la teledetección de la biomasa y composición del fitoplancton en aguas continentales.

2. Antecedentes y fundamentos teóricos

2.1. Interacción de la luz con los medios acuáticos

La naturaleza de la luz fue controvertida desde los albores de la física moderna. Huygens, en 1678, fue el primero en formular una teoría ondulatoria de propagación de la luz, mientras que Newton propuso en 1704 una explicación alternativa para las leyes ópticas como propagación de partículas discretas. A finales del siglo XIX, Maxwell explicó la luz como la propagación de ondas electromagnéticas, teoría que fue verificada experimentalmente por Hertz en 1887. Este conjunto de teorías estimuló la investigación acerca del propio concepto de materia, radiación, y sus interacciones, que cristalizó con el desarrollo de la *mecánica cuántica*, a comienzos del siglo XX.

Un concepto fundamental en el desarrollo de la mecánica cuántica fue la hipótesis de Planck, en 1900, de que la materia no puede cambiar su estado energético de manera continua, sino de manera discreta, por "saltos" o cuantos. Y Einstein, en 1905, publicó su hipótesis de que la luz también está cuantizada. Ambas hipótesis han sido validadas en numerosos experimentos y constituyen la base de la teoría cuántica del campo electromagnético, conocida como *electrodinámica cuántica*, teoría cuántica de campos, que describe la luz como partículas (fotones), asociadas a un campo de fuerza electromagnético y sus interacciones de la materia como interacciones (cuantizadas) entre campos de fuerza.

La Relación de Planck–Einstein establece que la energía de un fotón ε es inversamente proporcional a su longitud de onda λ (m) y directamente proporcional a su frecuencia ν (s⁻¹), o su equivalente angular ω (s⁻¹):

$$\varepsilon = \hbar\omega = \frac{hc}{\lambda} \quad [J] \quad 2.1$$

Donde $h = 6.6 \times 10^{-34}$ J s es la constante de Planck, $\hbar = h/2\pi$ y $c = 3 \times 10^8$ m s⁻¹ es la velocidad de la luz en el vacío. La luz sólo puede interaccionar con un material si $\hbar\omega$ corresponde con un salto energético permitido por ese material. E igualmente, toda radiación emitida lo hará con una energía $\hbar\omega'$ correspondiente a la diferencia entre alguno de los niveles energéticos permitidos por ese material. Si los fotones absorbidos y emitidos tienen la misma energía ($\hbar\omega = \hbar\omega'$) se habla de proceso *elástico*, mientras que si tienen diferente energía ($\hbar\omega \neq \hbar\omega'$) se habla de proceso *inelástico*.

Cuando la luz interacciona con la materia, pueden suceder tres procesos:

- *Absorción*, en la que su energía radiante es convertida en otro tipo de energía, como energía química o disipación térmica. El efecto neto es que la luz tiende a desaparecer (los fotones son absorbidos).
- *Dispersión elástica*. En la que la luz cambia de dirección, pero mantiene su longitud de onda.
- *Dispersión inelástica*, en la que la luz cambia su longitud de onda y su dirección.

A continuación se describen brevemente la bases físicas de esos tres tipos de interacción.

Absorción

Cuando un fotón, entendido como un campo eléctrico oscilante, se aproxima a un átomo o una molécula, existe una cierta probabilidad de que su energía sea absorbida por un electrón, que pasará a ocupar un nivel energético diferente. Los niveles energéticos están “cuantizados” lo que quiere decir que sólo una cantidad de energía específica es capaz de producir ese “salto” del electrón a un nivel energéticamente superior. Por tanto, sólo cuando la frecuencia de un fotón coincide con la diferencia de energía entre dos niveles electrónicos (ecuación 2.2) es posible que se produzca esa transición del electrón:

$$\omega = \frac{E_2 - E_1}{h} \quad 2.2$$

Como muestra la Figura 2.1, los saltos entre niveles energéticos se producen para frecuencias (y por tanto longitudes de onda) definidas, que se representan como líneas de absorción. Sin embargo, para cada nivel energético existen varios subniveles *vibracionales* y *rotacionales*, correspondientes a los diferentes modos de vibración y rotación de una molécula, respectivamente, que también están cuantizados.

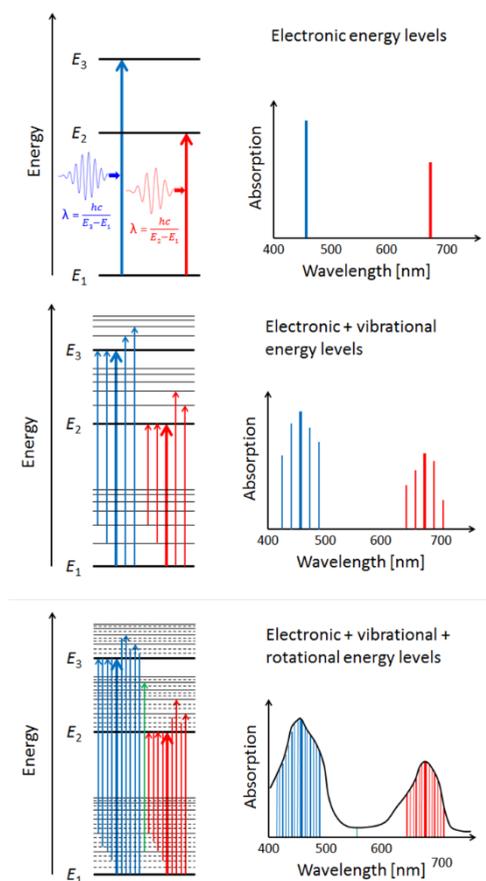


Figura 2.1. Esquema de los procesos fundamentales de la interacción de la luz con la materia. Las líneas horizontales representan estados cuantizados de los electrones en las moléculas (niveles orbitales, vibracionales, rotacionales). La energía se representa en sentido creciente por las flechas verticales

En consecuencia, en una molécula existe un gran número de saltos energéticos, definidos como líneas de absorción en el espectro electromagnético (de la luz visible en este caso). Cuando la resolución espectral del instrumento de medida no es suficiente como para detectar las líneas de absorción, el efecto observado es el de una curva de absorción continua (Figura 2.1). A las resoluciones habituales en el estudio de las masas de agua naturales, y a la de PHYBOM, cuya resolución espectral por defecto es de 1 nm, la absorción se manifiesta en forma de espectros continuos como los de la Figura 2.1.

En las masas de agua, la propagación de la radiación electromagnética está muy dificultada por la absorción de la molécula de agua, que a su vez determina la profundidad de penetración de la radiación. Como se puede ver en la Figura 2.2, la profundidad de penetración, determinada como la profundidad a la cual el 90% de la luz incidente ha sido absorbida, es muy pequeña en todo el espectro electromagnético y sólo alcanza profundidades superiores a 1 metro en la región de la luz visible (400-700 nm). Los procesos biológicos relevantes que hacen uso de la radiación electromagnética (visión y fotosíntesis), así como la teledetección, están constreñidos a este estrecho rango, extendido algo en el ultravioleta y el infrarrojo cercano. Por ello, en el contexto de las aguas continentales y marinas se utiliza el término *luz* como sinónimo de la radiación electromagnética y se habla de *óptica*, que alude al estudio de las propiedades de la luz y su interacción con la materia.

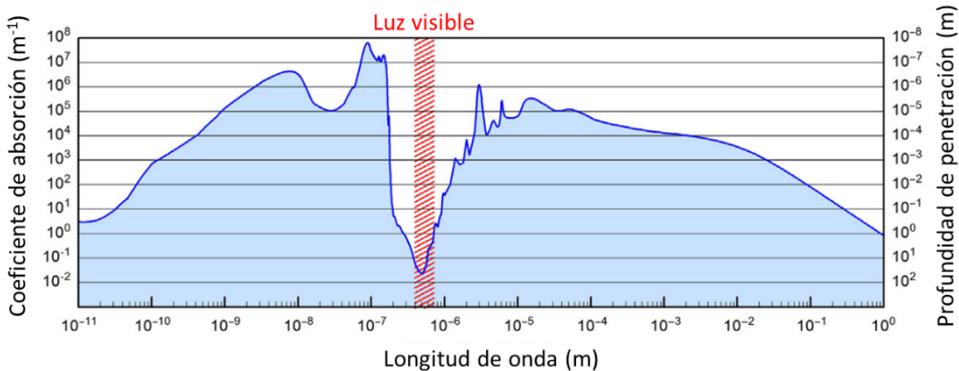


Figura 2.2. Coeficiente de absorción del agua pura y profundidad de penetración de la radiación electromagnética. Adaptado de Gege (2017).

Dispersión elástica

De acuerdo con las ecuaciones de Maxwell, la velocidad de la luz en un medio v depende de la permeabilidad magnética μ y de la permitividad eléctrica ϵ de ese medio:

$$v = \frac{1}{\sqrt{\mu\epsilon}} \quad [\text{m s}^{-1}] \quad 2.3$$

El índice real de refracción n es el cociente entre la velocidad de la luz en el vacío c y la velocidad de la luz en el medio v :

$$n = \frac{c}{v} = \sqrt{\frac{\mu\epsilon}{\mu_0\epsilon_0}} \quad 2.4$$

Donde μ_0 y ϵ_0 son los valores de permeabilidad magnética y permitividad eléctrica en el vacío.

El índice de refracción de un medio varía según la longitud de onda y tiene también una dependencia con la temperatura. Para el agua pura, en el rango visible de longitudes de onda su valor es de aproximadamente 1.33, a temperatura ambiente. La presencia de sales disueltas incrementa la permitividad eléctrica del agua, por lo que las aguas marinas tienen un valor de n algo superior, en torno a 1.34.

La dispersión elástica se produce cuando hay un cambio en el *índice real de refracción* n del medio que está atravesando la luz. Aunque el principio físico subyacente es siempre el mismo, se habla de diferentes tipos de dispersión en función de su modelización. Así, la dispersión de superficie (*surface scattering*) se refiere a la dispersión causada por el cambio en el índice de refracción en la frontera entre dos medios, como es el caso de la interfaz aire-agua. La dispersión de volumen (*volume scattering*) se refiere a la dispersión debida a cambios en el índice de refracción dentro de un medio, debido a la presencia de partículas, a fluctuaciones térmicas en la densidad del medio o por mezcla turbulenta de fluidos con diferentes propiedades físicas.

Para el caso de luz incidente en partículas esféricas de cualquier radio embebidas en un medio *dieléctrico* (que no es buen conductor de la electricidad, como es el caso del agua), la solución de las ecuaciones de Maxwell se conoce como *Teoría de Mie*. Las formulaciones de Mie y algunas de sus aproximaciones, han demostrado ser muy útiles para explicar las propiedades ópticas de

partículas suspendidas en el agua y en especial el fitoplancton, como se verá en detalle en el Capítulo 2.1.2.2.

Dispersión inelástica

Cuando un electrón ha absorbido la energía de un fotón, pasando a un nivel energético superior (excitado), tiende a volver a su estado inicial y en ese proceso, también cuantizado, pierde esa energía, que es disipada por diferentes vías. En el contexto que esta tesis, y en especial el de la modelización de las propiedades ópticas del fitoplancton, la más importante es la emisión de un fotón en forma de **fluorescencia**, que se tratará en detalle en el Capítulo 2.2.5.

2.1.1. Radiometría

La radiometría se puede definir como la ciencia de la medida de la energía electromagnética (Mobley, 2022). Todas las magnitudes radiométricas se refieren a energías y flujos de fotones. Así, el *flujo radiante* es la energía de N fotones por unidad de tiempo, t :

$$\phi(\lambda) = \frac{N\varepsilon(\lambda)}{t} \quad [Js^{-1} = W] \quad 2.5$$

De acuerdo con la ecuación 2.1, la energía de un fotón depende de su longitud de onda λ y por tanto todas las magnitudes radiométricas dependen de λ . No obstante, para simplificar la notación matemática, en algunas ecuaciones en este trabajo, λ no se incluye de forma explícita.

Para definir las relaciones geométricas, en radiometría se utiliza un sistema de coordenadas esférico, con origen en un elemento infinitesimal de área dA . El *ángulo cenital* θ y el *ángulo acimutal* φ definidos por el eje de propagación de un haz de luz con origen en dA (Figura 2.3).

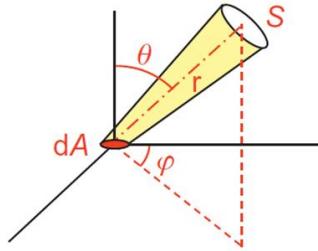


Figura 2.3. Definición de parámetros geométricos.

El *ángulo sólido* Ω es el cociente entre un elemento de área S en la superficie de la esfera y el cuadrado del radio de la esfera r :

$$\Omega = \frac{S}{r^2} \quad [sr] \tag{2.6}$$

El flujo radiante I dentro de ese ángulo sólido se denomina *intensidad radiante*:

$$I(\lambda) = \frac{d\phi(\lambda)}{d\Omega} \quad [W \ sr^{-1}] \tag{2.7}$$

Mientras que el flujo radiante por elemento de área se denomina *irradiancia*:

$$E(\lambda) = \frac{d\phi(\lambda)}{dA} \quad [W \ m^{-2}] \tag{2.8}$$

La intensidad radiante incidente en dA en la dirección (θ, φ) o emitida en esa dirección, se denomina *radiancia*:

$$L(\theta, \varphi, \lambda) = \frac{dI(\theta, \varphi, \lambda)}{dA} = \frac{d^2\phi(\theta, \varphi, \lambda)}{dA \ d\Omega} \quad [W \ m^{-2} \ sr^{-1}] \tag{2.9}$$

Para analizar las relaciones entre la irradiancia E y la radiancia L se suelen utilizar dos tipos de superficies (planas y esféricas) y el flujo radiante dividirse en las direcciones hacia arriba (*upward*) y hacia abajo (*downward*), que se indican con los subíndices “u” y “d” respectivamente. Para una superficie plana, el flujo por área es proporcional a $|\cos \theta|$, el módulo del coseno del ángulo cenital de incidencia, y las irradiancias en el plano horizontal (*plane irradiances*) se obtienen por integración de la radiancia incidente en un hemisferio (ecuaciones 2.10 y 2.11).

$$E_u(\lambda) = \int_0^{2\pi} \int_{\pi/2}^{\pi} L(\theta, \varphi, \lambda) |\cos \theta| \sin \theta \, d\theta \, d\varphi \quad 2.10$$

$$E_d(\lambda) = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} L(\theta, \varphi, \lambda) |\cos \theta| \sin \theta \, d\theta \, d\varphi \quad 2.11$$

Para una superficie esférica, el flujo por área es independiente de la orientación de la superficie y las integrales angulares de la radiancia definen la irradiancia escalar (*scalar irradiance*).

$$E_{0u}(\lambda) = \int_0^{2\pi} \int_{\pi/2}^{\pi} L(\theta, \varphi, \lambda) \sin \theta \, d\theta \, d\varphi \quad 2.12$$

$$E_{0d}(\lambda) = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} L(\theta, \varphi, \lambda) \sin \theta \, d\theta \, d\varphi \quad 2.13$$

Las irradiancias planas (E_u y E_d) son magnitudes apropiadas para describir la radiación incidente en un plano horizontal (por ejemplo, la superficie del agua o una determinada profundidad), mientras que para estudiar el campo de iluminación que reciben partículas orientadas de manera aleatoria (como el fitoplancton u otras partículas) se suelen utilizar las irradiancias escalares (E_{0u} y E_{0d}).

2.1.2. Propiedades ópticas inherentes

Los conceptos de *Propiedades Ópticas Inherentes* (IOP) y *aparentes* (AOP) fueron acuñados por Preisendorfer (1961) para distinguir entre propiedades de los materiales que son independientes (IOP) o dependientes (AOP) de las geometrías de iluminación y de observación.

A su vez, las IOP se pueden diferenciar en propiedades *volumétricas* y propiedades *de partícula*. Las primeras estudian la interacción de la luz con un volumen de materia, que, en el caso de las masas de agua, contiene moléculas de agua, sustancias disueltas y partículas en suspensión. Son por tanto propiedades que describen el comportamiento óptico de un volumen de agua con una composición de OAC dada. Las segundas se centran en la interacción de

la luz con los OAC, especialmente con las partículas en suspensión (células de fitoplancton, bacterias, virus, partículas minerales, coloides, flóculos). Es decir, describen las propiedades ópticas a nivel de partícula.

Esta clasificación es útil para explicar los conceptos que subyacen a ambos tipos de propiedades. Pero, como se verá más adelante, ambos tipos de IOP se relacionan de forma estrecha, y en la modelización bio-óptica es necesario combinar la aproximación volumétrica con la aproximación a nivel de partícula para poder caracterizar en detalle el comportamiento óptico de las masas de agua naturales.

2.1.2.1. Propiedades volumétricas

Para definir las IOPs se considera una capa imaginaria de un medio con espesor infinitesimal dz , iluminado de manera perpendicular por un haz de luz plano paralelo con flujo radiante ϕ (Figura 2.4). Al atravesar el medio, los fotones pueden ser absorbidos o dispersados. El flujo de fotones absorbidos o dispersados se denota como $d\phi_a$ y $d\phi_b$, respectivamente. La pérdida de luz en el flujo transmitido es $(d\phi_a + d\phi_b)$, por lo que el flujo transmitido queda como: $\phi_t = \phi - d\phi_a - d\phi_b$

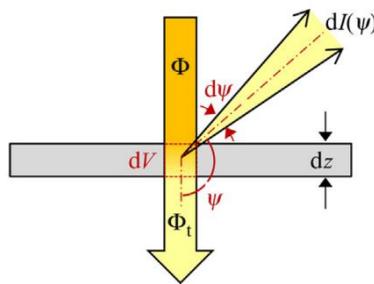


Figura 2.4. Interacción de un haz de luz de flujo radiante ϕ con una capa fina de un medio (de espesor dz).

El *coeficiente de absorción* se define como la fracción de flujo incidente que ha sido absorbido, por unidad de longitud:

$$a(\lambda) = \frac{1}{\phi(\lambda)} \frac{d\phi_a(\lambda)}{dz} \quad [m^{-1}] \tag{2.14}$$

De manera análoga, el *coeficiente de dispersión (scattering)* se define como la fracción de flujo incidente que ha sido dispersado, por unidad de longitud:

$$b(\lambda) = \frac{1}{\phi(\lambda)} \frac{d\phi_b(\lambda)}{dz} \quad [m^{-1}] \quad 2.15$$

Y la suma de ambos coeficientes se define como el *coeficiente de atenuación del haz (beam attenuation coefficient)*:

$$c(\lambda) = a(\lambda) + b(\lambda) = \frac{1}{\phi} \frac{d\phi_a + d\phi_b}{dz} = \frac{1}{\phi} \frac{\phi - \phi_t}{dz} \quad [m^{-1}] \quad 2.16$$

Por otro lado, el cociente entre el coeficiente de dispersión y el de atenuación del haz se conoce como *single-scattering albedo* (ecuación 2.17), e indica la probabilidad de que un fotón sea dispersado en vez de absorbido (Mobley, 2022).

$$\omega_0 = \frac{b(\lambda)}{c(\lambda)} \quad [m^{-1}] \quad 2.17$$

Los coeficientes a , b y c son suficientes para describir la interacción de un material con la luz en una dimensión (un haz de luz paralelo). No obstante, la dispersión añade dos dimensiones más al proceso, ya que los fotones pueden ser dispersados en cualquier dirección diferente a la del haz incidente. El ángulo ψ entre las direcciones del haz incidente y el dispersado se conoce como *ángulo de dispersión (scattering angle)*, tal y como se muestra en la Figura 2.4.

Si consideramos un volumen infinitesimal dV , iluminado con una irradiancia E (Figura 2.4), la intensidad radiante dispersada por ese elemento de volumen en la dirección ψ , normalizada por la irradiancia E , se denomina *función de volumen de la dispersión (VSF, Volume Scattering Function)*:

$$\beta(\psi, \lambda) = \frac{1}{E(\lambda)} \frac{dI(\psi, \lambda)}{dV} \quad [m^{-1} sr^{-1}] \quad 2.18$$

E integrando $\beta(\psi)$ para todos los ángulos de dispersión se obtiene el *coeficiente de dispersión*:

$$b = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi} \beta(\psi, \lambda) \sin\psi \, d\psi \, d\varphi = 2\pi \int_0^{\pi} \beta(\psi, \lambda) \sin\psi \, d\psi \quad 2.19$$

El cociente entre la VSF y el coeficiente de dispersión se denomina *función de fase de la dispersión (scattering phase function)*

$$\tilde{\beta}(\psi, \lambda) = \frac{\beta(\psi, \lambda)}{b} \quad [sr^{-1}] \tag{2.20}$$

Al ser una función normalizada, su integral en todas direcciones es la unidad:

$$2\pi \int_0^\pi \tilde{\beta}(\psi, \lambda) \sin\psi \, d\psi = 1 \tag{2.21}$$

La función de fase define el patrón de distribución angular, mientras que el coeficiente de dispersión indica el valor absoluto de la luz dispersada. Conjuntamente definen la VSF de una masa de agua, tal y como se puede deducir de la Ecuación 2.20.

En las masas de agua naturales, el conjunto de partículas en suspensión dispersa mayoritariamente la luz en ángulos pequeños con respecto a la dirección de propagación del haz incidente. De hecho, tal y como muestra la Figura 2.5, la luz dispersada en ángulos de $\pm 1^\circ$ es unos cuatro o cinco ordenes de magnitud mayor que la dispersada en ángulos de $\pm 90^\circ$.

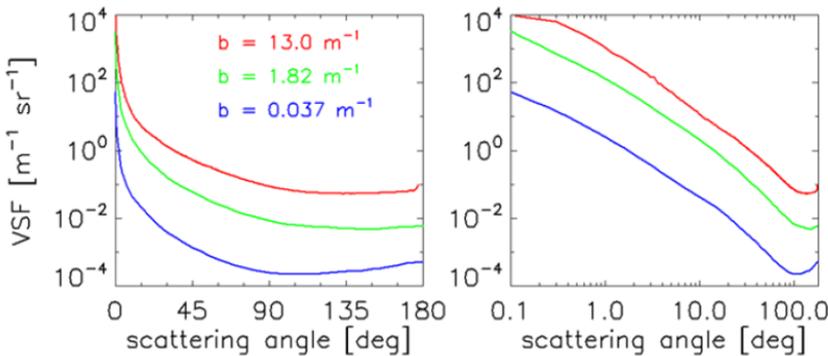


Figura 2.5. A la izquierda, un ejemplo de tres VSF (Volume Scattering Functions) medidas en aguas oceánicas claras a 514 nm (línea azul), en aguas costeras turbias a 514 nm (línea verde) y en aguas costeras eutróficas a 530 nm (línea roja). A la derecha, el ángulo de dispersión se representa en escala logarítmica, para destacar la forma de la VSF para ángulos pequeños (near-forward scattering). Tomada de Mobley (2022).

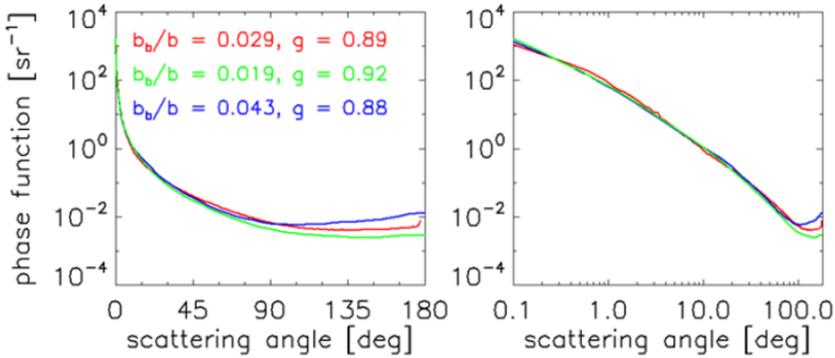


Figura 2.6. Funciones de fase correspondientes a las VSF de la Figura 2.5. Se indican los valores del coeficiente de asimetría g y de la fracción de backscattering asociadas a cada VSF. Tomada de Mobley (2022).

Un parámetro utilizado para indicar de manera rápida la forma de la VSF es el *parámetro de asimetría* de la función de fase, g , definido como el promedio del coseno del ángulo de dispersión en todas direcciones.

$$g(\lambda) = 2\pi \int_0^\pi \tilde{\beta}(\psi, \lambda) \cos \psi \sin \psi \, d\psi \tag{2.22}$$

El valor de g puede oscilar entre -1 cuando toda la luz dispersada lo hace hacia atrás con respecto al sentido de propagación del haz (*backward*) y +1 cuando toda la luz es dispersada hacia adelante (*forward*). Los valores de g en aguas naturales suelen oscilar entre +0.8 y +0.95 (Mobley, 2022).

Tal y como se detallará más adelante, una IOP mucho más utilizada en los modelos bio-ópticos y muy relevante en teledetección es el *coeficiente de retrodispersión* (*backscattering coefficient*), definido como la integral de todo el flujo radiante dispersado hacia atrás, es decir, la integral de la VSF para ángulos entre $\pi/2$ y π :

$$b_b(\lambda) = 2\pi \int_{\pi/2}^\pi \beta(\psi, \lambda) \sin \psi \, d\psi \tag{2.23}$$

Y de forma análoga el *forward scattering* integra todos los fotones dispersados entre 0 y $\pi/2$:

$$b_f(\lambda) = 2\pi \int_0^{\pi/2} \beta(\psi) \sin\psi \, d\psi \quad 2.24$$

La suma de ambos coeficientes es el coeficiente de dispersión:

$$b(\lambda) = b_f(\lambda) + b_b(\lambda) \quad 2.25$$

Y una IOP de gran interés, como se verá más adelante, es la *fracción de retrodispersión* \tilde{b}_b , que es el cociente entre los coeficientes de retrodispersión y dispersión:

$$\tilde{b}_b(\lambda) = \frac{b_b(\lambda)}{b(\lambda)} \quad 2.26$$

Esta fracción \tilde{b}_b es fundamental en teledetección, ya que la mayoría de la luz que emerge de una masa de agua *hacia arriba* procede de luz solar que originalmente incidió *hacia abajo* y fue retrodispersada. Al respecto, es importante mencionar que en algunos modelos bio-ópticos, las ecuaciones 2.18 a 2.24 se expresan en términos de ángulo cenital θ y no de ángulo de dispersión ψ , al referirse a un sistema de coordenadas en el que θ distingue dos hemisferios separados por la superficie del agua. Esa definición implica que las magnitudes deben ser consideradas AOP, salvo que se les aplique alguna corrección por el ángulo de incidencia (Sathyendranath & Platt, 1997).

2.1.2.2. Propiedades de partícula

A diferencia de las propiedades volumétricas, definidas para un volumen de medio, las propiedades *de partícula* se definen para partículas aisladas. Se basan en los *factores de eficiencia* adimensionales, definidos como la fracción de la energía radiante que incide sobre la sección transversal de una partícula (*geometrical cross section*) que es absorbida, dispersada, atenuada o retrodispersada. Estos factores se denominan, respectivamente $Q_a(\lambda)$, $Q_b(\lambda)$, $Q_c(\lambda)$ and $Q_{b_b}(\lambda)$. Y al igual que con las propiedades volumétricas, se cumple la relación:

$$Q_c(\lambda) = Q_a(\lambda) + Q_b(\lambda) \quad 2.27$$

Si se conoce el número, tamaño e índice de refracción de las partículas embebidas en un medio, se pueden calcular los coeficientes volumétricos (a , b ,

c y b_b) a partir de los factores de eficiencia. Y esto es particularmente interesante a la hora de modelizar las IOP de los OAC de una masa de agua, que es uno de los objetivos centrales de este trabajo.

Si se asume que las partículas son esféricas y homogéneas, los factores de eficiencia se pueden determinar utilizando la teoría de Mie-Lorentz (Mie, 1908). Los coeficientes de Mie dependen del índice de refracción de la partícula relativo al medio que la rodea (agua), m , y del tamaño relativo de la partícula con respecto a la longitud de onda de la luz incidente en el medio:

$$\alpha = \frac{\pi d}{\lambda} \quad 2.28$$

Donde d es el diámetro de la partícula.

Si las partículas absorben, su índice de refracción relativo al medio es un número complejo, con una parte real n , que determina la velocidad de fase de la onda que se propaga, y una parte imaginaria n' que determina la atenuación del flujo radiante. Por tanto, n y n' se relacionan con la dispersión y la absorción, respectivamente:

$$m = n - in' \quad 2.29$$

Este índice muestra cómo de semejante o diferente es el índice de refracción de la partícula ($n_p - in'_p$) con respecto al del medio en el que se encuentra ($n_w - in'_w$, en el caso del agua):

$$m = \frac{n_p}{n_w} - i \frac{n'_p}{n'_w} \quad 2.30$$

En el caso del agua, la parte real es bastante constante en todo el intervalo de longitudes de onda visibles ($n_w \approx 1.33$ en aguas continentales y $n_w \approx 1.34$ en aguas marinas), mientras que la parte imaginaria varía unos dos órdenes de magnitud, entre el azul (menos absorbente, con $n'_w \approx 2.1E^{-10}$) y el rojo (más absorbente con $n'_w \approx 3.5E^{-08}$), aunque con valores próximos a cero en cualquier caso (en ocasiones se aproxima como $1.33 - i0$). Por tanto, para una partícula con $n_p=1.43$ la parte real de su índice de refracción relativo al agua será $n=1.08$. Los índices de refracción relativos de las partículas presentes en las masas de agua oscilan entre 1 y 1.26 (Twardowski *et al.*, 2001), con el fitoplancton en el rango 1.02-1.09 (Stramski *et al.*, 1988) y los minerales entre 1.14 y 1.26 (Lide, 2004).

Como la formulación de Mie es muy compleja, se suele utilizar la aproximación de la difracción anómala (ADA, *Anomalous Diffraction Approximation*) (Van de Hulst, 1957), que proporciona expresiones analíticas para Q_a , Q_c y Q_b que son aplicables a partículas grandes con respecto a la longitud de onda ($\alpha \gg 1$) y con un índice de refracción relativo al agua cercano a 1 (con n cercano a 1 y n' cercano a 0, como es el caso de las células del fitoplancton y de la mayoría de las partículas no algales). La ADA es útil para obtener Q_a , Q_c y Q_b que no tienen una dependencia angular. Pero esta aproximación no se puede usar para derivar la distribución angular de la luz dispersada o una integral parcial en un intervalo angular dado, como es el caso del *backscattering*. En ese caso hay que llevar a cabo un cálculo completo de la formulación de Mie.

En la ADA, el factor de eficiencia para la absorción $Q_a(\lambda)$ se puede obtener como función de un único parámetro ρ' , que depende a su vez del parámetro de tamaño α y de la parte imaginaria del índice de refracción n' :

$$\rho' = 4\alpha n' \quad 2.31$$

$$Q_a(\rho') = 1 + 2(\rho')^{-1} \exp(-\rho') + 2(\rho')^{-2} [\exp(-\rho') - 1] \quad 2.32$$

Para una longitud de onda λ , n' se relaciona con el coeficiente de absorción de la materia que forma la partícula, que en el caso del fitoplancton será la absorción $a_{cm}(\lambda)$ del material celular (*cm, celular matter*):

$$n' = \frac{\lambda a_{cm}}{4\pi} \quad 2.33$$

Por tanto, combinando las ecuaciones 2.28, 2.31 y 2.33, se obtiene que:

$$\rho' = a_{cm} d \quad 2.34$$

Es decir, ρ' representa el espesor óptico de la partícula por su diámetro. Por tanto, se puede colegir que el *factor de eficiencia para la absorción* Q_a depende únicamente del tamaño de partícula (d) y del coeficiente de absorción del material celular $a_{cm}(\lambda)$. Así, Q_a presenta valores próximos a 0 para células algales pequeñas y poco pigmentadas y se acerca a su máximo de 1 para células grandes y/o muy pigmentadas.

En cuanto al *factor de eficiencia para la atenuación* Q_c , de acuerdo con la ADA se puede expresar como función del parámetro $\rho = 2\alpha(n - 1)$ y del cociente $\xi = n'/(n - 1)$:

$$\begin{aligned}
 Q_c(\rho, \xi) = & 2 - 4 \exp(-\rho \tan \xi) [(\rho)^{-1} \cos \xi \sin(\rho - \xi) \\
 & + (\rho)^{-2} \cos^2 \xi \cos(\rho - 2\xi)] \\
 & + 4(\rho)^{-2} \cos^2 \xi \cos(2\xi)
 \end{aligned}
 \tag{2.35}$$

La ecuación 2.35 muestra como el factor de eficiencia para la dispersión Q_b ($= Q_c - Q_a$) depende, de manera compleja, del tamaño de la célula (relativo a la longitud de onda en el medio), de la parte real del índice de refracción, n , y de su parte imaginaria n' . Esta formulación evidencia que, mientras que la absorción puede ser considerada como totalmente independiente de la dispersión, la dispersión es directamente dependiente de la absorción (a través de las variaciones de n'). Pero, además, las variaciones de n' inducen fluctuaciones en n en lo que se conoce como *dispersión anómala*.

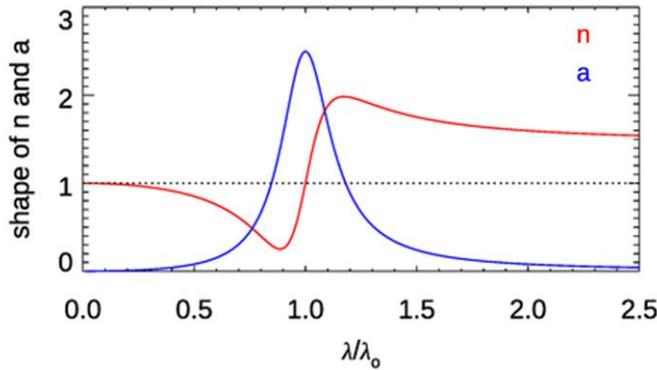


Figura 2.7. Efecto de una banda de absorción (línea azul) en la parte real del índice de refracción de una partícula (línea roja). Tomado de Mobley (2022).

La dispersión anómala, o dependencia de la parte real del índice relativo de refracción n , de la parte imaginaria, n' , se describe en la teoría de *Ketteler-Helmoltz*, que ha sido aplicada, bien con el uso de una serie de osciladores (que representan a las bandas de absorción) calculados a partir de las ecuaciones de Lorentz-Lorentz (Bricaud & Morel, 1986) o, más recientemente, con el uso de las relaciones de *Kramers-Kronig* (Bohren & Huffman, 2008), que permiten calcular las variaciones espectrales en la parte real a partir de la parte imaginaria. En la notación habitual, las variaciones espectrales $\Delta n(\lambda)$, varían en torno al valor central de la parte real, $1 + \epsilon$, de acuerdo con:

$$n(\lambda) = 1 + \epsilon + \Delta n(\lambda)
 \tag{2.36}$$

Estos modelos explican por qué los espectros de dispersión del fitoplancton (que dependen de n) no varían de forma monótona con la longitud de onda, sino que presentan “valles” y “picos” en las regiones espectrales donde se encuentran los máximos de absorción de pigmentos. Los espectros de dispersión presentan, por tanto, una forma espectral “simétrica” a la de los espectros de absorción, aunque muy suavizada, con los picos y valles (máximos y mínimos de dispersión) mucho menos marcados que los máximos y mínimos de absorción (Figura 2.8).

En cuanto al *factor de eficiencia para la retrodispersión* Q_{bb} , a diferencia de Q_b y Q_c , no puede expresarse de forma explícita en el marco de la ADA. Su evaluación requiere de la integración de la función de fase de Mie, para el intervalo angular $90^\circ \leq \psi \leq 180^\circ$. Pero, dada la complejidad de las ecuaciones de Mie que describen la dependencia angular de la dispersión, la integración no puede hacerse de forma analítica, sino mediante aproximaciones de integración numéricas (Bricaud & Morel, 1986; Mobley, 2022).

Aun cuando la asunción de una esfera homogénea no se cumple para la inmensa mayoría de las células del fitoplancton (como ejemplo, la Figura 2.14), la teoría de Mie, y sus aproximaciones de la difracción y dispersión anómalas, se han aplicado con resultados aceptables para la simulación de las IOP de bastantes especies de fitoplancton, sobre todo a partir de la formulación propuesta por Bricaud & Morel (1986). Cuando se aplica a poblaciones de células, la orientación aleatoria de éstas en las tres dimensiones espaciales hace que el conjunto responda mejor a la hipótesis de esfericidad (Twardowski et al., 2001). La aproximación de la difracción anómala tiene la ventaja de su relativa simplicidad computacional y de que permite calcular la parte real e imaginaria del índice de refracción de forma separada, aunque bastantes autores han mostrado las limitaciones de esta aproximación y han propuesto métodos alternativos (Quirantes & Bernard, 2004; Sánchez & Piera, 2016; Poulin *et al.*, 2018). La teoría de la T-Matrix (Waterman, 1965) es la más utilizada, ya que permite simular, además de esferas, esferoides, cilindros o partículas de Chebyshev, siempre que presenten simetría axial (Mishchenko *et al.*, 1996).

2.1.2.3. Relación entre propiedades de partícula y volumétricas

Cuando consideramos poblaciones de partículas en un medio, se habla de una población monodispersa cuando todas las partículas son de igual tamaño y

polidispersa (lo habitual en la naturaleza) cuando existe una variedad de tamaños de partícula en distinta proporción. Para una población monodispersa de partículas esféricas (células en el caso del fitoplancton), los coeficientes de absorción, a , atenuación, c , y dispersión, b , se relacionan con los factores de eficiencia respectivos, Q_a , Q_c y Q_b a través de la siguiente relación:

$$i = (N/V)(\pi d^2/4)Q_i \quad 2.37$$

Donde i indica el tipo de coeficiente o factor (a , c o b), (N/V) es el número de células por unidad de volumen y d el diámetro celular

En el caso de una población polidispersa la ecuación 2.37 se transforma en:

$$i = (\pi/4) \int_0^{\infty} Q_i(d) F(d) d^2 d(d) \quad 2.38$$

Donde $F(d)$ es la función de distribución de tamaños de las partículas en suspensión.

La distribución de tamaños de partículas en un medio acuático (PSD, *Particle Size Distribution*) se suele ajustar a una función hiperbólica, conocida también como *función de Junge*, cuyo parámetro de pendiente, ξ , define la forma de la distribución (más apuntada o más aplanada). En la mayoría de los casos, ξ varía entre 2.5 y 5, con valores típicos entre 3.5 y 4.0 (Twardowski *et al.*, 2001).

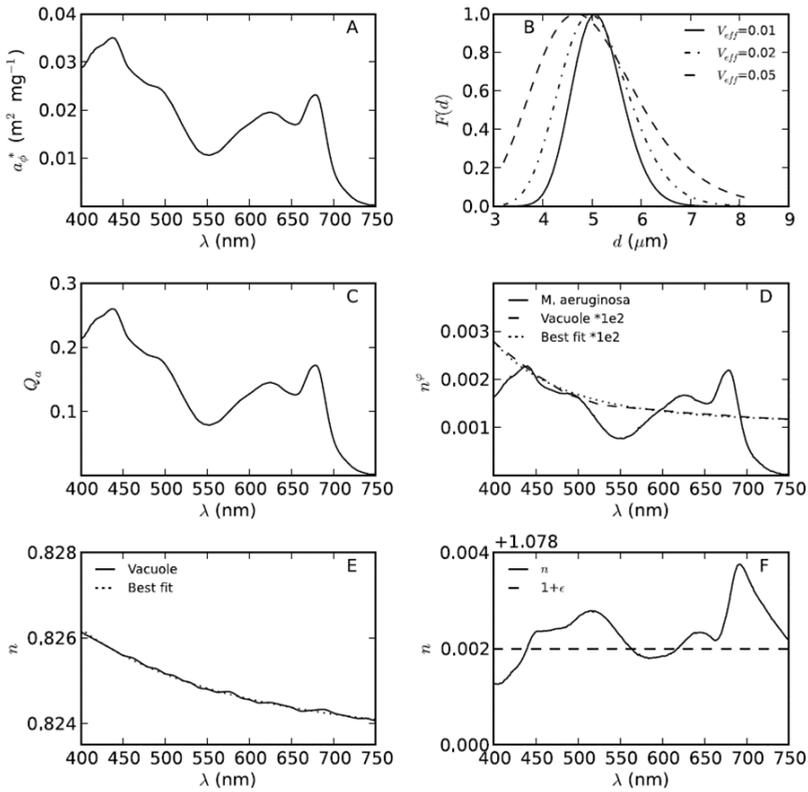


Figura 2.8. Ejemplo de propiedades ópticas de células de fitoplancton (*Microcystis aeruginosa*, una cianobacteria), que contienen vacuolas gaseosas. (A) coeficiente de absorción específica (coeficiente total, a , dividido por la concentración de Clorofila- a); (B) función de distribución de tamaños celulares, $F(d)$ estimada para diferentes varianzas (V_{eff}); (C) factor de eficiencia de absorción, Q_a , calculado a partir de a y $F(d)$ de acuerdo con la ecuación 2.38; (D) parte imaginaria del índice de refracción, n' , para la célula (línea continua) calculada a partir del ajuste entre el valor experimental de Q_a y el modelizado mediante la ADA (la línea discontinua muestra el n' calculado para la vacuola); (E) parte real, n , calculada para la vacuola; (F) n de la célula, obtenido de acuerdo con la ecuación 2.36, a partir de un valor central, $1 + \epsilon$ (línea discontinua), calculado a partir de Q_c y Q_a (ecuaciones 2.32 y 2.35) y de unas variaciones espectrales $\Delta n(\lambda)$ estimadas mediante una transformada de Hilbert (relaciones de Kramers-Kronig). Tomado de Matthews & Bernard (2013).

2.1.3. Propiedades ópticas aparentes

Las *propiedades ópticas aparentes* (AOP) describen las propiedades ópticas de las masas de agua en condiciones de iluminación natural. Se denominan *aparentes* porque dependen de la magnitud y distribución angular de la luz incidente. Y por ello se definen como cocientes o derivadas en función de la profundidad, pues de esa manera se hacen menos dependientes del campo de iluminación que las magnitudes radiométricas, y más dependientes de las propiedades biogeoquímicas del medio.

Las AOP son, por tanto, aquellas propiedades ópticas que dependen tanto del medio (de las IOP) como de la estructura geométrica (direccional) de la distribución de radiancias y que son suficientemente estables como para ser descriptores útiles de una masa de agua. Todas las AOP que se presentan a continuación dependen de la longitud de onda, λ , aunque se omita esa dependencia en las ecuaciones para simplificar su lectura.

La extinción de la luz que atraviesa una masa de agua se caracteriza por varios *coeficientes de atenuación*, que se definen como las tasas de variación de las magnitudes radiométricas con la profundidad. Así, el *coeficiente de atenuación difusa de la irradiancia* se define como la derivada de la irradiancia con la profundidad:

$$K = -\frac{1}{E} \frac{dE}{dz} \quad [m^{-1}] \quad 2.39$$

Y de forma análoga, el *coeficiente de atenuación difusa de la radiancia* se expresa como:

$$k(\theta, \varphi) = -\frac{1}{L(\theta, \varphi)} \frac{dL(\theta, \varphi)}{dz} \quad [m^{-1}] \quad 2.40$$

Las variantes de K son K_d, K_u, K_{0d} y K_{0u} , en las que la irradiancia E de la ecuación 2.39 es remplazada, respectivamente, por las irradiancias E_d, E_u, E_{0d} y E_{0u} definidas en las ecuaciones 2.10 a 2.13. Y las variantes de k son k_d y k_u , en las que la radiancia L de la ecuación 2.40 es medida en la dirección del nadir ($\theta = 0$) o del cénit ($\theta = \pi$), respectivamente.

Los coeficientes de atenuación difusa se utilizan para conocer la penetración relativa de los distintos tipos de luz en una masa de agua, y por ello son muy usados en el estudio de la interacción del fitoplancton con la luz disponible para la fotosíntesis y para definir una serie de *profundidades ópticas*, que sirven también para determinar las profundidades de muestreo, tal y como se explica en el Capítulo 3.1.3.

Otra AOP que se utiliza para resumir de forma muy aproximada la estructura direccional del campo de iluminación son los *cosenos promedio (average cosines)*:

$$\bar{\mu}_d = \frac{E_d}{E_{0d}}, \quad \bar{\mu}_u = \frac{E_u}{E_{0u}}, \quad \bar{\mu} = \frac{E_d - E_u}{E_{0d} + E_{0u}} \quad 2.41$$

Si la distribución de radiancia es isotrópica, entonces $\bar{\mu}_d = \bar{\mu}_u = 1/2$ y $\bar{\mu} = 0$. Y si toda la radiancia incide en una única dirección (θ_0, φ_0) en el hemisferio superior, entonces $\bar{\mu}_d = \cos \theta_0$.

La isotropía (o anisotropía) de la radiancia ascendente de una masa de agua se suele aproximar también con el factor de distribución de luz, Q :

$$Q = \frac{E_u}{L_u} \quad 2.42$$

Para un campo de luz isotrópico, $Q = \pi$.

2.1.3.1. Reflectividad

La AOP más utilizada y la más relevante en teledetección es la *reflectividad*, que conceptualmente se define como la proporción de la luz incidente que es reflejada por una superficie, aunque, en la práctica, hay varias formulaciones que dependen de las magnitudes consideradas y la forma de medirlas. En la óptica hidrológica, la reflectividad se compone de la luz reflejada por la superficie del agua (y del fondo) y la dispersada por el volumen de la masa de agua. Las definiciones de la reflectividad de una masa de agua han de tener en cuenta, además, el hecho de que la reflexión de la superficie del agua es especular y la dispersión de la masa de agua (y la reflexión del fondo) son difusas, por lo que son diferentes a las utilizadas en aplicaciones terrestres. Las tres definiciones más utilizadas son:

Reflectancia de teledetección (remote sensing reflectance):

$$R_{rs} = \frac{L_w(0^+)}{E_d(0^+)} \quad [sr^{-1}] \quad 2.43$$

Cociente de teledetección (Remote sensing ratio):

$$r_{rs}(z) = \frac{L_u(z)}{E_d(z)} \quad [sr^{-1}] \quad 2.44$$

Reflectividad de irradiancia (Irradiance reflectance):

$$R(z) = \frac{E_u(z)}{E_d(z)} \quad 2.45$$

La R_{rs} es el cociente de la radiancia emergente de la masa de agua, L_w justo por encima de la superficie (de ahí el símbolo 0^+) entre la irradiancia planar descendente E_d que alcanza la superficie del agua. L_w no puede medirse directamente, sino que tiene que obtenerse de la medida de la radiancia total, L_u , sustrayendo de ella la radiancia reflejada, L_r :

$$L_w = L_u - L_r \quad 2.46$$

A diferencia de R_{rs} , medida desde fuera del agua, las otras reflectividades, se obtienen de medidas tomadas dentro del agua, como indica el parámetro de profundidad z . El *cociente de teledetección* L_u/E_d equivale, en la comunidad de aplicaciones terrestres, al *factor de reflectividad hemisférico-cónico*, mientras que la *reflectividad de irradiancia* E_u/E_d equivale a la *reflectividad bihemisférica* o más comúnmente denominada *albedo* (Schaepman-Strub *et al.*, 2006).

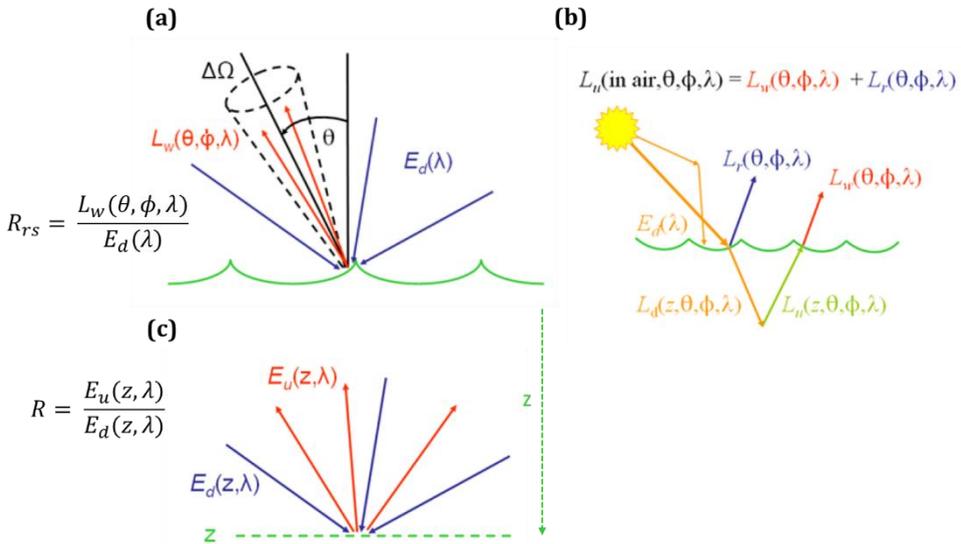


Figura 2.9. Componentes de (a) la reflectividad de teledetección, R_{rs} ; (b) la radiancia emergente L_w ; (c) la reflectividad de irradiancia R . Modificado de Mobley, 2022.

En los inicios de los estudios de las aguas oceánicas y continentales por teledetección, la reflectividad de irradiancia justo por debajo de la superficie del agua $R(z = 0)$ fue la más utilizada en los modelos bio-ópticos, debido sobre todo a su relativa facilidad de medida con respecto a R_{rs} . Pero R_{rs} se ha convertido actualmente en la forma estándar de medir la reflectividad para aplicaciones de teledetección. En parte por las mejoras en la instrumentación de medida, pero sobre todo a raíz del trabajo de Mobley (1999), que demostró que R_{rs} es mucho menos sensible que R a las condiciones ambientales (como el ángulo cenital solar o el estado del cielo), y por tanto relativamente más sensible a las IOP del medio.

La Figura 2.10, tomada de Mobley (2022), ejemplifica esas diferencias. Muestra la $R(z = 0)$ y la R_{rs} calculadas mediante el código de transferencia radiativa HydroLight (Capítulo 2.1.4) para combinaciones de tres concentraciones de Clorofila-a (variación de las IOP), dos velocidades del viento (superficie lisa o con oleaje moderado) y tres condiciones de iluminación (cielos despejados con el sol en el cenit o a 50° del cenit, y cielos cubiertos en los que la posición del sol no se puede precisar). Como se puede apreciar visualmente, R_{rs} se ve mucho

menos afectado que $R(z = 0)$ por las variaciones de las condiciones ambientales y de iluminación, por lo que los modelos basados en R_{rs} serán más robustos en la estimación de las IOP del medio (y/o la Clorofila-a en este caso).

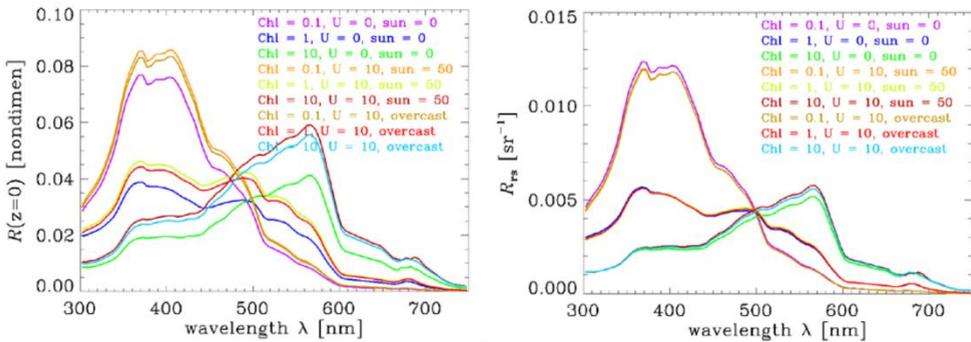


Figura 2.10. $R(z = 0)$ (izquierda) y R_{rs} (derecha) simulados por HydroLight para diferentes IOP y condiciones del medio. Tomado de Mobley (2022).

2.1.4. Transferencia radiativa

La teoría de la *Transferencia Radiativa* (RT) es la aproximación física que describe de manera cuantitativa cómo la radiación electromagnética se modifica en su propagación a través de un medio, desde una fuente emisora hasta un sistema detector. El formalismo matemático que describe esa propagación se conoce como Ecuación de Transferencia Radiativa (RTE), que predice la distribución de la radiancia dentro de ese medio, a partir de sus IOP y de unas condiciones de contorno.

Como muestra la Figura 2.11, la RTE conecta las IOP y las condiciones de contorno con la distribución de la radiancia, que a su vez permite el cálculo de las irradiancias y de todas las AOP. Es, por tanto el elemento central en la simulación de las AOP de una masa de agua, observables desde la superficie o desde un sensor remoto.

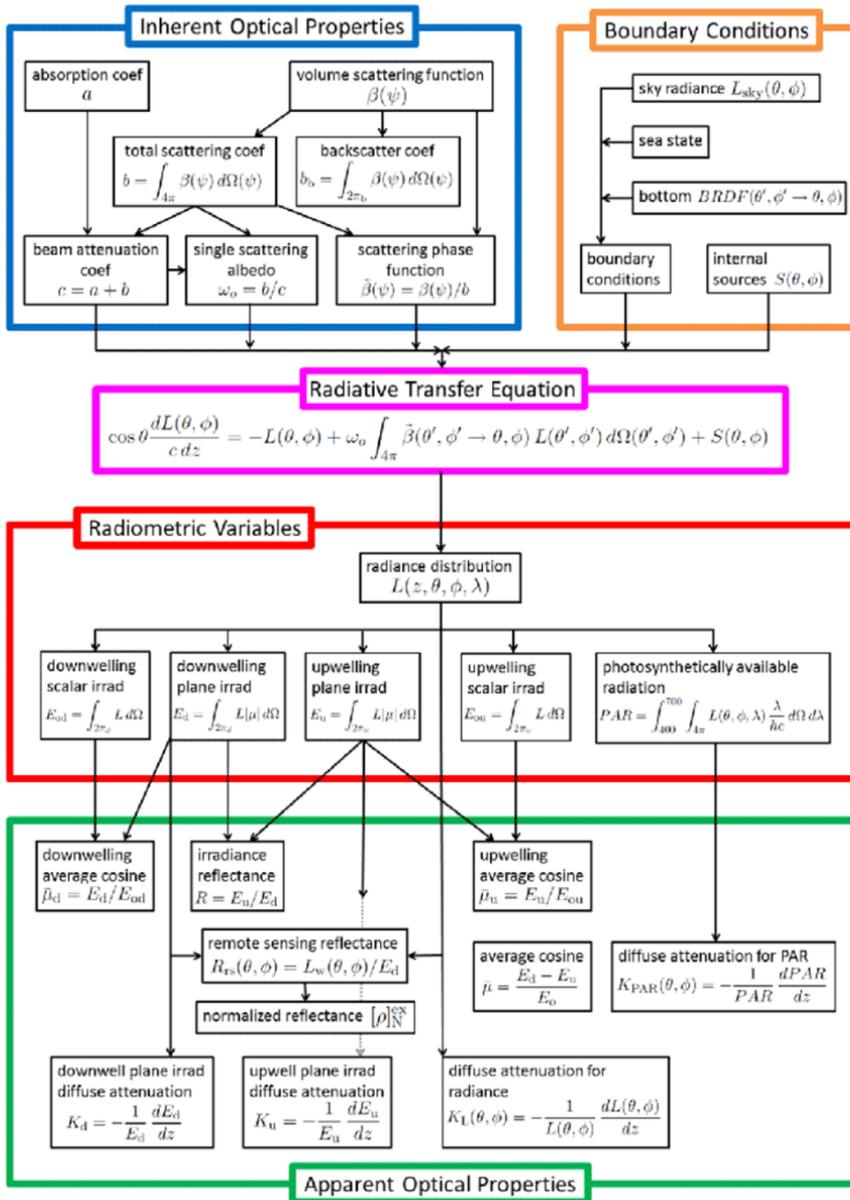


Figura 2.11. Esquema de la conexión entre IOP, variables radiométricas y AOP, a través de la ecuación de transferencia radiativa (RTE). Tomado de Mobley et al. (2022).

La versión más general de la RTE, que se conoce como VRTE (*Ecuación de Transferencia Radiativa Vectorial*), es capaz de describir la propagación de la luz polarizada a través de un medio no isotrópico, que puede absorber luz de diferentes estados de polarización y que contiene partículas dispersivas de cualquier forma en orientaciones aleatorias o no aleatorias. Aunque esta ecuación comprende todas las situaciones que pueden darse en la propagación de la luz en un medio acuático, no ha tenido aplicación práctica por la imposibilidad de medir todas las IOP que requiere.

Las ecuaciones de la VRTE pueden simplificarse ignorando la polarización, asumiendo simetría especular en las partículas y definiendo una geometría plana paralela, para obtener una aproximación conocida como *Ecuación de Transferencia Radiativa Escalar* (SRTE), cuyas variables y parámetros de entrada son relativamente fáciles de medir o modelar, por lo que es la que se utiliza normalmente en óptica hidrológica. No obstante, la solución de las RTE, ya sean vectoriales o escalares, debe hacerse siempre de forma numérica, excepto para algunos pocos casos no realistas en limnología para los que existen aproximaciones analíticas (medio acuático no dispersivo, cielo no dispersivo o *single scattering*).

El código de transferencia radiativa **HydroLight** resuelve numéricamente la SRTE mediante el método de *Inmersión Invariante* (*Invariant Embedding*) (Mobley, 1994), que es mucho más rápido que los métodos alternativos de Monte Carlo o de ordenadas discretas (Mobley et al., 1993). A diferencia de estos, el tiempo de computación depende de forma lineal de la profundidad (y no exponencial como en Monte Carlo) y no se ve apenas afectado por la estructura vertical (como en las ordenadas discretas), todas las cantidades son calculadas con la misma exactitud y no hay ruido estadístico en los resultados. Por todos estos motivos y por la relativa simplicidad de su uso, se ha convertido en el código estándar en óptica oceanográfica y limnológica y en las aplicaciones de teledetección.

En el esquema general de la Figura 2.11, PHYBOM es capaz de generar todas las IOP de una masa de agua a partir de la concentración de sus componentes ópticamente activos, con especial énfasis en la simulación de las IOP del fitoplancton. Conjuntamente con unas condiciones de contorno definidas por el usuario, PHYBOM proporciona las IOP a HydroLight, que resuelve la SRTE, generando la distribución de radiancias de la masa de agua simulada, todas las variables radiométricas y las AOP, incluyendo la “*remote sensing reflectance*”, $R_{rs}(\lambda)$, como variable principal en teledetección.

2.2. El fitoplancton

El fitoplancton se suele definir como el conjunto de organismos fotosintéticos adaptados a vivir parcial o continuamente en aguas abiertas (Reynolds, 2006). Es por tanto la fracción autótrofa del plancton y la responsable de la mayor parte de la producción primaria y de la fijación de carbono atmosférico de los océanos y aguas continentales. Con sólo un 1-2% de la biomasa de las plantas, el fitoplancton es responsable de cerca del 50% de la fijación de CO₂ a escala planetaria (Falkowski & Raven, 2013). Resulta evidente su importancia en un contexto de cambio climático, ya que por un lado el fitoplancton es sensible a los cambios en los balances de energía y materia en los ecosistemas acuáticos, pero por otro lado es capaz de modular o modificar el clima a escala local y global (Dokulil *et al.*, 2020).

El fitoplancton es la base de la cadena trófica en los ecosistemas acuáticos (Figura 2.12), produciendo materia orgánica a partir de H₂O y CO₂ mediante fotosíntesis oxigénica. Sirve de alimento a microorganismos heterótrofos (ciliados y nanoflagelados), al zooplancton herbívoro y a los peces planctívoros. Por otro lado, los restos del fitoplancton (detritus orgánicos) engrosan el conjunto de materia orgánica particulada (POM) y disuelta (DOM), que una vez remineralizada en forma de nutrientes inorgánicos disueltos (DIN), mediante el conocido como “bucle microbiano”, vuelve a ser utilizada por el fitoplancton (Suthers *et al.*, 2019).

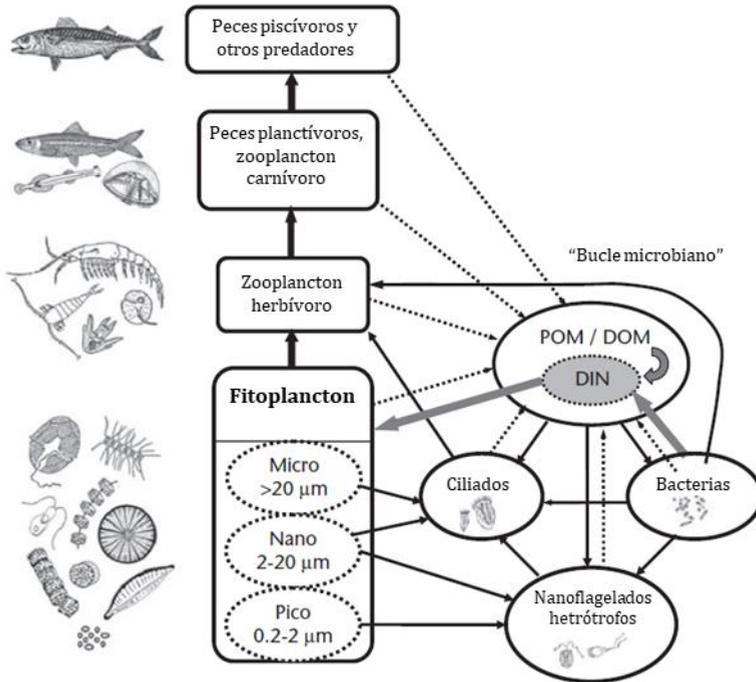


Figura 2.12. Esquema de la red trófica en medios acuáticos (líneas continuas), mostrando la cadena trófica clásica (izquierda) y el “bucle microbiano” (derecha). Las líneas discontinuas indican el flujo de materia orgánica particulada (POM) y disuelta (DOM). Las líneas grises, el ciclo de los nutrientes inorgánicos disueltos (DIN). Adaptada de Suthers et al. (2019).

El papel central del fitoplancton en los ecosistemas acuáticos lo convierte en un indicador del estado ecológico y de la calidad del agua. Por ello, la estimación de la biomasa y composición del fitoplancton permite entender procesos de cambio ligados a alteraciones en las cuencas vertientes o a cambios climáticos (Yang et al., 2021).

Entre los principales impactos antropogénicos, el aporte de *nutrientes* (elementos esenciales para el crecimiento del fitoplancton como el nitrógeno o el fósforo) acelera el proceso de *eutrofización* de las masas de agua y conduce en ocasiones a crecimientos masivos (*blooms*) de ciertos tipos de fitoplancton, que afectan a la disponibilidad de luz y oxígeno en la masa de agua, alterando la biodiversidad de todo el ecosistema (Reynolds, 2006). Con frecuencia en estos *blooms* (Floraciones de Algas Nocivas, *Harmful Algal Blooms* o *HAB*) se

producen toxinas que afectan al uso del agua para abastecimiento humano y animal, así como otros usos recreativos. Los impactos debidos a vertidos, extracciones de agua, cambios de usos de suelo en la cuenca y alteraciones del ciclo hidrológico como consecuencia del cambio climático, alteran las masas de agua continentales hacia condiciones eutróficas, de pérdida de biodiversidad y de la calidad del agua, para usos humanos y ecosistémicos.

La importancia del estudio del fitoplancton está reconocida en directivas ambientales de control de la calidad del agua, como la Directiva Marco del Agua (DMA) europea, que obliga a los Estados miembros a establecer programas de vigilancia, muy costosos de abordar con métodos convencionales de muestreo. También para asegurar el cumplimiento de algunas de las metas establecidas en los objetivos de la Agenda 2030 de España sobre el Desarrollo Sostenible: Agua limpia y saneamiento (Objetivo 6) y Acción por el clima (Objetivo 13) (Gobierno de España, 2020).

Los cambios en la biomasa y composición del fitoplancton modifican el color de las masas de agua. Cuantificar esos cambios, junto con los de otros componentes ópticamente activos (OAC), ha sido un objetivo perseguido desde los inicios de la oceanografía y la limnología (Kirk, 1994), lo que ha propiciado un notable desarrollo de la instrumentación óptica para las medidas *in situ*, así como de sensores remotos para el estudio mediante teledetección de las aguas oceánicas, costeras y continentales.

2.2.1. Tipos de fitoplancton

A lo largo de su historia evolutiva, las adaptaciones al medio acuático han generado una gran diversidad morfológica y funcional en el fitoplancton. Uno de los factores primarios de variación es la cantidad y calidad de la luz solar disponible para la fotosíntesis, que ha determinado la existencia de diferentes tipos de pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores. También la necesidad de evitar la sedimentación, pues la mayoría del fitoplancton es más denso que el agua (Reynolds, 2006).

Hay diversas formas de clasificar el fitoplancton, aunque en este capítulo sólo se revisarán aquellas que tienen mayor impacto en su interacción con la luz solar y, en consecuencia, en su respuesta espectral. Una clasificación muy utilizada es la de Sieburth *et al.* (1978), basada en el *tamaño* (diámetro celular), que distingue el *picoplancton* (0.2-2 μm), el *nanoplancton* (2-20 μm) y el

microplankton (20-200 μm). En aguas oceánicas, en las que el fitoplancton es el componente dominante en la reflectividad, se han desarrollado algoritmos que permiten estimar la contribución de estas clases de tamaño (*Phytoplankton Size Classes*, PSC) a la biomasa total, a partir de las imágenes obtenidas por satélites de observación del color del océano. No obstante, las asunciones de esos algoritmos no son directamente extrapolables a las aguas continentales, de mayor complejidad óptica (Mouw *et al.*, 2017).

La clasificación según el *origen filogenético* es también relevante desde el punto de vista de la limnología óptica, ya que los principales linajes se diferencian por el tipo de pigmentos accesorios que presentan y por tanto en el color de cada grupo. El más antiguo es el de las *Cianobacterias*, que son organismos procariotas en los que la Clorofila-a y los pigmentos accesorios (ficobiliproteínas y xantofilas) se encuentran asociados a unas membranas internas denominadas *tilacoides*. Se especula que formas ancestrales de las Cianobacterias ya habitaban la Tierra hace más de 3000 millones de años y hace 1500 millones de años adoptaron la *fotosíntesis oxigénica*, en la que el dador de electrones es la molécula de agua, liberando oxígeno molecular. Este cambio condicionó toda la evolución posterior de la vida en el planeta al modificar la composición de la atmósfera y el clima y permitir el desarrollo de organismos heterótrofos.

La hipótesis más aceptada para explicar la evolución posterior de todas las algas (y las plantas terrestres) es la *teoría endosimbionte* (Palmer, 2003), según la cual se originaron por sucesivos procesos de simbiosis de una cianobacteria con un organismo eucariota. Como se puede ver en la Figura 2.13, la *endosimbiosis primaria* dio lugar hace unos 300 millones de años al *linaje verde*, que dio lugar a las algas verdes o *Clorofíceas* (origen a su vez de las plantas terrestres). Este linaje se caracteriza por tener clorofila-b y luteína, como pigmentos indicadores más relevantes. Por otro lado, en fechas posteriores (hace unos 200 millones de años) surgió el *linaje rojo*, que se caracteriza por la presencia de clorofila-c. La evolución de este grupo originó por un lado a las *Diatomeas* y *Crisofíceas* (con Fucoxantina) y por otro a las *Criptofíceas*, que contienen Aloxantina y ficobiliproteínas, aunque en mucha menor cantidad que las Cianobacterias.

Por último, el heterogéneo grupo de los *Dinoflagelados* surge por endosimbiosis terciaria de un alga verde o roja, por lo que existen diferentes subtipos según su composición pigmentaria.

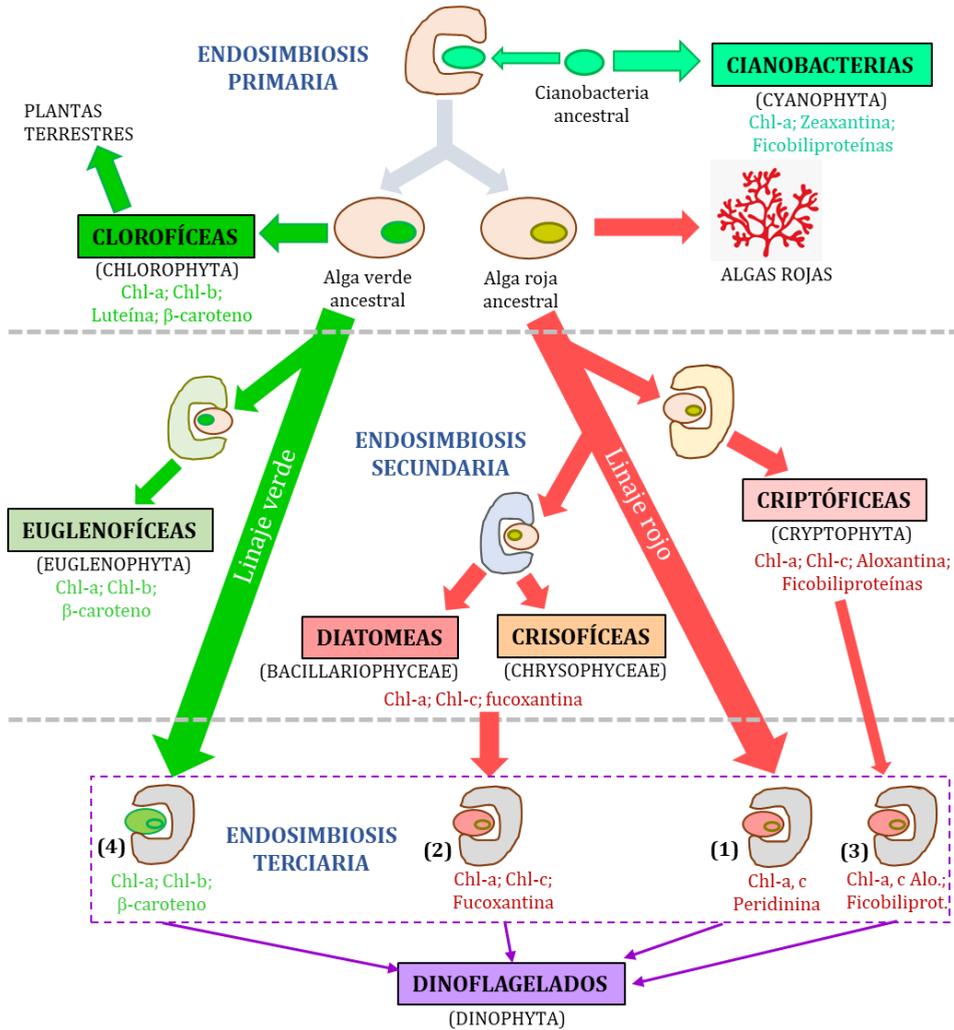


Figura 2.13. Esquema simplificado de la teoría endosimbiótica, indicando los principales grupos taxonómicos del fitoplancton de aguas continentales y sus pigmentos indicadores mayoritarios. Adaptada de Roy et al. (2011).

La teoría endosimbiótica también explica la extraordinaria conservación del mecanismo de la fotosíntesis oxigénica en todo el árbol evolutivo, pues todos los cloroplastos tienen su origen en antiguas células de Cianobacterias.

El fitoplancton se puede clasificar también por la *morfología y organización celular*, que es muy relevante para explicar diferencias en la eficiencia con la que absorben y dispersan la luz y en la distribución angular de la luz dispersada

sentido estricto del término, los grupos considerados en adelante se denominarán con los nombres que comúnmente se han utilizado en el ámbito de la ecología acuática, sin entrar en el detalle de si corresponden con las últimas actualizaciones de las categorías taxonómicas (*dominio, reino, filo, división, clase, orden...*). Los grupos que se han considerado como principales, tanto en la caracterización bio-óptica de los lagos y embalses como en el desarrollo del modelo bio-óptico, son los que aparecen en la Figura 2.13: *Cianobacterias, Clorofíceas, Criptofíceas, Crisofíceas, Diatomeas y Dinoflagelados*. Las *Euglenofíceas* son escasas en la *zona limnética* (zona de aguas abiertas), que es la zona principal de estudio por teledetección, y por tanto se agrupan con las Clorofíceas, por su cercanía filogenética y composición pigmentaria. Por idénticos motivos, las *Rafidofíceas* y *Xantofíceas* se han incluido con las Crisofíceas.

2.2.2. Pigmentos fotosintéticos del fitoplancton

La capacidad del fitoplancton, como organismos autótrofos para captar la energía disponible en el seno de una masa de agua, se debe al conjunto de *pigmentos fotosintéticos*, cuyas estructuras moleculares absorben de forma eficaz la radiación comprendida en el rango espectral de 400 a 700 nm, denominada Radiación Fotosintéticamente Activa (*Photosynthetic Active Radiation; PAR*).

Químicamente se distinguen tres grupos de pigmentos: *clorofilas, carotenoides y ficobiliproteínas*. Todos los organismos fitoplanctónicos contienen clorofilas y carotenoides, pero sólo las Cianobacterias, Criptofíceas y algunos Dinoflagelados contienen ficobiliproteínas.

Las *clorofilas* son compuestos formados por un anillo tetrapirrólico con un átomo de magnesio quelado a cuatro átomos de nitrógeno (Figura 2.15). El sistema de enlaces dobles que circundan el anillo tetrapirrólico constituye una nube de electrones que puede ser polarizada en dos orientaciones, con dos estados excitados simples. El nivel más bajo requiere la absorción de energía de un fotón en la región roja del espectro (640 a 700 nm), mientras que el segundo estado excitado simple requiere la energía de un fotón en la región azul del espectro (435 a 475 nm). Las clorofilas-a y -b contienen una cadena alcohólica de fitol, mientras que las clorofilas-c (que presentan una gran diversidad de subtipos en las algas del linaje rojo), carecen de fitol, por lo que son menos polares.

Los *carotenoides* son compuestos isoprenoides (terpenoides) con una larga cadena de 40 átomos de carbono y al menos 11 enlaces dobles conjugados, lo que les confiere la capacidad de absorber luz en un rango espectral complementario al de las clorofilas. Los más lipofílicos son los *carotenos*, que constituyen además la base de la biosíntesis de un variado grupo de derivados oxigenados: las *xantofilas*.

Las *xantofilas* tienen importantes funciones en fotoprotección y son los principales pigmentos captadores de luz (*Light Harvesting Pigments*) en algas del linaje rojo (que contienen Clorofila *a* y Clorofila *c*; Wilhelm, 1990). En cuanto a las algas del linaje verde tienen un patrón bastante uniforme de xantofilas, que incluye a la Luteína, la Violaxantina y la 9'-*cis*-Neoxantina como componentes principales. En el caso de las algas rojas la Luteína o la Zeaxantina son las xantofilas principales.

Por último, las *ficobilinas* son pigmentos tetrapirrólicos lineales que están ligados de forma covalente a una proteína a través del aminoácido cisteína.

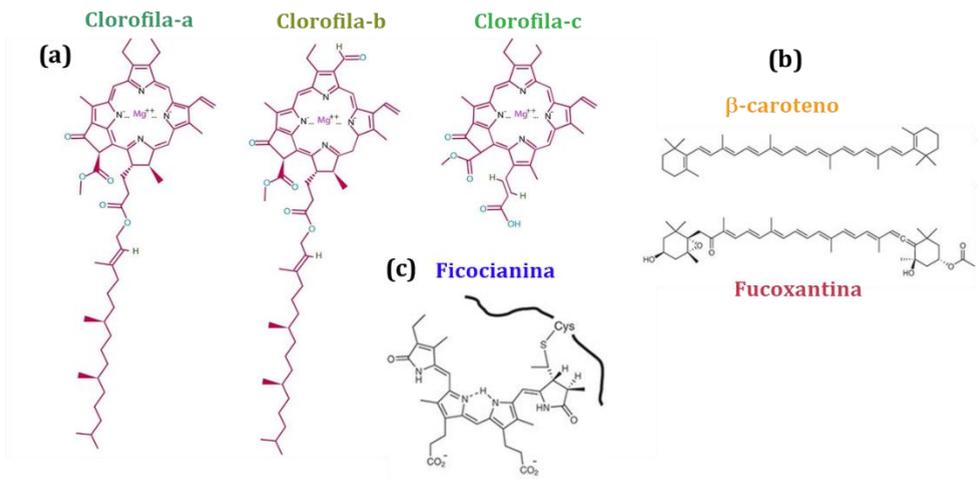


Figura 2.15. (a) Estructura molecular de las principales clorofilas presentes en el fitoplancton. (b) Ejemplo de carotenoides: un caroteno (β -caroteno) y una xantofila (Fucoxantina). (c) Ejemplo de ficobilinas: Ficocianobilina (Ficocianina ligada a una proteína a través de una cisteína)

2.2.2.1. Espectros de absorción de los pigmentos fotosintéticos

La diferente composición química de los pigmentos, con diferente número y posición relativa de enlaces dobles conjugados, determina sus propiedades de absorción de luz, que se miden por espectrofotometría mediante *espectros de absorción*. Cuando la absorción se relativiza a la concentración de pigmento, se habla de *absorción específica* (Figura 2.16).

Aunque cada pigmento tiene una *firma espectral* única, las diferentes familias de pigmentos comparten espectros de absorción semejantes, que tienen un significado biológico en función de su rol en el proceso fotosintético o fotoprotector (Roy *et al.*, 2011). Así, todas las clorofilas se caracterizan por tener dos bandas principales de absorción, con un pico de máxima absorción en la región espectral de la luz azul (a veces llamado banda de Soret) y otro secundario en la región del rojo. Mientras que en las xantofilas se distinguen dos grupos principales de respuestas: los pigmentos que tienen un rol principal fotosintético (como la Peridininina o la Fucoxantina), muestran una curva de absorción desplazada hacia el verde, mientras que aquellos que desempeñan principalmente un rol fotoprotector, como la Zeaxantina o la Diatoxantina presentan una banda de absorción en el azul, solapada con la de las clorofilas (Figura 2.16).

Las ficobiliproteínas, por su parte, son el resultado de un proceso evolutivo encaminado a extender el rango de longitudes de onda aprovechables para la fotosíntesis a la región de la luz verde-amarillenta, como se puede apreciar también en la Figura 2.16.

Durante muchas décadas, el estudio espectroscópico de los pigmentos del fitoplancton se realizó *in vitro*, en pigmentos extraídos en un disolvente orgánico o en solución acuosa. Sin embargo, como se verá más adelante, los espectros *in vivo* muestran anchos de banda y posiciones de los máximos de absorción diferentes a las medidas en laboratorio, debido a las interacciones con proteínas y otras moléculas en los fotosistemas.

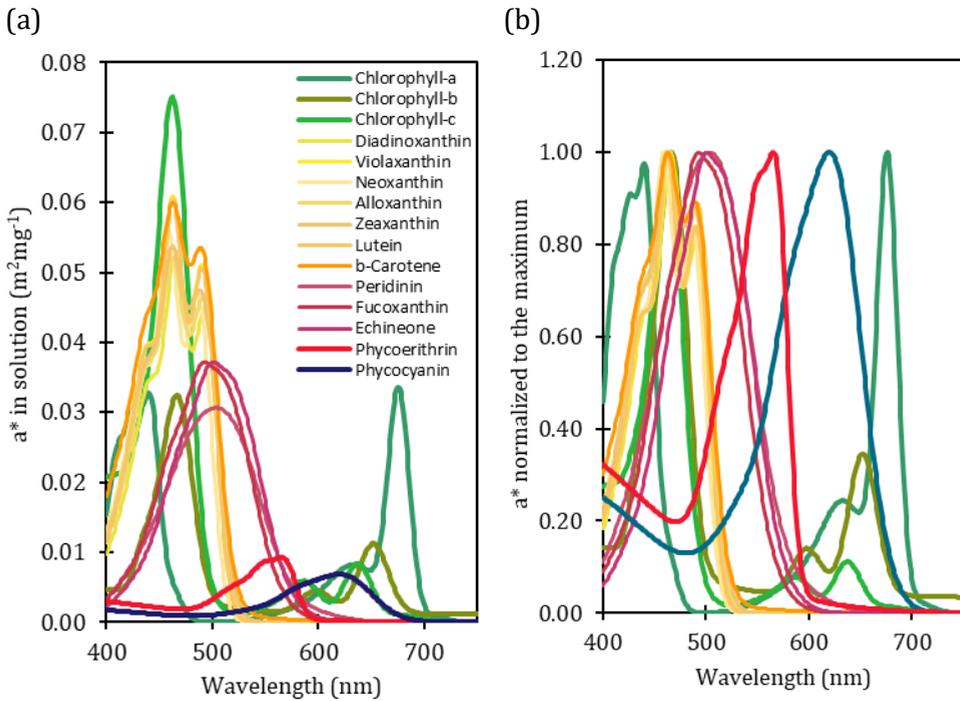


Figura 2.16. (a) Espectros de absorción específica (absorción relativa a la concentración del pigmento), in vivo, de los principales pigmentos del fitoplancton de aguas continentales (Adaptado de Bricaud et al., 2004 y de Simis & Kauko, 2012). (b) Los mismos espectros normalizados a la absorción específica máxima.

2.2.3. Quimiotaxonomía

La aproximación quimiotaxonómica propone la caracterización del fitoplancton presente en muestras naturales a partir del análisis de pigmentos. Se basa en la existencia de pigmentos marcadores asignables a diferentes niveles taxonómicos, generalmente al nivel de clase, excepcionalmente al nivel de género y especie. La Tabla 2.1 resume los principales pigmentos fotosintéticos presentes en el fitoplancton, incluyendo aquellos pigmentos marcadores cuantitativamente más relevantes.

Tabla 2.1. Principales pigmentos fotosintéticos presentes en el fitoplancton

	PROC.	EUCARIOTAS								
		"Algas rojas"						"Algas verdes"		
	CIANO	DIATO	CRISO	CRIPTO	DINO-1	DINO-2	DINO-3	COLORO	EUGLEN	DINO-4
Clorofilas										
Clorofila a	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Clorofila b								■	■	■
Clorofila c		■	■	■	■	■	■			
Ficobiliproteínas										
Aloficocianina	■			■			■			
Ficocianina	■			■			■			
Ficoeritrina	■			■			■			
Carotenos										
β-Caroteno	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
Xantofilas										
Aloxantina				■			■			
Diadinoxantina		■			■	■			■	
Diatoxantina		■			■	■			■	
Dinoxantina					■					
Equineona	■									
Fucoxantina		■	■			■				
Luteina								■		
Mixoxantofila	■									
Neoxantina								■	■	■
Peridinina					■					
Violaxantina		●	■					■	■	■
Zeaxantina	■	●	■					■	■	■

- Pigmento mayoritario
- Pigmento relevante pero no siempre presente
- Pigmento minoritario
- Pigmento presente sólo en irradiancias altas

La quimiotaxonomía se basa en el análisis de la composición pigmentaria y su relación con la clasificación taxonómica del fitoplancton. Como se tratará en detalle en el Capítulo 4.2.2.4, PHYBOM utiliza esta aproximación para reconstruir los espectros de las principales clases taxonómicas.

2.2.4. Fotosíntesis del fitoplancton

Como se ha indicado en el capítulo anterior, la *fotosíntesis oxigénica* es el elemento metabólico común de todos los tipos de fitoplancton, que tiene su origen en las Cianobacterias ancestrales. El proceso global genera azúcares ($C_6H_{12}O_6$), como base de todo el metabolismo celular, a partir de H_2O (que por fotólisis libera O_2) y CO_2 , utilizando para ello energía electromagnética procedente del sol. Consta de dos fases: Una *fase luminosa* y una *fase biosintética*, conocida como *Ciclo de Calvin*.

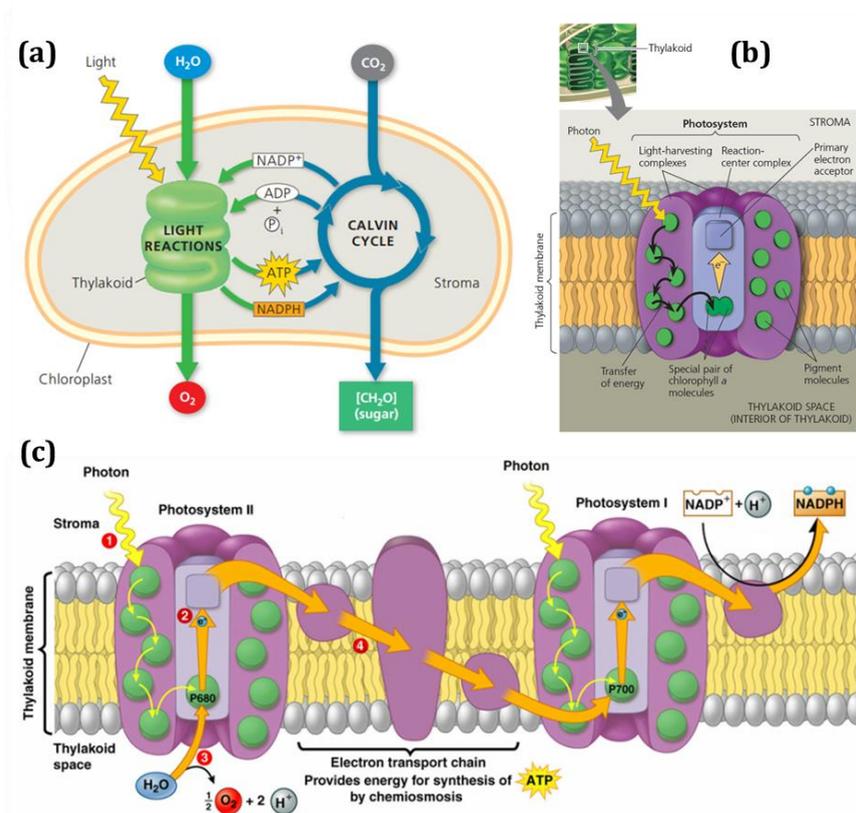


Figura 2.17. (a) Esquema de un cloroplasto resumiendo las fases luminosa y biosintética de la fotosíntesis oxigénica. (b) Elementos de un fotosistema. (c) Esquema de la disposición y organización del Fotosistema I (PS I), la cadena de transporte electrónico y el Fotosistema II (PS II) en la membrana tilacoide. Adaptado de Reece et al. (2014).

La *fase luminosa* se produce en la membrana de los *tilacoides*, unas estructuras intracelulares que se encuentran libres en el citoplasma en las Cianobacterias (procariotas) y contenidas en los cloroplastos en el resto del fitoplancton (eucariotas), tal y como se esquematiza en la Figura 2.17.

En la fase luminosa la energía electromagnética se capta en dos complejos de proteínas y pigmentos situados en la membrana tilacoidal, denominados *fotosistemas*. Cada fotosistema tiene un *centro de reacción*, compuesto por un par de moléculas de Clorofila-*a*, en una configuración electrónica diferente a la del resto de moléculas de Clorofila-*a*, debido a su asociación con proteínas específicas. El centro de reacción está rodeado por varios complejos de captación de luz (LHC, *Light Harvesting Complexes*) que contiene otras moléculas de Clorofila (*-a*, *-b* o *-c*) y múltiples carotenoides (y ficobiliproteínas en las Cianobacterias), cuya composición dependerá del tipo de fitoplancton (Tabla 2.1). Los LHC actúan como antenas, aumentando la cantidad de luz absorbida al aumentar la sección transversal (Capítulo 2.1.2.2) y al extender el espectro de absorción (espectro de acción) como combinación de los espectros específicos de cada pigmento (Figura 2.16).

Cuando un pigmento del LHC absorbe un fotón, uno de sus electrones pasa a un estado excitado (Figura 2.17). En la vuelta a su estado fundamental, transfiere parte de su energía a un pigmento contiguo, mediante un proceso muy eficiente en el que no se produce emisión ni absorción de luz entre el pigmento dador y el aceptor, denominado *transferencia de energía por resonancia de Förster* (o acoplamiento dipolo-dipolo no radiativo). De esta manera la energía es transferida hasta el centro de reacción, organizado molecularmente de tal manera que el electrón que pasa a un estado excitado no disipa esa energía en su vuelta a su estado fundamental en la molécula de clorofila (emitiendo fluorescencia) sino que es capturado por un aceptor primario, perdiendo la molécula de clorofila un electrón y quedando en un estado muy oxidativo.

En la fase luminosa de la fotosíntesis intervienen dos fotosistemas de forma coordinada. Se denominan, respectivamente, Fotosistema II (PS II) y Fotosistema I (PS I), por el orden en el que fueron descubiertos, aunque el PS II interviene primero en la cadena de reacciones fotoquímicas. Las moléculas de Clorofila-*a* de los dos centros de reacción son idénticas, pero su espectro de absorción difiere entre el PS II (con un máximo a 680 nm) y el PS I (con un máximo a 700 nm), por lo que se denominan, respectivamente, P680 y P700 (Figura 2.18).

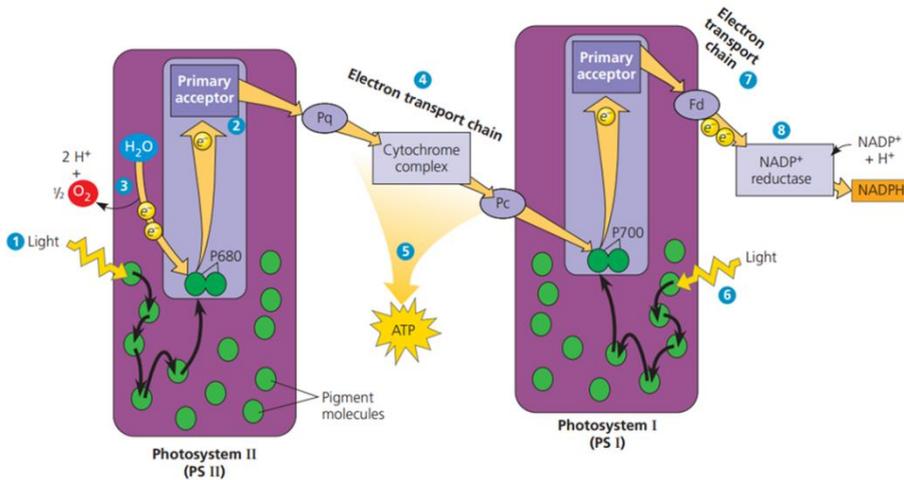


Figura 2.18. Resumen de la fase luminosa de la fotosíntesis oxigénica. Adaptado de Reece et al. (2014).

Tal y como se muestra en la Figura 2.18, cuando la energía canalizada por los LHC es transferida hasta el P680 (1) y un electrón es transferido hasta el aceptor principal (2), el centro de reacción queda en un estado fuertemente oxidativo ($P680^+$). Una enzima acoplada, repone esos electrones cedidos mediante hidrólisis (3), liberando O_2 y protones (H^+) en el interior del tilacoide. El aceptor primario transfiere los electrones a la cadena de transporte electrónico (*Plastoquinona* \rightarrow *Citocromo* \rightarrow *Plastocianina*) situada en la membrana tilacoidal (4), en un proceso en el que se incrementa el gradiente protónico a ambos lados de la membrana y que es aprovechado por una ATP sintetasa (5) para generar ATP canalizando los protones hacia el exterior del tilacoide. Mientras tanto, la luz recogida en los LHC del PS I (6) ha hecho saltar un electrón del P700 a su aceptor primario, que es repuesto por un electrón transferido desde la plastocianina a $P700^+$. Los electrones excitados en el PS I pasan a su vez por una segunda cadena de transporte electrónico a través de la ferredoxina (7) y son utilizados por una $NADP^+$ reductasa situada hacia el exterior del tilacoide, generando NADPH utilizando H^+ del estroma y manteniendo por tanto el gradiente protónico a través de la membrana tilacoidal.

La energía química almacenada en el ATP y el poder reductor del NADPH son utilizados en el Ciclo de Calvin para generar Gliceraldehído-3-fosfato (G3P),

incorporando CO₂ gracias a una enzima denominada RUBISCO. El G3P es la base de la biosíntesis de azúcares, aminoácidos y ácidos grasos.

En las Cianobacterias, aunque el mecanismo de la fase luminosa de la fotosíntesis es el mismo, la organización de los fotosistemas en la membrana tilacoidal es distinto al del fitoplancton eucariota. En el lado exterior de los tilacoides existen unos complejos antena denominados *ficobilisomas* y constituidos principalmente por asociaciones proteína-pigmento denominadas *ficobiliproteínas* (Capítulo 2.2.2). Se conectan al PS II por un polipéptido de conexión (Figura 2.19) y al PS I por interacciones débiles proteína-proteína. La composición de ficobiliproteínas es muy variable entre especies de Cianobacterias, y varía también en función de las condiciones de iluminación y el estado nutricional de la célula. En el núcleo del ficobilisoma se encuentran varias unidades de Aloficocianina, rodeadas por Ficocianina y externamente por Ficoeritrina. Esta disposición canaliza el flujo energético desde los pigmentos que absorben la radiación más energética, en el exterior del ficobilisoma, hasta los que absorben la radiación menos energética en el núcleo, conectado con PS II.

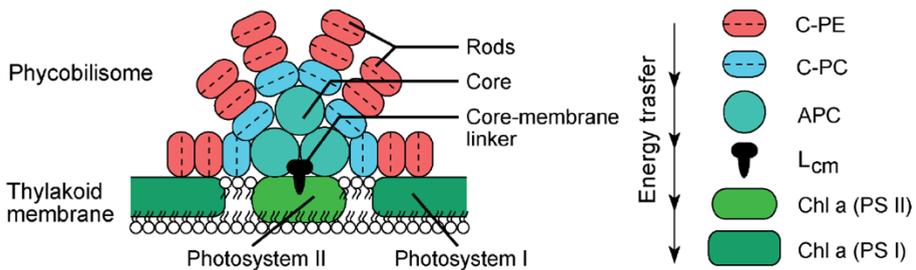


Figura 2.19. Estructura típica de un ficobilisoma, indicando los tres tipos de ficobiliproteínas y su posición en el gradiente de transferencia de energía. C-PE = Ciano-Ficoeritrina; C-PC = Ciano-Ficocianina; APC = Aloficocianina; L_{cm} = polipéptido de conexión al fotosistema. Tomado de Grigoryeva (2019).

En las Diatomeas, PS II y PS I no se encuentran emparejados y la estructura de los tilacoides es diferente, sin una separación clara entre el lumen y el estroma. Todo ello lleva a una regulación diferente de la cadena de transporte electrónico para mantener los gradientes protónicos (Wilhelm *et al.*, 2006).

2.2.5. Fluorescencia

Aunque todos los pigmentos fluorescen cuando están aislados en solución (Roy *et al.*, 2011), es generalmente aceptado que la fluorescencia *in vivo* de los fotosistemas procede solamente de las moléculas de Clorofila-a de los centros de reacción (Santabarbara *et al.*, 2020). La organización de los complejos pigmento-proteína en los LHC, transfiere la energía de los fotones absorbidos hasta los centros de reacción sin que haya disipación en forma de emisión de fluorescencia, al menos en los fotosistemas funcionales, no dañados. La fluorescencia *in vivo* del fitoplancton se produce cuando las moléculas de Clorofila-a de PS II y PS I vuelven a su estado fundamental sin haber cedido un electrón al aceptor primario.

En las algas eucariotas, el espectro de emisión de fluorescencia depende principalmente del PS II, con un máximo de emisión a aproximadamente 685 nm, y un pico secundario a unos 740 nm procedente del PS I (Figura 2.20). Debido al elevado coeficiente de absorción de la molécula de agua por encima de 720 nm, este pico secundario, visible en condiciones de observación de laboratorio, queda laminado en la fluorescencia observada en las masas de agua naturales, por lo que gran parte de la literatura se refiere únicamente al pico principal de 685 nm.

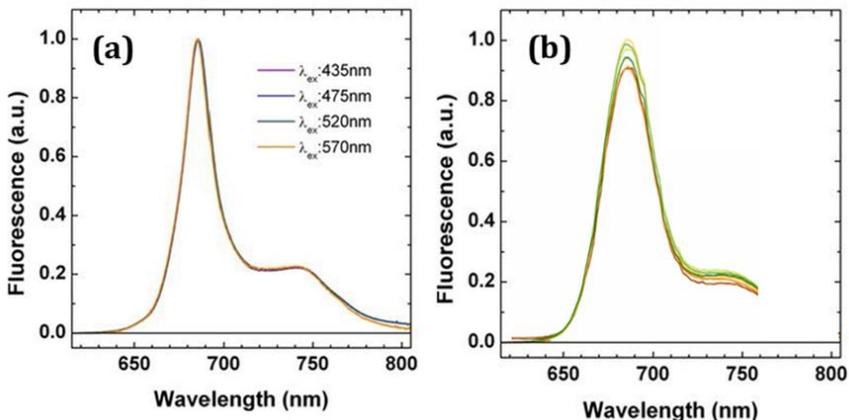


Figura 2.20. (a) Espectros de emisión normalizados para distintas longitudes de onda de excitación, en un cultivo de la cloroficea *Chlorella sorokiniana* (Santabarbara *et al.*, 2020). (b) Espectros de emisión normalizados ($\lambda_{ex} = 465 \text{ nm}$) en distintas fases del crecimiento de un cultivo de la diatomea *Achnanthes sibiricum* (figura adaptada de Cvjetinovic *et al.*, 2021).

El *rendimiento cuántico de fluorescencia* (ϕ_F), puede definirse al nivel del fotosistema como la fracción de fotones absorbidos reemitidos como fluorescencia, o como la fracción de moléculas de Clorofila-a excitadas que vuelven al estado fundamental por fluorescencia. En células de fitoplancton fotosintéticamente activas, ϕ_F representa entre un 0.5% y un 5 % de los cuantos de luz absorbida, mientras que cerca de un 70% son disipados en forma de calor y el 25-30% restante usados en las reacciones fotoquímicas (Falkowski & Raven, 2013).

En oscuridad, ϕ_F es mínimo, ya que todos los centros de reacción están abiertos (oxidados). En condiciones de baja iluminación ϕ_F aumenta, dependiendo de la fracción de centros de reacción cerrados, y alcanza su máximo (3-5%) cuando las células reciben intensidades de luz saturantes. Estos valores son muy inferiores a los que muestra la molécula de Clorofila-a aislada en un disolvente orgánico (y separada por tanto de las proteínas del fotosistema) en las que $\phi_F \sim 30\%$ (*autofluorescencia*). En células moribundas o dañadas (por ejemplo, en la fase final de un *bloom*) se observa un incremento de la fluorescencia debido a este mecanismo de autofluorescencia de las moléculas de Clorofila-a no funcionales.

En las Cianobacterias, la fluorescencia en vivo no sólo se debe a PS II y PS I, sino que también los ficobilisomas emiten fluorescencia. Como se muestra en la Figura 2.21, una pequeña fracción de los cuantos de luz absorbida por cada ficobiliproteína es emitida en forma de fluorescencia y la intensidad de luz emitida dependerá de la longitud de onda de excitación. En la Figura 2.21 se indican, para cada pigmento, las regiones espectrales en las que se encuentra el máximo de excitación (coherentes con los espectros de absorción mostrados en la Figura 2.16) y a las que se produce el máximo de emisión. El espectro de la Figura 2.21b, generado con luz de excitación de 488 nm, muestra que el espectro de emisión medido se puede descomponer como suma de los espectros de emisión de las ficobiliproteínas, el PS II y el PS I.

Las Cianobacterias presentan, por tanto, espectros de emisión *in vivo* de mayor complejidad que los de las algas eucariotas, reflejando la contribución de las ficobiliproteínas, además de PS II y PS I.

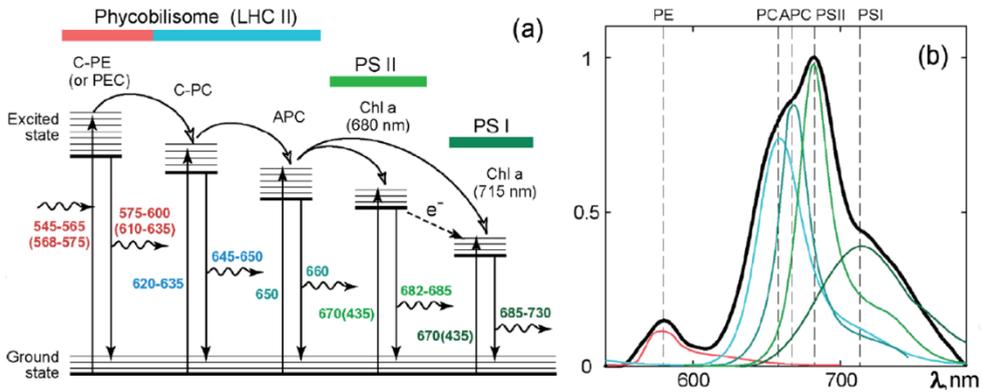


Figura 2.21. (a) Esquema de la transferencia energética en los complejos captadores de luz (LHC) de las Cianobacterias, indicando transferencia no emisiva por acoplamiento dipolo-dipolo (líneas curvas), transferencia electrónica (línea discontinua) y emisión de fluorescencia (líneas onduladas). (b) Ejemplo de espectro de emisión normalizado de una Cianobacteria ($\lambda_{ex} = 488 \text{ nm}$). Las líneas discontinuas indican los máximos de emisión de la Ficoeritrina (PE), la Ficocianina (PC), la Aloficocianina (APC) y los dos fotosistemas (PS I y PS II). Tomado de Grigoryeva (2019).

Con el uso de la Microscopía Confocal Láser de Barrido (CLMS), que es una técnica no invasiva que permite el seguimiento de la fluorescencia *in vivo* de células intactas (Santabarbara *et al.*, 2020), se ha observado como los cambios en ϕ_F son muy notables cuando las células están sometidas a situaciones de estrés, aumentando la luz emitida y variando su composición espectral (Grigoryeva & Chistyakova, 2018).

Como se muestra en la Figura 2.22, las células sanas muestran un espectro ancho de doble pico, con la contribución de las ficobiliproteínas (650 nm) y el PSII (682 nm). Conforme van siendo sometida a estrés (alta irradiancia y calor), la eficiencia del transporte electrónico disminuye y aumenta la emisión desde los ficobilisomas (el pico de 650-660 se hace dominante y la emisión de fluorescencia aumenta). Por último, en las etapas finales (muerte celular), los ficobilisomas se separan de los centros de reacción y el complejo fotosintético deja de ser funcional, disminuyendo la fluorescencia, que mantiene ya solo un pico debido a la Ficocianina – Aloficocianina (PC-APC).

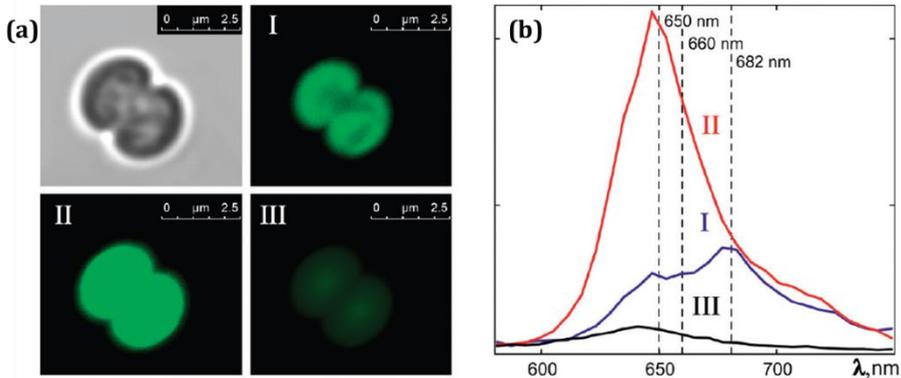


Figura 2.22. (a) Imágenes obtenidas por Microscopía Confocal Láser de Barrido (CLMS) de una célula de cianobacteria (*Microcystis*) sometida a estrés térmico. La imagen I muestra la emisión de fluorescencia ($\lambda_{ex} = 488 \text{ nm}$) de la célula sana (estado fisiológico normal); en II la emisión de la célula en estado fisiológico deprimido y en III la emisión de la célula muerta (b) Espectros de emisión no normalizados ($\lambda_{ex} = 488 \text{ nm}$) correspondientes a los tres estados (I, II y III). Las líneas discontinuas indican los máximos de emisión de la Ficoeritrina (PE), la Aloficocianina (650 nm), la Ficocianina (660 nm), y la Clorofila-a (PS II, 682 nm). (Grigoryeva & Chistyakova, 2018).

2.2.6. Fotoaclimatación

El fitoplancton está expuesto a continuos cambios en la cantidad y composición espectral de la luz que recibe. Y a los que tiene que adaptarse para mantener su actividad fisiológica. Estos cambios operan a distintas escalas. A escala mensual o estacional se producen cambios en la duración del día y en la elevación solar, más acusados en las latitudes medias y altas. A escala diaria, la irradiancia puede alternar entre periodos en que es insuficiente y otros en los que es excesiva. La posición en la columna de agua, relacionada con periodos de turbulencia o estabilidad en la masa de agua, es variable a escala de horas o incluso de minutos y también determina la cantidad de irradiancia (que disminuye de forma exponencial con la profundidad) y su composición espectral (que depende también de la presencia de partículas no algales y sustancias disueltas absorbentes). Existen, por último, variaciones que ocurren en minutos o segundos, como los cambios de irradiancia debidos a la nubosidad.

Dependiendo de la escala temporal de los cambios, el fitoplancton responde con mecanismos de *adaptación* o de *aclimatación*. La adaptación es sobre todo un proceso evolutivo mediante el cual cada especie ha experimentado una selección genética que le confiere ventajas para habitar determinados nichos ecológicos. Tal y como se ha detallado en los capítulos anteriores, la composición pigmentaria permite aprovechar diferentes tipos de luz y por tanto habitar en zonas más profundas de la columna de agua o en medios turbios. Los mecanismos que aseguran la flotabilidad o que permiten ciertos movimientos en la columna de agua (vacuolas, flagelos) entran también en esta categoría, así como la capacidad de fijar el N₂ atmosférico, característica de las Cianobacterias.

La *fotoaclimatación* opera en escalas de tiempo más cortas e involucra varios mecanismos fisiológicos, bioquímicos y biofísicos, que permiten al fitoplancton aclimatare a las fluctuaciones constantes en el régimen de iluminación. Dependiendo de la rapidez con la que se produce la aclimatación, se pueden distinguir entre procesos a *largo plazo* y una aclimatación a *corto plazo*, principalmente por *disipación regulada del exceso de energía absorbida* (*Non Photochemical Quenching*, NPQ). Los procesos a largo plazo operan a dos niveles:

Cloroplastos. El número, tamaño, morfología y distribución intracelular de los cloroplastos determina la eficiencia de absorción (Capítulo 2.1.2.2) y la magnitud del efecto de empaquetamiento (Capítulo 4.2.2.2) (Larkum & Vesk, 2003), con diferencias inter- e intraespecíficas. Habitualmente las células aclimatadas a condiciones de baja iluminación (*Low Light*, LL) tienen los cloroplastos distribuidos de manera homogénea en la célula (mayor superficie de captación de luz), mientras que en alta iluminación (*High Light*, HL) se encuentran concentrados (menor superficie de captación de luz).

Composición y estructura de los LHC. Por lo general, la proporción de carotenoides fotoprotectores (PPC) aumenta conforme la célula se aclimata a condiciones de mayor irradiancia. En algunos tipos de fitoplancton, los complejos de LHC tienen mayor movilidad en el fotosistema y experimentan transiciones de estado, que representan, tras el ciclo de las xantofilas (Capítulo 2.2.6.1), el segundo mecanismo de NPQ en capacidad de disipación.

2.2.6.1. Ciclo de las xantofilas y NPQ

Cuando la irradiancia es muy elevada, las reacciones fotoquímicas de la fase luminosa de la fotosíntesis se producen con un elevado rendimiento, mientras que las vías metabólicas de las fases biosintéticas se llegan a saturar. En esas condiciones, con una elevada separación de cargas en el fotosistema, se forman tripletes de Clorofila-a excitada que generan a su vez especies de oxígeno muy reactivo y dañino para proteínas, pigmentos y lípidos. Para evitar esos efectos deletéreos, las células del fitoplancton cuentan con mecanismos fotoprotectores rápidos, entre los que la *disipación regulada del exceso de energía luminosa absorbida o eliminación regulada de la energía no utilizable para fotosíntesis (Non Photochemical Quenching, NPQ)* es el más importante y eficaz. El NPQ consiste en una disipación regulada, en forma de calor, del exceso de energía canalizado por los LHC. El principal mecanismo involucrado es el *Ciclo de las Xantofilas (Xantophyll Cycle; XC)*.

El ciclo de las xantofilas es un mecanismo enzimático de de-epoxidación / epoxidación de xantofilas acetilénicas, dependiente del gradiente de protones que se establece entre el interior de los tilacoides (lumen, acidificado) y el exterior (estroma). En el fitoplancton existen dos XC principales:

- Ciclo de la Violaxantina \rightleftharpoons Antheraxantina \rightleftharpoons Zeaxantina. Presente en las Clorofíceas y Crisofíceas. Es el mecanismo principal de todas las plantas terrestres.
- Ciclo de la Diadinoxantina \rightleftharpoons Diatoxantina: Presente en las Diatomeas y Dinoflagelados.
- En las Cianobacterias y Criptofíceas no hay un XC propiamente dicho, pero sí se produce una acumulación enzimática de Zeaxantina, a partir de β -caroteno.

Existen otras rutas secundarias de de-epoxidación que involucran a otras xantofilas y en un mismo grupo de algas pueden coexistir más de un XC, por lo que la variedad de los mecanismos en el fitoplancton es significativamente más alta que en las plantas terrestres.

Cuando la irradiancia comienza a ser demasiado alta, se produce una acidificación mayor del lumen tilacoidal y comienza a aumentar la fluorescencia de la Clorofila-a en los centros de reacción, como consecuencia de la saturación de la cadena de transporte electrónico. Pero antes de que comiencen a producirse los efectos oxidativos deletéreos de las clorofilas excitadas, las

enzimas depoxidantes transforman de forma rápida la Violaxantina en Zeaxantina o la Diadinoxantina en Diatoxantina, a favor del flujo de protones a través de la membrana tilacoidal. Esto hace que los LHC pasen de un estado de captación de energía a un modo disipativo, liberando la energía de los fotones absorbidos en forma de calor y desacoplándose de los centros de reacción, lo que produce también una disminución de la fluorescencia. La alta velocidad de la de-epoxidación actúa como un mecanismo rápido de fotoprotección en el fitoplancton, que es especialmente eficaz en las Diatomeas, en las que puede llegar a ser hasta 5 veces mayor que en las algas verdes. Esto les confiere una mejor adaptación a medios turbulentos y condiciones de iluminación muy cambiante. Por el contrario, en las Cianobacterias el mecanismo fotoprotector de acumulación de Zeaxantina se produce de forma más lenta. Estos organismos han desarrollado mecanismos de regulación de la flotabilidad (vacuolas o vesículas de gas) que les permiten “huir” a zonas más profundas en momentos de alta irradiancia solar, aunque son bastante más lentos que los ciclos de las xantofilas.

Cuando la irradiancia vuelve a bajar y el gradiente de pH a través de la membrana tilacoidal disminuye, el proceso se revierte y comienzan a actuar las enzimas epoxidantes que convierten la Zeaxantina en Violaxantina y la Diatoxantina en Diadinoxantina. Este proceso es más lento que la de-epoxidación.

2.3. Modelos bio-ópticos

El término “estado bio-óptico de las aguas oceánicas”, fue acuñado en la década de los 70 del siglo pasado, para destacar el hecho de que en los océanos, las propiedades ópticas estaban determinadas por la actividad biológica y, en última instancia por el fitoplancton y los productos de su descomposición (Morel & Maritorena, 2001). Por esta razón, los conjuntos de ecuaciones que describen las propiedades ópticas de una masa de agua comenzaron a denominarse *modelos bio-ópticos*.

Los modelos bio-ópticos descomponen las propiedades ópticas de las masas de agua en función de sus Componentes Ópticamente Activos (OAC), entre los que la propia molécula de agua juega un papel determinante, como ya se mencionó en el capítulo 2.1 (Figura 2.2). Considerados individualmente, el número de componentes ópticamente activos en una masa de agua es inmenso (todo tipo de moléculas disueltas e infinidad de partículas de todos los tamaños, formas, estructura interna y composición química, incluyendo burbujas de gas) por lo que es necesario agruparlos en unas clases más o menos homogéneas (bien por la naturaleza del OAC, por sus propiedades ópticas o por ambas).

La manera de clasificar los OAC distingue unos modelos bio-ópticos de otros y está determinada por su propósito, de manera que hay modelos que establecen unas pocas clases muy generales, y otros que entran a un mayor nivel de detalle, normalmente centrándose en aquellas partículas o sustancias disueltas más relevantes en el campo de aplicación del modelo.

Independientemente del número de OAC considerados, todos los modelos se basan en el hecho de que muchas IOP son *aditivas*. Esto quiere decir que, por ejemplo, el coeficiente de absorción o de dispersión de una masa de agua es igual a la suma de los coeficientes de absorción o dispersión, respectivamente, de sus OAC:

$$a(\lambda) = \sum_{i=1}^N a_i(\lambda) \quad [m^{-1}] \quad 2.47$$

$$b(\lambda) = \sum_{i=1}^N b_i(\lambda) \quad [m^{-1}] \quad 2.48$$

$$b_b(\lambda) = \sum_{i=1}^N b_{b_i}(\lambda) \quad [m^{-1}] \quad 2.49$$

Donde a_i , b_i y b_{b_i} son los coeficientes de absorción, dispersión y retrodispersión, respectivamente, del i -ésimo OAC y N es el número de OAC en los que se ha factorizado la IOP total de la masa de agua.

La mayoría de los modelos bio-ópticos incluyen al fitoplancton como un OAC y, dado que la Clorofila- a es un indicador de la biomasa del fitoplancton, muchos hacen depender las IOP de su concentración, $[Chl_a]$. También es habitual incluir a toda la materia disuelta que absorbe luz visible en una única categoría: denominada CDOM (*Colored Dissolved Organic Matter*).

Sin embargo, la manera de clasificar las partículas en suspensión es más variable. En algunos casos se consideran como un único OAC (*TSM: Total Suspended Matter*), también denominado, *seston*, que engloba al fitoplancton, lo que obliga a considerar al fitoplancton como sólo absorbente y subsumir sus propiedades dispersivas en las de los sólidos totales. En otras ocasiones se clasifican de acuerdo con su naturaleza orgánica (*detritos* o *detritus* y *plancton*) o inorgánica (*tripton*). Y, finalmente, otra de las maneras de clasificarlas considera tres grupos: *fitoplancton*, *detritus* orgánicos (correlacionados con el fitoplancton) y *Partículas No Algaes* (NAP) que engloba a las partículas inorgánicas (minerales) y a los detritus no correlacionados con el fitoplancton. Como se verá en detalle en el Capítulo 4.2, esta última aproximación es la que se ha escogido en PHYBOM.

Las diferentes clasificaciones de los OAC tienen motivos conceptuales, pero también prácticos, pues están determinadas por el tipo de medidas disponibles para su calibración y validación. Así, si sólo se cuenta con medidas del total de sólidos en suspensión (TSM) es difícil que se pueda validar un modelo que separe varios tipos de partícula. O por ejemplo, validar un modelo para grupos del fitoplancton cuando sólo se cuenta sólo con datos de validación de $[Chl_a]$.

Un concepto muy útil y utilizado en modelización bio-óptica es el de los *coeficientes específicos* (*mass-specific*), que se obtienen dividiendo los coeficientes absolutos (a_i , b_i y b_{b_i}) de una volumen de agua, por la concentración del OAC i $[C_i]$ ($mg\ m^{-3}$) en ese volumen de agua:

$$a_i^*(\lambda) = \frac{a_i(\lambda)}{[C_i]}; \quad b_i^*(\lambda) = \frac{b_i(\lambda)}{[C_i]}; \quad b_{b_i}^*(\lambda) = \frac{b_{b_i}(\lambda)}{[C_i]} \quad [m^2 mg^{-1}] \quad 2.50$$

La modelización bio-óptica se ha desarrollado fundamentalmente para su aplicación en el Océano, en consonancia con el desarrollo del cuerpo teórico y las aplicaciones, basadas en sistemas de observación remota, de lo que se ha denominado *Color del Océano (Ocean colour)*. La imposibilidad de estudiar la vasta superficie oceánica con métodos de medida *in situ*, ha propiciado una activa investigación en la óptica oceánica, un par de órdenes de magnitud superior (en términos de producción científica) a la de las aguas continentales, en las que las ventajas de los métodos basados en teledetección no han sido tan evidentes frente a los métodos limnológicos clásicos. No obstante, aunque existen particularidades y diferencias (sobre todo en los rangos de concentración de los OAC y en la mayor variabilidad de tipos de partículas y CDOM), las bases físicas y la modelización bio-óptica oceánica es aplicable para el desarrollo de modelos en aguas continentales. En síntesis: los modelos bio-ópticos en aguas continentales pueden aprovechar todas las décadas de desarrollo científico previo en el Océano, pues, con sus diferencias, las masas de agua continentales comparten la mayoría de las características ópticas básicas de las oceánicas.

Como se irá tratando en detalle en el Capítulo 4.2, PHYBOM ha incluido, en su desarrollo, asunciones, modelos físicos y aproximaciones empíricas procedentes de la modelización bio-óptica oceánica. Y se ha inspirado en el diseño de algunos de sus modelos bio-ópticos más detallados, en especial los de Bricaud & Morel (1986), Stramski *et al.* (2001) y Lain *et al.* (2014), entre otros.

En aguas continentales, el número de modelos bio-ópticos diseñados para simular las IOP de masas de agua genéricas (es decir, no desarrollados específicamente para un lago o caso de estudio) es muy limitado. Sin duda, la referencia principal es el modelo WASI (*Water Color Simulator*; Gege, 2004) y otra interesante aplicación, aunque algo diferente del enfoque buscado en PHYBOM es el modelo BOMBER (Giardino *et al.*, 2012). Más recientemente, las aplicaciones de Matthews *et al.* (2020) y Kravitz *et al.* (2021) han sido también muy relevantes para el desarrollo de PHYBOM.

3. Metodología

3.1. Campañas de muestreo

En este capítulo se describen las características principales y el diseño de las campañas de muestreo llevadas a cabo entre el año 2001 y 2007 por el grupo de Teledetección del Área de Calidad de las Aguas del Centro de Estudios Hidrográficos (CEH-CEDEX), en las que intervino el autor de esta tesis en todas sus etapas, desde el diseño del muestreo, la adquisición y aprendizaje de uso del instrumental, su participación en todas las campañas (medidas in situ, preparación y filtrado de muestras, radiometría y espectrofotometría in situ), el procesado de todos sus datos y la preparación de la base de datos.

Se realizaron cuatro campañas principales (2001-2002, 2003-2004, 2005 y 2007), enmarcadas en diferentes proyectos, pero entre las que hubo una continuidad metodológica y compartieron los mismos objetivos básicos. El Capítulo 4.1 describe el propósito, descripción general y principales resultados de las campañas. A continuación se describen, en primer lugar los criterios seguidos para la selección de las masas de agua de la campaña de caracterización bio-óptica detallada 2001-2002. Y a continuación, la metodología seguida para la obtención de los datos de validación, describiendo todas las medidas realizadas en las cuatro campañas.

3.1.1. Diseño de la campaña de caracterización

La campaña 2001-2002 tenía, como primer objetivo, la caracterización, nunca antes realizada, de las propiedades ópticas de los embalses y lagos españoles, de forma conjunta con un estudio limnológico, con especial énfasis en el estudio del fitoplancton y de las principales variables de calidad del agua obtenibles mediante teledetección. Como segundo objetivo se pretendía definir un conjunto de masas de agua para la calibración y validación de modelos y productos de calidad de agua con imágenes del sensor Envisat-MERIS. Para seleccionar una muestra de embalses representativos de la diversidad ecológica esperada, y en especial de la diversidad de poblaciones de fitoplancton, se llevó a cabo una clasificación basada en criterios hidrodinámicos, fisicoquímicos y ecológicos.

3.1.1.1. Selección de masas de agua

La clasificación comenzó por la selección de los 100 embalses de mayor tamaño, sobre una población total de 1320 embalses que, de acuerdo con un análisis morfométrico con el SIG ArcGIS, tuvieran un número mínimo potencial de píxeles de agua puros en las imágenes de MERIS (300 x 300 m de resolución espacial). Se seleccionaron 100 embalses que, incluso en condiciones de baja capacidad (30%), tendrían al menos 20 píxeles MERIS correspondientes sólo agua. Evidentemente se trataba de una aproximación muy grosera pero perseguía seleccionar y caracterizar los potenciales embalses para la validación de productos MERIS, con un tamaño suficiente y una forma adecuada.

Los embalses seleccionados se clasificaron, a partir de la información disponible en el CEDEX de campañas previas realizadas para diferentes Confederaciones Hidrográficas, según cuatro criterios principales:

Mineralización y composición iónica: distinguiendo los embalses de aguas *poco mineralizadas* y tres grupos de mineralización moderada o alta, en función del ion mayoritario (*carbonatos, sulfatos o cloruros*)

Estado trófico: Distinguiendo entre embalses *oligotróficos, mesotróficos eutróficos* e *hipertróficos*, según el índice de Carlson.

Tiempo de renovación: Según la relación entre la capacidad de embalse (Hm^3) y la aportación media anual (Hm^3), distinguiendo entre *mensuales* (tiempo de

renovación ≤ 1 mes), *estacionales* (≤ 3 meses), *anuales* (≤ 1 año) e *hiperanales* (> 1 año)

Uso del embalse: Regadío, hidroeléctrico o abastecimiento, como criterio adicional que puede identificar aquellos en los que es más probable la formación de una estratificación prolongada.

La Figura 3.1 muestra el resultado de la clasificación realizada, a partir de la cual se seleccionaron los 36 embalses de la campaña 2001-2002. Esta clasificación se utilizó también en 2007, para definir los embalses en los que se realizó la campaña de validación de productos MERIS L2B para lagos.

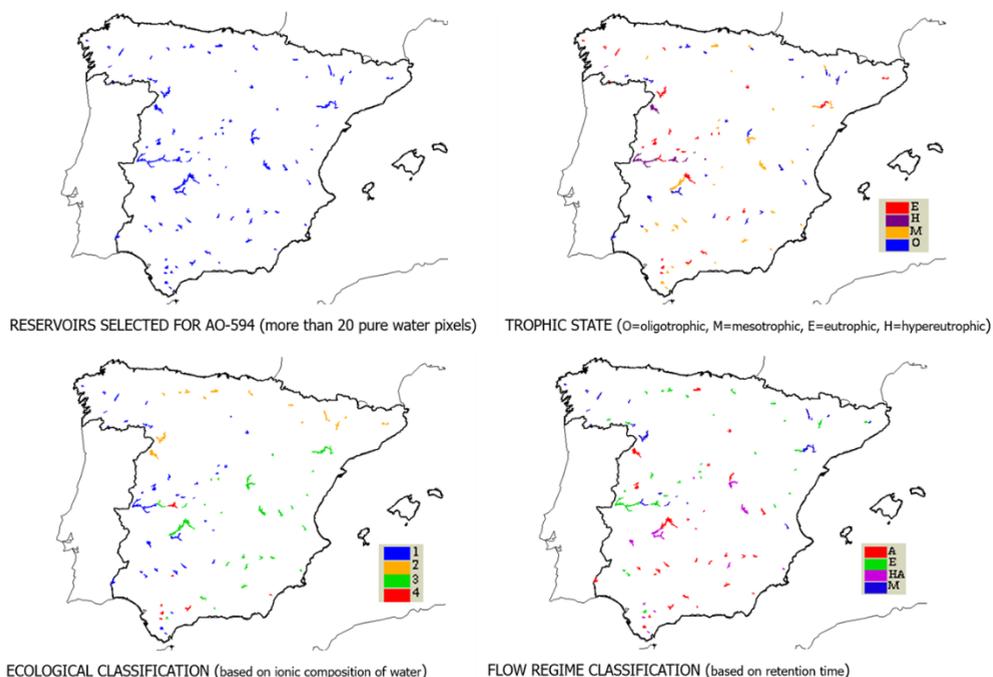


Figura 3.1. Criterios utilizados para la clasificación y selección de embalses para la campaña de caracterización bio-óptica.

3.1.1.2. Planificación de las campañas de muestreo

Número de puntos por embalse.

El número de puntos de medida se determinó, para cada embalse o lago, de acuerdo con los siguientes criterios:

- Disponibilidad de puntos de acceso para la embarcación (embarcaderos, rampas de acceso).
- Distancia y dificultad de las vías de acceso.
- Nivel del agua en el momento del muestreo (capacidad del embalse sobre su capacidad máxima).
- Tamaño y forma del embalse o lago.
- Distancia máxima entre puntos de muestreo, en función de la velocidad y autonomía de la embarcación.
- Profundidad del embalse o lago (posibilidad de anclaje en los puntos de muestreo).
- Tiempo medio necesario para el muestreo, por punto.
- Duración del día y elevación solar.

En el caso de embalses grandes, con un gradiente marcado presa–cola y/o con dos tributarios principales, se plantearon inicialmente tres puntos de muestreo, con el objeto de recoger la previsible variabilidad de condiciones del agua y poblaciones de fitoplancton:

- Uno en el área del embalse cercana a la presa (pero no junto a la misma).
- Uno en el centro del cuerpo principal del embalse.
- Uno en el cuerpo principal del embalse hacia la cola del mismo.

No obstante, en las primeras campañas se identificaron varios factores que limitaban el tiempo útil efectivo de muestreo. En particular:

- La necesidad de contar con una elevación solar suficiente, para asegurar una buena relación señal-ruido en las medidas radiométricas y minimizar la contribución especular de la superficie del agua.
- Las condiciones meteorológicas locales, con presencia de nieblas a primeras horas y régimen de brisas vespertino, que dificultan la navegación, el anclaje y las medidas radiométricas.

Teniendo en cuenta estos factores limitantes, se restringió el muestreo a dos puntos por embalse, situados en el cuerpo central, uno más cercano a la presa y otro hacia la cola. En aquellos casos en los que el tamaño y/o la variabilidad horizontal de la masa de agua lo requiriera, se podría aumentar el número de puntos.

Número de visitas a cada embalse.

Teniendo en cuenta las limitaciones materiales y económicas del proyecto, se planteó la realización de al menos dos visitas a cada embalse o lago, en diferentes momentos del año.

El objetivo era realizar el muestreo a lo largo del ciclo anual de mezcla y estratificación de las masas de agua, paraacompararlo a la sucesión esperable de comunidades de fitoplancton según la clasificación clásica CSR ("*Competitive - Stress-tolerant - Ruderal*") de Reynolds (1988). De esta manera, en los muestreos realizados en el periodo de mezcla invernal cabría esperar la presencia de especies "ruderales" (R) adaptadas a medios turbulentos. En primavera, con el aumento de irradiancia y disponibilidad de nutrientes, predominarían las especies "competitivas" (C), mientras que en verano, con la formación de la estratificación y la menor disponibilidad de nutrientes, dominarían las especies "tolerantes al stress" (S).

Teniendo en cuenta el gradiente altitudinal y latitudinal de las masas de agua a estudiar, se ajustaron los calendarios de visita con un cierto desfase entre el norte y el sur de la Península, donde el periodo de estratificación puede comenzar muy pronto. También se intentó concentrar las visitas en el periodo de mayor duración del día y mayor elevación solar (abril - septiembre), aunque sin excluir los meses invernales por los motivos ya mencionados.

3.1.2. Medidas y determinaciones in situ

Los protocolos de muestreo se definieron con el objetivo de asegurar la representatividad de las medidas y su significación respecto de la radiancia medida desde sensores remotos. Tenía que asegurar además la posibilidad de comparación entre masas de agua y el análisis estadístico conjunto de los datos. Se basó, principalmente en las guías metodológicas, protocolos y criterios de muestreo contenidas en Fargion (2000), Lindell *et al.* (1999) y Kirk (1994).

Las medidas se hicieron desde una embarcación con cabina (Figura 3.2), que se remolcaba por carretera de unas masas de agua a otra, que se dotó de un sistema de filtrado con bomba de vacío, una polea fija (manual hasta 2006, con cabrestante eléctrico después) para la realización de los perfiles verticales y anclajes para las medidas de radiometría. Además, durante las campañas, transportaba un contenedor de nitrógeno líquido, para ultracongelar in situ los filtros para análisis de pigmentos.



Figura 3.2. Embarcación principal utilizada en las campañas y sistema de control de la geometría de observación para las medidas de $R_{rs}(\lambda)$.

Los grupos de medidas realizadas fueron:

(1) **Datos del punto de muestreo** y estado del agua y la atmósfera:

- Posicionamiento mediante GPS *Garmin XL*
- Profundidad del agua mediante ecosonda *Navman*
- Velocidad del viento (anemómetro portátil *Silva Windwatch*)
- Descripción cualitativa del estado del cielo
- Fotografías de estado del cielo y superficie del agua

(2) **Profundidad del disco de Secchi** (m)

(3) **Medidas radiométricas de $R_{rs}(\lambda)$** desde la embarcación, con un espectroradiómetro de campo ASD FR (350-1000 nm), calibrado en radiancias.

(4) **Perfiles de irradiancias** en profundidad

- ASD-FR conectado a 2 receptores coseno para medida de $E_d(\lambda)$ y $E_u(\lambda)$ mediante extensión de fibra óptica de 10 m. (campaña 2001-2002)

- Dos espectrómetros *Ocean Optics HR-4000* con receptores coseno (campaña 2007)

(5) **Perfiles verticales** de profundidad (m) temperatura ($^{\circ}C$) y conductividad ($\mu S\ cm^{-1}$) con un *CTD SBE-19 plus (SeaBird Electronics)*, equipado con un fluorómetro ultravioleta *Seapoint* para medida de la fluorescencia de CDOM ($\lambda_{excitación} = 370 \pm 15\ nm$; $\lambda_{medida} = 440 \pm 15\ nm$), calibrado con sulfato de quinona para el rango $0.03 - 150\ mg\ m^{-3}$. Y con tres fluorómetros *Minitracka II (Chelsea Instruments)* para medida de la fluorescencia de:

- Clorofila-a ($\lambda_{excitación} = 470 \pm 15\ nm$; $\lambda_{medida} = 685 \pm 15\ nm$), calibrado con pigmento en solución para el rango $0.03 - 150\ mg\ m^{-3}$.
- Ficocianina ($\lambda_{excitación} = 590 \pm 15\ nm$; $\lambda_{medida} = 645 \pm 15\ nm$), calibrado con pigmento en solución para el rango $0.03 - 400\ mg\ m^{-3}$.
- Ficoeritrina ($\lambda_{excitación} = 530 \pm 15\ nm$; $\lambda_{medida} = 580 \pm 15\ nm$), calibrado con pigmento en solución para el rango $0.03 - 150\ mg\ m^{-3}$.

(5) Perfil de los coeficientes de atenuación total, $c(\lambda)$, y de absorción total, $a(\lambda)$, medidos en continuo en la columna de agua mediante la sonda *WetLabs ac-s* con 80 bandas espectrales (campaña 2007)

(6) Perfil del coeficiente de retrodispersión $b_b(\lambda)$, medido en continuo en la columna de agua mediante la sonda *WetLabs bb-9* (9 bandas espectrales)

3.1.2.1. *Obtención y conservación de las muestras*

Para la **toma de muestras**, se utilizó un dispositivo consistente en uno o varios tubos de PVC, conectables, con un tapón de cierre accionado desde la barca (Figura 3.3), para obtener una muestra integrada hasta la profundidad del primer espesor óptico. Dicha profundidad fue obtenida inicialmente de los perfiles de $K_d(\lambda)$ y, a partir de 2002, con una relación empírica, obtenida de ese conjunto de perfiles, con la profundidad del disco de Secchi. De la muestra integrada se separaban varias submuestras:

Análisis de pigmentos: Filtración a vacío (150 mm Hg) en filtros de fibra de vidrio de $0,45\ \mu m$ de tamaño de poro (Whatman GF/F), por duplicado o triplicado, según las campañas. Los filtros se doblaban cuidadosamente, tras secado en papel de filtro, se guardaban en tubos *Eppendorf* con cierre y se congelaban inmediatamente en nitrógeno líquido. Posteriormente, en el

laboratorio, se procedía a la extracción de los pigmentos fotosintéticos en acetona y a su análisis mediante cromatografía líquida (HPLC) o bien a la extracción de ficobiliproteínas por el método de choque osmótico

Espectros de absorción: Filtración a vacío en las mismas condiciones anteriores (GF/F). En este caso los filtros, que debían permanecer intactos, se guardaban en placas Petri de plástico, con tapa y opacas y se congelaban en nieve carbónica. Con posterioridad, se obtenían en laboratorio: el coeficiente de absorción total $a(\lambda)$; los coeficientes de absorción de fitoplancton y tripton (tras despigmentar con hipoclorito sódico) y el coeficiente de absorción del CDOM (en el filtrado)

Sólidos totales en suspensión: Una submuestra se recogía en una botella de plástico para la cuantificación posterior de la concentración de sólidos en suspensión, mediante el método gravimétrico, en laboratorio.

Análisis taxonómico: Una submuestra de agua se fijaba con líquido de Lugol para análisis posterior de la composición del fitoplancton por microscopía óptica.

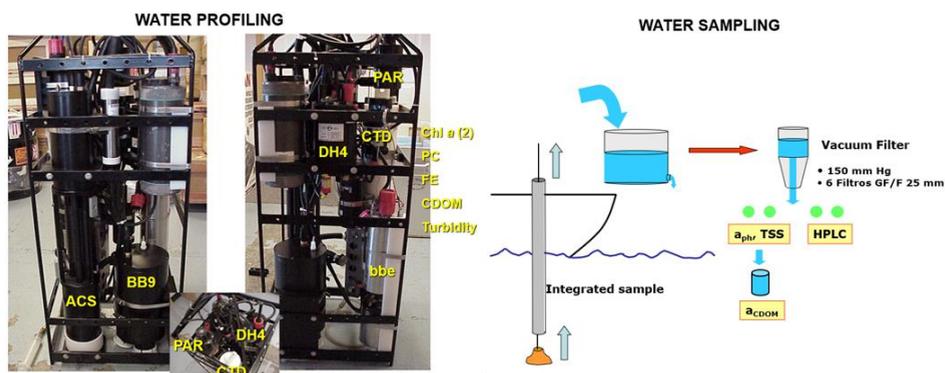


Figura 3.3. Sistema perfilador completo utilizado en la campaña de 2007 y esquema del filtrado y proceso del agua recogida de la muestra integrada.

3.1.3. Radiometría de campo

Las medidas de radiometría de campo, y en especial la reflectividad de teledetección, $R_{rs}(\lambda)$ se llevaron a cabo en todas las campañas, utilizando siempre el mismo espectralradiómetro ASD-FR (350-1000 nm) con un intervalo de muestreo espectral de 1.4 nm y un FWHM (*Full-Width at Half Maximum*) de

3 nm, en el que la luz llega a los elementos detectores por un haz de fibras de vidrio en cuyo extremo (FOV nominal de 25°) se puede adaptar o una reducción del FOV a 8° (para las medidas desde la embarcación) o un receptor coseno para las medidas de las irradiancias planares dentro del agua.

3.1.3.1. Reflectividad (*Remote sensing reflectance*)

Para el cálculo de la $R_{rs}(\lambda)$ (ecuación 2.45), se siguió el método propuesto por Mobley (1999), que se basa en:

- La realización de las medidas de la radiancia del agua observada (L_u en la ecuación 2.45) con un FOV de 8° (que minimiza la entrada de *stray light*, no procedente del agua), un ángulo cenital de observación $\theta \approx 40^\circ$ (que es el ángulo menos sensible a las variaciones en la distribución angular de la radiancia) y un ángulo acimutal con respecto al sol $\varphi \approx 135^\circ$ (que minimiza el reflejo de solar directo o *sun glint*).
- La obtención de una medida de radiancia del cielo, $L_{sky}(\lambda)$ con el mismo FOV (8°), un ángulo nadiral de observación $\theta \approx 40^\circ$ y un ángulo acimutal con respecto al sol $\varphi \approx 135^\circ$, que mide la fracción del cielo que contribuye a la radiación solar difusa reflejada por la superficie del agua que alcanza el detector.
- El uso de una parametrización de la reflectividad de Fresnel, dependiente de la velocidad del viento medida, que estima su valor real r en condiciones de rugosidad de la superficie.

Con esos datos la radiancia emergente de la masa de agua, $L_w(\lambda)$ (*water leaving radiance*), se calcula como:

$$L_w(0^+, \theta, \varphi, \lambda) = L_u(0^+, \theta, \varphi, \lambda) - r(\theta)L_{sky}(0^+, \theta, \varphi, \lambda) \quad 3.1$$

El término 0^+ indica que las radiancias se miden justo por encima de la superficie del agua. En cuanto a $E_d(0^+, \lambda)$, se calcula a partir de la radiancia reflejada por un panel de referencia lambertiano (*Labsphere*) calibrado, con una $\rho \approx 0.25$ en todo el rango espectral y medido con la misma geometría de observación que la radiancia del agua. Para garantizar esos ángulos de observación, se ideó un dispositivo que se muestra en la Figura 3.2.

Cada medida de radiancia, con el rango dinámico del instrumento optimizado a las condiciones de iluminación y corrección de la corriente oscura se guardaba

como promedio de 10 espectros y la secuencia de medidas (panel – agua – cielo) se repetía 5 veces.

3.1.3.2. Otras AOP

En la campaña 2001-2002 se midieron, en la mayoría de los puntos, perfiles de irradiancias en profundidad, conectando el ASD-FR conectado a 2 receptores coseno para medida de $E_d(\lambda)$ y $E_u(\lambda)$ mediante dos extensiones de fibra óptica de 10 m. Las medidas de ambos receptores se alternaban entre el perfil descendente y el ascendente mediante un conmutador diseñado específicamente por una empresa de instrumentación óptica. Las medidas se utilizaron para calcular los coeficientes de atenuación difusa $K_d(\lambda)$ y $K_u(\lambda)$ y diferentes espesores ópticos. En la campaña de 2007 se emplearon para este fin dos espectrómetros *Ocean Optics HR-4000* con receptores coseno.

3.1.4. Medidas y determinaciones en laboratorio

Los análisis de pigmentos por HPLC y de sólidos totales en suspensión por gravimetría, fueron realizados en el Laboratorio de Calidad de las Aguas del CEDEX, dirigido por Ana Alonso García. Los análisis de ficobiliproteínas en el laboratorio del departamento de Biología de la Universidad Autónoma de Madrid por el Dr. Antonio Quesada. La Dra. Caridad de Hoyos, del Área de Calidad de las Aguas del CEDEX, realizó la mayoría de las determinaciones taxonómicas del fitoplancton. En cuanto a las medidas de coeficientes de absorción, en 2002 fueron realizadas por Antonio Ruiz Verdú y en 2007 por Ángel Polvorinos (Universidad de Sevilla)

3.1.4.1. Análisis de clorofilas y carotenoides por HPLC

Los filtros Whatman GF/F se conservaron en nitrógeno líquido hasta el momento del análisis. La rotura celular se llevó a cabo por sonicación y los pigmentos se extrajeron en acetona durante 24 horas a 4 °C. La columna era una *Waters Spherisorb ODS-2* y estaba equipada con un diodo array *HP Agilent 1050*. Los picos de elución se identificaban con patrones de pigmentos comerciales (*DHI Water and Environment*). Para calibrar la respuesta del detector, se añadía una cantidad conocida de Cantaxantina a la muestra eluída.

3.1.4.2. Análisis de ficobiliproteínas

El análisis se llevó a cabo por el método de extracción de ficobilisomas por choque osmótico y rotura mecánica de Quesada & Vincent (1993), descrito en detalle en Simis et al. (2007). Tras la extracción, las muestras se centrifugaron y se midió el espectro de absorción de los sobrenadantes, a partir del cual se calculó la concentración de las ficobiliproteínas con las fórmulas de Bennet & Bogorad (1973).

3.1.4.3. Sólidos en suspensión

La determinación se realizó por el método gravimétrico (Rice et al., 1998), solamente con secado de los filtros a 103 °C (sin combustión posterior a 500 °C para eliminar los sólidos orgánicos), por lo que los resultados corresponden a los sólidos totales en suspensión.

3.1.4.4. Coeficientes de absorción

Las medidas se realizaron en las 24 horas siguientes a las campañas, en las muestras concentradas en filtros, siguiendo la adaptación de Tassan & Ferrari (1995) al método QFT; (*Quantitative Filter Technique*; Cleveland & Weidemann 1993). Se utilizó un espectrofotómetro *Shimadzu* UV2110Pc con esfera integradora para la medida de la absorción total de las partículas retenidas en filtros, $a_p(\lambda)$. La conversión de densidades ópticas a coeficientes de absorción se calculó con el factor β de amplificación de la longitud de camino óptico propuesto por Lohrenz (2000). Después, tras despigmentación por oxidación con hipoclorito sódico (Ferrari & Tassan, 1999), se volvió a realizar la medida de la fracción inorgánica (tripton), $a_{trp}(\lambda)$, obteniéndose la absorción del fitoplancton como diferencia entre ambas medidas:

$$a_{phy}(\lambda) = a_p(\lambda) - a_{trp}(\lambda) \quad 3.2$$

En cuanto al CDOM, las medidas espectrofotométricas se realizaron en el filtrado de los filtros Whatman GF/F, en una cubeta de cuarzo de 10 cm, utilizando agua destilada como referencia, siguiendo las recomendaciones de Fargion (2000).

3.1.4.5. Determinación taxonómica del fitoplancton

Las determinaciones taxonómicas cuantitativas se realizaron hasta el nivel de género, mediante microscopía invertida por el método de Utermöhl (Hasle, 1978) con un microscopio *Leitz Labovert Fs*. El conteo de células se realizó con el análisis de tantos campos como fueran necesarios para obtener un número significativo de células, de acuerdo con Sournia (1978).

3.2. Desarrollo y validación del modelo bio-óptico

El modelo bio-óptico se ha desarrollado con el software MATLAB (versión 2022b) y con las versiones de HydroLight 5.3 (desarrollo inicial) y 6.0 (código final y validación), ambos instalados en el sistema operativo Linux.

Como se detalla en el Capítulo 4.2.1, PHYBOM calcula las IOP globales de la masa de agua simulada a partir de unos datos de entrada proporcionados por el usuario, y un conjunto de tablas y LUT (en Excel) que contienen parámetros y variables intermedias (Figura 4.7). El código de PHYBOM, en MATLAB, proporciona a HydroLight las IOP simuladas, que son leídas en el modo de operación “*Measured IOP*”, mediante un script que genera las entradas a HydroLight para cada simulación. Para poder ejecutar un número elevado de ejecuciones de HydroLight en una sola ejecución de PHYBOM, se ha preparado un script de Linux que ejecuta HydroLight por línea de comandos. También se han creado scripts específicos para leer y procesar las salidas de HydroLight y generar los gráficos de resultados.

En la validación de PHYBOM (Capítulo 4.3) se han utilizado las siguientes fórmulas para los estadísticos de error:

Error absoluto medio (MAE):

$$MAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |V_{est}^i - V_{obs}^i| \quad 3.3$$

Donde V_{est}^i es la variable estimada, para la i -ésima observación, V_{obs}^i es la variable observada y n es el número total de observaciones de la muestra.

Error cuadrático medio (RMSE):

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (V_{est}^i - V_{obs}^i)^2} \quad 3.4$$

Error cuadrático medio relativo:

$$RRMSE = 100 \cdot \frac{RMSE}{Media(obs)} \quad 3.5$$

Donde $Media(obs)$ es el valor medio de la variable analizada, en el conjunto de las observaciones.

Coefficiente de determinación (R^2):

$$R^2 = 1 - \frac{\sigma_r^2}{\sigma^2} = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad 3.6$$

Donde σ_r^2 y σ^2 son, respectivamente, la varianza residual y la varianza de la variable dependiente Y ; y_i es el valor (medido) de la variable dependiente para la i -ésima observación; \hat{y}_i , el valor aproximado por el modelo de regresión e \bar{y} la media de la variable dependiente para todas las observaciones.

4. Resultados y discusión

Este capítulo comprende la presentación y discusión de los resultados de la tesis. Está dividido en tres bloques principales: el resumen de las campañas de caracterización limnológica y bio-óptica (4.1); la descripción del modelo bio-óptico y su desarrollo (4.2) y la validación y análisis de su desempeño global y en especial en la simulación de la reflectividad espectral y la fluorescencia inducida por la radiación solar (4.3).

4.1. Caracterización bio-óptica de lagos y embalses ibéricos

La caracterización bio-óptica de una amplia muestra de embalses y lagos, representativa de la variabilidad limnológica de la península ibérica, es el resultado de varias campañas de medidas in situ, llevadas a cabo por el Centro de Estudios Hidrográficos (CEH) del CEDEX, planificadas y coordinadas por el autor de esta tesis, que participó en todas ellas, bajo la dirección de Ramón Peña, responsable del grupo de teledetección del Área de Calidad de las Aguas del CEH.

Las campañas se llevaron a cabo en el periodo 2001-2007 y constituyeron el primer estudio sistemático realizado en España, y uno de los primeros de su tipo en el mundo, en el que se midieron, de manera conjunta, variables ópticas por radiometría de campo y variables limnológicas, relevantes para la teledetección de la calidad de las aguas continentales.

La base de datos generada en estas campañas es la que se ha utilizado en la presente tesis doctoral, para el desarrollo, calibración y validación del modelo bio-óptico PHYBOM.

Se llevaron a cabo cuatro campañas principales, con propósitos distintos y enmarcadas en proyectos diferentes. Todas tuvieron el denominador común de las medidas de radiometría de campo (*Remote sensing reflectance*, irradiancia solar, radiancia del agua y corrección de *sky glint*), medidas limnológicas básicas (profundidad del disco de Secchi, temperatura y conductividad del agua) y la determinación de la concentración de Clorofila-a, [Chl_a], y Ficocianina, [PC], mediante análisis de laboratorio (HPLC y espectrofotometría) de una muestra integrada y/o perfiles de fluorometría. En un gran porcentaje de los puntos de muestreo se determinó también la concentración de sólidos en suspensión por gravimetría, de CDOM por fluorometría, de clorofilas y carotenoides por HPLC y la composición del fitoplancton (determinación taxonómica y biomasa) por microscopía óptica, así como perfiles de AOP (irradiancia y coeficientes de atenuación difusa). Y en un número limitado de puntos se midieron también IOP volumétricas, con instrumentación in situ y medidas espectrofotométricas en laboratorio.

Las campañas fueron las siguientes:

2001-2002. Caracterización bio-óptica detallada:

Fue la campaña más extensa y completa, preparada con el objeto de cubrir los principales tipos de embalses y lagos españoles, en un amplio gradiente de condiciones ambientales, tipos de embalse (por su morfología, mineralización del agua, tiempo de residencia), estados tróficos, estacionalidad (temperatura e irradiancia disponible) y condiciones de mezcla o estratificación.

Se completó un muestreo en 99 puntos de 36 masas de agua distintas, con información detallada de la composición del fitoplancton y sus pigmentos fotosintéticos (por HPLC y extracción/determinación de ficobilinas), con medidas de radiometría de campo y obtención de AOP (reflectividad de teledetección, R_{rs} , coeficientes de atenuación difusa), perfiles verticales de conductividad, temperatura (CTD), fluorometría in situ (Clorofila-a, Ficocianina, Ficoeritrina y CDOM), profundidad del disco de Secchi y datos atmosféricos.

Como se resumirá a continuación, los datos de R_{rs} , $[Chl_a]$, $[PC]$ y Secchi de esta campaña han sido utilizados en varios trabajos científicos de desarrollo, calibración y validación de algoritmos de calidad de agua por teledetección, conjuntamente con otras bases de datos, así como para clasificaciones de tipos ópticos de agua (*OWT; Optical Water Types*) e integrados bases de datos más amplias. Por otro lado, las determinaciones taxonómicas de fitoplancton se analizaron de forma separada del resto de medidas ópticas y bioquímicas en varios estudios biogeográficos y ecológicos.

Sin embargo, el grueso de la información pigmentaria, taxonómica y radiométrica no había sido analizado hasta ahora de forma conjunta, ni se había elaborado de manera adecuada para la modelización bio-óptica. Ese análisis, inédito, se presenta por vez primera en este trabajo de Tesis.

En concreto, los datos de la campaña 2001-2002 son los que se han usado para validación de PHYBOM (Capítulo 4.3), simulando la reflectividad espectral, R_{rs} , a partir de los datos *in situ* y comparando las R_{rs} simuladas y medidas *in situ*.

También se han utilizado en el análisis de pigmentos para el módulo de generación de espectros de absorción del fitoplancton (Capítulo 4.2.2.1), para la obtención de la concentración intracelular de clorofila por géneros (Capítulo 4.2.2.3) y para determinación de los ratios de Pigmento : Clorofila-a por grupo taxonómico (Capítulo 4.2.2.4).

2003-2004. Campañas de calibración/validación de algoritmos de calidad de agua mediante teledetección hiperespectral aeroportada (AHS, CASI) y satelital (CHRIS-Proba).

Se estudiaron 6 embalses y un total de 62 puntos de muestreo, aunque 47 de ellos corresponden a un único embalse (Rosarito), que es donde se centraron la mayor parte de las actividades de validación. El número de variables medidas se redujo, en la mayoría de los puntos, a las esenciales para la validación de los métodos de corrección atmosférica (radiometría de campo) y de los algoritmos de obtención de la concentración de Clorofila-a y Ficocianina.

Por ello, los datos de esta campaña no se han utilizado para la validación de PHYBOM, aunque sí en los análisis de la composición pigmentaria media (Capítulos 4.2.2.1 y 4.2.2.4).

2005. Campaña de intercalibración de métodos de determinación de la concentración de ficobilinas.

Fue llevada a cabo de forma conjunta con el Instituto de Ecología de los Países Bajos (*Netherlands Institute of Ecology; NIOO-KNAW*) con el objeto de intercalibrar, con el CEDEX, los métodos de extracción y análisis de ficobiliproteínas (Capítulo 3.1.4.2). Se obtuvieron 34 puntos de muestreo en 21 embalses y lagos con presencia esperada de Cianobacterias. En todos ellos se analizaron estos pigmentos, aunque sólo en 19 se realizaron medidas radiométricas concomitantes.

Los datos de esta campaña tampoco se han utilizado para la validación de PHYBOM, aunque sí han servido para completar los análisis de la composición pigmentaria media (Capítulos 4.2.2.1 y 4.2.2.4), en especial en lo referido a la Ficocianina.

2007. Campaña de validación de los productos MERIS L2B para lagos.

Se llevó a cabo en 55 puntos de muestreo de 6 lagos, con una estrategia de integración espacial de las muestras para la validación de los productos MERIS. Es la única campaña en la que se midieron de forma sistemática IOP, tanto *in situ* (Capítulo 3.1.2) como en laboratorio (Capítulo 3.1.4.4). Sin embargo no se llevaron a cabo determinaciones taxonómicas del fitoplancton. Por ello, se ha utilizado para calibrar o validar los módulos de generación de las IOP del fitoplancton (Capítulo 4.2.2), detritus (Capítulo 4.2.3) y materia orgánica disuelta (4.2.4), pero no en la validación de PHYBOM.

La Tabla 4.1 recoge todos los embalses y lagos estudiados durante las campañas de campo en todo el periodo 2001-2007, resumiendo el número total de puntos de muestreo estudiados en cada punto y el tipo de medidas realizadas (radiometría de campo, análisis de pigmentos por HPLC y taxonomía del fitoplancton). También muestra el amplio intervalo de los valores medidos de la profundidad del disco de Secchi y de la [Chl_a], que son un indicador de la diversidad de estados tróficos y tipos de agua presentes en la base de datos final (Figura 4.1). Hay que destacar también que la profundidad en los puntos de muestreo es siempre muy superior a la del disco de Secchi, por lo que la influencia de la reflectividad del fondo se puede considerar despreciable en toda la base de datos.

Tabla 4.1. Tabla resumen de las campañas de muestreo (2001-2007)

Embalse o lago	Datos generales				Número de puntos de muestreo					Datos del muestreo		
	Lat. (gmmss)	Lon. (gmmss)	Alt. (m.s.n.m.)	Z máx. (m)	Total	Rad.	HPLC	Fito.	Completo	Z med. (m)	Z Secchi med. (m)	Chl_a (µg/l)
Aguilar	424849	-041915	942	48	4	4	4	4	4	13.9	1.4	6.6
Alarcón	393658	-021034	806	71	6	4	4	4	4	16.1	2.5	3.5
Albufera	392107	-002016	1	2	30	30	22	11	10	1.5	0.2	325.0
Alcántara	394539	-064502	218	135	8	8	7	2	2	31.2	1.7	200.8
Alcorlo	410101	-030135	920	62	1	1	1	1	1	25.7	2.1	1.6
Almendra	411303	-061737	730	202	18	18	11	3	3	30.5	2.1	35.7
Beniarrés	384846	-002118	318	53	1	1	1	1	1	14.7	1.0	57.0
Bornos	364829	-054409	104	52	2	2	2	2	2	10.0	0.9	6.2
Brovales	382105	-064145	303	25	1	1	1	1	1	4.4	0.6	53.8
Buendía	402415	-024606	712	79	1	1	1	1	1	18.2	9.6	0.5
Burguillo	402534	-043612	729	91	4	4	4	4	4	22.3	2.1	18.9
Canelles	420222	003924	506	150	4	4	4	4	4	12.5	6.0	1.0
Castrejón	394959	-041746	425	29	1	0	1	1	0	7.8	0.5	144.8
Cernadilla	420106	-062826	889	69	1	1	1	1	1	17.4	3.3	3.1
Cijara	392237	-050008	428	80	2	2	2	2	2	19.9	5.2	1.4
Contreras	393718	-013255	669	129	2	2	2	2	2	31.7	2.6	1.6
Cortes	391458	-005537	326	112	1	1	1	1	1	29.0	4.0	1.5
C. del Pozo	415129	-024410	1078	40	9	9	7	0	0	14.2	3.2	4.5
Ebro	425841	-040415	838	34	3	3	2	3	2	8.8	0.9	52.8
El Atazar	405406	-033219	873	141	4	4	4	4	4	41.7	7.2	4.5
El Campillo	401736	-033137	538	20	2	0	2	2	0	10	0.7	37.2
El Castro	394821	-034508	559	36	1	0	1	1	0	7.7	0.3	48.2
Entrepeñas	403030	-024348	718	85	1	1	1	1	1	25.9	4.5	2.1
Finisterre	393905	-033909	686	33	1	0	1	1	0	28.3	0.7	14.7
Giribaile	380538	-032919	346	84	1	1	1	1	1	20.7	2.3	2.9
Guadalcaçín	363943	-054556	102	44	2	2	2	2	2	73.4	3.6	1.0
Guadalén	381002	-032829	350	55	1	1	1	1	1	15.5	1.0	2.5
Guadalteba	365726	-045019	362	84	2	2	2	2	2	16.0	1.3	106.5
Guajaraz	394756	-040509	605	47	1	0	1	1	0	11.4	0.7	12.0
Iznájar	371508	-041819	421	120	14	14	9	4	3	39.7	4.2	11.7
Jándula	381531	-035558	360	88	2	2	2	2	2	32.1	5.5	2.9
La Serena	385316	-051051	354	89	4	4	4	4	4	70.3	4.3	2.9
Los Arroyos	403522	-040260	838	17	1	0	1	1	0	4.6	0.8	24.8
M. de la Hoz	403147	-035624	625	19	1	0	1	1	0	3.4	0.6	53.6
Navalcán	400218	-050658	370	26	3	3	3	3	3	3.8	0.6	53.0
Negratín	373355	-025612	638	75	2	2	2	2	2	20.1	4.4	1.1
Pedrezuela	404524	-033727	828	53	1	0	1	1	0	10.5	0.9	21.6
Picadas	402000	-041459	1040	59	1	0	1	1	0	16.6	2.8	9.0
Pinilla	405611	-033352	1089	33	4	4	4	3	3	9.6	1.6	24.3
Porcal	401904	-033035	535	22	3	0	2	3	0	15	0.6	38.4
Rialb	415837	011437	430	99	4	4	4	4	4	22.3	2.0	8.7
Riaño	425836	-050121	1100	101	2	2	2	2	2	30.4	3.4	10.6
Ricobayo	413817	-055435	684	100	4	4	4	4	4	17.9	3.2	5.9
Rosarito	400606	-051832	307	38	54	54	38	6	5	6.5	0.7	61.2
San Juan	402300	-042008	580	78	2	2	2	2	2	24.7	5.0	13.1
Sanabria	420710	-064229	998	88	2	2	2	2	2	47.0	5.4	1.3
Sta. Teresa	403916	-053542	887	59	2	2	2	2	2	20.9	3.0	3.5
Santillana	404325	-035054	894	40	4	3	4	4	3	8.6	1.0	41.3
Terradets	420334	005310	372	47	2	2	1	2	1	10.1	0.6	0.9
Tremp	421323	005818	501	86	4	4	4	4	4	22.1	4.6	2.4
Ullívarri	425639	-023525	547	37	2	2	2	2	2	9.2	4.0	3.3
Valdecañas	394830	-052634	315	98	5	5	4	5	4	23.3	2.7	15.8
Valmayor	403259	-040258	831	60	6	4	6	6	4	17.5	1.7	28.8
Valparaíso	415851	-061805	833	64	3	3	2	3	2	13.3	3.0	5.0
Valuengo	381814	-064004	297	33	2	2	2	2	2	6.7	0.6	37.3
V. de Jabalón	384551	-034707	639	25	1	1	1	1	1	5.2	0.7	41.0
TOTAL					250	232	204	140	117			

La base de datos obtenida es uno de los escasos ejemplos a nivel mundial de un estudio sistemático de variables ópticas y limnológicas, sobre un número alto de lagos distintos y para un amplio gradiente de condiciones ambientales. Y parte de sus variables han quedado recogidas en bases de datos globales, como LIMNADES (Groom *et al.*, 2014), o, más recientemente en la base de datos hiperespectrales de libre acceso GLORIA (Lehmann *et al.*, 2023), que proporciona un conjunto de datos accesibles para el desarrollo y validación de algoritmos de calidad de aguas continentales mediante teledetección.

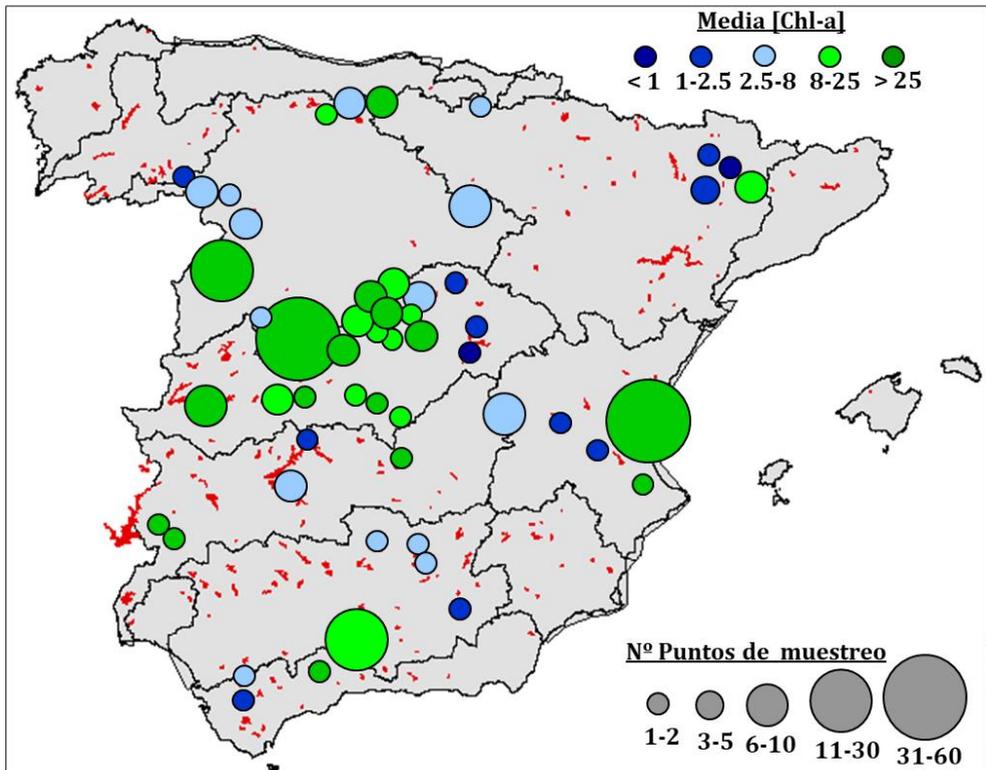


Figura 4.1. Distribución geográfica de los puntos de muestreo de las campañas realizadas en el periodo 2001-2007. En total se muestrearon 56 embalses y dos lagos. El diámetro de los círculos indica el número de puntos por masa de agua, mientras que su color indica la concentración media de Clorofila-a.

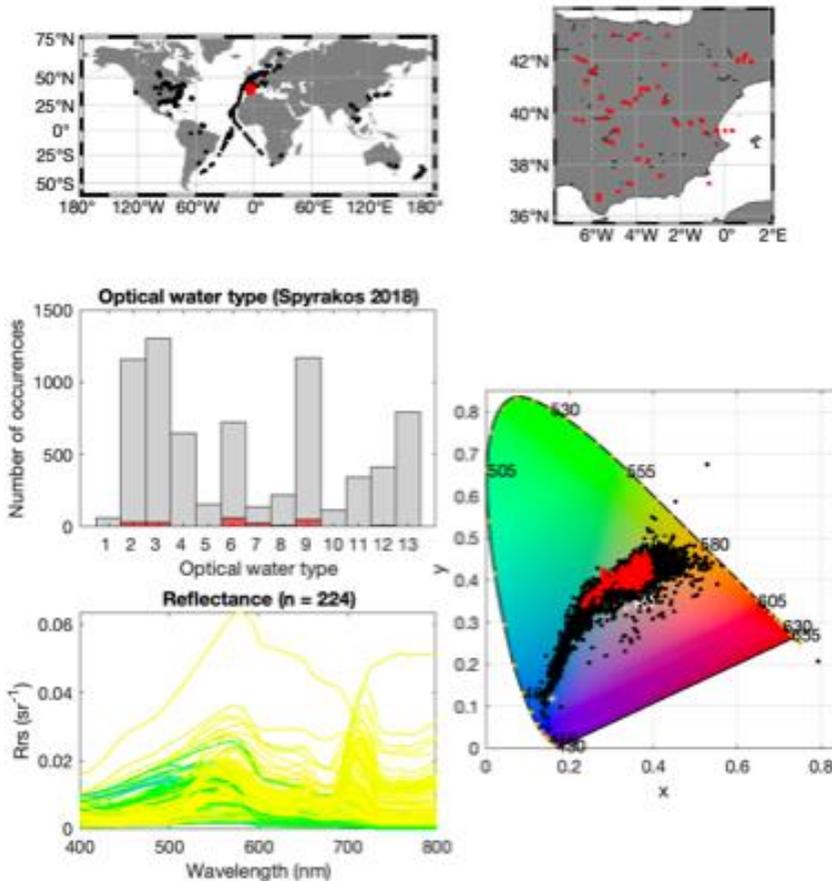


Figura 4.2. Resumen de la variabilidad óptica de la base de datos obtenida, en relación con la base de datos global GLORIA (Lehmann *et al.*, 2023). Los espectros de reflectividad están representados de acuerdo con su similitud con los tipos ópticos definidos en Spyarakos *et al.*, 2018. Ocho de los 13 tipos ópticos globales están presentes en la base de datos (indicados en rojo en el histograma, con respecto al total de GLORIA). Los puntos (en rojo) se distribuyen de forma amplia en el diagrama de cromaticidad (elaborado de acuerdo con CIE, 1931), ocupando la zona central del total de puntos de GLORIA (en negro) que corresponde a las aguas continentales en las que el fitoplancton domina la forma espectral.

La inclusión de la base de datos ibérica en GLORIA (Lehmann *et al.*, 2023) ha permitido evaluar hasta qué punto la variabilidad de tipos ópticos recogida es representativa de la variabilidad observada a nivel mundial. Y como muestra la Figura 4.2, ocho de los trece tipos de aguas obtenidos por agrupación estadística

de las reflectividades observadas mediante técnicas de análisis clúster (Spyrakos *et al.*, 2018), lo que indica que no sólo es representativa de los tipos ópticos de la península ibérica sino de una parte importante de la variabilidad observada hasta ahora en estudios en muy diferentes lugares del planeta.

De hecho, por sus características, ha sido usada en el desarrollo de los principales sistemas de clasificación de tipos ópticos propuestos hasta ahora para aguas continentales y costeras. Así, en la clasificación de Moore *et al.* (2014), basada en un algoritmo de clasificación FCM (*Fuzzy C-Means*) de los datos hiperespectrales de reflectividad y los de Clorofila-a, la base de datos española presentaba un reparto muy homogéneo de sus puntos (N=179) en los 7 tipos ópticos definidos. Y también fue utilizada en la obtención de la clasificación de Spyrakos *et al.* (2018), ya mencionada, basada en una base de datos más amplia (LIMNADES), y que utilizaba un análisis clúster (*k-means*) de las reflectividades medidas.

El conjunto de datos de reflectividad, concentración de Clorofila-a, [*Chl_a*], Ficocianina, [*PC*] y disco de Secchi, como variables principales, ha sido utilizado en el desarrollo y validación de algoritmos de calidad de agua mediante teledetección satelital, como el índice MPH para MERIS/OLCI (Pitarch *et al.*, 2017), la validación de diversos métodos para Sentinel-2 y -3 (Spyrakos *et al.*, 2020) o un método de obtención simultánea de [*Chl_a*], sólidos totales en suspensión (*TSS*) y absorción del CDOM, aplicable a Landsat y Sentinel-2 y -3 (Pahlevan *et al.*, 2022).

Por otro lado, la presencia en la base de datos de determinaciones analíticas de la concentración de Ficocianina, [*PC*], medida muy infrecuente en otras bases de datos, y la abundancia de puntos con dominancia de Cianobacterias, ha propiciado su uso en la evaluación de métodos para la estimación de biomasa de Cianobacterias (Simis *et al.*, 2007; Ruiz-Verdú, 2008), así como sus aplicaciones en sensores hiperespectrales como HICO o PRISMA (O'Shea *et al.*, 2021; Zolfaghari *et al.*, 2021).

Las campañas de campo 2001-2007 se produjeron en el contexto del desarrollo de la misión Envisat de la ESA, puesta en órbita en 2002, que fue de hecho uno de los principales motivos que inspiró el diseño y ejecución de las campañas de campo. Por ello, parte de sus datos fueron usados en la calibración y validación de modelos de calidad de agua de aplicación en imágenes del sensor MERIS de Envisat (Peña-Martínez *et al.*, 2005). Los de la campaña de 2007, preparada específicamente con ese fin, sirvieron para validar los productos de

reflectividad, atmosféricos, IOP y calidad de agua que ofrecía la versión para lagos del procesador de L2B de MERIS (Ruiz-Verdú *et al.*, 2008b) y también el método de corrección atmosférica SCAPE-M (Guanter *et al.*, 2010), que proporcionó mejores resultados en aguas continentales. En cuanto a la campaña de 2003-2004, se usó en el desarrollo y validación de índices espectrales para la teledetección de [Chl_a] y [PC] con el sensor CHRIS/Proba (Ruiz-Verdú *et al.*, 2005).

Por otro lado, las determinaciones taxonómicas del fitoplancton se usaron, aisladamente del resto de la base de datos, en estudios de distribución y abundancia de Cianobacterias (De Hoyos *et al.*, 2004), en el análisis de los factores ambientales que influyen en la distribución de las Diatomeas (Negro *et al.*, 2005), en el desarrollo de un índice de estado trófico para la DMA (Phillips *et al.*, 2013) y en la validación de métodos de evaluación de la calidad del agua basados en fitoplancton (Thackeray *et al.*, 2013).

Todos los trabajos mencionados en los párrafos anteriores, que dan una idea de la capacidad de la base de datos como herramienta en el desarrollo y validación de modelos bio-ópticos y de calidad del agua, se han hecho con una parte pequeña de la información obtenida en las campañas de campo. Toda la potencialidad de la información taxonómica y de variables morfológicas y poblacionales que se pueden derivar de ella, de la composición pigmentaria, de las IOP medidas y, sobre todo, del uso combinado de estos datos, ha permanecido inexplorada hasta ahora.

En los capítulos de desarrollo (4.2) y validación (4.3) del modelo bio-óptico PHYBOM se ha hecho uso, con diversos propósitos, de información directa o derivada de la base de datos. A lo largo del texto aparece citada como *base de datos (de embalses y lagos)*, *base de datos de validación*, *campañas de campo o campaña(s) de caracterización bio-óptica* (o sólo *caracterización bio-óptica*). También a menudo con el adjetivo “*española*” o más frecuentemente “*ibérica*”, primando el criterio biogeográfico sobre el político. El ánimo de esta diversidad de términos no es el de confundir al lector sino el de añadir ligereza y variedad al texto, pues la necesidad frecuente de aludir al origen de los datos puede hacer la lectura más densa y monótona si los términos empleados se repiten sistemáticamente. En cualquier caso, es importante volver a insistir en que todos los datos utilizados en el trabajo de tesis provienen de la base de datos descrita en este capítulo, excepto cuando se mencione expresamente.

4.1.1. Resultados relevantes para el desarrollo del modelo bio-óptico

El análisis de los resultados se centró en la información básica taxonómica y pigmentaria, de la que se extrajo nueva información derivada, de utilidad para la modelización de las IOP del fitoplancton. Así, se calcularon estadísticas de los tamaños y formas celulares determinados por microscopía, que a su vez, y conjuntamente con la concentración de pigmentos, permiten obtener algunas variables clave en la simulación de las propiedades ópticas a nivel de partícula (diámetro esférico equivalente, concentración intracelular de Clorofila-a) mediante los métodos derivados de la Teoría de Mie (Capítulo 2.1.2.2) y el cálculo de las volumétricas mediante la PSD (capítulo 2.1.2.3). También se analizaron las relaciones entre pigmentos, dependientes de los tipos de fitoplancton, necesarias para la simulación de los coeficientes de absorción.

Del análisis global de los datos de la campaña 2001-2002 (N=99), se obtuvieron algunos resultados relevantes para el diseño del modelo bio-óptico y de su estrategia de validación, que se resumen a continuación:

- (1) Las poblaciones naturales de fitoplancton eran todas diversas en cuanto a su composición taxonómica, tanto a nivel de género, con un promedio de 17 géneros identificados por punto de muestreo (mínimo 6 y máximo 29), como a nivel de clase (Figura 4.3) (5 de media por punto, con un mínimo de 3 y un máximo de 8).
- (2) La misma diversidad se observa en la distribución de tamaños (diámetro medio equivalente, con un promedio de la desviación estándar por punto (9.8 μm) muy similar a la media (9.4 μm).
- (3) La hipótesis de esfericidad sólo se cumple, en promedio, para el 58% del biovolumen total (Figura 4.3), y tan sólo en un 52% del número de células contadas en los 99 puntos de muestreo. Analizado punto a punto, el resultado es muy dispar, con 17 en los que más del 80% de las células se pueden asimilar a una esfera, frente a 21 puntos con menos del 20% de células con esa forma geométrica.

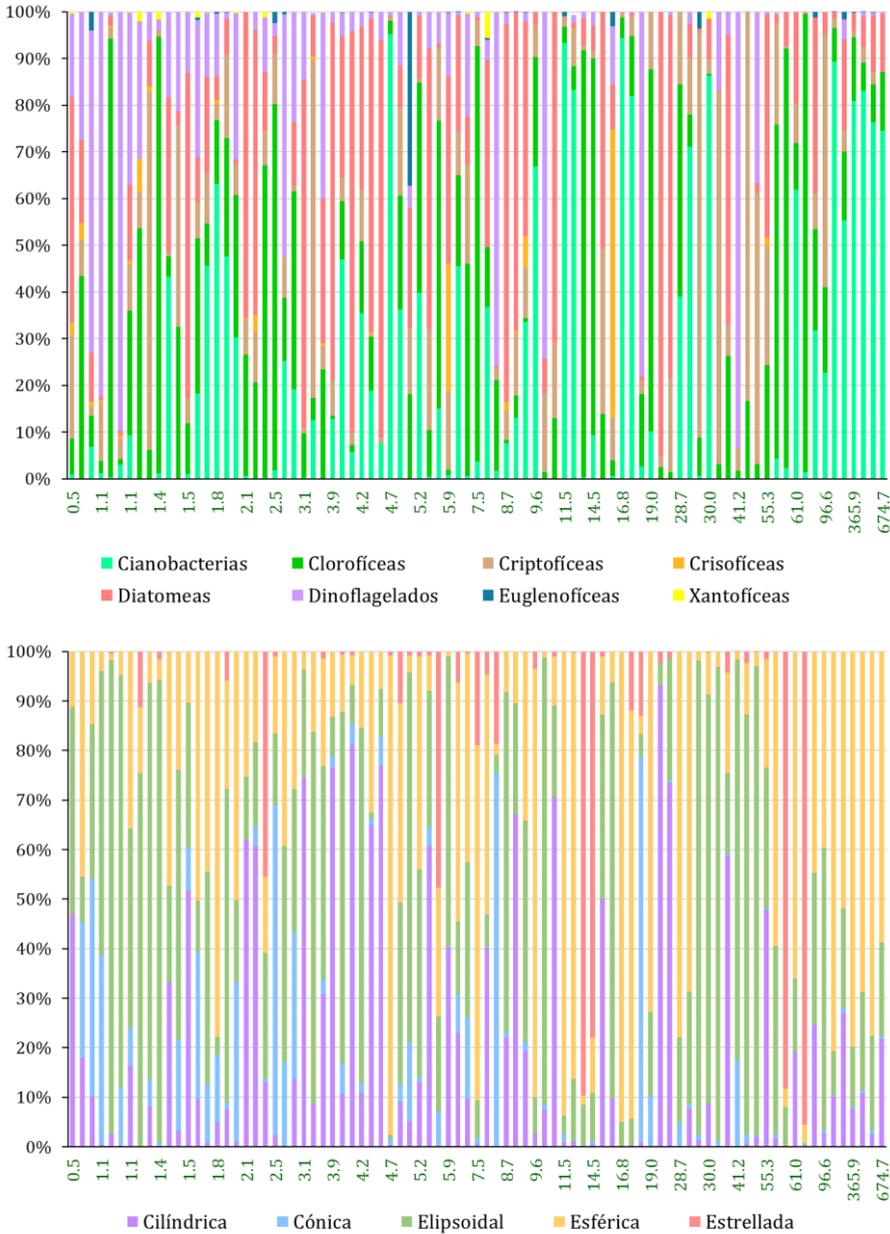


Figura 4.3. Porcentaje de biomasa (arriba) por clases taxonómicas (arriba) y por forma celular (abajo). Cada barra representa un punto de muestreo (N= 99) ordenados por concentración de Clorofila-a (mg m⁻³) creciente.

(4) Hay que tener en cuenta además, que en la clasificación que se muestra en la Figura 4.3 y en la Tabla 4.2, se ha agrupado como “esféricas” a un conjunto de formas celulares y estructuras intracelulares diversas, que pueden contenerse en un esferoide en el que el eje perpendicular tiene una longitud muy cercana a la del eje de simetría. Además, en muchos casos están asociadas en estructuras coloniales, que pueden ser filamentosas, formar “tapetes” bidimensionales o tener una estructura más desorganizada pero envuelta en mucílagos con diferente índice de refracción al de las células.

(5) No se ha encontrado ninguna relación estadística significativa en la base de datos entre la concentración de Clorofila-a total, $[Chl_a]$ y la abundancia relativa de las 6 clases taxonómicas consideradas. Tampoco entre $[Chl_a]$ y el tamaño celular.

(6) De los 106 géneros de fitoplancton identificados en la campaña 2001-2002, 15 de ellos aparecen únicamente en puntos oligo-mesotróficos ($[Chl_a] < 7.6 \mu g/l$) y 23 en puntos eutróficos e hipertróficos ($[Chl_a] \geq 7.6 \mu g/l$). Pero cuando se analizan los 50 géneros más frecuentes (Tabla 4.2) la gran mayoría (84%) no se puede asignar unívocamente a ningún estado trófico. Cuando se ordenan los géneros por su biomasa media por punto sí se observa, como sería esperable, una mayor presencia de géneros asociados unívocamente a los puntos eutróficos e hipertróficos.

(7) La mediana de la distribución de tamaños de las 6 clases taxonómicas principales (Figura 4.4) proporciona un valor indicativo de su tamaño celular, que puede ser útil como valor por defecto en una simulación bio-óptica. Pero la distribución de tamaños es amplia en todas las clases, solapándose entre ellas en los intervalos de tamaños más frecuentes (2-12 μm).

(8) No se observan correlaciones significativas entre la frecuencia de aparición de clorofilas y carotenoides con valor taxonómico y la $[Chl_a]$, lo que es coherente con la variabilidad observada en la composición taxonómica.

Tabla 4.2. Resumen de los 50 géneros de fitoplancton más frecuentes en la campaña de caracterización bio-óptica. Las últimas dos columnas indican la frecuencia de aparición del género en muestras oligo-mesotróficas (%O-M) o eutróficas-hipertróficas (%E-H).

GÉNERO	CLASE	Frecuencia en la BD (%)	Promedio ESD (µm)	Promedio Biomasa (µg/l)	Promedio Num. células	Forma celular	%O-M	%E-H
Cryptomonas	Criptofíceas	93%	13.9 ± 1.7	339.0	2.70E+08	elipsoide	54%	46%
Oocystis	Clorofíceas	76%	8.4 ± 1.9	145.7	4.10E+08	esférica	52%	48%
Scenedesmus	Clorofíceas	70%	5.3 ± 0.6	148.5	1.50E+09	elipsoide	64%	36%
Rhodomonas	Criptofíceas	67%	6.2 ± 0.6	94.5	7.63E+08	elipsoide	52%	48%
Monoraphidium	Clorofíceas	55%	4.2 ± 0.8	28.9	5.76E+08	elipsoide	54%	46%
Cyclotella	Diatomeas	52%	8.9 ± 1.6	385.7	3.60E+09	cilíndrica	40%	60%
Ceratium	Dinoflagelados	49%	43.0 ± 0.0	180.5	4.33E+06	cónica	27%	73%
Fragilaria	Diatomeas	45%	9.7 ± 1.2	165.5	4.03E+08	elipsoide	54%	46%
Aulacoseira	Diatomeas	45%	12.4 ± 1.9	241.6	2.27E+08	cilíndrica	49%	51%
Staurastrum	Clorofíceas	44%	30.0 ± 4.6	1998.2	2.64E+08	estrellada	53%	48%
Gymnodinium	Dinoflagelados	43%	19.2 ± 6.3	98.8	1.01E+08	elipsoide	54%	46%
Pediastrum	Clorofíceas	42%	10.6 ± 6.4	73.9	5.32E+08	cónica	68%	32%
Sphaerocystis	Clorofíceas	41%	5.3 ± 0.5	159.6	1.72E+09	esférica	59%	41%
Aphanothece	Cianobacterias	36%	0.9 ± 0.1	232.6	3.19E+11	elipsoide	61%	39%
Microcystis	Cianobacterias	35%	4.6 ± 0.7	613.0	1.24E+10	esférica	72%	28%
Merismopedia	Cianobacterias	33%	1.4 ± 0.4	52.6	4.97E+10	esférica	67%	33%
Anabaena	Cianobacterias	33%	5.8 ± 0.9	207.7	2.75E+09	esférica	60%	40%
Coelastrum	Clorofíceas	33%	5.5 ± 0.5	170.9	1.13E+09	esférica	53%	47%
Chlorella	Clorofíceas	33%	5.2 ± 1.3	75.5	5.86E+08	esférica	40%	60%
Aphanizomenon	Cianobacterias	32%	5.2 ± 0.3	246.9	2.84E+09	esférica	48%	52%
Stephanodiscus	Diatomeas	27%	6.3 ± 1.1	81.5	8.19E+08	cilíndrica	52%	48%
Closterium	Clorofíceas	26%	14.8 ± 5.2	8.7	2.53E+07	elipsoide	67%	33%
Trachelomonas	Euglenofíceas	26%	15.0 ± 1.9	28.2	3.03E+07	esférica	54%	46%
Peridinium	Dinoflagelados	25%	32.2 ± 8.7	1004.6	7.83E+07	elipsoide	48%	52%
Tetraedron	Clorofíceas	24%	6.2 ± 0.7	25.3	1.82E+08	cónica	64%	36%
Synechocystis	Cianobacterias	23%	4.0 ± 0.3	657.4	1.93E+10	esférica	67%	33%
Woronichinia	Cianobacterias	22%	3.8 ± 0.2	286.4	9.60E+09	elipsoide	35%	65%
Romeria	Cianobacterias	21%	1.7 ± 0.3	146.1	1.39E+11	esférica	84%	16%
Elakatothrix	Clorofíceas	21%	4.9 ± 0.4	0.5	9.96E+06	cilíndrica	37%	63%
Planktothrix	Cianobacterias	20%	3.9 ± 0.5	12093.5	4.49E+11	esférica	72%	28%
Cosmarium	Clorofíceas	20%	18.7 ± 2.6	150.2	4.41E+07	esférica	67%	33%
Asterionella	Diatomeas	20%	9.9 ± 0.5	272.0	5.99E+08	cilíndrica	61%	39%
Nephrوديella	Xantofíceas	20%	5.4 ± 0.5	4.8	6.20E+07	elipsoide	28%	72%
Crucigenia	Clorofíceas	19%	4.6 ± 0.3	65.4	1.65E+09	elipsoide	35%	65%
Nitzschia	Diatomeas	16%	10.7 ± 1.8	592.2	1.15E+09	elipsoide	100%	0%
Pseudanabaena	Cianobacterias	15%	2.3 ± 0.5	12.4	2.74E+09	cilíndrica	57%	43%
Botryococcus	Clorofíceas	15%	3.7 ± 0.2	4.9	1.70E+08	esférica	29%	71%
Keratococcus	Clorofíceas	14%	4.8 ± 0.5	2.3	3.37E+07	elipsoide	69%	31%
Jaaginema	Cianobacterias	12%	1.8 ± 0.3	2163.2	7.24E+11	cilíndrica	100%	0%
Anabaenopsis	Cianobacterias	12%	2.8 ± 0.1	74.4	6.03E+09	esférica	100%	0%
Didymocystis	Clorofíceas	12%	3.8 ± 0.6	16.2	1.07E+09	elipsoide	27%	73%
Kirchneriella	Clorofíceas	11%	3.7 ± 0.8	15.2	8.23E+08	elipsoide	70%	30%
Cylindrospermopsis	Cianobacterias	10%	2.9 ± 0.4	4154.7	4.94E+11	esférica	100%	0%
Geitlerinema	Cianobacterias	10%	2.9 ± 0.4	3853.9	3.03E+11	esférica	100%	0%
Lagerheimia	Clorofíceas	10%	9.0 ± 2.1	144.1	2.78E+08	esférica	78%	22%
Crucigeniella	Clorofíceas	10%	3.9 ± 0.7	18.4	7.40E+08	elipsoide	44%	56%
Ankistrodesmus	Clorofíceas	9%	5.5 ± 1.5	1.9	1.33E+08	cilíndrica	50%	50%
Kephyrion	Crisofíceas	9%	5.4 ± 0.3	1.8	2.28E+07	esférica	0%	100%
Mallomonas	Crisofíceas	8%	11.9 ± 2.8	44.8	1.16E+08	elipsoide	57%	43%
Limnithrix	Cianobacterias	8%	2.8 ± 0.3	28.7	2.82E+09	esférica	43%	57%

Tabla 4.3. Resumen de los 50 géneros de fitoplancton con mayor biomasa (promedio por punto) en la campaña de caracterización bio-óptica. Las últimas dos columnas indican la frecuencia de aparición del género en muestras oligomesotróficas (%O-M) o eutróficas-hipertróficas (%E-H).

GÉNERO	CLASE	Frecuencia en la BD (%)	Promedio ESD (µm)	Promedio Biomasa (µg/l)	Promedio Num. células	Forma celular	%O-M	%E-H
Planktothrix	Cianobacterias	20%	3.9 ± 0.5	12093.5	4.49E+11	esférica	72%	28%
Cylindrospermopsis	Cianobacterias	10%	2.9 ± 0.4	4154.7	4.94E+11	esférica	100%	0%
Geitlerinema	Cianobacterias	10%	2.9 ± 0.4	3853.9	3.03E+11	esférica	100%	0%
Jaaginema	Cianobacterias	12%	1.8 ± 0.3	2163.2	7.24E+11	cilíndrica	100%	0%
Staurastrum	Clorofíceas	44%	30.0 ± 4.6	1998.2	2.64E+08	estrellada	53%	48%
Melosira	Diatomeas	2%	31.6 ± 14.3	1649.4	3.32E+08	cilíndrica	100%	0%
Peridinium	Dinoflagelados	25%	32.2 ± 8.7	1004.6	7.83E+07	elipsoide	48%	52%
Monosiga	Crisofíceas	1%	10.8 ± 0.0	682.4	1.04E+09	esférica	100%	0%
Synechocystis	Cianobacterias	23%	4.0 ± 0.3	657.4	1.93E+10	esférica	67%	33%
Tabellaria	Diatomeas	8%	12.5 ± 0.5	647.4	5.47E+08	cilíndrica	43%	57%
Microcystis	Cianobacterias	35%	4.6 ± 0.7	613.0	1.24E+10	esférica	72%	28%
Nitzschia	Diatomeas	16%	10.7 ± 1.8	592.2	1.15E+09	elipsoide	100%	0%
Cyclotella	Diatomeas	52%	8.9 ± 1.6	385.7	3.60E+09	cilíndrica	40%	60%
Pinnularia	Diatomeas	1%	23.0 ± 0.0	370.8	5.79E+07	elipsoide	100%	0%
Cryptomonas	Criptofíceas	93%	13.9 ± 1.7	339.0	2.70E+08	elipsoide	54%	46%
Pteromonas	Clorofíceas	1%	8.6 ± 0.0	314.5	9.39E+08	esférica	100%	0%
Woronichinia	Cianobacterias	22%	3.8 ± 0.2	286.4	9.60E+09	elipsoide	35%	65%
Ochromonas	Crisofíceas	7%	4.4 ± 1.6	274.0	2.46E+09	elipsoide	50%	50%
Asterionella	Diatomeas	20%	9.9 ± 0.5	272.0	5.99E+08	cilíndrica	61%	39%
Chloridella	Xantofíceas	2%	9.6 ± 0.0	264.5	5.71E+08	esférica	100%	0%
Aphanizomenon	Cianobacterias	32%	5.2 ± 0.3	246.9	2.84E+09	esférica	48%	52%
Aulacoseira	Diatomeas	45%	12.4 ± 1.9	241.6	2.27E+08	cilíndrica	49%	51%
Aphanothece	Cianobacterias	36%	0.9 ± 0.1	232.6	3.19E+11	elipsoide	61%	39%
Golenkiniopsis	Clorofíceas	2%	5.0 ± 0.0	210.6	3.22E+09	esférica	100%	0%
Anabaena	Cianobacterias	33%	5.8 ± 0.9	207.7	2.75E+09	esférica	60%	40%
Ceratium	Dinoflagelados	49%	43.0 ± 0.0	180.5	4.33E+06	cónica	27%	73%
Coelastrum	Clorofíceas	33%	5.5 ± 0.5	170.9	1.13E+09	esférica	53%	47%
Fragilaria	Diatomeas	45%	9.7 ± 1.2	165.5	4.03E+08	elipsoide	54%	46%
Sphaerocystis	Clorofíceas	41%	5.3 ± 0.5	159.6	1.72E+09	esférica	59%	41%
Cosmarium	Clorofíceas	20%	18.7 ± 2.6	150.2	4.41E+07	esférica	67%	33%
Scenedesmus	Clorofíceas	70%	5.3 ± 0.6	148.5	1.50E+09	elipsoide	64%	36%
Romeria	Cianobacterias	21%	1.7 ± 0.3	146.1	1.39E+11	esférica	84%	16%
Oocystis	Clorofíceas	76%	8.4 ± 1.9	145.7	4.10E+08	esférica	52%	48%
Lagerheimia	Clorofíceas	10%	9.0 ± 2.1	144.1	2.78E+08	esférica	78%	22%
Actinocyclus	Diatomeas	1%	15.1 ± 0.0	134.7	7.45E+07	esférica	100%	0%
Quadricoccus	Clorofíceas	4%	5.5 ± 0.0	120.0	1.38E+09	elipsoide	25%	75%
Gymnodinium	Dinoflagelados	43%	19.2 ± 6.3	98.8	1.01E+08	elipsoide	54%	46%
Rhodomonas	Criptofíceas	67%	6.2 ± 0.6	94.5	7.63E+08	elipsoide	52%	48%
Euglena	Euglenofíceas	5%	24.6 ± 5.0	91.9	2.78E+07	elipsoide	80%	20%
Westella	Clorofíceas	3%	4.0 ± 0.0	84.7	2.53E+09	esférica	33%	67%
Stephanodiscus	Diatomeas	27%	6.3 ± 1.1	81.5	8.19E+08	cilíndrica	52%	48%
Chlorella	Clorofíceas	33%	5.2 ± 1.3	75.5	5.86E+08	esférica	40%	60%
Anabaenopsis	Cianobacterias	12%	2.8 ± 0.1	74.4	6.03E+09	esférica	100%	0%
Pediastrum	Clorofíceas	42%	10.6 ± 6.4	73.9	5.32E+08	cónica	68%	32%
Katodinium	Dinoflagelados	5%	6.1 ± 0.6	70.0	2.87E+08	elipsoide	20%	80%
Crucigenia	Clorofíceas	19%	4.6 ± 0.3	65.4	1.65E+09	elipsoide	35%	65%
Phacus	Euglenofíceas	2%	12.8 ± 1.0	62.9	5.38E+07	elipsoide	100%	0%
Spirulina	Cianobacterias	1%	4.9 ± 0.0	59.7	9.66E+08	esférica	100%	0%
Merismopedia	Cianobacterias	33%	1.4 ± 0.4	52.6	4.97E+10	esférica	67%	33%
Vacuolaria	Rafidofíceas	1%	37.8 ± 0.0	52.3	1.85E+06	esférica	0%	100%

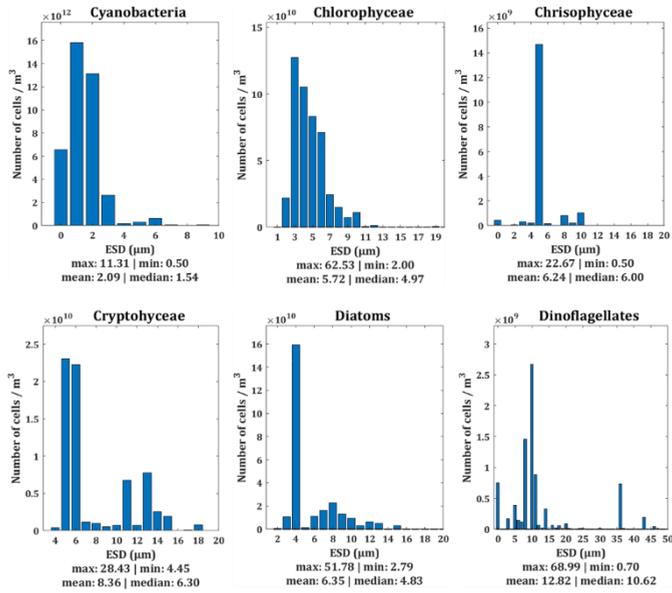


Figura 4.4. Histogramas de la suma del número de células/ m^3 por clases taxonómicas en el total de la base de datos, ordenados según el diámetro esférico equivalente (ESD, en μm).

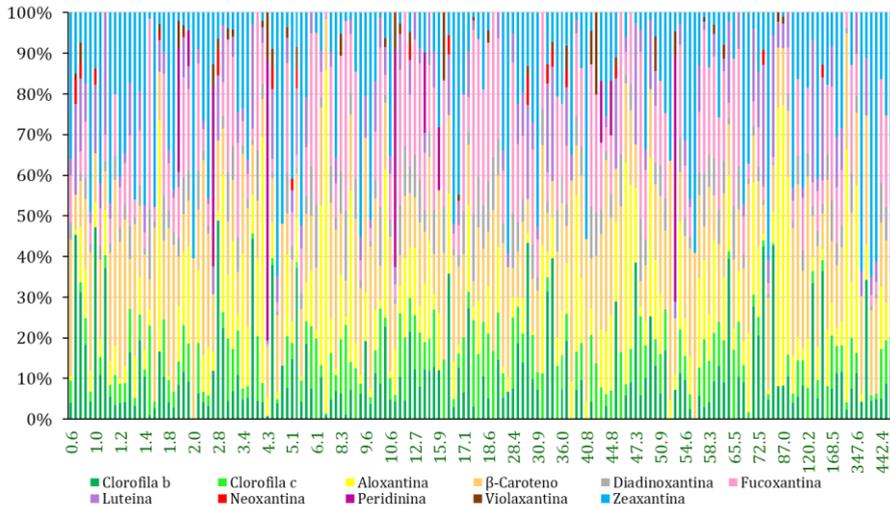


Figura 4.5. Porcentaje de la concentración de Clorofila b, Clorofila c, β -caroteno y xantofilas sobre el total de la concentración de clorofilas y carotenoides (excluida la Clorofila-a). Cada barra representa un punto de muestreo ($N=168$) ordenados por concentración de Clorofila-a (mg m^{-3}) creciente.

De los 8 grupos de observaciones anteriores se extrajeron varias conclusiones acerca de algunas simplificaciones y asunciones habituales en los modelos bio-ópticos, que pueden limitar su aplicación a las aguas continentales y a la variabilidad observada en sus poblaciones de fitoplancton:

- El uso de unos pocos espectros “tipo” para los coeficientes de absorción y dispersión específica no permite simular la variabilidad observada en la composición taxonómica y pigmentaria.
- Las hipótesis básicas de la teoría de Mie sobre la forma y estructura interna de las partículas no son válidas en la mayoría de las poblaciones de fitoplancton estudiadas, que se alejan de la asunción de esfericidad y homogeneidad interna de sus células. Es aconsejable explorar alternativas que reproduzcan más fielmente el efecto de la morfología celular en las IOP del fitoplancton.
- Las simplificaciones o parametrizaciones de muchos modelos bio-ópticos basadas en relaciones empíricas con la [*Chl_a*] no parecen adecuadas para determinar la composición taxonómica ni el tamaño celular promedio de las poblaciones de fitoplancton de aguas continentales.

El modelo bio-óptico desarrollado en esta Tesis pretende ir más allá de estas simplificaciones habituales en la modelización bio-óptica, para poder reproducir la variabilidad observada en las poblaciones de fitoplancton de aguas continentales y simular sus IOP y AOP con suficiente exactitud y precisión.

Los espectros de reflectividad obtenidos en las campañas de campo 2001-2007 (Figura 4.6) ejemplifican por un lado cómo la variabilidad de IOP y combinaciones de OAC tiene un reflejo en la variedad de respuestas espectrales observadas. Pero por otro lado, pone de manifiesto la dificultad de estimar los OAC a partir únicamente de datos experimentales de reflectividad, por la dificultad de conseguir un número suficiente de medidas de todos los casos posibles. Es por ello muy necesario contar con una herramienta de simulación realista y flexible. Y ese es uno de los principios inspiradores de PHYBOM.

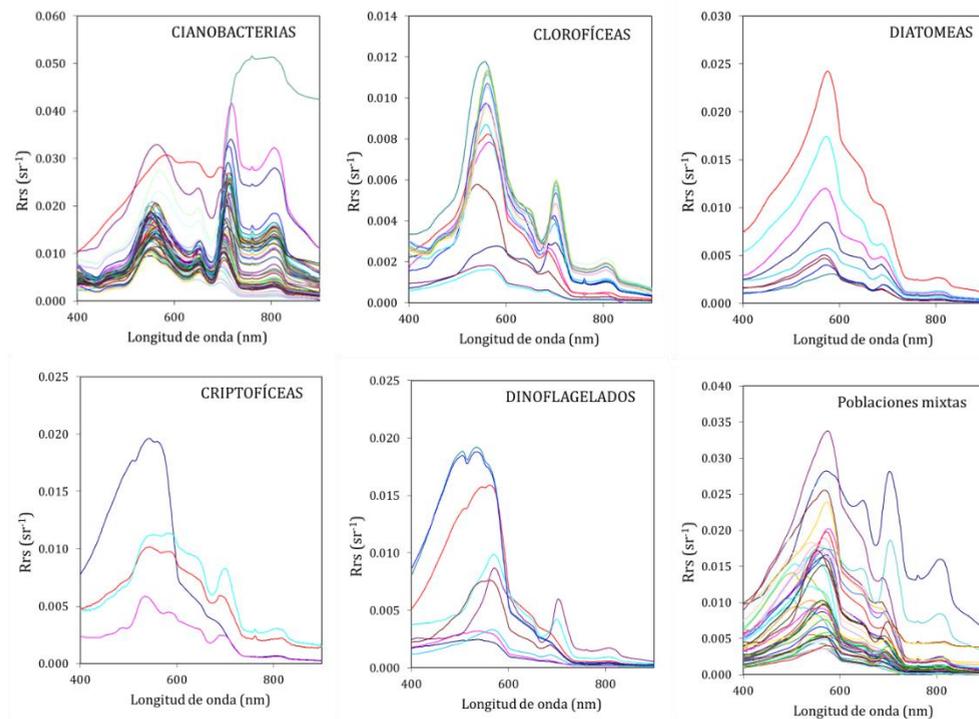


Figura 4.6. Resumen de los espectros de reflectividad de la base de datos, agrupados según la clase taxonómica dominante (>50% de la biomasa total). Los puntos en los que ninguna clase supera el 50% se agrupan como “Poblaciones mixtas”.

4.2. Desarrollo del modelo bio-óptico

4.2.1. Arquitectura y diseño

El modelo bio-óptico, denominado *PHYtoplankton-Based Optical Model* (PHYBOM), es un conjunto de operaciones y procesos que permite simular las propiedades ópticas inherentes (IOP) de una masa de agua, a partir de sus componentes ópticamente activos (OAC).

PHYBOM distingue, además de las **moléculas de agua**, cuatro OAC principales:

- **Fitoplancton** (*Phy*), definido según su forma (procariota o eucariota), su tamaño, su composición pigmentaria y/o su clasificación taxonómica.
- **Detritus orgánicos** (*Det*), particulados y disueltos, correlacionados con el fitoplancton.
- **Materia orgánica disuelta colora** (*CDOM*), no correlacionada con el fitoplancton.
- **Partículas No Algales** (NAP), no correlacionadas con el fitoplancton.

El modelo pretende reflejar la complejidad y diversidad de cada componente, y en especial la del fitoplancton, que es el OAC simulado con mayor nivel de detalle. Para ello utiliza unas *variables de entrada principales*, definidas por el usuario; unas *variables de entrada derivadas*, que calcula el propio modelo pero que también pueden proporcionarse por el usuario; un conjunto de *parámetros y relaciones* matemáticas entre las variables de entrada; unas *funciones* de transformación y unas *variables de salida*: los IOP de la masa de agua simulada.

Para algunos propósitos, la obtención de las IOP, para una masa de agua o un conjunto de masas de agua, puede ser el fin último de la ejecución del modelo. Pero PHYBOM está concebido para proporcionar las propiedades ópticas aparentes (AOP), en especial la *reflectividad espectral*, dadas unas condiciones de contorno (atmosféricas, meteorológicas, variables de estado de la masa de agua), que determinan la geometría de iluminación y la distribución vertical de los OAC. Estas condiciones de contorno se definen también como parámetros del modelo y, juntamente con las IOP, sirven de entrada al código de transferencia radiativa HydroLight (Figura 4.7).

En síntesis, PHYBOM es un modelo bio-óptico capaz de simular las propiedades ópticas inherentes de una muy amplia variedad de combinaciones de OAC, que alimenta al código de transferencia radiativa HydroLight, para la simulación de las propiedades ópticas aparentes, observables desde un sensor remoto. Su desarrollo, calibración y validación se ha hecho con información obtenida preferentemente en aguas continentales y costeras y/o procedente de modelos físicos aplicables a este tipo de aguas, que son su objetivo principal. Con ciertas restricciones, puede usarse también para aguas oceánicas y, dado su diseño, es fácil recalibrar sus parámetros y/o ampliar el número de variables de entrada.

Tal y como se tratará en detalle en los siguientes capítulos, en el diseño que ha sido desarrollado y validado en este trabajo de tesis, se han considerado los siguientes intervalos:

- Para la definición de las poblaciones del fitoplancton y sus IOP:
 - 2 tipos morfológicos (*procariotas* y *eucariotas*) con propiedades ópticas diferentes
 - 6 grupos taxonómicos (*Cianobacterias*, *Clorofíceas*, *Criptofíceas*, *Crisofíceas*, *Diatomeas* y *Dinoflagelados*)
 - Un rango continuo de *tamaños* (ESD, diámetro esférico equivalente) de 1 a 50 μm (extrapolable para tamaños superiores)
 - *Concentración* ($\mu\text{g/l}$) de 15 *pigmentos* fotosintéticos y fotoprotectores (3 clorofilas, 10 carotenoides y 2 ficobiliproteínas)
 - Simulación de la *fluorescencia* de PS II y PS I
- Para las partículas no algales, 5 tipos de partículas (calcáreas, silíceas, dos tipos de arcillas y tierra parda) con propiedades ópticas y ratios backscattering / scattering variables.
- Diferentes tipos de sustancias disueltas y partículas orgánicas, mediante los parámetros de los modelos de absorción de detritus y CDOM (y de dispersión de detritus).

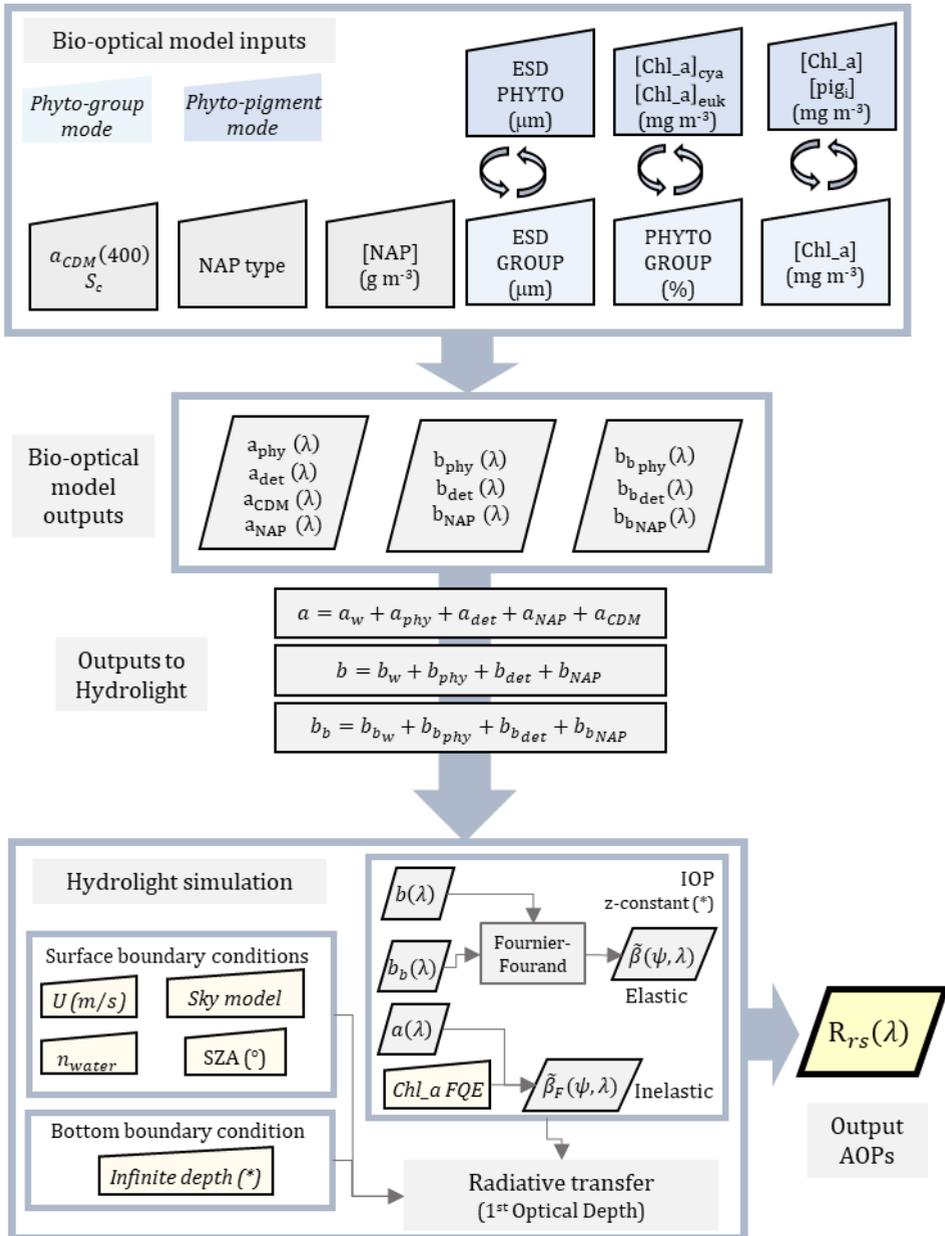


Figura 4.7. Esquema funcional del modelo bio-óptico, integrado con el código de transferencia radiativa HydroLight. Los asteriscos indican las configuraciones usadas en este trabajo, aunque el modelo puede trabajar también con patrones de distribución vertical de las IOP y con profundidades finitas (influencia del fondo en las AOP).

En cuanto a la configuración del código de transferencia radiativa, PHYBOM permite explotar todas las posibilidades de HydroLight, aunque para la calibración y validación, las simulaciones se han circunscrito a las siguientes condiciones:

- Rango espectral para las simulaciones (IOP y AOP): 400-900 nm (muestreo espectral a 1 nm)
- Simulaciones con “profundidad infinita” (no se considera la reflectividad del fondo)
- Tres profundidades de simulación hasta el primer espesor óptico
- Perfil vertical constante para todos los OAC

El modelo bio-óptico calcula, a partir de los coeficientes de cada OAC, los coeficientes globales de absorción, dispersión y retrodispersión (a , b y b_b) para la masa de agua simulada, que se proporcionan a HydroLight para la simulación de la transferencia radiativa en el modo de *IOP medidas* (que utiliza los coeficientes globales, tal y como pueden suministrarlos los instrumentos ópticos perfiladores in situ). A partir de la fracción de backscattering $\tilde{b}_b(\lambda)$ proporcionada por PHYBOM, HydroLight calcula tantas funciones de fase para el scattering $\beta(\psi, \lambda)$ como longitudes de onda simuladas (400 a 900 nm). Esta aproximación asegura una simulación más realista del comportamiento espectral y angular de la dispersión, frente a la simplificación habitual de considerar una única función de fase para todo el rango espectral.

En cuanto a la dispersión inelástica, PHYBOM no simula “per se” las funciones de fase $\beta_F(\psi, \lambda)$ para la fluorescencia de la Clorofila-a (*Sun Induced Chlorophyll Fluorescence*, SICF), pero sí que proporciona los datos de entrada para su cálculo por HydroLight: el espectro de absorción del fitoplancton, las condiciones de contorno para el cálculo de la irradiancia solar incidente y el rendimiento cuántico de fluorescencia (ϕ_F). Como se tratará más adelante (Capítulo 4.3.4), la validación de la SICF, con la base de datos utilizada en este trabajo, ha mostrado las limitaciones actuales de HydroLight al no considerar la fluorescencia de las ficobiliproteínas ni permitir rendimientos cuánticos variables por fotosistema. Ambos procesos se incluirán en las capacidades futuras de PHYBOM, mediante la generación de las funciones de fase de la SICF a partir de las curvas de excitación y emisión de los diferentes elementos fluorescentes.

PHYBOM está concebido para trabajar con perfiles verticales complejos, con IOP variables en profundidad, para simular condiciones de estratificación, con

máximos profundos de clorofila, o mezcla de aguas de distinta densidad o temperatura (como “plumas” de ríos o zonas intermareales). No obstante, dado que en la base de datos de validación, la mayoría de las variables medidas sólo estaban disponibles para una muestra integrada hasta el primer espesor óptico, la versión actual del modelo sólo se ha validado para condiciones de mezcla con concentraciones constantes en profundidad hasta ese espesor óptico. Igualmente, PHYBOM permite simular los efectos del fondo mediante la inclusión de la reflectividad de distintos tipos de fondos en HydroLight. No obstante todos los puntos de la base de datos de validación se pueden considerar de “profundidad infinita”, pues la profundidad del embalse o lago en el punto de muestreo era siempre mayor al punto inferior de la zona eufótica, por lo que los efectos del fondo se pueden considerar despreciables.

En resumen, la versión actual del modelo ha sido desarrollada y validada para su uso en la zona limnética o pelágica (aguas abiertas), asumiendo condiciones de mezcla en el primer espesor óptico, que son las condiciones habituales de aplicación de los algoritmos de obtención de variables de calidad de agua mediante teledetección.

El modelo bio-óptico, PHYBOM, consta de cuatro módulos de simulación de IOP, para cada uno de los OAC principales (Figura 4.8):

1) Fitoplancton: es el módulo principal, diseñado para caracterizar de forma muy detallada la población de fitoplancton presente en un lago. En función de las variables de entrada que ha de introducir el usuario, se definen dos modos de operación:

- Por *grupos de fitoplancton*, en el que la población de fitoplancton es definida a partir de la concentración de Clorofila-a [Chl_a], como indicador de la biomasa total; el porcentaje de la biomasa de cada uno de los seis grupos taxonómicos principales y el tamaño celular medio de cada grupo (definido como el diámetro esférico equivalente, ESD, en μm).
- Por *composición pigmentaria*, en el que la población de fitoplancton es definida a partir de la concentración de Clorofila-a y de otros 14 pigmentos (clorofilas b y c, β -caroteno, 9 xantofilas y 2 ficobiliproteínas); así como del porcentaje de [Chl_a] y el ESD medio de eucariotas y procariotas (Cianobacterias).

2) Detritus: este módulo caracteriza la población de detritus orgánicos que se originan como resultado de la descomposición del fitoplancton. Incluye también la fracción de materia orgánica disuelta colora (CDOM) correlacionada con el fitoplancton (resultado de su composición) y que aproximadamente constituye la materia orgánica disuelta *autóctona* (Lozovik *et al.*, 2007). No requiere de inputs de usuario, ya que las IOP de los detritus son calculadas a partir de las del fitoplancton.

3) CDOM: describe el conjunto de sustancias orgánicas disueltas coloras no correlacionadas con el fitoplancton, que en su mayoría es materia orgánica disuelta *alóctona*, pues su origen principal está en la cuenca vertiente y no en la descomposición de la biomasa del propio lago. Su coeficiente de absorción se formula con una función exponencial que requiere del usuario la definición de la absorción a una longitud de onda (por defecto 400 nm) y la pendiente de la función, dependiente de λ .

4) NAP: describe todas aquellas partículas en suspensión no fitoplanctónicas (*partículas no algales*) presentes en un lago. En la versión actual de PHYBOM, validada en este trabajo, consta de 5 tipos de partículas: minerales silíceos y calcáreos; arcillas rojas y amarillas y suelos pardos. El usuario debe definir el tipo y concentración de partículas no algales.

La obtención de las IOP de los cuatro grupos de OAC, resumida en la Figura 4.8, se lleva a cabo, dentro de PHYBOM, mediante un conjunto de:

Modelos físicos, que relacionan las propiedades ópticas microscópicas de las partículas y las propiedades volumétricas de las poblaciones de partículas, desarrollados a partir de la teoría de Mie y su aproximación de la difracción anómala (descritas en el capítulo 2.1.2.2). Calculan la parte real del índice de refracción mediante diferentes aproximaciones para el fitoplancton (*Equivalent Algal Populations*, que considera la estructura intracelular) y para el resto de las partículas (que se asumen esféricas). La parte imaginaria del índice de refracción se calcula como suma de la absorción de los pigmentos fotosintéticos, incluyendo los efectos de empaquetamiento, y del resto de sustancias disueltas.

Asunciones, basadas en la caracterización bio-óptica de los embalses y lagos ibéricos presentada en este trabajo y en otros trabajos previos, acerca de las características morfológicas (forma y tamaño) y las propiedades ópticas de los OAC en aguas continentales. Determinan los valores por defecto (configurables)

que toman algunas variables y parámetros de los modelos físicos, así como los propios modelos escogidos.

Relaciones empíricas, derivadas en la caracterización bio-óptica presentada en este trabajo y en otros trabajos previos, para la obtención de algunos parámetros y variables intermedias de los modelos físicos. Las principales son: el cálculo de la concentración intracelular de Clorofila-a a partir del diámetro celular, la relación entre la concentración de pigmentos y $[Chl_a]$ por grupos taxonómicos, o la estimación de la absorción y dispersión de detritus a partir del fitoplancton.

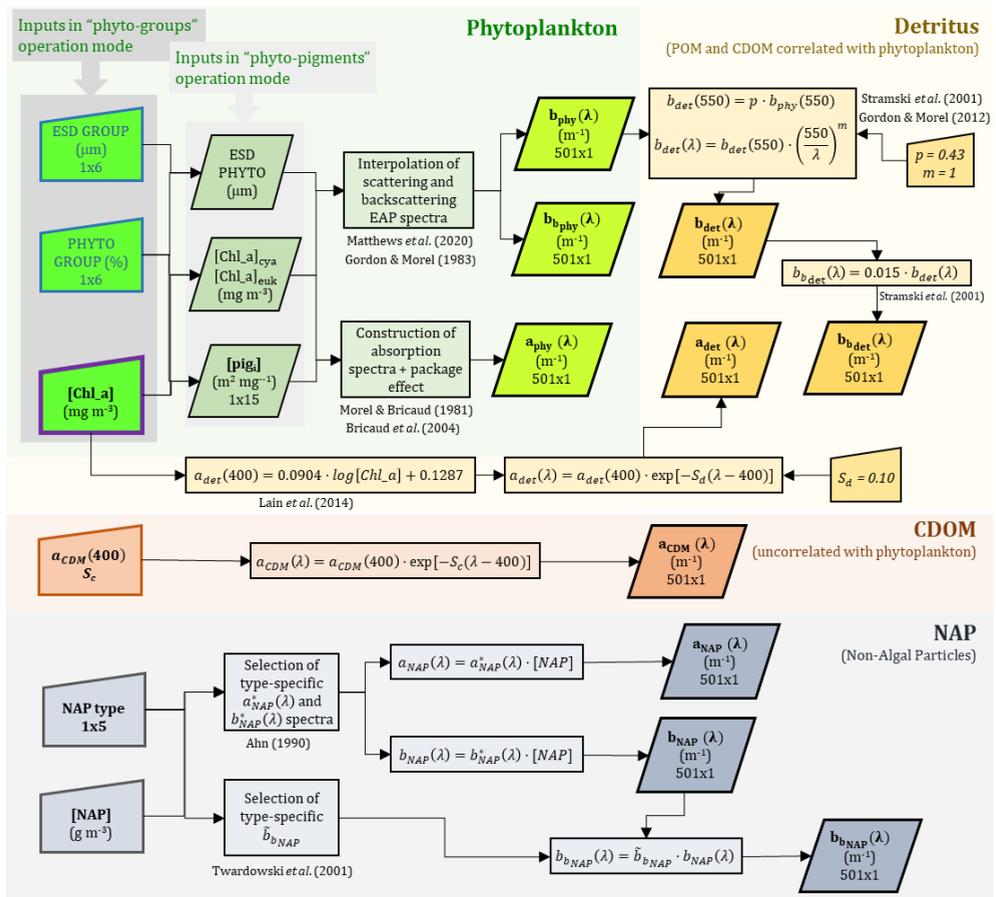


Figura 4.8. Diagrama general del modelo óptico para la generación de IOP, mostrando las entradas, salidas y funciones de proceso de los cuatro módulos de simulación (fitoplancton, detritus, CDM y NAP).

En los siguientes capítulos se detalla: el desarrollo de cada uno de los cuatro módulos del modelo bio-óptico; los modelos físicos utilizados y las razones por las que han sido escogidos; la justificación de las asunciones basadas en la caracterización bio-óptica y la evidencia previa; y la obtención de las relaciones empíricas a partir de esa caracterización y otros trabajos en aguas continentales.

4.2.2. Fitoplancton

El módulo de simulación del fitoplancton es el módulo principal de PHYBOM y el más complejo, tanto desde el punto de vista de su desarrollo y calibración, como de su implementación en MATLAB. El objetivo perseguido con este módulo era desarrollar una herramienta que, con el mínimo número de variables de entrada posible y con el mínimo coste computacional, proporcionara IOPs realistas para poblaciones naturales de fitoplancton. Como se irá detallando, la revisión de la bibliografía disponible (más abundante en estudios oceánicos y mucho más escasa para aguas continentales) y el análisis de los resultados de la caracterización bio-óptica (Capítulo 4.1) determinó las cinco principales funcionalidades del módulo, que se resumen a continuación:

1) Construcción de los espectros de absorción a partir de la composición pigmentaria. (Capítulo 4.2.2.1). Esta aproximación permite simular cualquier población natural del fitoplancton, conociendo la concentración de clorofilas, carotenoides y ficobiliproteínas. También simular cambios en la composición pigmentaria relacionados con la fotoaclimatación (Capítulo 2.2.6).

2) Simulación del efecto de empaquetamiento (Capítulo 4.2.2.2), por el que la absorción in vivo del fitoplancton es menor a la de la suma de los pigmentos en solución. Esa reducción se calcula mediante un *coeficiente de empaquetamiento* (Morel & Bricaud, 1986), que requiere conocer el tamaño de las células y la concentración intracelular de clorofila (Capítulo 4.2.2.3).

3) Aproximación quimiotaxonómica (Capítulo 4.2.2.4) que permite simular los espectros de absorción para clases de fitoplancton a partir de relaciones entre la Clorofila-a y el resto de pigmentos, obtenidas de la base de datos de validación y de otros estudios en aguas continentales (Schlüter *et al.*, 2016).

4) Simulación de la dispersión en función del tamaño y estructura celular (Capítulo 4.2.2.5), a partir del modelo físico de las Poblaciones Algales Equivalentes (*EAP: Equivalent Algal Populations*), distinguiendo entre células procariotas (Cianobacterias) y eucariotas (Bernard *et al.*, 2009; Lain *et al.*, 2014).

5) Simulación de la fluorescencia (Capítulo 4.2.2.6), a partir del espectro de absorción del fitoplancton y del rendimiento cuántico de fluorescencia, calculado mediante una función empírica a partir de la concentración de Clorofila-a.

La Figura 4.9 muestra un diagrama funcional resumido del módulo de simulación de las IOP del fitoplancton. Los fundamentos y modo de obtención de las funciones mostradas en la Figura 4.9 se describen en los capítulos 4.2.2.1 al 4.2.2.5.

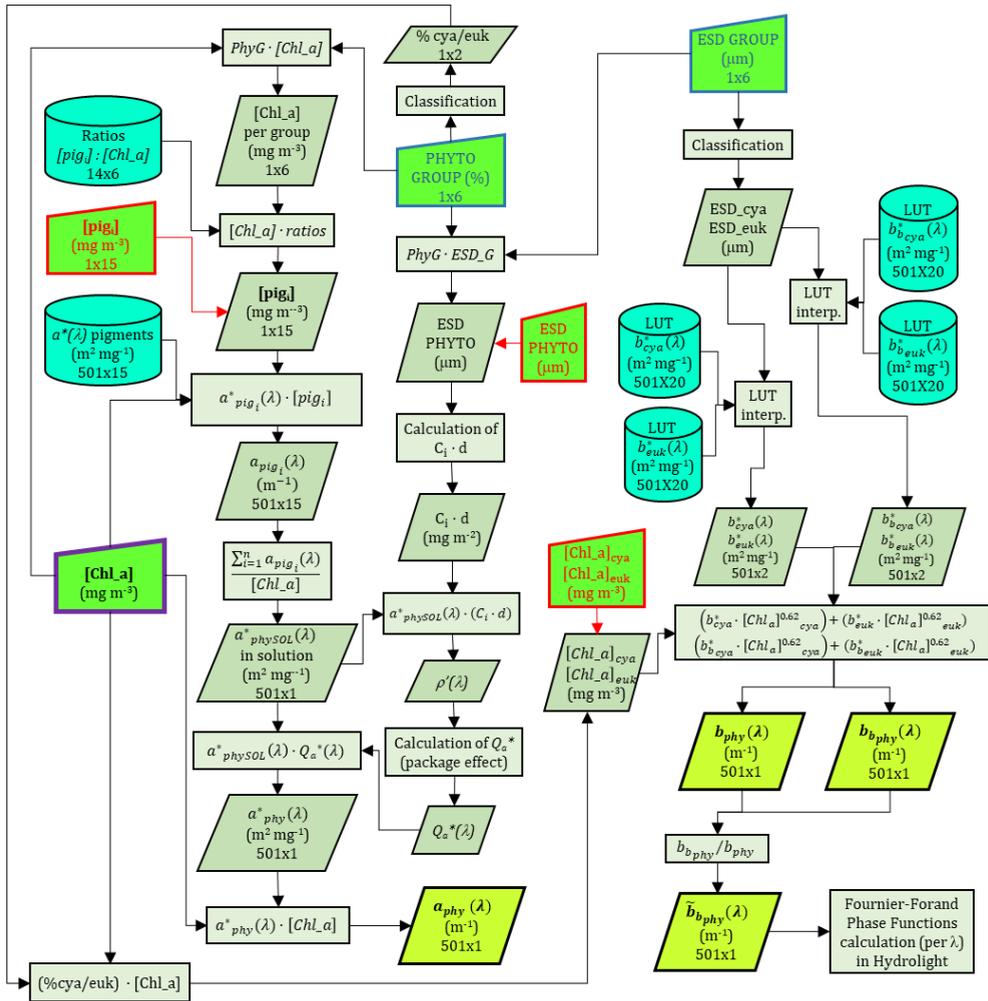


Figura 4.9. Diagrama del modelo óptico para el fitoplancton. En el modo de simulación por grupos de fitoplancton, las variables de entrada que ha de introducir el usuario (texto en azul) son la concentración de clorofila ($[Chl_a]$), el % de la biomasa de cada grupo ($PHYTO\ GROUP\ \%$) y el diámetro medio por grupo ($ESD\ GROUP$). En el modo de simulación por composición pigmentaria (rojo) las entradas son la $[Chl_a]$ y la concentración del resto de pigmentos ($[pig_i]$), el diámetro medio de la población de fitoplancton ($ESD\ PHYTO$) y la fracción de $[Chl_a]$ de Cianobacterias y eucariotas. Las salidas del modelo son $a_{phy}(\lambda)$; $b_{phy}(\lambda)$; $b_{bphy}(\lambda)$ y $\bar{b}_{bphy}(\lambda)$ (más detalles en el texto).

4.2.2.1. Generación de los espectros de absorción a partir de la composición pigmentaria

Como han mostrado numerosos estudios (Lohrenz *et al.*, 2003; Bricaud *et al.*, 2004; Chase *et al.*, 2017), los espectros de absorción específica del fitoplancton están determinados por la suma de los espectros de absorción específica de sus pigmentos, por lo que conociendo estos últimos es posible construir los primeros. En la práctica, esta construcción no es tan sencilla, debido a varios hechos:

En primer lugar, los espectros de absorción de los pigmentos *in vivo* difieren de los espectros medidos en solución, cuando los pigmentos se han extraído con un solvente orgánico (clorofilas y carotenoides) o en un medio acuoso (ficobiliproteínas). La unión de los pigmentos a los complejos de proteínas de los fotosistemas y a las membranas tilacoidales producen un desplazamiento de los espectros de absorción, normalmente a longitudes de onda mayores. Por ejemplo, el máximo de absorción de la Clorofila-a en el rojo se encuentra en solventes orgánicos en torno a 665 nm, mientras que *in vivo* se observa en torno a 676 nm. La mayoría de los carotenoides muestran desplazamientos de magnitud similar (9-15 nm), aunque en el caso de la Fucoxantina y la Peridina, alcanza 40 nm, lo que confiere a las algas del linaje rojo la capacidad de absorber luz verde que no consiguen otros carotenoides (Kirk, 1994).

Es preciso por tanto, obtener los espectros específicos de absorción *in vivo* (no *in vitro*) de los pigmentos individuales, pero esto no puede hacerse por análisis bioquímico sino matemático, bien aplicando un desplazamiento espectral a los espectros *in vitro* (Bidigare, 1990) o bien mediante deconvolución de los espectros de absorción del fitoplancton *in vivo*, normalmente utilizando funciones gaussianas (Hoepffner & Sathyendranath, 1993; Ficek *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2016).

Ambas aproximaciones presentan problemas y fuentes de error. El método de reconstrucción asume posiciones fijas de los máximos de absorción, que pueden variar en función de asociaciones específicas pigmento-proteína. Además, si la lista de pigmentos analizados no es exhaustiva, el espectro reconstruido tendrá zonas en las que la absorción total estará infraestimada. En cuanto al método de deconvolución, depende de la calidad de la determinación experimental de la absorción del fitoplancton por espectrofotometría (Capítulo 3.1.4.4), ya que puede quedar una absorción residual de detritus o partículas no algales, que es necesario eliminar. Y también del número de pigmentos

analizados, pues pueden aparecer picos de absorción no atribuibles a ningún pigmento. Por último, ambos métodos requieren tener en cuenta la absorción de los pigmentos solubles en agua, en especial las ficobiliproteínas, y los efectos de empaquetamiento que se describirán en el siguiente capítulo (4.2.2.2).

PHYBOM ha adoptado una aproximación de reconstrucción del espectro total a partir de los espectros de absorción específica de las 3 clorofilas y 10 carotenoides más abundantes del fitoplancton de aguas continentales, utilizando como valores iniciales *in vivo* los calculados por Bricaud *et al.* (2004), completados, para pigmentos no presentes en el citado estudio, con valores *in vitro* tomados de la compilación de Egeland *et al.* (2011) desplazados de acuerdo con Kirk (1994).

Para las ficobiliproteínas PHYBOM ha utilizado, de partida, los espectros determinados *in vivo* por Simis & Kauko (2012) mediante la técnica de decoloración selectiva, que es el único estudio que ha determinado de forma cuantitativa los espectros de absorción *in vivo* de estos pigmentos (Ficocianina-Aloficocianina y Ficoeritrina). La única limitación es que esta técnica no es capaz de separar la absorción de la Ficocianina (PC) y la Aloficocianina (APC), por lo que, en adelante, se consideran siempre de forma conjunta, como PC. No obstante, esta limitación no tiene apenas repercusión práctica, pues las determinaciones analíticas de las ficobiliproteínas suelen considerar PC+APC como una única fracción y ese ha sido el caso en las medidas realizadas en este estudio (capítulo 3.1.4.2).

1) Selección de pigmentos. En cuanto a los pigmentos considerados, el propósito era incluir todos aquellos cuantitativamente relevantes en aguas continentales, que son el objetivo principal de simulación de PHYBOM. La determinación de lo “cuantitativamente relevante” no es evidente en aguas continentales, pues el número de estudios de pigmentos por HPLC es muy inferior a los estudios marinos. En este estudio se siguieron varios pasos:

- Como punto de partida se consideró la clasificación propuesta por el grupo de trabajo 78 del SCOR (*Scientific Committee on Oceanographic Research*) (Jeffrey *et al.*, 1997), que diferencia entre pigmentos primarios (los más abundantes en las muestras marinas) y secundarios o terciarios (menos abundantes) (Canuti *et al.*, 2022).
- Se excluyeron, de la lista de pigmentos primarios aquellos pigmentos presentes únicamente en especies marinas (o muy raros en especies

continentales), de acuerdo con Jeffrey *et al.* (2011). Tal es el caso de las variantes mono- y divinílicas de las clorofilas -a y -b, que sólo se han encontrado en los *proclorófitos* (*Prochlorophyta*) de los océanos tropicales, o las variantes de la Fucoxantina (*19'-ButanoloxiFucoxantina* y *19'-HexanoloxiFucoxantina*) presentes sólo en *haptófitos* (*Haptophyta*) y *pelagófitos* (*Pelagophyceae*) marinos.

- Se completó la lista con aquellos pigmentos secundarios que tienen un valor taxonómico para las clases principales del fitoplancton de aguas continentales (Violaxantina, Luteína, Neoxantina y Equineona) y que se han medido con concentraciones significativas en lagos, (Simis *et al.*, 2007; Ruiz-Verdú *et al.*, 2008; Schlüter *et al.*, 2016).

La lista final de pigmentos incluidos en PHYBOM se muestra en la Tabla 4.4. No pretende ser definitiva y el modelo bio-óptico se puede ampliar fácilmente para incluir más pigmentos, pero se considera suficiente, en base a la información disponible, para reconstruir los espectros de absorción específica del fitoplancton.

Tabla 4.4. *Pigmentos incluidos en la versión actual de PHYBOM.*

Pigmento	Abreviatura utilizada en PHYBOM	Abreviatura SCOR (Jeffrey <i>et al.</i> , 1997)	Comentarios
Clorofila a	Chl a	TChl a	Incluye Feofitina-a
Clorofila b	Chl b	TChl b	
Clorofila c	Chl c	TChl c	Suma de Clorofila c1 + c2 +c3
Aloxantina	Alo	Allo	
β-Caroteno	Bet	Car	
Diadinoxantina	DDX	Diad	Suma de Diadinoxantina + Diatoxantina, en la base de datos de validación
Equineona	Ech	Echin	
Fucoxantina	Fuc	Fuco	
Luteína	Lut	Lut	
Neoxantina	Neo	Neo	
Peridinina	Per	Per	
Violaxantina	Vio	Viol	
Zeaxantina	Zea	Zeax	
Ficocianina	PC		Suma de Ficocianina + Aloficocianina (PC+APC)
Ficoeritrina	PE		

2) Completado de la base de datos. Debido a diferentes disponibilidades de patrones para HPLC en diferentes fases de las campañas de campo, no todos los puntos de la base de datos tenían información de todos los pigmentos de la Tabla 4.4. Para completar los datos faltantes y lograr una base de datos de validación homogénea, se buscaron relaciones estadísticas entre pigmentos, con ayuda de la base de datos de HPLC descrita en Simis *et al.* (2007), obtenida en lagos de los Países Bajos. Los ajustes de regresión encontrados se muestran en la Figura 4.10.

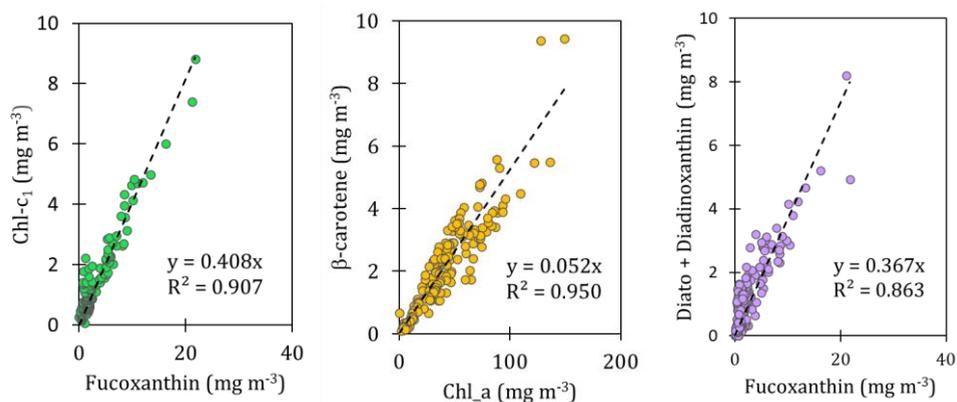


Figura 4.10. Relaciones entre pigmentos determinados por HPLC (Simis *et al.*, 2007) utilizadas para el completado de la base de datos de validación.

3) Ajuste de los coeficientes de absorción específica. Los datos compilados por Bricaud *et al.* (2004) suponen la mejor información disponible, por pigmento, de la forma espectral de las clorofilas y carotenoides principales del fitoplancton. Otros estudios (Hoepffner & Sathyendranath, 1993; Wozniak *et al.*, 2000; Lohrenz *et al.*, 2003; Ficek *et al.*, 2004) descomponen el espectro en grupos de pigmentos, habitualmente en clorofilas y carotenoides o descomponiendo los carotenoides en fotoprotectores (PPC, *Photo Protector Carotenoids*) y fotosintéticos (PSC, *Photosynthetic Carotenoids*). En los PSC se incluyen normalmente la Peridinina, la Fucoxantina y la Equineona, mientras que el resto de los carotenoides de la Tabla 4.4 se consideran PPC. Aunque estos grupos tienen sentido desde el punto de vista de las funciones de los pigmentos y de sus espectros de absorción (Figura 4.12), el objetivo de PHYBOM es el de simular con el máximo detalle posible el efecto de la composición pigmentaria en la respuesta espectral del fitoplancton, por lo que se escogió inicialmente el conjunto de espectros de absorción específica por pigmento proporcionados

por Bricaud *et al.* (2004) en su Figura 1, generados por convolución de funciones gaussianas.

No obstante, como los autores advierten en ese mismo trabajo, mientras que la forma espectral es bastante constante, el valor de la absorción específica es muy variable en los diferentes estudios (ver su Tabla A1 como ejemplo), dependiendo de las especies de fitoplancton, de su estado fisiológico y de su fotoaclimatación. Los valores proporcionados por Bricaud *et al.* (2004) proceden, en su mayor parte de muestreos en aguas oceánicas abiertas, oligotróficas, en las que el régimen de iluminación es muy diferente al de la mayoría de las aguas continentales (más eutróficas y/o turbias), por lo que es preferible acudir a valores obtenidos en este segundo tipo de aguas. El problema es que no hay estudios con determinaciones de estos coeficientes en una muestra amplia de lagos, que permita utilizar valores promedio para las simulaciones bio-ópticas.

El estudio más completo y detallado es el de Ficek *et al.* (2004), en el que se analizaron 1208 espectros de absorción del fitoplancton y 782 conjuntos de determinaciones de pigmentos por HPLC, obtenidos de forma concomitante en muestras del Mar Báltico, para un amplio gradiente de estados tróficos. Aunque se trata de aguas marinas, el Báltico, con su escasa profundidad, circulación cerrada, baja salinidad, ciclos de mezcla-estratificación y eutrofia (con frecuentes y extensos *blooms* de Cianobacterias y otras algas) se asemeja bastante a un gran lago, por lo que los espectros específicos de Ficek *et al.* (2004) se consideraron como más representativos de aguas continentales y más adecuados para las simulaciones de PHYBOM. De hecho, su aplicación en el subconjunto de la base de datos de este trabajo con medidas de $a_{phy}^*(\lambda)$ y datos de concentración de pigmentos (N=25), dio mejores resultados que la aplicación directa de los coeficientes de Bricaud *et al.* (2004). No obstante, como los datos de Ficek están agrupados por PPC y PPC y no discriminan por tipo de pigmento, se decidió una aproximación mixta en la que los coeficientes de Bricaud se modificaron a partir los de Ficek, mediante los siguientes pasos:

- a) Se consideraron varios conjuntos de concentraciones relativas de pigmentos, representando tipos de fitoplancton, de acuerdo con los ratios [Pigmento]:[Chl_a] obtenidos en el Capítulo 4.2.2.4.
- b) A partir de los conjuntos de datos de pigmentos, se calcularon los espectros de $a_{pig_i}^*(\lambda)$ y $a_{phy}^*(\lambda)$, tanto con las curvas de Bricaud como con las de Ficek.

- c) Los espectros de Bricaud se agruparon en las clases de Ficek (*Chl_a*, *Chl_b*, *Chl_c*, *PSC*, *PPC*) y ambos grupos de espectros se compararon.
- d) Se extrajo el máximo de absorción de cada espectro y se obtuvo el promedio de los cocientes $(\max a_{Ficek}^*)/(\max a_{Bricaud}^*)$ para cada clase
- e) Los factores resultantes fueron cercanos a 1 para clorofilas y PSC, por lo que se mantuvieron las curvas de Bricaud para ese grupo de pigmentos. Sin embargo, para los PPC, el valor promedio fue de 1.75, muy similar en las distintas composiciones de pigmentos fotoprotectores, por lo que las curvas de Bricaud et al., 2014 se multiplicaron por ese factor para todo este grupo de pigmentos.

Tal y como muestra la Figura 4.11, la aplicación de las curvas específicas de Bricaud, modificadas con los factores multiplicativos, produjo un mucho mejor ajuste a los espectros determinados espectrofotométricamente en laboratorio mediante la QFT (*Quantitative Filter Technique*), por lo que se adoptaron para PHYBOM las curvas modificadas para los PPC. En el caso de las ficobiliproteínas, aunque para los puntos con Cianobacterias (N=5) se obtuvo un mejor ajuste con un valor de $a_{PC}^*(620) = 0.017$, para PHYBOM se mantuvo el valor de $a_{PC}^*(620) = 0.007$, obtenido por Simis & Kauko (2012), que está validado con un número muy superior de datos experimentales.

En los espectros simulados en la Figura 4.11, el valor resultante de la suma de los espectros de absorción de los pigmentos individuales, $a_{phySOL}^*(\lambda)$, se encuentra multiplicado por el factor de empaquetamiento $Q(\lambda)$, cuya forma de obtención se describe en el Capítulo 4.2.2.2. La Figura 4.12 resume los espectros de absorción específica *in vivo* utilizados en la versión actual de PHYBOM, basados en los obtenidos por Bricaud *et al.* (2004), con la modificación según Ficek *et al.* (2004) que se acaba de describir.

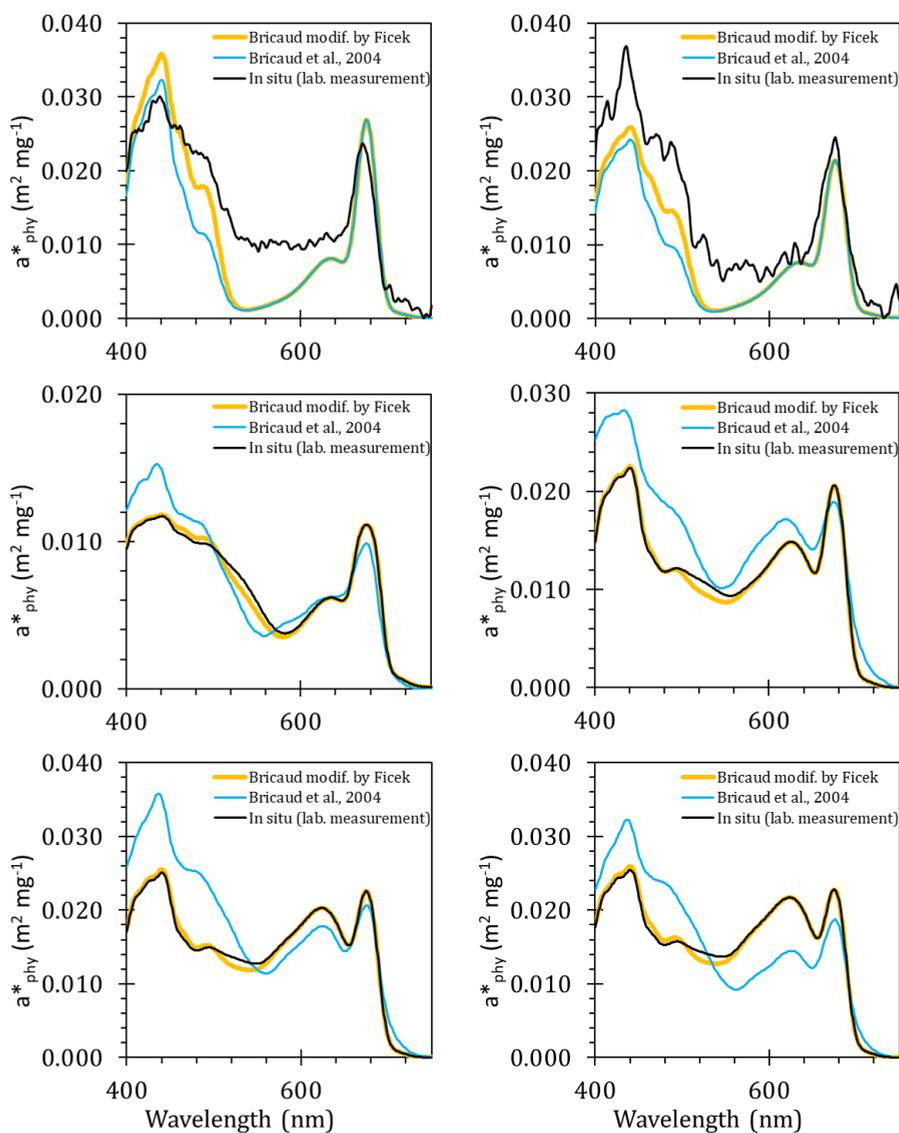


Figura 4.11. Espectros del coeficiente de absorción específica del fitoplancton construidos a partir de la concentración de pigmentos determinada in situ en 6 puntos de muestreo (capítulo 3.1.4.4) y los espectros de Bricaud et al. (2004) (clorofilas y carotenoides) y Simis & Kauko (2012) (ficobiliproteínas). La línea azul muestra el ajuste inicial y la línea naranja el ajuste final, en el que $a_{pig_i}^*(\lambda)$ se ha modificado de acuerdo con los valores de Ficek et al. (2004).

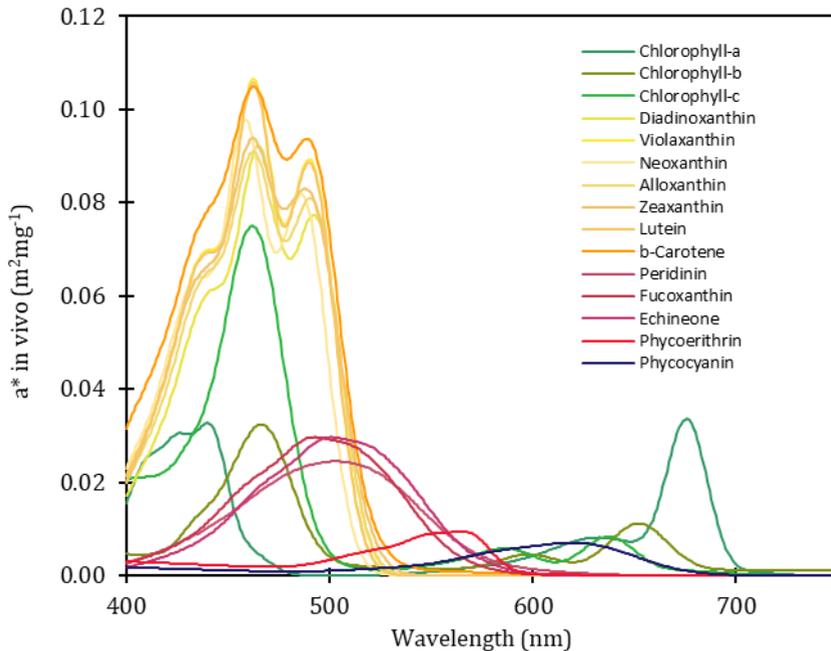


Figura 4.12. Espectros del coeficiente de absorción específica *in vivo* (absorción relativa a la concentración de cada pigmento), $a_{pig_i}^*(\lambda)$ utilizados en la versión actual de PHYBOM.

La obtención de los espectros de absorción del fitoplancton a partir de la absorción de sus pigmentos es una funcionalidad que no está presente en ninguno de los modelos bio-ópticos de simulación desarrollados hasta ahora para aguas continentales. Así el software WASI (Gege, 2014) utiliza 6 espectros de absorción específica procedentes de medidas en un solo lago para caracterizar los grupos de fitoplancton, mientras que BOMBOM (Giardino *et al.*, 2012) solo utiliza uno. En cuanto a las modelizaciones bio-ópticas y bases de datos generadas a partir del modelo EAP (Lain *et al.*, 2014, Matthews *et al.*, 2020, Kravitz *et al.*, 2021), aunque se simula un gran número de espectros de absorción a partir de la caracterización del índice de refracción de especies de fitoplancton, los espectros de absorción provienen de unas pocas medidas experimentales.

Esta característica de PHYBOM es por tanto única entre los modelos bio-ópticos de aguas continentales y le confiere una mayor versatilidad y flexibilidad a la hora de simular los espectros de absorción del fitoplancton.

4.2.2.2. Efecto de empaquetamiento

Con el término “efecto de empaquetamiento” se denomina a la disminución de la absorción específica de un material cuando se encuentra “empaquetado” en partículas discretas, en vez de distribuido homogéneamente en un medio. Desde un punto de vista cualitativo se puede entender con la representación de la Figura 4.13, que muestra como cuando las moléculas absorbentes se encuentran agrupadas en partículas discretas (como los pigmentos en las células del fitoplancton), existe un efecto de “sombreado” de unas moléculas sobre otras.

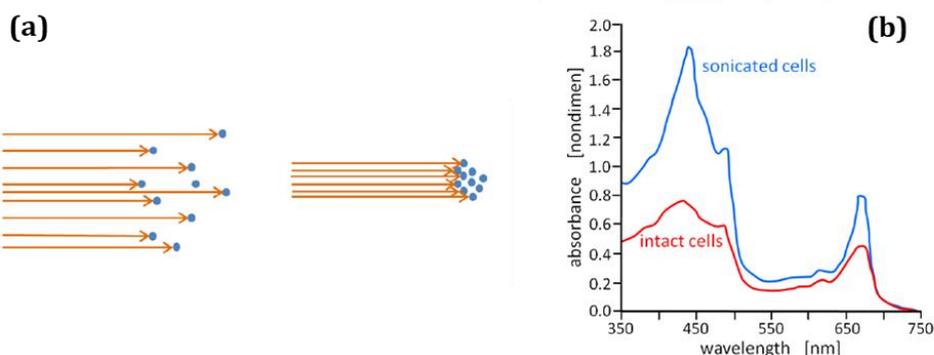


Figura 4.13. (a) Representación cualitativa del efecto de empaquetamiento. Los rayos de luz (flechas naranjas) pueden alcanzar más moléculas cuando se encuentran dispersas en un medio (izquierda). A la derecha, el mismo número de moléculas, empaquetadas absorbe menos cantidad de luz. (b) Espectros de absorbancia de células intactas (línea roja) y sonicadas (azul) de una Euglenofícea (*Euglena gracilis*). La sonicación rompe las células y dispersa el contenido intracelular en el medio acuoso. Adaptada de Kirk (1994) y Mobley (2022).

El efecto neto del empaquetamiento es que disminuye la absorción específica por unidad de masa. Como esta disminución es mayor en las regiones de mayor absorción (mayor efecto de “sombreado”), se produce además un “aplanamiento” de los espectros de absorción (Figura 4.13). En las poblaciones naturales de fitoplancton se observa este efecto en los espectros de $a_{phy}^*(\lambda)$ conforme aumenta la biomasa. Por una parte porque hay una tendencia a que las células del fitoplancton sean de mayor tamaño en los medios eutróficos, y por otra porque la mayor densidad celular produce ese efecto de sombreado en el medio.

Morel & Bricaud (1981) formularon por vez primera el efecto de empaquetamiento en el fitoplancton, partiendo de las definiciones de los factores de eficiencia, a nivel de partícula, descritos en el Capítulo 2.1.2.2.

Tal y como expresa la ecuación 2.32, el factor de eficiencia para la absorción $Q_a(\lambda)$ se puede obtener como función de un único parámetro $\rho' = a_{cm}d$, donde $a_{cm}(\lambda)$ es el coeficiente de absorción del material celular y d es el diámetro de la partícula. Si los pigmentos algales estuvieran uniformemente distribuidos en el medio (como ocurre cuando se encuentran en solución, al ser extraídos en laboratorio), el factor de eficiencia sería $Q_a = (2/3)\rho'$, el límite de la función de Q_a cuando ρ' tiende a cero. En una suspensión, la relación entre Q_a y ρ' es no lineal, de manera que cuando la absorción intracelular (a_{cm}) o el diámetro (d) aumentan en una proporción dada, Q_a lo hace en menor proporción. El resultado es que el coeficiente de absorción de una suspensión, a_{susp} , es siempre menor al de la misma concentración de pigmentos dispersos en el medio, a_{sol} . Bricaud & Morel (1981) definieron el *índice del efecto de empaquetamiento* Q_a^* (adimensional) como el cociente a_{susp}/a_{sol} y demostraron que decrece de acuerdo con la ecuación 4.1:

$$Q_a^*(\rho') = (3/2)Q_a(\rho')/\rho' \quad 4.1$$

El valor máximo del factor Q_a^* es 1 cuando $a_{susp} = a_{sol}$ y decrece para valores crecientes de a_{cm} y de d . Es por tanto menor (más próximo a cero) en células grandes y/o muy pigmentadas. Por tanto, varía de una población de fitoplancton a otra, debido a variaciones en el tamaño celular medio (Bricaud *et al.*, 2004), y dentro de una misma población, como resultado de cambios en la concentración intracelular de pigmentos por fotoaclimatación (Johnsen & Sakshaug, 1993).

En PHYBOM se ha adoptado la formulación de Bricaud & Morel (1981), modificada según Wozniak *et al.* (2000) adaptada para obtener Q_a^* a partir de la concentración intracelular de clorofila; C_i , ($mg\ m^{-3}$) y del diámetro medio de la población d (m).

PHYBOM calcula en primer lugar el coeficiente de absorción total del fitoplancton en solución, $a_{phySol}(\lambda)$, como la suma de los productos del coeficiente de absorción específico de cada pigmento i , $a_{pig_i}^*(\lambda)$, por su concentración, C_{pig_i} :

$$a_{physOL}(\lambda) = \sum_{i=1}^n a_{pig_i}^*(\lambda) \cdot C_{pig_i} \quad [m^{-1}] \quad 4.2$$

El modelo multiplica el vector “[pig_i]” con las concentraciones de los 15 pigmentos ($mg\ m^{-3}$) por la matriz “ $a^*(\lambda)$ pigments” (Figura 4.9), que contiene los espectros de absorción específica ($m^2\ mg^{-1}$) de los 15 pigmentos para el intervalo espectral 400-900 nm (Figura 4.12).

Posteriormente calcula el coeficiente de absorción específica del fitoplancton en solución, dividiendo por la concentración de Clorofila-a.

$$a_{physOL}^*(\lambda) = \frac{a_{physOL}(\lambda)}{[Chl_a]} \quad [m^2mg^{-1}] \quad 4.3$$

El *índice del efecto de empaquetamiento* para el fitoplancton se define como:

$$Q_a^*(\lambda) = \frac{a_{phy}^*(\lambda)}{a_{physOL}^*(\lambda)} \quad 4.4$$

Donde $a_{phy}^*(\lambda)$ es el coeficiente de absorción específica de la población de fitoplancton en suspensión en el medio acuoso.

Insertando la ecuación (2.32) del factor de eficiencia para la absorción, $Q_a(\lambda)$, en la ecuación 4.1, se obtiene la siguiente expresión para el cálculo de Q_a^* a partir de ρ' :

$$Q_a^* = \frac{3}{2\rho'(\lambda)} \left[1 + \frac{2e^{-\rho'(\lambda)}}{\rho'(\lambda)} + 2 \frac{e^{-\rho'(\lambda)} - 1}{\rho'^2(\lambda)} \right] \quad 4.5$$

Y a su vez ρ' (adimensional) se puede calcular a partir de la concentración intracelular de Clorofila-a, C_i ($mg\ m^{-3}$), mediante la expresión:

$$\rho'(\lambda) = a_{physOL}^*(\lambda) \cdot C_i \cdot d \quad 4.6$$

Por tanto, para el cálculo del factor de empaquetamiento es necesario conocer los valores promedio del diámetro celular (d) y de la concentración intracelular de Clorofila-a (C_i).

Hay que resaltar que la formulación del efecto de empaquetamiento aquí mostrada (ecuaciones 4.1 y 4.5) deriva de la aproximación de la difracción anómala (ADA, *Anomalous Diffraction Approximation*) a la teoría de Mie (Van de Hulst, 1957) y por tanto participa de las asunciones de ésta, como ya se comentó

en el Capítulo 2.1.2.2. Por tanto, se asume que las células del fitoplancton son esféricas y homogéneas, lo que en principio parece una simplificación excesiva. No obstante, como ya se comentó anteriormente, la orientación aleatoria de las células de fitoplancton hace que el conjunto de la población responda mejor a la hipótesis de esfericidad, por lo que la aproximación al empaquetamiento basada en las ecuaciones de Morel & Bricaud (1981) se ha aplicado ampliamente, con resultados satisfactorios cuando se ha comparado con medidas experimentales (Huan *et al.*, 2022).

El diámetro d utilizado en esta formulación es por tanto el diámetro de una célula esférica. En la práctica, para calcularlo en células con formas no esféricas, se parte del volumen celular y se calcula el diámetro de una esfera de igual volumen. Por ello se suele llamar también *Diámetro Esférico Equivalente* (ESD) y con esa notación aparece en la formulación del *scattering* que se describe en el capítulo 4.2.2.5.

4.2.2.3. Cálculo de la concentración intracelular de Clorofila-a

PHYBOM requiere, para la simulación del efecto de empaquetamiento, la concentración intracelular de Clorofila-a (C_i) y el diámetro esférico equivalente (ESD), diámetro que también se utiliza para la simulación de la dispersión y retrodispersión de las poblaciones de fitoplancton. El ESD puede provenir de datos experimentales o proporcionarse directamente por el usuario para simular cualquier población de células. Proporcionar un ESD realista es factible incluso para un usuario no experto, pues la información del diámetro celular es fácil de obtener de cualquier fuente de datos taxonómicos. Y la idea de PHYBOM es que el usuario pueda “jugar” con diferentes tamaños celulares para evaluar su impacto en las IOP y AOP de una masa de agua.

Sin embargo, proporcionar valores realistas de C_i no es evidente ni sencillo, pues, a diferencia del diámetro celular, no hay información disponible de manera general por especies o géneros de fitoplancton, su cálculo preciso sólo se obtiene de cultivos y varía notablemente en función de las condiciones de fotoaclimatación de las células algales (Masuda *et al.*, 2021; Masuda *et al.*, 2023). Además, muestra una clara dependencia con el diámetro celular, por lo que su valor no puede proporcionarse de forma independiente de éste (Wozniak *et al.*, 2000). Por ello, en PHYBOM C_i no es un parámetro introducido por el usuario sino que es calculado a partir de ESD por una relación empírica

basada en datos experimentales obtenidos en la campaña de caracterización bio-óptica de embalses y lagos ibéricos, que se describe a continuación.

La estimación de C_i de las células de fitoplancton de una muestra de agua suele hacerse a partir de la medida de la concentración de Clorofila-a, [Chl_a], y del volumen celular medio (y/o el ESD) en la muestra. La determinación de [Chl_a] es rutinaria en limnología y existen diferentes métodos estandarizados, como los descritos en el Capítulo 3.1.4.1. En cuanto al diámetro esférico equivalente (ESD), si la muestra procede de un cultivo de fitoplancton en el que el medio está filtrado, se puede inferir de la función de distribución de tamaños de las partículas (PSD) obtenida mediante contadores de partículas (habitualmente *contadores Coulter*) o citómetros de flujo (Poulton & Martin, 2010). Sin embargo, en el caso de muestras procedentes de masas de agua naturales, la PSD incluye partículas no algales de todos los tamaños, por lo que es necesario algún tipo de aproximación adicional para calcular el ESD, normalmente mediante microscopía óptica o electrónica.

Para calibrar y validar PHYBOM con datos de ESD del fitoplancton, se partió de las determinaciones taxonómicas cuantitativas hasta nivel de género, realizadas mediante el método de Utermöhl y microscopía invertida (Hasle, 1978) en 140 muestras de lagos y embalses españoles (Tabla 4.1), tal y como se detalla en el Capítulo 3.1.4.5. En esta metodología, el volumen de las células se calcula asignando a cada género el modelo geométrico que más se asemeja a su forma, habitualmente acudiendo a tablas de cálculo o software específico (Sun & Liu, 2003). Los datos de biovolumen y/o biomasa así obtenidos permiten reconstruir la PSD del fitoplancton en muestras naturales, en las que suelen coexistir decenas de especies distintas y un sinnúmero de partículas no algales, con resultados semejantes a las determinaciones por citometría de flujo (Edler & Elbrächter, 2010).

Seguidamente se obtuvo, para cada una de las 1541 determinaciones taxonómicas de la base de datos, el diámetro esférico equivalente (ESD) correspondiente al biovolumen calculado. Posteriormente se agruparon por géneros y se calculó, para cada género, la media y la desviación estándar de su distribución muestral de ESD. Los resultados, para los 47 géneros de fitoplancton más frecuentes, se muestran en la Tabla 4.2. Se obtuvieron también los promedios de ESD por punto de muestreo, como la suma ponderada de los ESD por el porcentaje del biovolumen de cada género.

Finalmente se estimó C_i para cada una de las 1541 determinaciones taxonómicas, como el producto entre su fracción del biovolumen (%) y la concentración de Clorofila-a total del punto de muestreo. Esta aproximación asume un reparto homogéneo de la $[Chl_a]$, por unidad de volumen, en todas las células de la población de fitoplancton de una muestra dada, lo que, obviamente, no puede darse como cierto, por lo que hay que asumir un error de partida en el cálculo de C_i . No obstante, teniendo en cuenta la importancia que tiene la irradiancia disponible a la hora de determinar la C_i (Masuda *et al.*, 2021) cabe esperar que la población de una muestra, en la que todas las células se encuentran expuestas al mismo régimen de iluminación, la concentración intracelular de Clorofila-a se asemeje en todos los géneros, minimizando las diferencias taxonómicas. Además, los errores derivados de la hipótesis del reparto homogéneo en función del biovolumen, tienden a cancelarse parcialmente al obtener el promedio de C_i , por género, para un intervalo de concentraciones de clorofila.

Con objeto de obtener una relación empírica que permita calcular C_i dentro de PHYBOM, a partir de los ESD de entrada, se analizó la relación entre ambas variables, obteniéndose (Figura 4.14) la siguiente ecuación de regresión:

$$C_i = 0.0057 \cdot ESD^{2.8148} \quad (N = 110; R^2 = 0.71) \quad 4.7$$

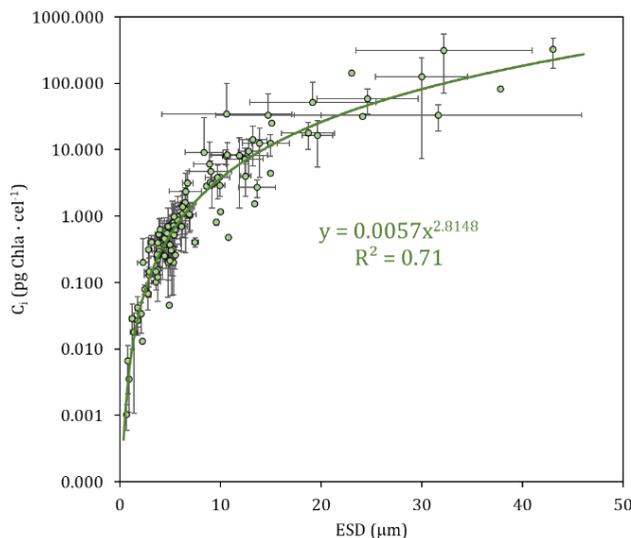


Figura 4.14. Correlación entre el diámetro esférico equivalente promedio (ESD) y la Concentración intracelular de Clorofila-a (C_i) para cada uno de los 110 géneros de fitoplancton determinados en la campaña de caracterización bio-óptica.

Para verificar la representatividad de la ecuación encontrada, se buscó información de estudios en los que se hubiera determinado C_i y ESD en cultivos monoespecíficos de fitoplancton. Se encontraron dos estudios en los que esta información estaba disponible. En Vaillancourt *et al.* (2004) para 29 especies marinas y en Zhou *et al.* (2012) para 13 especies, 10 de ellas marinas y 3 de géneros presentes en aguas continentales (*Amphidinium*, *Chlorella* y *Microcystis*).

La relación entre C_i y ESD en los estudios analizados (Figura 4.15), en los que el cálculo de C_i es, en principio, más preciso, es semejante a la obtenida en esta tesis, con ajustes de regresión parecidos y una distribución de los puntos coherente con la encontrada en las masas de agua ibéricas, en poblaciones naturales de fitoplancton.

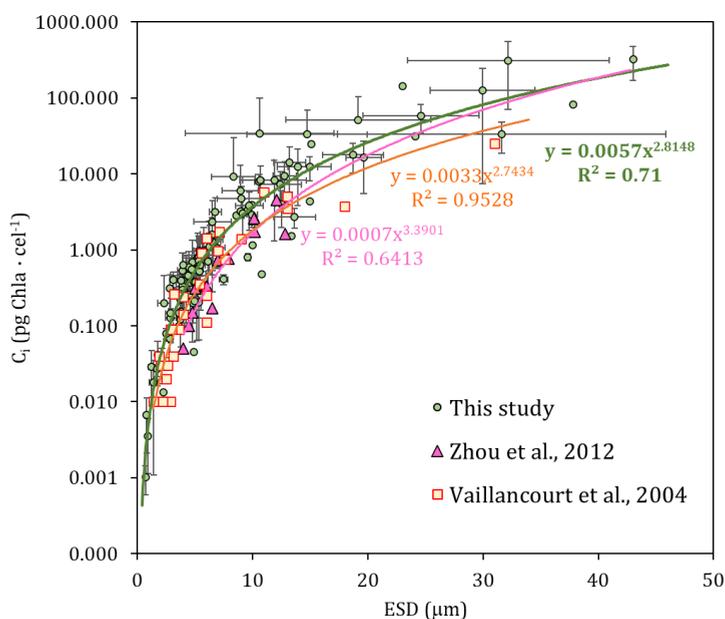


Figura 4.15. Comparación entre el ajuste de regresión obtenido con la base de datos ibérica y los estudios previos de Vaillancourt *et al.* (2004) y de Zhou *et al.* (2012).

Los resultados que muestra la Figura 4.15 confirman que la hipótesis de partida de un reparto de la $[Chl_a]$ total proporcional a la fracción del biovolumen por punto de muestreo, no introduce un error significativo en el cálculo de C_i , por

lo que la ecuación 4.7 se incorporó a PHYBOM para el cálculo del *índice del efecto de empaquetamiento* Q_a^* .

En la Figura 4.16 se muestra con un ejemplo el resultado de la cadena de proceso del modelo bio-óptico para el fitoplancton, hasta la obtención del espectro de absorción simulado, como resumen de lo presentado en los capítulos 4.2.2.1, 4.2.2.2 y 4.2.2.3.

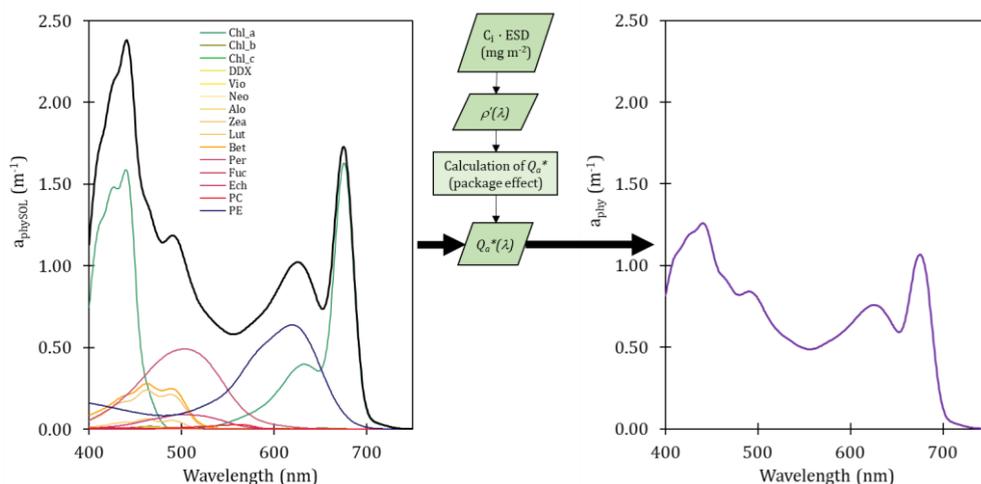


Figura 4.16. Ejemplo de la obtención en PHYBOM del coeficiente de absorción del fitoplancton, a_{phy} , (derecha), a partir de a_{phySOL} , obtenido como suma de los espectros de absorción de los pigmentos de la población, y del efecto de empaquetamiento, calculado a partir de C_i y ESD. Nótese el impacto del empaquetamiento en a_{phy} , de mayor magnitud en las regiones de mayor absorción.

4.2.2.4. Generación de espectros de absorción por grupos taxonómicos

Como se ha descrito en los capítulos anteriores, PHYBOM es capaz de construir los espectros de absorción de cualquier población de fitoplancton, conociendo su composición pigmentaria. Normalmente esta composición procede del resultado de análisis de laboratorio (HPLC y/o espectrofotometría) y, para algunos pigmentos, de fluorometría in situ. Pero esta aproximación depende de

la disponibilidad de esos datos. Para un usuario no experto, o que no disponga de información pigmentaria pero sí de información taxonómica, se ha desarrollado un módulo que genera los espectros de absorción a partir de la proporción de la biomasa y/o de la $[Chl_a]$ total, de las 6 principales clases taxonómicas presentes en aguas continentales.

El usuario debe proporcionar una $[Chl_a]$ total, de la población que se desea simular y el porcentaje de la biomasa de Cianobacterias, Clorofíceas, Criptofíceas, Crisofíceas, Diatomeas y Dinoflagelados. El módulo convierte esas proporciones en concentraciones de Clorofila-a para cada grupo taxonómico. Y a partir de esas 6 $[Chl_a]$ se construye la composición pigmentaria de cada grupo a partir de una *matriz de ratios* $[pig_j] : [Chl_a]$. Finalmente, se suman las concentraciones de pigmentos para obtener la composición pigmentaria de la población (Figura 4.17).

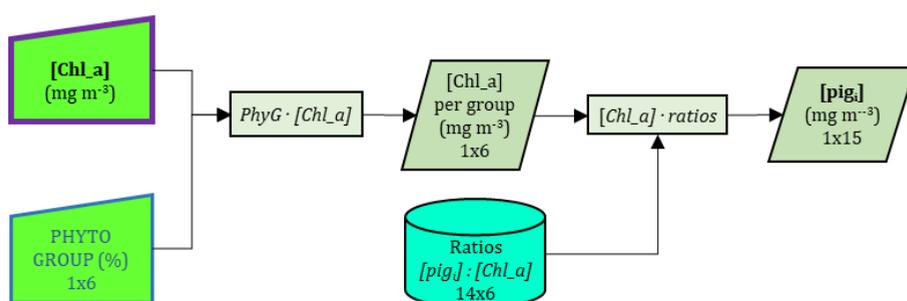


Figura 4.17. Diagrama funcional del módulo de generación de espectros de absorción por grupos taxonómicos.

El elemento clave de este módulo es la *matriz de ratios Pigmento : Clorofila-a*, que contiene las relaciones matemáticas entre la concentración de los 14 pigmentos simulados con la Clorofila-a, para cada grupo taxonómico. Su desarrollo y obtención, a partir de la base de datos de la caracterización bio-óptica y de información procedente de otros estudios en aguas continentales, se describirá a continuación.

La construcción de estas matrices es una práctica habitual en oceanografía. En las campañas oceanográficas se genera un gran volumen de datos, por lo que las determinaciones taxonómicas por microscopía son difíciles y costosas. Por el contrario, los buques oceanográficos suelen llevar equipos muy automatizados de extracción y análisis de pigmentos por HPLC, lo que permite

obtener gran cantidad de datos de pigmentos marcadores, con valor taxonómico: A partir de la década de los 80 del pasado siglo, la rápida generalización de los análisis pigmentarios por HPLC en oceanografía propició numerosos estudios en los que se correlacionaban la composición taxonómica determinada por microscopía con las concentraciones de pigmentos marcadores, normalizados con la Clorofila-a (ratios Pigmento : Clorofila-a).

Partiendo de esos estudios, Mackey *et al.* (1996) desarrollaron el software quimiotaxonómico CHEMTAX que calcula abundancias de clases taxonómicas a partir de medidas de clorofilas y carotenoides por HPLC y de una matriz de correlaciones de ratios de pigmentos y abundancias, mediante un algoritmo de optimización iterativo. Desde entonces, CHEMTAX se ha usado de forma frecuente en estudios oceánicos y se ha ido ampliando el conocimiento de las relaciones entre la composición taxonómica y la composición taxonómica (Armbrecht *et al.*, 2015). En aguas continentales, por el contrario, el uso de CHEMTAX ha sido hasta ahora muy poco frecuente y, como se verá más adelante, limitado a unas decenas de lagos, por lo que la información disponible de esas relaciones quimiotaxonómicas es mucho más escasa (Wright & Jeffrey, 2006; Hammerstein, 2019).

El enfoque de PHYBOM es el inverso al de CHEMTAX: En el modelo bio-óptico, la composición taxonómica (las abundancias de las clases taxonómicas en una muestra) son conocidas (son las entradas del modelo) y lo que se pretende obtener es la composición pigmentaria de la población de fitoplancton (como salida intermedia del modelo). Pero, al igual que CHEMTAX, el modelo bio-óptico requiere de una matriz que contenga esos ratios Pigmento : Clorofila-a para las 6 clases taxonómicas de entrada. Y la obtención de esa matriz no es un proceso trivial, pues no sólo hace falta compilar mucha información quimiotaxonómica para obtener los ratios promedio, sino que la variabilidad de esos ratios es grande y responde a diversos factores ambientales, como el grado de fotoaclimatación o la disponibilidad de nutrientes (Descy *et al.*, 2009).

Para construir la matriz de ratios Pigmento : Clorofila-a en PHYBOM, se realizó en primer lugar una revisión de la bibliografía disponible en aguas continentales. El trabajo con información más amplia y relevante es el de Schlüter *et al.* (2016), que compara las determinaciones taxonómicas y el análisis de pigmentos por HPLC en poblaciones de fitoplancton de 46 lagos centroeuropeos con un amplio gradiente de estados tróficos. Proporciona una tabla de síntesis con los ratios Pigmento : Clorofila-a obtenidos tras el ajuste de la base de datos con CHEMTAX, diferenciando entre los resultados obtenidos

para lagos oligotróficos y meso-eutróficos. Sus resultados muestran una elevada correlación ($r > 0.9$) entre la biomasa determinada por microscopía y la composición pigmentaria en las Cianobacterias, Clorofíceas, Diatomeas y Dinoflagelados, y algo menor ($r=0.7$) para Criptofíceas. Sin embargo en las Crisofíceas la correlación es más débil, lo que los autores achacan a su baja frecuencia en las muestras, en especial en los lagos meso-eutróficos. Otros trabajos muestran resultados obtenidos en un único lago eutrófico somero (Tamm *et al.*, 2015) u oligotrófico de alta montaña (Buchaca *et al.*, 2005), con ratios diferentes a los de Schlüter *et al.* (2016). O bien estudian 8 lagos y un río con una amplia distribución geográfica (grandes lagos africanos en la zona intertropical, lagos oligotróficos de montaña de Norteamérica y eutróficos en Bélgica), comparándolos con muestras oceánicas de referencia, y analizan como la variabilidad ambiental condiciona los ratios Pigmento : Clorofila-a obtenidos (Descy *et al.*, 2009).

Del análisis de la bibliografía se extrajeron varias conclusiones, respecto de la construcción de la matriz de ratios y de su uso en la simulación bio-óptica:

- 1) El uso de ratios fijos por grupo taxonómico, que reflejan condiciones promedio, requiere asumir un cierto error y limita la simulación de la variabilidad de adaptaciones del fitoplancton a la disponibilidad de luz y nutrientes.
- 2) No obstante, la generación de una única matriz se consideró como una solución aceptable para esta versión de PHYBOM, pues cumple con el objetivo principal de este módulo, que es el de permitir la simulación de poblaciones mixtas de fitoplancton sin información *a priori* de la composición pigmentaria. Para una simulación de cambios por fotoaclimatación, el usuario siempre puede modificar los valores por defecto, o trabajar directamente con la composición pigmentaria global.
- 3) Se decidió construir la matriz principalmente a partir de la información obtenida en la campaña de caracterización bio-óptica ibérica, que es el ámbito primario de simulación de PHYBOM. La información procedente de otros estudios se utilizó para contrastar los resultados obtenidos o para completar la matriz allí donde la información propia no fuera suficiente.
- 4) Como matriz de referencia se adoptó la de Schlüter *et al.* (2016), tanto por la semejanza de los lagos considerados con los de la caracterización bio-óptica ibérica como por la significación estadística de sus resultados.

5) Teniendo en cuenta que en un modelo bio-óptico la matriz debe incluir todos los pigmentos, no sólo aquellos con valor taxonómico, para reconstruir adecuadamente los espectros de absorción del fitoplancton, se incluyeron también carotenoides no considerados habitualmente en quimiotaonomía, así como las ficobiliproteínas, que no se determinan por HPLC, a partir de la información de la base de datos propia.

La construcción de la matriz fue, en síntesis, una combinación de análisis estadístico de la base de datos propia y completado de datos por análisis comparado de estudios previos. Los principales resultados se resumen a continuación y los ratios finalmente adoptados se muestran en la Tabla 4.5. La metodología seguida para extraer los ratios Pigmento : Clorofila-a fue la siguiente:

- Para cada clase de fitoplancton sólo se analizaron aquellos puntos en los que es mayoritaria. Para los grupos en los que había puntos suficientes (Cianobacterias, Clorofíceas y Diatomeas) sólo se consideraron los puntos en los que su contribución a la biomasa era superior al 80%. En las clases menos frecuentes se rebajó al umbral al 50 % para aumentar el número de puntos en el análisis.
- En cada grupo de puntos, la $[Chl_a]$ de la clase taxonómica mayoritaria, j , se calculó como:

$$[Chl_a_j] = \frac{Biomasa_j}{Biomasa_{total}} \cdot [Chl_a_{total}] \quad 4.8$$

Asumiendo la hipótesis de un reparto homogéneo, que se puede considerar aceptable de acuerdo con los resultados mostrados en el capítulo 4.2.2.3.

- Para los pigmentos específicos de una clase taxonómica, se dividió directamente la concentración del pigmento medida por HPLC por la concentración de Clorofila-a calculada para esa clase

$$Ratio\ Pig_{i,j} = \frac{[Pig_i]}{[Chl_a_j]} \quad 4.9$$

- Para los pigmentos presentes en varias clases taxonómicas, se calcula la concentración del pigmento en cada clase, como:

$$[Pig_{i,j}] = \frac{Biomasa_j}{Biomasa_{total}} \cdot [Pig_i] \quad 4.10$$

Donde $[Pig_{i,j}]$ es la concentración del pigmento i en la clase j , y $[Pig_i]$ es la concentración total del pigmento i .

- Finalmente, para cada clase se calcula la mediana de los ratios de Pigmento : Clorofila-a, que es el valor que se incorpora a la matriz de ratios (Tabla 4.5).

Tabla 4.5. Ratios $[Pigmento]:[Clorofila-a]$ incluidos en la versión actual de PHYBOM.

Ratio [Pig]:[Chl_a]	CIANO	COLORO	CRISO	CRIPTO	DIATO	DINO
Clorofila b	0.0	0.2255	0.0	0.0	0.0	0.0
Clorofila c	0.0	0.0	0.1721	0.1276	0.2551	0.0
Aloxantina	0.0	0.0	0.0	0.3648	0.0	0.0
β -Caroteno	0.0526	0.2217	0.1255	0.0558	0.0665	0.0564
Diadinoxantina	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0995	0.0995
Equineona	0.0710	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Fucoxantina	0.0	0.0	0.1829	0.0	0.2711	0.0
Luteina	0.0	0.1430	0.0	0.0	0.0	0.0
Neoxantina	0.0	0.0054	0.0	0.0	0.0	0.0
Peridinina	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3036
Violaxantina	0.0	0.0049	0.0198	0.0	0.0	0.0
Zeaxantina	0.0632	0.0373	0.0109	0.0	0.0194	0.0
Ficocianina	2.1412	0.0	0.0	0.4071	0.0	0.0
Ficoeritrina	0.0638	0.0	0.0	0.0991	0.0	0.0

En la construcción de la Tabla 4.5, se hicieron las siguientes aproximaciones y asunciones:

- En los datos de partida, tanto en la base de datos propios como los de Schlüter *et al.* (2016), sólo se determinó por HPLC la concentración de Clorofila c_1 , por lo que los ratios iniciales se refieren sólo a esa variante. Pero en Diatomeas y Crisofíceas está presente también la Clorofila c_2 , en una relación aproximada de 1:1, por lo que el ratio inicial se multiplicó

por 2 para que las dos variantes tengan su efecto en la generación de los espectros de absorción.

- Cuando los datos procedentes de la base de datos propia eran insuficientes o correspondían a concentraciones de partida próximas a cero (y por tanto más propensas a errores al estar cerca del límite de detección de la técnica de HPLC) se utilizaron los de Schlüter *et al.* (2016).
- Para las ficobiliproteínas (pigmentos hidrosolubles que no se miden por HPLC) se utilizaron los datos propios. Para la Ficocianina (PC) se utilizó el valor obtenido previamente por Ruiz-Verdú *et al.* (2008), mientras que para la Ficoeritrina se calculó a partir del cociente PE:PC de los datos de fluorometría in situ, pues este último pigmento no se determinó analíticamente en laboratorio.
- Según su origen filogenético, los Dinoflagelados pueden tener una composición pigmentaria diferente, según fuera el origen de su ancestro endosimbionte. Roy *et al.* (2011) diferencian cuatro tipos principales (Figura 2.13). En esta versión de PHYBOM se ha considerado el Tipo 1, perteneciente al linaje rojo y conteniendo Peridininina como pigmento marcador más destacado. A la hora de simular, por ejemplo, un *bloom* de una especie de dinoflagelado concreta, hay que tener en cuenta a qué grupo pigmentario pertenece. Si es del Tipo 1, la tabla actual de PHYBOM puede servir. Si no, habría que intentar conseguir información pigmentaria para simularlo de forma directa a partir de las concentraciones de pigmentos o modificando la tabla de ratios.

Los ratios finales de PHYBOM quedaron dentro de los intervalos de variación de los ratios obtenidos en estudios previos en aguas continentales, por lo que se considera que representan una aproximación realista para reconstruir espectros de absorción típicos de las principales clases taxonómicas, tal y como se ejemplifica en la Figura 4.18 y en la Figura 4.19.

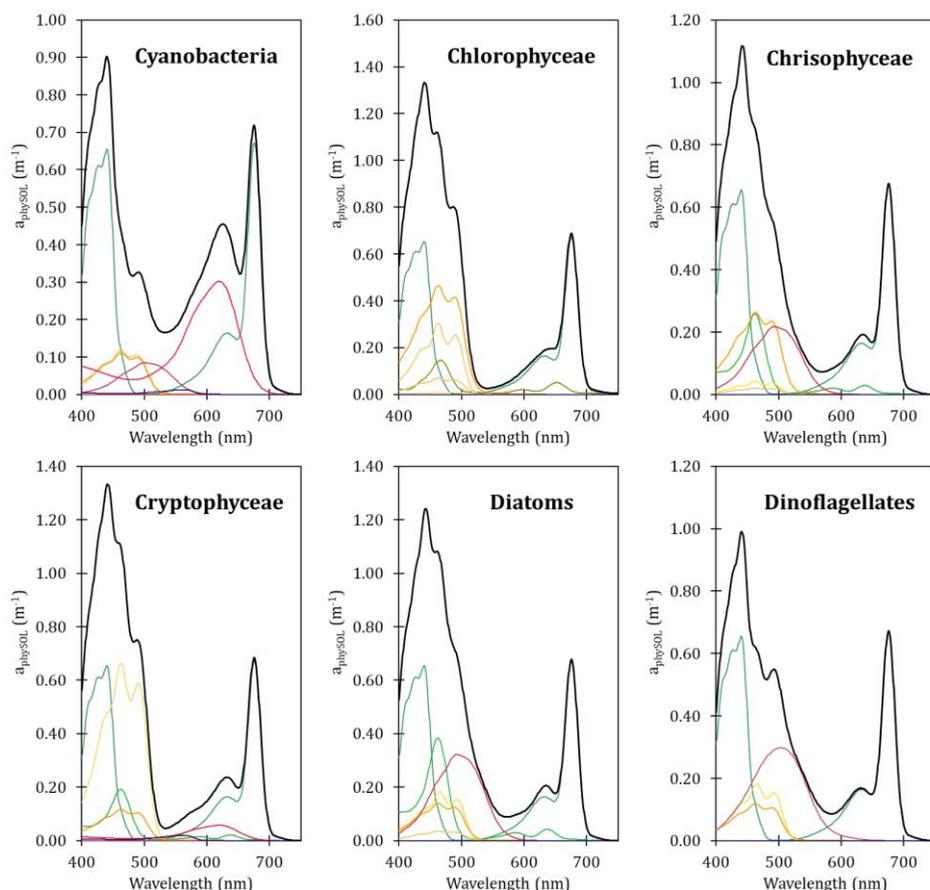


Figura 4.18. Espectros del coeficiente de absorción en solución, a_{physol} , obtenidos para las 6 clases taxonómicas simuladas en PHYBOM, a partir de los ratios de pigmentos de la Tabla 4.5 y una $[Chl_a] = 20 \text{ mg m}^{-3}$ en todos los casos.

La tabla de ratios debe de considerarse como el conjunto de valores promedio, que PHYBOM ofrece, por defecto, para que cualquier usuario pueda simular poblaciones de fitoplancton como combinación de distintos grupos taxonómicos, partiendo únicamente de la $[Chl_a]$ total y el tamaño (ESD) de cada grupo simulado, sin necesidad de introducir la composición pigmentaria. Pero es una tabla que puede editarse, si el usuario tiene información diferente o quiere simular diferentes escenarios de composición pigmentaria.

Un ejemplo es la simulación de los estados de fotoaclimatación, que, como se introdujo en el 2.2.6, dependen en gran medida de cambios en las proporciones

relativas de pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores. Un ratio que identifica el estado de aclimatación es la relación entre carotenoides fotoprotectores (PPC) y fotosintéticos (PSC), $PPC:PSC$, con valores muy variables pero correlacionados con la irradiancia solar disponible (Pérez *et al.*, 2021). Normalmente se consideran como PPC (fotoprotectores) los carotenoides Aloxantina, β -Caroteno, Diadinoxantina (y Diatoxantina), Luteína, Neoxantina, Violaxantina y Zeaxantina. Y como PSC (fotosintéticos), la Equineona, Fucoxantina y Peridina (Roy *et al.*, 2008). No obstante, la separación no es estricta, pues hay carotenoides que pueden jugar ambos roles. La Figura 4.19 (c) es un ejemplo del potencial de PHYBOM para simular este tipo de efectos.

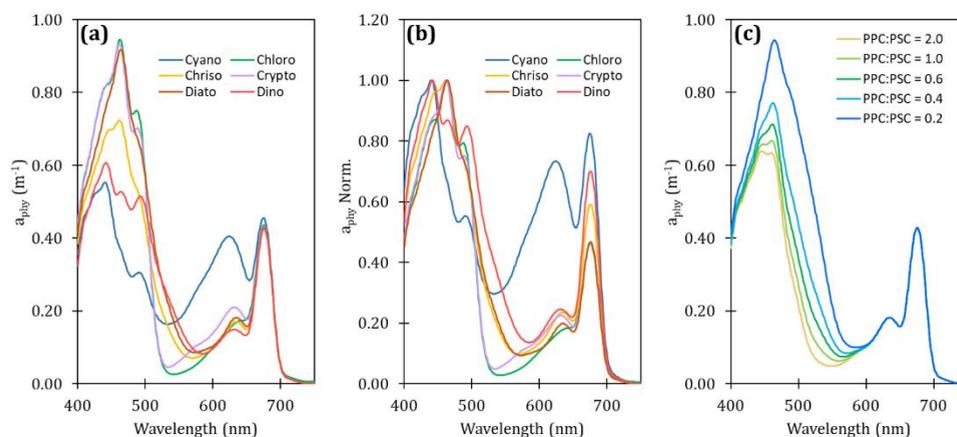


Figura 4.19. (a) Espectros del coeficiente de absorción del fitoplancton, a_{phy} , obtenidos por PHYBOM a partir de los espectros de a_{phySOL} de la Figura 4.18 y el índice de empaquetamiento Q_a^* . (b) Los mismos espectros normalizados por su valor de absorción máxima ($Max a_{phy}$). (c) Simulación PHYBOM de estados de fotoaclimatación para una diatomea ($[Chl_a] = 20 \text{ mg m}^{-3}$; $ESD = 5 \mu\text{m}$) mediante la variación de los ratios entre carotenoides fotoprotectores (PPC) y fotosintéticos (PSC), desde $PPC:PSC = 2.0$, estado de fotoprotección por alta irradiancia, hasta $PPC:PSC = 0.2$, estado de fotoaclimatación por baja irradiancia (intervalo típico de valores de $PPC:PSC$ tomado de Kauko *et al.*, 2019).

4.2.2.5. Simulación de la dispersión y retrodispersión

El coeficiente de dispersión del fitoplancton, b (m^{-1}), fue simulado, durante varias décadas, a partir del tamaño y del índice de refracción relativo de sus células, mediante la Aproximación de la Difracción Anómala (ADA) a la Teoría de Mie, asumiendo una forma esférica, un contenido homogéneo, un tamaño celular grande con respecto a las longitudes de onda estudiadas y un índice de refracción relativo al agua, m , cercano a 1 (con n cercano a 1 y n' cercano a 0). Por su parte, la influencia de n' en n (dispersión anómala en la cercanía de las bandas de absorción) fue abordada con las ecuaciones de Lorentz-Lorentz o, más recientemente, con el uso de las relaciones de Kramers-Kronig (ver detalles en los capítulos 2.1.2.2 y 2.1.2.3).

De las cuatro hipótesis de partida mencionadas, las dos segundas (tamaño relativo a λ y $m \approx 1$) se cumplen con carácter general para todos los tipos de fitoplancton, pero no las dos primeras (forma esférica y contenido homogéneo), teniendo en cuenta la diversidad morfológica del fitoplancton y su complejidad estructural. No obstante, como ya se introdujo en el Capítulo 2.1.2.2, durante bastante tiempo, las aproximaciones basadas en esta hipótesis se utilizaron para simular b , pues proporcionaba resultados con un error aceptable con respecto a los datos experimentales (Morel & Bricaud, 1986; Ahn *et al.*, 1992; Stramski *et al.*, 2001).

Sin embargo, conforme fueron desarrollándose instrumentos y métodos de medida más accesibles y precisos, se puso de manifiesto que las aproximaciones basadas en la Teoría de Mie infraestimaban sistemáticamente el coeficiente de retrodispersión o backscattering, b_b (m^{-1}) del fitoplancton y otras partículas en suspensión (Quirantes & Bernard, 2004; Vaillancourt *et al.*, 2004; Clavano *et al.*, 2007; Zhou *et al.*, 2012). Los datos experimentales mostraron una dependencia importante de la VSF, y en especial de la fracción retrodispersada, con la forma de la partícula. Y los modelos para partículas no esféricas (introducidos en el Capítulo 2.1.2.2) obtuvieron una mayor exactitud y precisión en la estimación de b_b para especies de muy diferentes formas (Dauchet *et al.*, 2015; Poulin *et al.*, 2018).

Una simulación realista de la VSF y del backscattering del fitoplancton es fundamental en un modelo como PHYBOM, que está orientado a las aplicaciones en teledetección, en las que el backscattering determina la señal observada por sensores remotos. Por ello, la elección del método de simulación era un aspecto clave. Por un lado, los modelos basados en la hipótesis de la esfericidad

permitían un cálculo sencillo y rápido de estas IOP, pero con un error inaceptable para aplicaciones de teledetección. Por otro lado, los modelos de formas no esféricas (*T-matrix*, *Discrete Dipole Approximation*, aproximación de *Schiff* y otros), proporcionan resultados mucho más exactos, pero tienen un coste computacional muy alto y requieren, o bien aproximar cada especie de fitoplancton a una forma básica predefinida o bien construir la forma de la partícula a partir de subelementos de volumen, lo que puede llegar a ser muy laborioso. Aunque no se ha descartado explorar su uso en futuras versiones, se consideró que para un modelo como PHYBOM, orientado a la generación de simulaciones de poblaciones naturales de fitoplancton, con un número alto de ejecuciones, los modelos de formas no esféricas añadirían demasiada complejidad a la ejecución y un coste computacional demasiado alto.

Entre ambos extremos, se exploró un tercer tipo de modelos, denominados *multicapa*, que, manteniendo las aproximaciones de Mie (ADA, Kramers-Kronig), intentan representar la complejidad estructural de las células de fitoplancton mediante dos o tres capas con diferente índice de refracción. Estas capas representan, según el enfoque de los diferentes modelos, las membranas o paredes celulares, las frústulas silíceas de las Diatomeas, las placas calcáreas de los coccolitofóridos marinos, los cloroplastos o las vacuolas gaseosas (Kitchen & Zaneveld, 1992; Quirantes & Bernard, 2004; Moutier *et al.*, 2016). En todos los casos, la combinación de una capa con un índice de refracción, normalmente representando el citoplasma y otra u otras capas representando las cubiertas celulares, tiene como resultado un incremento del backscattering con valores más próximos a los determinados experimentalmente (Zaneveld & Kitchen, 1995; Poulin *et al.*, 2018).

De entre los modelos multicapa, más sencillos y orientados a la simulación del fitoplancton, se escogió para la generación de las IOP de PHYBOM el denominado *Equivalent Algal Populations* (Bernard *et al.*, 2007; Bernard *et al.*, 2009). A nivel celular, para la obtención de los factores de eficiencia, es un modelo esférico de dos capas concéntricas con diferentes índices de refracción relativos. Y para la obtención de las IOP volumétricas utiliza una función de distribución de tamaños partículas (PSD), que se aproxima de forma realista a la de las poblaciones naturales de fitoplancton. Es un modelo centrado en la simulación de las IOP del fitoplancton, con un énfasis particular en el *backscattering* como determinante de la señal detectable por teledetección. Además, ha sido validado, en sus diferentes versiones, evaluando la reflectividad simulada (R_{rs}) en aguas continentales y costeras,

predominantemente eutróficas (Lain *et al.*, 2014; Matthews *et al.*, 2020), lo que lo hace especialmente adecuado para los propósitos principales de PHYBOM.

En su versión más reciente (Matthews *et al.*, 2020), el modelo EAP (*Equivalent Algal Populations*) simula dos tipos de células de fitoplancton:

- Una célula eucariota consistente en un citoplasma interno rodeado por un cloroplasto.
- Una célula procariota (cianobacteria), configurada con una vacuola interna que ocupa el 50% del volumen celular, rodeada por cromatoplasma.

Los índices de refracción relativos ($m = n - in'$) de las cuatro capas simuladas, se derivaron de medidas experimentales de la PSD de poblaciones naturales de *Ceratium hirundinella* (un dinoflagelado) y *Microcystis aeruginosa* (una cianobacteria). Posteriormente se utilizaron para simular un conjunto de poblaciones hipotéticas para los dos tipos de células con diámetros efectivos (ESD) de entre 1 y 50 μm para las que se obtuvieron las IOP.

PHYBOM utiliza la colección de espectros de los coeficientes de dispersión, b_{phy}^* (m^2mg^{-1}), y retrodispersión específica, $b_{b_{phy}}$ (m^2mg^{-1}), obtenidos por el EAP para construir cuatro tablas de búsqueda o *Look-Up Tables* (LUT), dos para las IOP eucariotas y dos para las IOP procariotas (Figura 4.20). A partir de las ESD definidas por el usuario para ambos grupos, PHYBOM interpola entre los dos espectros más cercanos en la LUT para obtener el espectro específico asignado a esa población (Figura 4.21).

Los espectros del EAP se consideraron como los más idóneos para PHYBOM, pues son coherentes con las predicciones teóricas y reproducen las principales características observadas experimentalmente en el fitoplancton (Vaillancourt *et al.*, 2004; Zhou *et al.*, 2012; Whitmire *et al.*, 2010):

- Menor dispersión específica conforme aumenta el tamaño celular.
- Dependencia de la pendiente espectral con el tamaño celular.
- Mayor efecto de las bandas de absorción (dispersión anómala) en la luz retrodispersada.
- Mayor dispersión específica, a igualdad de tamaño, en las células procariotas (Cianobacterias) que en las eucariotas.

Es esperable que el uso de estas LUTs, dependientes de los grupos taxonómicos principales y del tamaño celular, le permita a PHYBOM calcular con mayor

realismo y exactitud la reflectividad espectral de las poblaciones de fitoplancton con respecto a los modelos bio-ópticos disponibles para aguas continentales, en los que el *backscattering* es calculado a partir de una única función (BOMBER, Giardino et al., 2012) o de dos espectros de referencia distinguiendo sólo dos categorías de tamaño (WASI, Gege, 2004; Gege, 2014).

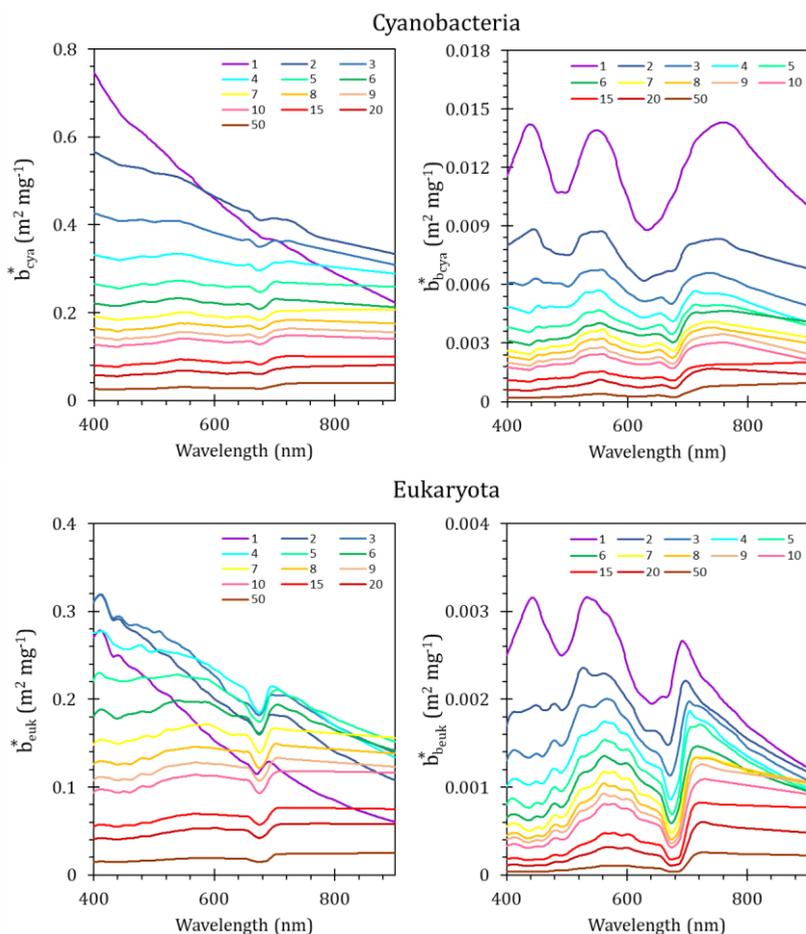


Figura 4.20. LUT de PHYBOM para la dispersión y retrodispersión. A la izquierda: los espectros del modelo EAP (Matthews et al., 2020) del coeficiente específico de dispersión del fitoplancton, por unidad de Clorofila-a, b_{cya}^* y b_{euk}^* ($m^2 mg^{-1}$), para Cianobacterias (arriba) y Eucariotas (abajo). A la derecha los espectros respectivos del coeficiente de retrodispersión específica, b_{bcya}^* y b_{beuk}^* ($m^2 mg^{-1}$). Los espectros corresponden a poblaciones de fitoplancton con diámetros medios efectivos (ESD) desde $d_{EFF} = 1\mu m$ hasta $d_{EFF} = 50\mu m$.

Los espectros de los coeficientes de dispersión y retrodispersión específica son multiplicados por la concentración de Clorofila-a, para obtener los coeficientes finales (Figura 4.21). Como han puesto de manifiesto numerosos autores, la dependencia de la dispersión total con la Clorofila-a no es lineal (Morel, 1980; Babin *et al.*, 2003). Se suele ajustar a una función potencial, con un exponente ajustado empíricamente en diferentes tipos de aguas. En PHYBOM se adoptó el valor (0.62) propuesto por Gordon & Morel (1983) y validado por Gould *et al.* (1999) en aguas de turbiedad variable. Aun cuando en PHYBOM no se disponía de espectros de b_{phy} , la comparación de los espectros simulados con la pequeña base de datos (N=11) de las campañas de 2007, en las que se midió b_{total} *in situ* (Capítulo 3.1.2) mostró una sobreestimación del b_{phy} simulado ($b_{phy} > b_{total}$) para [Chl_a] altas, obteniéndose valores inferiores y con sentido físico cuando se multiplicaba [Chl_a] por la función potencial mencionada.

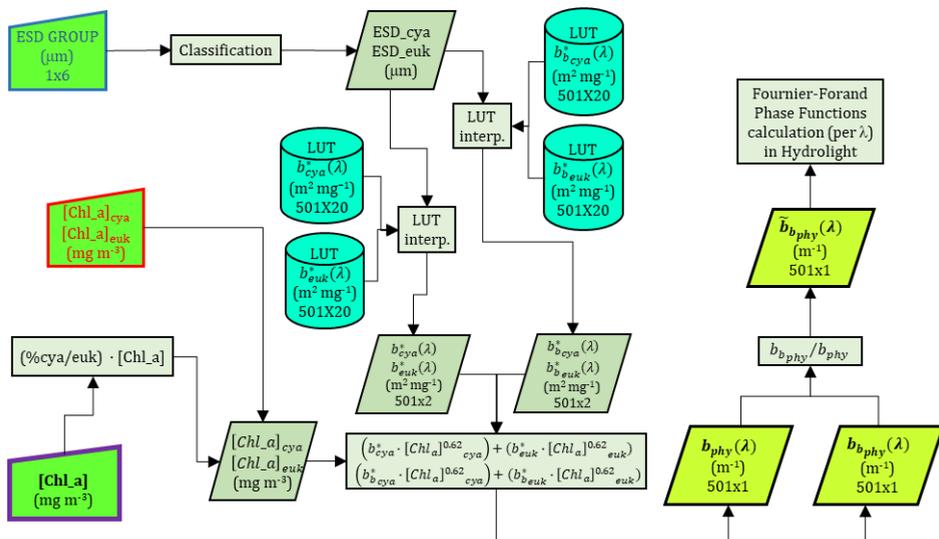


Figura 4.21. Diagrama funcional del módulo de generación de espectros de dispersión y retrodispersión del fitoplancton.

4.2.2.6. Rendimiento cuántico de la fluorescencia

La fluorescencia emitida por los fotosistemas (PS II y PS I,), habitualmente denominada *Fluorescencia de la Clorofila Inducida por el Sol* (SCIF, *Sun Induced*

Chlorophyll Fluorescence), se simula por el código de transferencia radiativa HydroLight, a partir de dos salidas de PHYBOM: el espectro del coeficiente de absorción del fitoplancton, $a_{phy}(\lambda)$, cuyo cálculo se describe en los capítulos 4.2.2.1 y 4.2.2.2 y el *rendimiento cuántico de la fluorescencia*, ϕ_F , definido como el cociente entre el total de fotones absorbidos (en el intervalo $370 \leq \lambda' \leq 690$ nm) y el total de fotones emitidos.

El rendimiento cuántico de la fluorescencia, ϕ_F , es un parámetro que depende del tipo de fitoplancton, la irradiancia disponible, el estado de fotoaclimatación y el estado fisiológico del fitoplancton, tal y como se detalló en el Capítulo 2.2.5. La versión actual de PHYBOM no simula ϕ_F a partir de ninguna de esas variables, pero sí proporciona un valor realista, a partir de una aproximación empírica, dependiente de la $[Chl_a]$. Así, para $[Chl_a] \leq 5mg\ m^{-3}$ se asume un $\phi_F = 0.02$, y para $[Chl_a] > 5mg\ m^{-3}$ se calcula la disminución observada de ϕ_F con la $[Chl_a]$ de acuerdo con la siguiente aproximación empírica:

$$\phi_F = 0.0994 \cdot [Chl_a]^{-0.975} \quad 4.11$$

Para construir esta relación se han usado los valores de ϕ_F promedio, por intervalos de $[Chl_a]$ definidos en la modelización bio-óptica de las eutróficas de la corriente de Benguela (Lain et al., 2014), que a su vez están basadas en la climatología de ϕ_F , estimada mediante teledetección satelital (MODIS) por Behrenfeld *et al.* (2009) y en el modelo de Ostrowska *et al.* (2012). Y son coherentes con los valores modelizados para aguas costeras eutróficas por Gilerson *et al.* (2007).

La ecuación 4.11, obtenida por ajuste de regresión de los valores de ϕ_F aproximados para diferentes $[Chl_a]$, solo sirve para proporcionar unos valores de entrada por defecto. Pero el usuario de PHYBOM puede introducir cualquier valor de ϕ_F , en caso de que lo haya determinado experimentalmente o se quiera simular el efecto de diferentes rendimientos cuánticos de fluorescencia en la reflectividad aparente observada.

4.2.3. Detritus

De entre las diferentes maneras de compartimentar la materia particulada (POM) en un modelo bio-óptico, en PHYBOM se ha optado por modelizar tres componentes: Fitoplancton, *detritus* y *partículas no algales*

En PHYBOM los **detritus** representan la materia orgánica particulada procedente de la descomposición del fitoplancton de un lago. Por tanto, de acuerdo con su definición, está correlacionada con la biomasa de fitoplancton existente en un momento dado. Por razones conceptuales, pero también prácticas, la categoría de los detritus incluye también la fracción de la materia orgánica disuelta colora (CDOM) resultante de la descomposición del fitoplancton. Conceptualmente, porque de esta manera se puede simular, de forma independiente, la materia orgánica disuelta *autóctona*, originada por descomposición del fitoplancton de la *alóctona*, originada en la cuenca vertiente al lago (Lozovik *et al.*, 2007). Pero también porque se puede simular la absorción de la materia orgánica disuelta y particulada en un único espectro, como, de hecho, es frecuente simular estos OAC en las aguas *Caso 1* (Bricaud *et al.*, 1981; Roesler *et al.*, 1989).

De las diferentes aproximaciones empíricas que relacionan la $[Chl_a]$ y la **absorción de los detritus** a una determinada longitud de onda, se ha escogido la de Lain *et al.*, (2014) obtenida en una zona de afloramiento oceánica eutrófica, con $[Chl_a]$ semejantes a las encontradas en aguas continentales, pero clasificable como Caso 1, por su alejamiento de fuentes de CDOM y NAP terrígenos: estos autores encontraron la siguiente relación con datos experimentales:

$$a_{det}(400) = 0.0904 \cdot \log[Chl_a] + 0.1287 \quad [m^{-1}] \quad 4.12$$

A través de la ecuación 4.12, PHYBOM obtiene el espectro del coeficiente de absorción de los detritus a través de una función exponencial dependiente de λ (Ecuación 4.13), que es la función comúnmente empleada tanto en aguas oceánicas como continentales (Roesler *et al.*, 1989; Bricaud *et al.*, 1998).

$$a_{det}(\lambda) = a_{det}(400) \cdot \exp[-S_d(\lambda - 400)] \quad [m^{-1}] \quad 4.13$$

Donde S_d suele tener un valor de entre 0.010 y 0.013 nm^{-1} (Babin *et al.*, 2003). En la campaña de validación de 2007 (Capítulo 3.1.4.4) se midió $a_{det}(\lambda)$ en 26 puntos de muestreo, obteniéndose un valor promedio de S_d de 0.009 y una desviación estándar de 0.002. Dado el limitado número de puntos medidos, en PHYBOM se ha adoptado, por defecto, por un valor algo más alto de $S_d = 0.010$, que se aproxima al más habitual en la modelización bio-óptica ($S_d = 0.011$).

Para simular la **dispersión de los detritus** se ha seguido la aproximación de Stramski *et al.* (2001), que propusieron un modelo bio-óptico para aguas oceánicas en el que combinaron determinaciones experimentales (para las

propiedades ópticas del fitoplancton y generales de la masa de agua) con modelización basada en la Teoría de Mie. Tiene el interés añadido de que separaron una componente de detritus orgánicos y otra de partículas minerales, lo que coincide, a grandes rasgos con el enfoque adoptado en PHYBOM, en el que la fracción de NAP representa normalmente partículas minerales, pero también puede representar materia particulada alóctona.

En Stramski et al. (2001) el coeficiente de dispersión de los detritus, $b_{det}(\lambda)$, se modelizó como una población de partículas con la parte real del índice de refracción $n = 1.04$, un intervalo de diámetros de 0.05 a 500 μm y una función de distribución (PSD) hiperbólica (tipo *Junge*) con una pendiente de $\xi = -4$.

En PHYBOM se ha definido un parámetro $p = b_{det}(550)/b_{phy}(550)$, que representa la fracción de la dispersión que representan los detritus con respecto a la del fitoplancton para $\lambda = 550 nm$. Y se ha calculado el valor de p a partir de los espectros del coeficiente de dispersión de Stramski *et al.* (2001), obteniéndose $p = 0.43$, que se ha adoptado como valor por defecto:

$$b_{det}(550) = 0.43 \cdot b_{phy}(550) \quad 4.14$$

El valor así obtenido de $b_{det}(550)$ se utiliza para modelizar la respuesta espectral de $b_{det}(\lambda)$, de acuerdo con la función potencial más comúnmente utilizada en modelización bio-óptica (ecuación 4.15) y adoptando un exponente $m = 1$, de acuerdo con Gordon & Morel (2012):

$$b_{det}(\lambda) = b_{det}(550) \cdot \left(\frac{550}{\lambda}\right)^m \quad 4.15$$

Para el cálculo del **coeficiente de retrodispersión**, $b_{b_{det}}(\lambda)$, se ha partido en PHYBOM de una parametrización del modelo de Twardowski *et al.* (2001). Dicho modelo predice el ratio $\tilde{b}_b = b_b/b$, a partir de la parte real del índice de refracción, n , y de la pendiente del espectro de atenuación total γ , que a su vez se puede estimar a partir de la pendiente de la función hiperbólica de la PSD, como $\gamma \approx \xi - 3$. Asumiendo esa relación, para la población de detritus de Stramski ($n = 1.04$; $\xi = -4$.) se obtiene una pendiente $\gamma = 1$. Para esa γ se ha obtenido un ajuste lineal de n y \tilde{b}_b ($\tilde{b}_b = -0.177 + 0.178n$; $R^2 = 0.99$), resultando un $\tilde{b}_{b_{det}} = 0.015$, que se asume constante para toda λ y se utiliza para obtener $b_{b_{det}}(\lambda)$:

$$b_{b_{det}}(\lambda) = 0.015 \cdot b_{det}(\lambda) \quad 4.16$$

El conjunto de ecuaciones que se utilizan para el cálculo de las IOP de los detritus en PHYBOM se resume en la Figura 4.22.

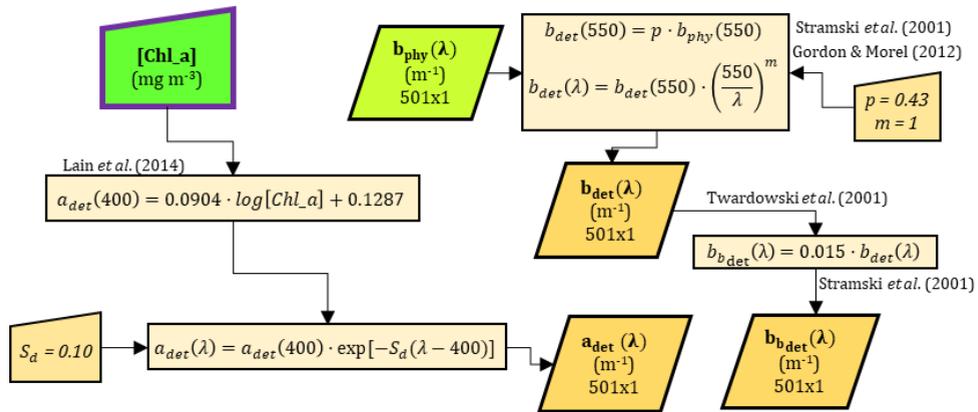


Figura 4.22. Diagrama funcional del módulo de generación de IOP de los detritus.

4.2.4. CDOM

El **coeficiente de absorción** de la materia orgánica disuelta colora (CDOM) se suele simular como una función exponencial, propuesta inicialmente por Jerlov (1968):

$$a_{CDOM}(\lambda) = a_{CDOM}(\lambda_0) \cdot \exp[-S_c(\lambda - \lambda_0)] \quad [m^{-1}] \quad 4.17$$

En la que λ_0 es una longitud de onda de referencia (habitualmente 440 nm) y S_c representa la pendiente espectral. Esta función se ha explicado como la superposición de un gran número de absorciones, de forma gaussiana o lorentziana correspondientes a los dobles enlaces conjugados de la infinidad de moléculas que componen el CDOM (Shifrin, 1998). Por ello, algunos autores han propuesto otros modelos que descomponen el espectro en varias funciones o que utilizan una función potencial (Twardowski et al., 2004). No obstante, la función exponencial suele ser suficiente para simular el espectro de absorción del CDOM en el rango de la luz visible, por lo que ha sido el adoptado en PHYBOM, utilizando una $\lambda_0 = 400\ nm$:

$$a_{CDM}(\lambda) = a_{CDM}(400) \cdot \exp[-S_c(\lambda - 400)] \quad 4.18$$

Para utilizar la misma extensión que el resto de OAC (Phy, Det, NAP), PHYBOM utiliza la notación “CDM” para el CDOM. En cuanto al valor de S_c , es mucho más variable que el del exponente análogo de los detritus, tomando valores entre 0.007 y 0.026 nm^{-1} (Twardowski *et al.*, 2004). Además, esas variaciones de la pendiente espectral se han relacionado con tipos diferentes de materia orgánica, como los ácidos húmicos y fúlvicos, por lo que es un parámetro que el usuario del modelo bio-óptico puede estar interesado en variar. Por ello no se ha fijado un valor por defecto para S_c , que es, junto con $a_{CDM}(400)$, las dos entradas que el usuario debe introducir para simular. Como referencia, en la campaña de validación de 2007 (Capítulo 3.1.4.4) se midió $a_{CDM}(400)$ en 26 puntos de muestreo, obteniéndose un valor promedio de 0.013 y una desviación estándar de 0.0022.

4.2.5. Partículas no algales (NAP)

Aunque PHYBOM es un modelo bio-óptico centrado en la simulación del fitoplancton, en las aguas continentales nunca se puede descartar la simulación de las partículas no algales. En algunos casos pueden ser el OAC dominante, pero incluso cuando se encuentran en concentraciones bajas, pueden modificar sustancialmente la señal observada (Sun *et al.*, 2010). Su modelización puede hacerse, de manera análoga al fitoplancton y los detritus, a partir de las propiedades ópticas a nivel de partícula y de modelos de la PSD. No obstante, para esta primera versión de PHYBOM se ha optado por una aproximación empírica, basada en espectros representativos de los tipos de NAP más frecuentes en aguas continentales.

El usuario de PHYBOM debe seleccionar el tipo de partícula que quiere simular, de entre las opciones disponibles, y su concentración. Y el modelo bio-óptico selecciona los espectros de absorción y dispersión específica del tipo elegido, que se multiplican por la concentración de NAP (Figura 4.23).

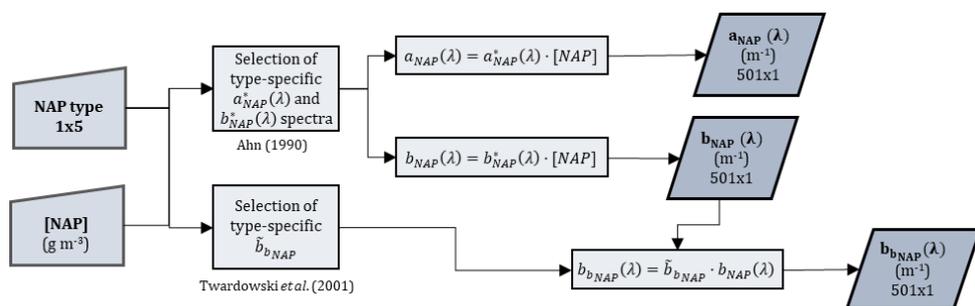


Figura 4.23. Diagrama funcional del módulo de generación de IOP de las partículas no algales.

Los espectros de referencia proceden de Ahn (1990), que es el único estudio realizado hasta la fecha, en aguas continentales, en el que se haya medido la absorción específica (por unidad de concentración) de partículas no algales, $a_{NAP}^*(\lambda)$, de forma conjunta con la dispersión específica, $b_{NAP}^*(\lambda)$. La dispersión de las NAP, para la que existen muchas más medidas experimentales, se suele modelizar mediante un modelo potencial como el de los detritus (ecuación 4.15), mientras que la absorción es modelada mediante un modelo potencial o exponencial (Stramski *et al.*, 2007). Sin embargo, estos modelos no recogen las variaciones en la forma espectral observadas en los cuatro tipos de partícula medidos por Ahn (1990) que son, además fácilmente interpretables desde una perspectiva mineralógica o edafológica (arenas, arcillas o tierra parda).

Para el cálculo del **coeficiente de retrodispersión**, $b_{b_{NAP}}(\lambda)$, se ha seguido en PHYBOM la misma aproximación que para los detritus, basada en una parametrización del modelo de Twardowski *et al.* (2001), ya que en Ahn (1990) no se realizaron medidas de backscattering. Para ello se siguieron los siguientes pasos:

Se calculó la pendiente del modelo potencial, γ , que más aproxima los espectros de $c_{NAP}^*(\lambda)$ de Ahn (1990), obteniéndose un valor próximo a 1 en todos los casos, para el intervalo espectral de 500 a 900 nm.

Se asignó un valor de la parte real del índice relativo de refracción, n , a cada tipo de NAP, de acuerdo con su composición mineralógica, a partir de los valores tabulados en Twardowski *et al.* (2001) y Lide (2004).

Se aplicó la parametrización del modelo de Twardowski *et al.* (2001) para obtener $\tilde{b}_{b_{NAP}}$ (Tabla 4.6), que se asume constante para toda λ , lo que es una

aproximación realista, a falta de más información de la VSF de las partículas simuladas (Stramski et al., 2001).

Tabla 4.6. *Parte real del índice relativo de refracción, n , asignada a cada tipo de NAP y ratio backscattering / scattering ($\tilde{b}_{b_{NAP}}$) calculado según Twardowski et al. (2001).*

Tipo de NAP	n	$\tilde{b}_{b_{NAP}}$
Arcilla amarilla	1.18	0.032
Arcilla roja	1.18	0.032
Calcárea	1.24	0.043
Silíceo	1.17	0.032
Tierra parda	1.16	0.029

4.2.6. Condiciones de contorno de HydroLight

PHYBOM se puede utilizar únicamente para simular las IOP de masas de agua naturales, pero su objetivo principal es la simulación de las AOP, y en especial R_{rs} , para unas condiciones de contorno dadas, que se proporcionan al código de transferencia radiativa HydroLight. Estas condiciones son configurables por el usuario, aunque PHYBOM se ha diseñado para proporcionar unos valores por defecto y/o utilizar unas determinadas opciones en HydroLight, que se consideran apropiadas para la simulación en aguas continentales.

Las principales condiciones preconfiguradas en PHYBOM son:

IOP de las moléculas de agua: PHYBOM proporciona a HydroLight las IOP globales de la masa de agua (a , b , c y b_b) como suma de todos los OAC menos la molécula de agua. Dado que HydroLight incorpora las IOP del agua, la suma final para obtener los coeficientes que se utilizan en la transferencia radiativa se realiza ya en HydroLight. El cálculo final se muestra en las ecuaciones 4.19, 4.20 y 4.21, en las que se omite, por brevedad, la dependencia con la profundidad, z , de todos los coeficientes. Los coeficientes proporcionados por PHYBOM se muestran en negro y los proporcionados u obtenidos finalmente en HydroLight en azul.

$$a(\lambda) = a_w(\lambda) + a_{phy}(\lambda) + a_{det}(\lambda) + a_{NAP}(\lambda) + a_{CDM}(\lambda) \quad [m^{-1}] \quad 4.19$$

$$b(\lambda) = b_w(\lambda) + b_{phy}(\lambda) + b_{det}(\lambda) + b_{NAP}(\lambda) \quad [m^{-1}] \quad 4.20$$

$$b_b(\lambda) = b_{b_w}(\lambda) + b_{b_{phy}}(\lambda) + b_{b_{det}}(\lambda) + b_{b_{NAP}}(\lambda) \quad [m^{-1}] \quad 4.21$$

HydroLight tiene varios conjuntos de IOP para el agua. Por defecto, PHYBOM selecciona la opción específica de scattering (b_w y b_{b_w}) para aguas dulces (*freshwater*), y la absorción (a_w) según Pope & Fry (1997).

Profundidades de la simulación: PHYBOM calcula, por defecto, 3 profundidades geométricas (z_{50} , z_ζ y z_m , en metros) que se corresponden con un 50%, 63% y 90% de atenuación difusa de la irradiancia fotosintéticamente activa (PAR; 400-700 nm) incidente en la superficie del agua. La profundidad intermedia, z_ζ , corresponde al *primer espesor óptico*, ζ , que es la profundidad de la que procede aproximadamente el 90% de la luz reflejada de forma difusa por una masa de agua (Gordon & McCluney, 1975) y por tanto la observable desde un sensor remoto mediante teledetección. La inferior, z_{90} , al punto medio de la zona eufótica, que es donde se concentra el grueso de la actividad fotosintética del fitoplancton.

Las tres profundidades se calculan en PHYBOM de manera muy aproximada, a partir de relaciones empíricas obtenidas de los puntos de la base de datos 2001-2002, en los que se midieron, conjuntamente, perfiles verticales de irradiancia descendente, $E_d(\lambda)$ y de concentración de Clorofila-a por fluorimetría. Se calcularon las profundidades geométricas para los tres espesores ópticos a partir de los $K_d(PAR)$ medidos y se obtuvo un ajuste de regresión con las $[Chl_a]$ integradas hasta dicha profundidad:

$$z_{50} = 2.148 \cdot [Chl_a]^{-0.445} \quad [m] \quad 4.22$$

$$z_\zeta = 7.127 \cdot [Chl_a]^{-0.445} \quad [m] \quad 4.23$$

$$z_{90} = 14.255 \cdot [Chl_a]^{-0.445} \quad [m] \quad 4.24$$

Estas relaciones son aproximaciones muy groseras y no deben considerarse como un medio de calcular rigurosamente esas profundidades, sino como una manera automática de asegurar en HydroLight que el primer espesor óptico quede incluido en las simulaciones.

Rendimiento cuántico de la SICF: Es un parámetro configurable por el usuario pero para el que se proporciona un valor por defecto utilizando la ecuación 4.11 (Capítulo 4.2.2.6).

Funciones de fase de Fournier-Fourand: Para computar la transferencia radiativa en una masa de agua, no basta con conocer los coeficientes a , b y b_b , sino que es necesario conocer la *función de volumen de la dispersión* (VSF, *Volume Scattering Function*; ecuación 2.18) o la *función de fase de la dispersión* (*scattering phase function*), que es la normalización de la VSF con b (ecuación 2.20) que describe la distribución angular de la dispersión. Las funciones de fase y la VSF son muy complejas y laboriosas de medir con alta resolución angular. Las más completas son las de Petzold (1977), que realizó tres medidas en aguas oceánicas claras, aguas costeras y aguas turbias en un puerto. Las VSF de Petzold (o bien un promedio de las tres) se han utilizado hasta hace pocos años como única alternativa de los códigos de transferencia radiativa, ya que alternativas analíticas de la función de fase, de fácil cómputo (como las de Henyey-Greenstein), no reproducían con demasiada fidelidad las VSF medidas (Mobley 2022).

Sin embargo, la función de fase de Fournier-Forand (Fournier & Forand, 1994) ha demostrado una muy buena aproximación a las VSF medidas con un coste computacional relativamente bajo. Su aplicación debe limitarse a PSD asimilables a una función hiperbólica con una pendiente ξ en el rango $3 \leq \xi \leq 5$ y a partículas en el rango $1 \leq n \leq 1.33$ para la parte real del índice de refracción. Ambas condiciones se cumplen en la simulación de la dispersión de detritus y NAP y también en la aproximación de EAP para el fitoplancton, y son condiciones frecuentes en las poblaciones de partículas de las aguas naturales, por lo que se ha adoptado esta función de fase en PHYBOM.

La función de Fournier-Forand (FF) requiere para su cálculo conocer ξ , n y el ratio backscattering/scattering $\tilde{b}_b(\lambda)$ de la masa de agua a simular. No obstante, las variaciones de $\tilde{b}_b(\lambda)$, tienen mucho más impacto en la forma y magnitud de

la función que las de ξ y n . Este hecho se aprovecha en HydroLight para seleccionar una FF para cada valor de $\tilde{b}_b(\lambda)$ dado, mediante una aproximación de ξ y n (Mobley *et al.*, 2002) lo que es una indudable ventaja para PHYBOM, pues $\tilde{b}_b(\lambda)$ es una de las salidas del modelo. Otra ventaja es que, para cada λ se construye una función de fase distinta en función de su valor de \tilde{b}_b , lo que proporciona resultados mucho más realistas que las aproximaciones que asumen una única VSF para todo λ .

Modelo de distribución de la irradiancia solar incidente: PHYBOM selecciona por defecto el modelo semi-empírico RADTRAN-X, que es una versión, extendida al intervalo espectral 300-100 nm, del modelo RADTRAN (Gregg & Carder, 1990). Una primera subrutina de HydroLight genera, con RADTRAN-X, los componentes directos y difusos de irradiancia planar descendente E_d que alcanza la superficie del agua, en función del ángulo cenital solar, SZA (o bien la fecha y coordenadas geográficas del punto) y de los parámetros atmosféricos proporcionados por PHYBOM: presión atmosférica, (mm Hg; importante para considerar altitud del lago); visibilidad horizontal (km); humedad relativa (%); contenido de agua precipitable (cm); ozono total (D.O., si no se conoce utiliza una climatología en función de la fecha y posición geográfica del punto simulado) y tipo de masa de aire (en una escala de 1 a 10 donde "1" es marina y "10" continental). Una segunda subrutina genera la distribución angular de la radiancia del cielo (*sky radiance*) utilizando por defecto el modelo semianalítico de Harrison & Coombes (1988) y el porcentaje de nubosidad proporcionado por PHYBOM.

Tanto RADTRAN-X como el modelo de Harrison & Coombes (1988) son aproximaciones relativamente simplificadas de las condiciones de iluminación, pero se han considerado suficientes para las simulaciones realizadas en el desarrollo y validación de PHYBOM, debido a (1) la relativa insensibilidad de $R_{rs}(\lambda)$ a la distribución angular de la radiancia del cielo, (2) la resolución espectral utilizada (1 nm) en la que el efecto de la estructura fina de las bandas de absorción de los componentes atmosféricos es pequeño y (3) la simplicidad de configuración, muy ventajosa cuando se trata de simular un número elevado de puntos con condiciones atmosféricas diferentes. No obstante, HydroLight permite al usuario proporcionar la irradiancia total y la distribución angular de la radiancia de una fuente externa (MODTRAN, por ejemplo), lo que puede ser interesante en futuras versiones del modelo bio-óptico o en simulaciones en las que se la composición atmosférica sea especialmente relevante.

Interfaz agua-aire: PHYBOM proporciona un valor de temperatura y salinidad del agua (por defecto, para aguas continentales poco mineralizadas los valores son: $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$; $S = 0$) a partir de los cuales HydroLight calcula el espectro de la parte real del índice de refracción del agua, n_w . Alternativamente se puede suministrar un valor promedio para aguas dulces de $n_w = 1.33$.

También se proporciona un valor de la velocidad del viento U (m/s) que se utiliza para calcular la rugosidad de la superficie (y a partir de ella su efecto en la reflectividad y transmisividad de la superficie del agua) mediante tres posibles opciones: dos de ellas basadas en las estadísticas de Cox & Munk (1954) y en simulaciones de Monte Carlo, con distribuciones isotrópicas o anisotrópicas de las pendientes del oleaje y una tercera opción, más pensada para simulaciones oceánicas, que tiene en cuenta el oleaje de fondo (Mobley, 2015). En las simulaciones de la validación de PHYBOM se adoptó en todos los casos la opción de Cox-Munk isotrópica, como una aproximación aceptable para el tamaño pequeño de los lagos estudiados y las velocidades de viento medidas (promedio de 2.73 m/s , con sólo 10 puntos con $5 \leq U \leq 7.5\text{ m/s}$, que son velocidades bajas comparadas con habituales en aguas oceánicas).

Intervalo y resolución espectral: Durante la mayor parte del desarrollo de la versión actual de PHYBOM, la versión de HydroLight disponible era la 5.3, que tenía una limitación de 500 bandas espectrales y 1 nm de ancho de banda máximo, para las simulaciones ordinarias (ampliarlo era posible pero con modificaciones complejas del código que no se contemplaron). Principalmente por ello, las simulaciones de las IOP se han hecho para el intervalo 400-900 nm, con un ancho de banda de 1 nm. Actualmente, se dispone de una nueva versión 6.0, que es con la que se han hecho todas las simulaciones de la validación, que no tiene esa limitación en el intervalo espectral. Pero el rango no se ha extendido pues requiere cambios notables en el código de PHYBOM.

Extender el rango espectral (por ejemplo a 300-1000 nm) requeriría actualizar la definición de todas las IOP del modelo bio-óptico. En algunos casos es posible de forma sencilla, pues se dispone de información (por ejemplo los espectros de absorción de pigmentos para $\lambda < 400\text{ nm}$). En otros se pueden extrapolar las funciones analíticas que describen los IOP, aunque hay que analizar posibles cambios (por ejemplo en la pendiente del modelo exponencial del CDOM para $\lambda < 400\text{ nm}$ o en los modelos de scattering fuera de los intervalos actuales de λ). Pero en otros casos la extrapolación es compleja, por no disponer de datos suficientes, y puede requerir asunciones sobre el comportamiento espectral de los OAC sin un sustento empírico o teórico.

4.3. Validación del modelo bio-óptico

La validación del modelo bio-óptico se ha llevado a cabo evaluando su exactitud y precisión en la simulación de la reflectividad espectral ($R_{rs}(\lambda)$, sr^{-1}), que es el resultado final de la simulación y el objetivo principal en estudios de teledetección. Para ello se ha contado con los 72 puntos de muestreo con información completa de todas las variables y parámetros de entrada del modelo, además de la reflectividad, como variable de salida a evaluar.

Las simulaciones se han realizado en el modo de operación por composición pigmentaria (descrito en el Capítulo 4.2.1), utilizando como entradas las siguientes variables, medidas in situ o en laboratorio:

- *Concentración de Clorofila-a y de otros 14 pigmentos* (Clorofilas b y c, β -caroteno, 9 xantofilas y 2 ficobiliproteínas), obtenidas mediante HPLC en las muestras integradas hasta el primer espesor óptico.
- *Concentración de Clorofila-a de eucariotas*, $[Chl_a]_{euk}$, y *Cianobacterias*, $[Chl_a]_{cya}$, calculado como el producto del porcentaje de la biomasa de cada grupo, determinado por microscopía, y la $[Chl_a]$ total.
- *ESD medio de eucariotas y Cianobacterias*, obtenido de los biovolúmenes estimados por microscopía.

Para la concentración de partículas no algales [NAP] y el CDOM no se contaba, en la base de datos 2001-2002, con determinaciones directas mediante métodos analíticos estándar, por lo que se partió de estimaciones indirectas, según las siguientes aproximaciones:

- El *CDOM*, en unidades de absorción, se estimó a partir de las medidas de CDOM por fluorimetría in situ (fluorómetro Chelsea MiniTRACKA, Capítulo 3.1.2), mediante un ajuste empírico ($R^2 = 0.96$) entre el voltaje de salida del fluorómetro y un número limitado ($N=6$) de medidas del coeficiente de absorción del CDOM a 400 nm. De esa manera, se obtuvo un valor de partida para la $a_{CDOM}(400)$ para todos los puntos de validación.
- A partir de los espectros de absorción de ese subconjunto de 6 puntos, se obtuvo un valor promedio de la *pendiente de la función exponencial para el CDOM* (ecuación 4.18) de $S_c = 0.11$, coherente con los valores

habitualmente utilizados para el intervalo de 400 a 700 nm (Mobley, 2022).

- Para la [NAP], no se disponía de determinaciones directas, ya que las medidas de sólidos en suspensión por el método gravimétrico (3.1.4.3) se corresponden con el total de los sólidos (TSS). Como aproximación indirecta se estimó la fracción de sólidos no algales como diferencia entre los sólidos totales y la biomasa del fitoplancton estimada por microscopía (en mg/l). Los valores obtenidos no pueden considerarse como homologables a las determinaciones realizadas con los métodos estándar, pero son suficientes como valores de entrada iniciales del modelo bio-óptico.
- El *tipo de NAP* se asignó a cada punto de acuerdo con los valores de conductividad y alcalinidad del agua, la litología de la cuenca, la posición del punto de muestreo en el gradiente presa-cola y la profundidad en el punto de muestreo, como indicador de la resuspensión de sedimentos.
- En cuanto a los detritus, se mantuvieron los valores por defecto para los parámetros de los modelos de absorción ($S_d = 0.10$; ecuación 4.13), dispersión ($p = 0.43$; ecuación 4.14; $m = 1$; ecuación 4.15) y retrodispersión ($\tilde{b}_{b_{phy}} = 0.015$; ecuación 4.16)

Para las simulaciones de HydroLight se proporcionaron los valores del ángulo cenital solar (SZA ; °), la velocidad del viento (U ; $m \cdot s^{-1}$) y la fracción de cobertura nubosa (0-100%). Las variables de contorno de HydroLight se definieron de acuerdo con lo detallado en el Capítulo 4.2.6.

Con los valores y configuración arriba mencionados, se lanzó una primera simulación, sin fluorescencia de la Clorofila-a (SICF), cuyas reflectividades simuladas se compararon, para cada punto de muestreo (N=72), con las medidas in situ, haciendo una primera evaluación cualitativa de los resultados y del error en cada punto (RMSE, RRMSE). Se planteó entonces hacer una segunda simulación en la que se mantuvieran constantes los valores iniciales de todas las concentraciones y parámetros de fitoplancton (y detritus) y se ajustaran o refinaran las estimaciones iniciales de NAP y CDOM. El objetivo de esta segunda simulación no era disminuir artificialmente el error global del modelo en la estimación de R_{rs} mediante una optimización de los valores de entrada, sino disminuir únicamente el error asociado a las variables de entrada (NAP y CDOM) cuyo valor inicial era una aproximación grosera, precisamente

para poder evaluar mejor el error imputable a la simulación del fitoplancton, que es el núcleo principal y la aportación más novedosa de PHYBOM.

Llevar a cabo una optimización no lineal con un número alto de iteraciones (ejecuciones de HydroLight) para los 72 puntos de validación, se descartó por la dificultad de integrar el código de HydroLight y PHYBOM y por el coste computacional y de tiempo de ejecución que requeriría (1 día al menos por cada ciclo). La versión actual de PHYBOM permite generar simulaciones masivas con un número muy elevado de puntos, pero no hacerlo en bucle. Sin duda es una capacidad muy interesante que se intentará en futuras versiones, pero dadas las limitaciones temporales para la finalización de esta tesis doctoral se optó por una aproximación más sencilla, que se describe a continuación.

(1) Se asumió, como expresión analítica que relaciona la reflectividad con las IOP de la masa de agua, la relación obtenida inicialmente, mediante simulaciones de Monte Carlo, por Gordon *et al.* (1975) para la reflectividad de irradiancia $R(\lambda)$ (ecuación 2.45) y posteriormente para la R_{rs} en los modelos semianalíticos de Lee *et al.* (1998) y de Albert & Mobley (2003):

$$R_{rs}(\lambda) = f \frac{b_b(\lambda)}{a(\lambda) + b_b(\lambda)} \quad 4.25$$

Esta es una aproximación muy utilizada, que requiere estimar el parámetro f , que depende a su vez de la distribución angular de la radiancia (normalmente expresada mediante el factor Q , definido en la ecuación 2.42), del ángulo cenital solar y el de observación, de la velocidad del viento (rugosidad de la superficie) y de dos parámetros que relacionan la R_{rs} medida fuera del agua con la subsuperficial (un factor de divergencia agua-aire y otro que computa las reflexiones internas de la superficie del agua).

(2) Los modelos de Lee *et al.* (1998) y de Albert & Mobley (2003) proponen métodos para estimar o aproximar el parámetro f de la ecuación 4.25, pero en este caso no era necesario, pues se podía calcular directamente, para cada punto, a partir de los IOP de entrada, $a(\lambda)$ y $b_b(\lambda)$, y con la $R_{rs}(\lambda)$ generada en la simulación inicial de HydroLight.

(3) Asumiendo constantes esos valores de f , derivados de la simulación inicial en HydroLight, se modificaron los valores iniciales de $[NAP]$, $a_{CDOM}(400)$ y S_c y por tanto de $a(\lambda)$ y $b_b(\lambda)$, generándose una nueva $R_{rs}(\lambda)$ mediante la ecuación 4.25, lo que permitió realizar la optimización fuera de HL, con un coste

computacional muy bajo, minimizando el valor global de RMSE entre los valores de R_{rs} simulados y medidos *in situ*.

Esta asunción no es correcta pero introduce un error pequeño si la variación de las IOP iniciales es pequeña. En cualquier caso, cumplía el objetivo buscado, que no era el de hacer un ajuste espectral (*spectral fitting*) sino minimizar el error debido a la estimación inicial, muy aproximada, de [NAP] y el CDOM.

Con los valores de [NAP], $a_{CDOM}(400)$ y S_c ajustados, se volvió a lanzar la simulación, manteniendo intactos el resto de variables de entrada de la simulación inicial. En este caso se hicieron dos ejecuciones idénticas, con y sin fluorescencia de la Clorofila-a, para analizar en detalle la señal de SICF simulada y la presente en los espectros de R_{rs} *in situ* (Capítulo 4.3.4).

4.3.1. Resultados globales

El análisis global de las diferencias entre los espectros de R_{rs} simulados por PHYBOM y medidos *in situ*, muestra los siguientes estadísticos de error, (Tabla 4.7) calculados, de acuerdo con las ecuaciones 3.4, 3.5 y 3.6 (Capítulo 3.2) para los 72 puntos de validación y para todo el rango espectral (400-900 nm), o de forma separada para el espectro visible (400-700 nm) e infrarrojo (700-900 nm).

Tabla 4.7. Estadísticos globales de la simulación de validación de PHYBOM.

	400- 900 nm	400-700 nm	700-900 nm
RMSE (sr^{-1})	0.00105	0.00109	0.00099
RRMSE (%)	20.35	15.40	43.86
MAE (sr^{-1})	0.00057	0.00064	0.00046

Los estadísticos que miden el error absoluto muestran que éste es más bajo en la región infrarroja, aunque es una interpretación engañosa, pues en promedio en esa región la reflectividad es mucho más baja que en el visible. El RRMSE, que proporciona una interpretación más inmediata (salvo para alguien muy habituado a interpretar espectros de R_{rs} en aguas continentales), muestra que, en términos relativos, el desempeño del modelo es mejor en la región visible, con un error global del 20% y del 15% en el visible.

Si se examina la distribución espectral del promedio de los errores absolutos (Figura 4.24) o relativos (Figura 4.25) se observa que PHYBOM tiene tendencia

a sobreestimar la R_{rs} en los 72 puntos simulados. Llamen la atención dos regiones en las que la desviación es mayor: una en torno a los 530 nm, que podría estar asociada con una infravaloración de la absorción específica de las xantofilas fotosintéticas (o con la presencia de algún pigmento no incluido en PHYBOM) y otra en la región 670-710 nm, cuyo patrón de infra- y sobreestimación sugiere un posible desplazamiento relativo de los máximos de absorción simulados respecto de los reales. No obstante, en estas dos figuras, el efecto de cancelación de sobre- e infraestimaciones y el peso de los puntos de mayor reflectividad puede estar sesgando las tendencias generales.

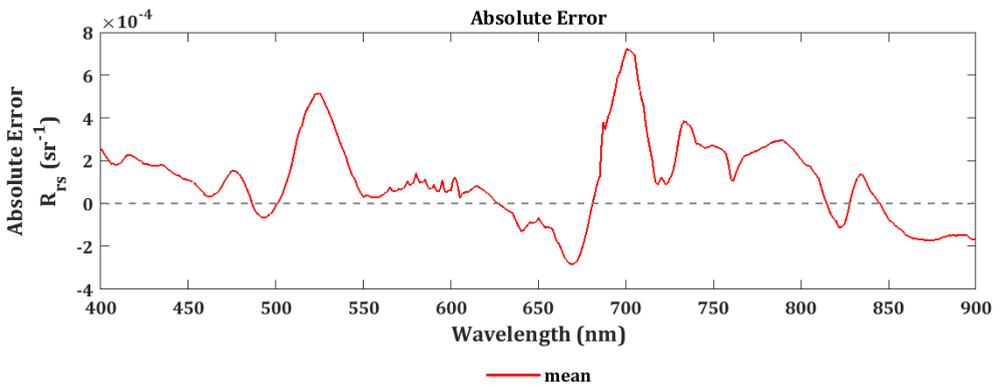


Figura 4.24. Promedio del error absoluto, $(R_{rs} \text{ simulado} - R_{rs} \text{ in situ})$, del modelo bio-óptico PHYBOM.

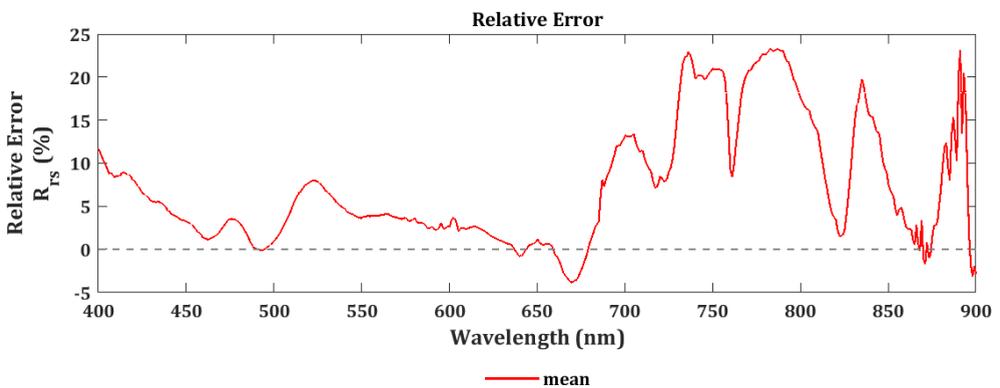


Figura 4.25. Promedio del error relativo $\left(\frac{R_{rs} \text{ simulado} - R_{rs} \text{ in situ}}{R_{rs} \text{ in situ}}\right)$, en %, del modelo bio-óptico PHYBOM.

Para analizar con algo más de detalle la distribución de los errores en los 72 puntos simulados, la Figura 4.26 y la Figura 4.27 muestran tres percentiles de la distribución del valor absoluto de los errores. Es decir, en este caso lo que se examina es la magnitud del error y no su desviación positiva o negativa respecto del valor medido. Se observa una tendencia general de disminución de los errores absolutos desde el azul hacia el infrarrojo, lo que podría sugerir que la estimación de alguna de las IOP que tienen un marcado incremento hacia el azul (la dispersión de NAP o detritus o, en sentido inverso la absorción del CDOM) pudiera estar afectando el resultado global.

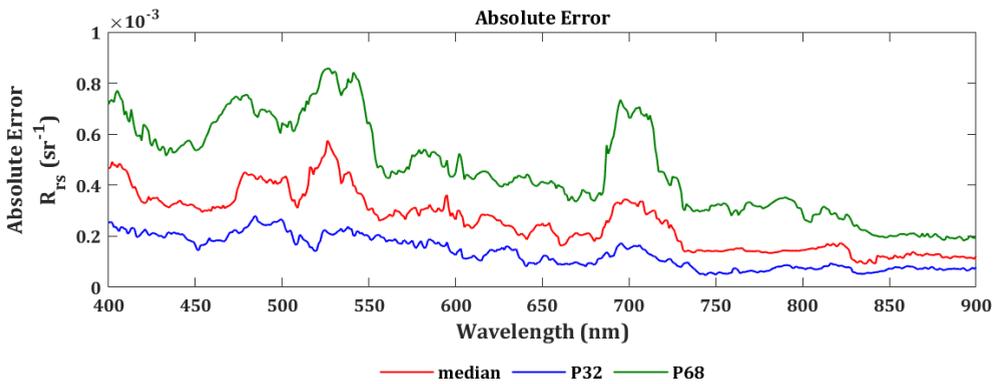


Figura 4.26. Percentiles del error absoluto $|R_{rs\text{ simulado}} - R_{rs\text{ in situ}}|$ del modelo bio-óptico PHYBOM.

No obstante, de nuevo, la interpretación que se puede extraer de los errores relativos es diferente. Y de hecho la Figura 4.27 puede interpretarse como la constatación de un buen desempeño global para PHYBOM, pues muestra como la mediana de los errores relativos está por debajo del 10% en prácticamente todo el espectro visible, que es la región que tiene más interés desde el punto de vista de la información que se puede obtener de los OAC de las masas de agua. Da la impresión de que los errores más altos de los puntos de mayor reflectividad están afectando notablemente a las estadísticas globales, cuando en la mayoría de los puntos los errores son más bajos.

Lo que sí se observa en la Figura 4.27 es un error relativo mayor en los extremos del espectro, lo que es coherente con el hecho de que la reflectividad es más baja en estas regiones (tanto en el azul-violeta como, sobre todo en el infrarrojo cercano o NIR).

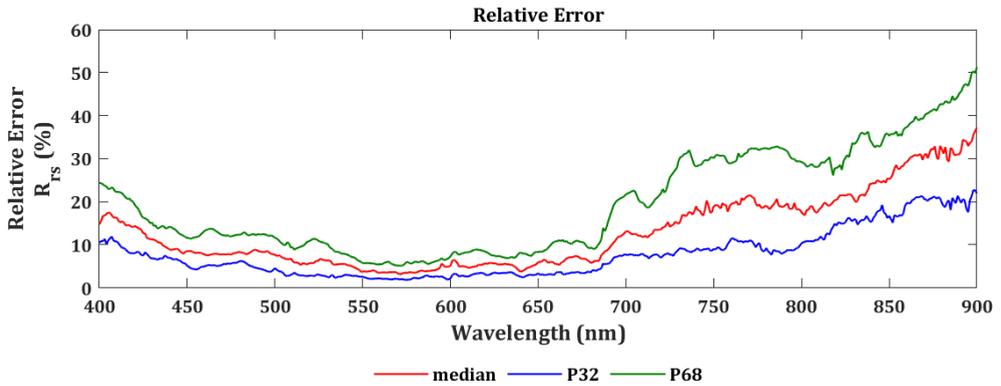


Figura 4.27. Percentiles del error relativo $\left| \frac{R_{rs} \text{ simulado} - R_{rs} \text{ in situ}}{R_{rs} \text{ in situ}} \right|$, en %, del modelo bio-óptico PHYBOM.

Asumiendo que los 72 puntos de validación representan una muestra suficientemente variada de tipos ópticos de aguas y de concentraciones de OAC (y poblaciones de fitoplancton), el ajuste de regresión lineal que se muestra en la Figura 4.28 , puede dar una idea de la exactitud global de PHYBOM y su distribución espectral.

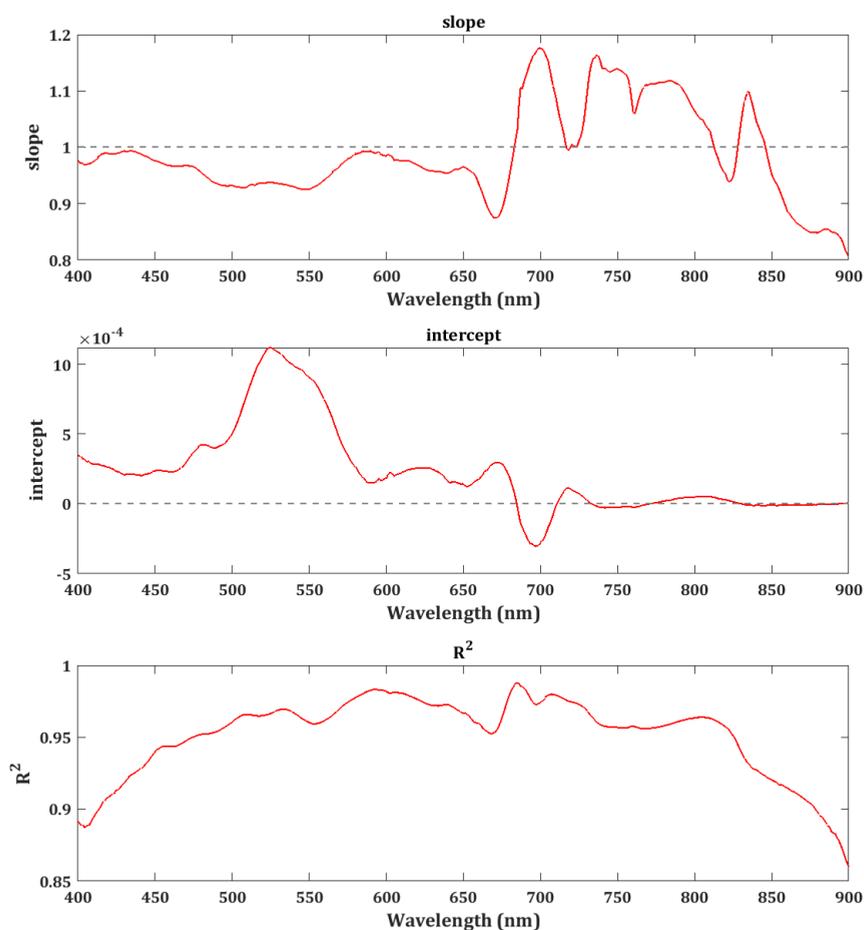


Figura 4.28. Pendiente, ordenada en el origen y R^2 de la regresión lineal entre la R_{rs} simulada e in situ

4.3.2. Resultados por punto

Dado que la simulación de la reflectividad de las masas de agua naturales es uno de los objetivos principales de PHYBOM y es la única variable que se ha podido evaluar con un número de puntos estadísticamente significativo, se ha considerado conveniente representar, uno a uno, los espectros de R_{rs} simulada y medida (in situ) para los 72 puntos de validación, con objeto de hacer un análisis cualitativo y cuantitativo del desempeño de PHYBOM.

Para facilitar la interpretación de los resultados e identificar posibles tendencias asociadas a un OAC o a un tipo de respuesta espectral, los puntos se clasificaron inicialmente de acuerdo con los siguientes criterios:

- 1) **Composición taxonómica:** considerando *dominancia* cuando la biomasa de un grupo taxonómico supera el 50% de la biomasa total y *mezcla* cuando ningún grupo alcanza el 50%
- 2) **Concentración de Clorofila-a:** Distinguiendo entre puntos *oligotróficos* ($<2.6 \text{ mg m}^{-3}$), *mesotróficos* ($2.6-7.3 \text{ mg m}^{-3}$), *eutróficos* ($7.3-56 \text{ mg m}^{-3}$) e *hipertroféicos* ($>56 \text{ mg m}^{-3}$) de acuerdo con el Índice de Estado Trófico (TSI) de Carlson (Carlson & Simpson, 1996).
- 3) **Profundidad del disco de Secchi:** De acuerdo con los intervalos definidos por Carlson & Simpson (1996) para definir un estado *oligotrófico* ($> 4 \text{ m}$), *mesotrófico* ($4-2 \text{ m}$), *eutrófico* ($2-0.5 \text{ m}$) e *hipertroféico* ($<0.5 \text{ m}$).
- 4) **Concentración de partículas no algales:** Con tres intervalos de concentración baja ($<1 \text{ g m}^{-3}$), intermedia ($1-10 \text{ g m}^{-3}$) y moderada-alta ($>10 \text{ g m}^{-3}$).
- 5) **Tipo de partículas no algales:** Distinguiendo cuatro grupos, en función del tipo de partícula dominante, entre minerales calcáreos, minerales silíceos, arcillas y tierras pardas.
- 6) **CDOM:** con dos intervalos de absorción (a 400 nm) baja ($<0.5 \text{ m}^{-1}$), e intermedia ($>0.5 \text{ m}^{-1}$).

Aunque la clasificación resultante se ha utilizado como un primer agrupamiento de los puntos, al final, la necesidad de componer nueve figuras con igual número de espectros (con un sentido práctico y estético) ha determinado unos agrupamientos algo más arbitrarios. En cualquier caso, con contadas excepciones, en cada una de las figuras que resumen los resultados (de la Figura 4.29 a la Figura 4.37) se agrupan puntos de características semejantes en cuanto a las concentraciones de OAC y/o clases taxonómicas dominantes.

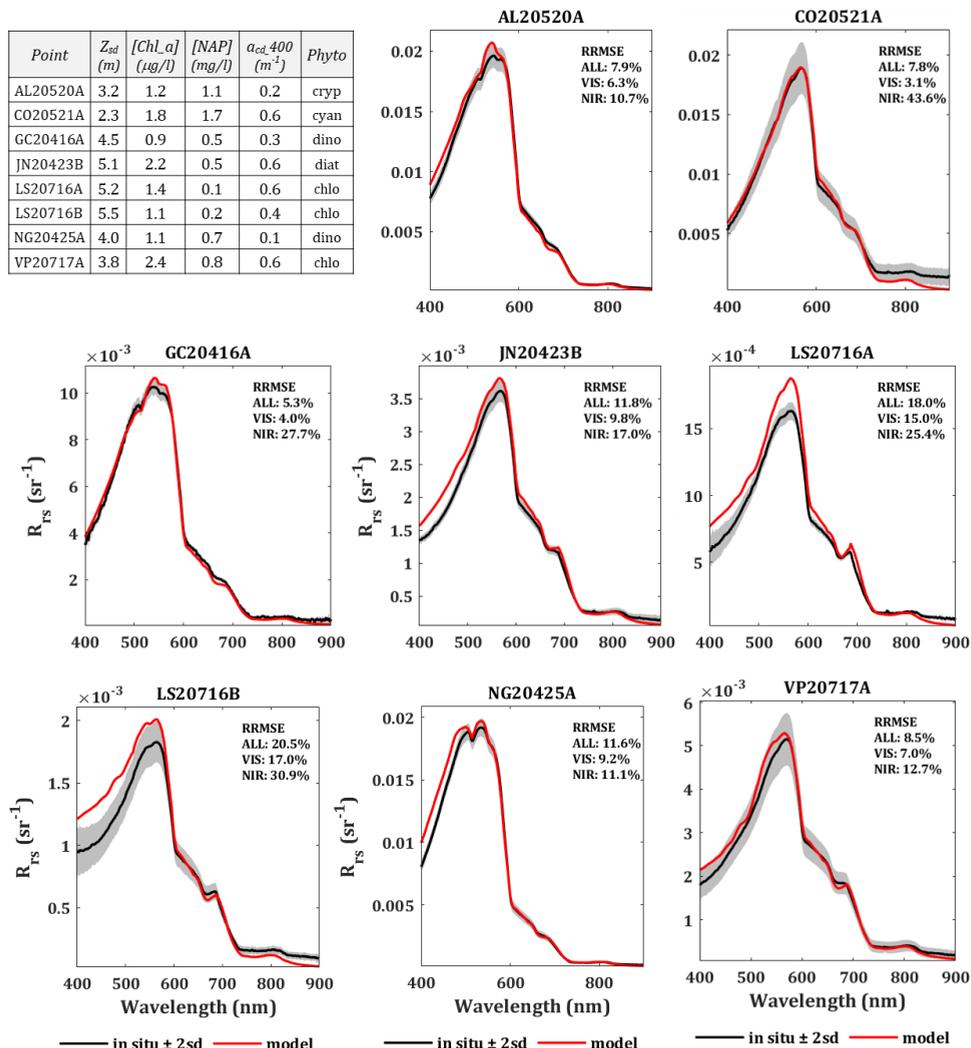


Figura 4.29. Espectros de reflectividad obtenidos por PHYBOM (rojo) y medidos in situ (promedio: línea negra; ± 2 desviaciones estándar: sombreado gris) en ocho puntos de muestreo oligotróficos. El error cuadrático medio relativo (%) entre los datos simulados y medidos se indica para todo el intervalo espectral (“ALL”: 400-900 nm) y para los intervalos visible (“VIS”: 400-700 nm) e infrarrojo (“NIR”: 700-900 nm). La tabla muestra los valores medidos in situ y utilizados para la simulación de la reflectividad con PHYBOM. La columna “phyto” indica el tipo de fitoplancton dominante (>50% de la biomasa total). Cuando ningún grupo supera el 50% se indica como “mix”.

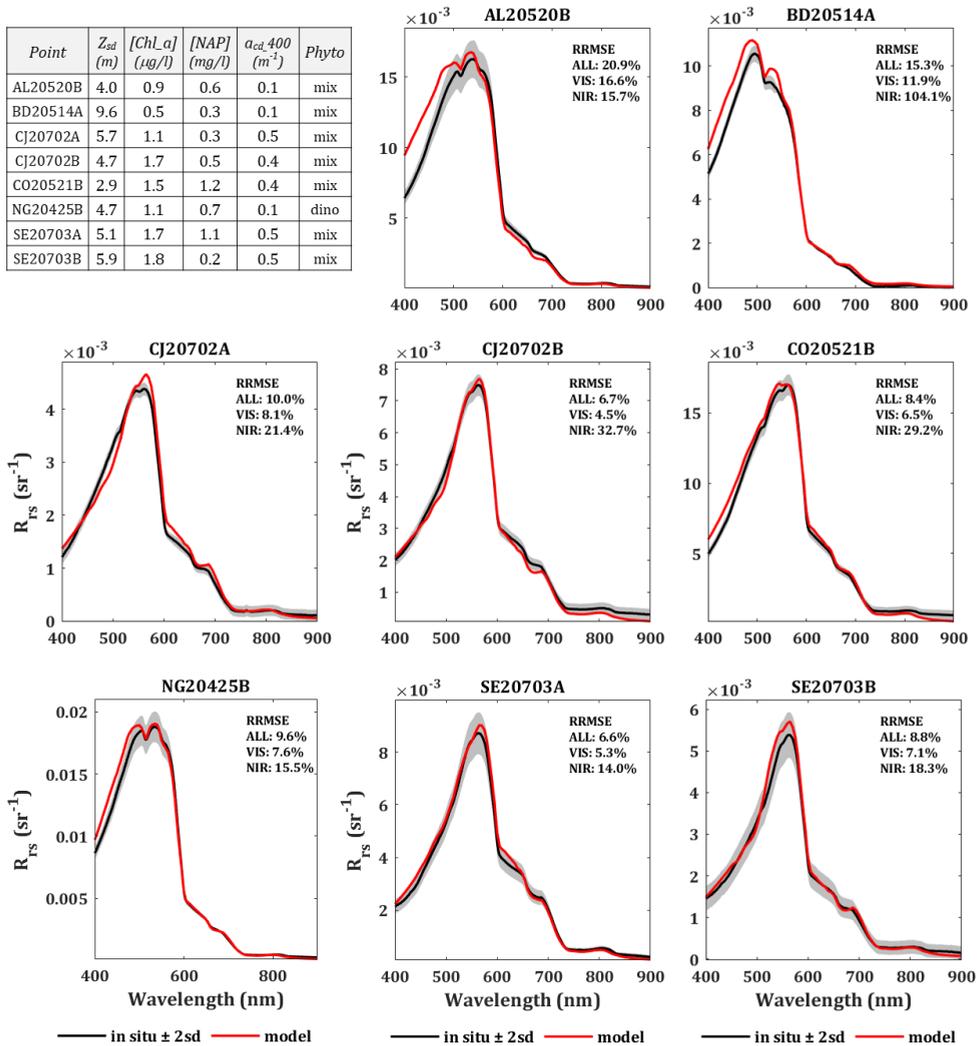


Figura 4.30. Espectros de reflectividad obtenidos por PHYBOM (rojo) y medidos in situ (negro) en ocho puntos de muestreo oligotróficos. Los detalles de los gráficos y la tabla son los mismos que los descritos en la Figura 4.29.

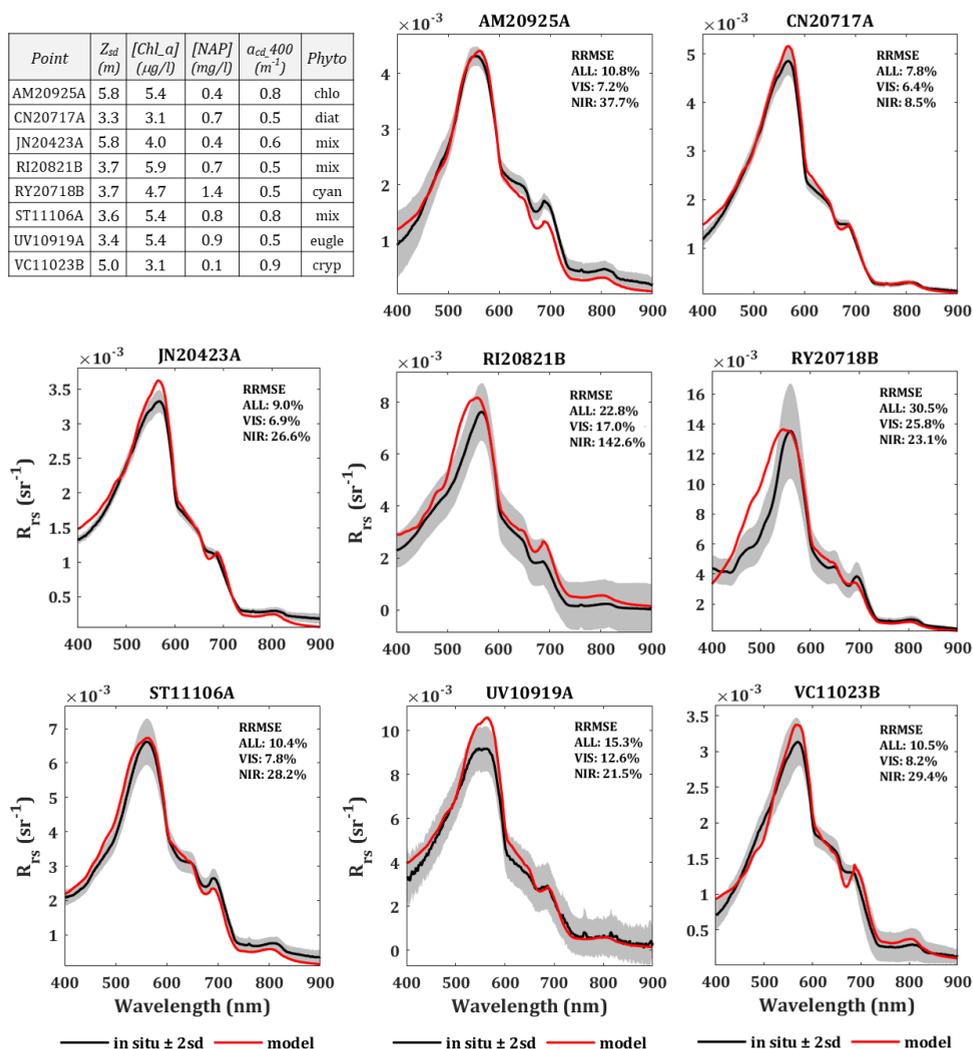


Figura 4.31. Espectros de reflectividad obtenidos por PHYBOM (rojo) y medidos in situ (negro) en ocho puntos de muestreo mesotróficos, dominados por el fitoplancton (concentración de partículas no algales y CDM baja). Los detalles de los gráficos y la tabla son los mismos que los descritos en la Figura 4.29.

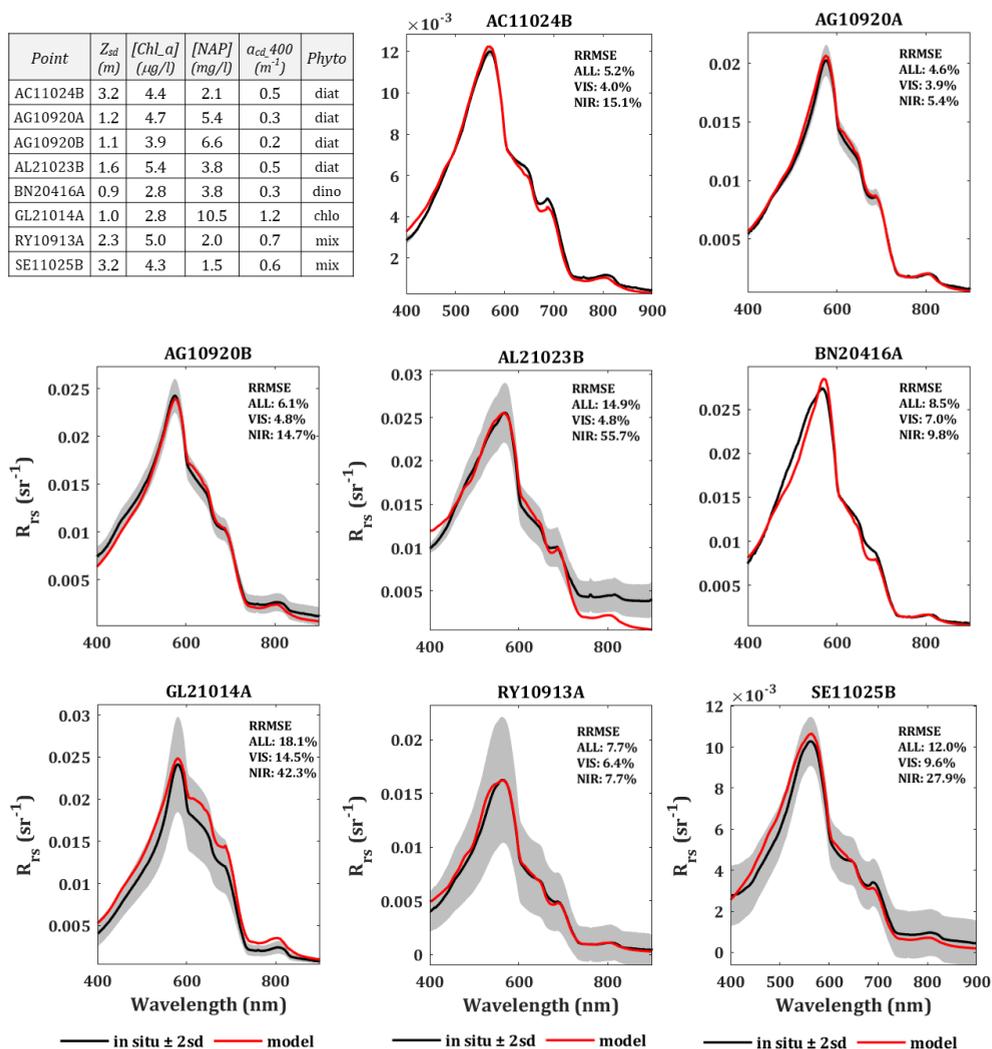


Figura 4.32. Espectros de reflectividad obtenidos por PHYBOM (rojo) y medidos in situ (negro) en ocho puntos de muestreo mesotróficos, con concentraciones de partículas no algales más altas (y menor transparencia) que las de los puntos de la Figura 4.31. Los detalles de los gráficos y la tabla son los mismos que los descritos en la Figura 4.29.

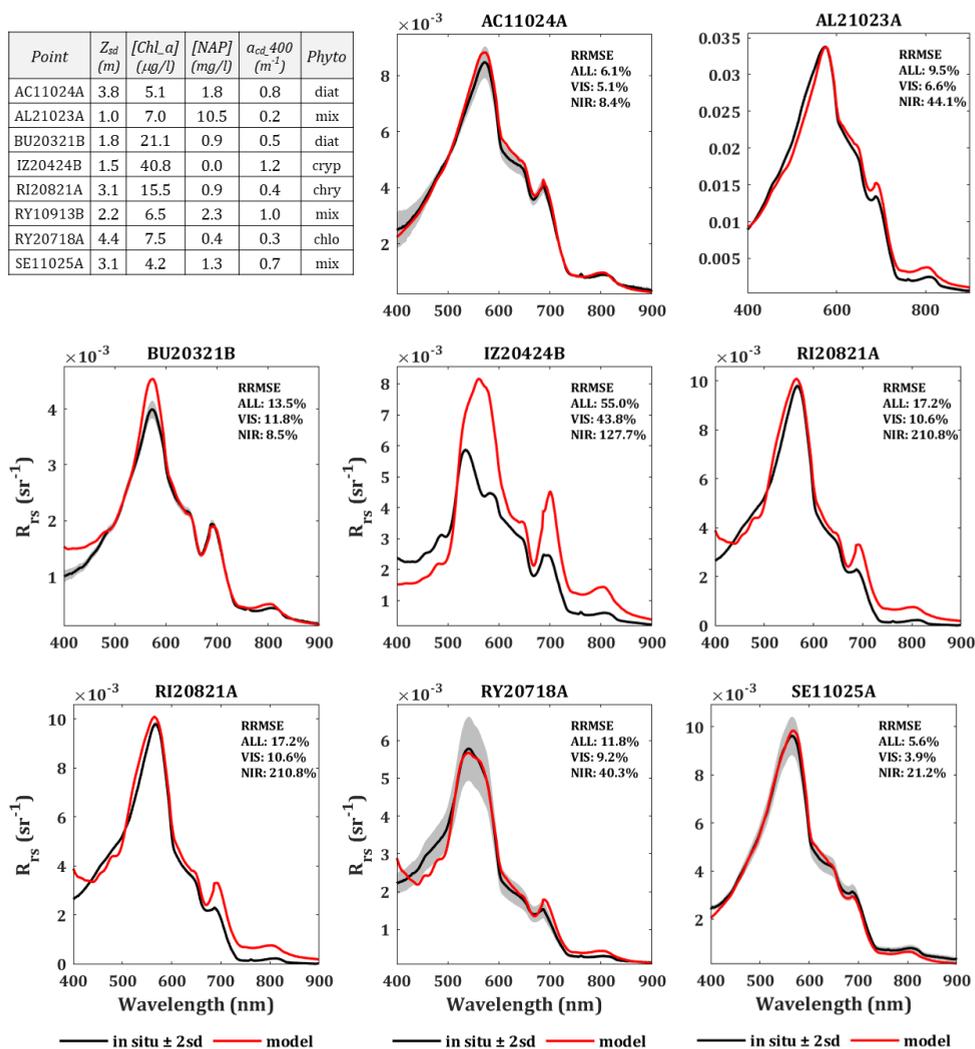


Figura 4.33. Espectros de reflectividad obtenidos por PHYBOM (rojo) y medidos in situ (negro) en ocho puntos de muestreo meso-eutróficos, con [NAP] bajas (excepto en AL21023A). Los detalles de los gráficos y la tabla son los mismos que los descritos en la Figura 4.29.

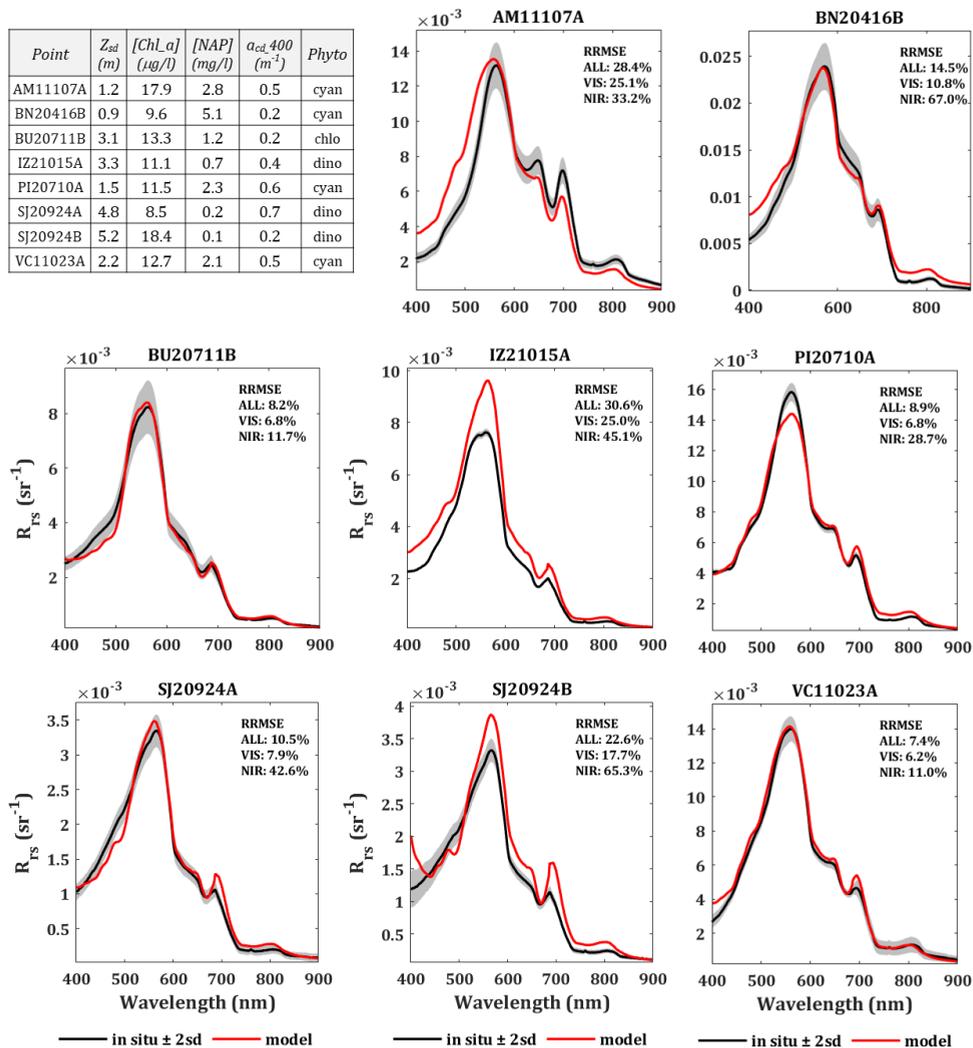


Figura 4.34. Espectros de reflectividad obtenidos por PHYBOM (rojo) y medidos in situ (negro) en ocho puntos de muestreo eutróficos, con [NAP] bajas (excepto en BN20416B). Los detalles de los gráficos y la tabla son los mismos que los descritos en la Figura 4.29.

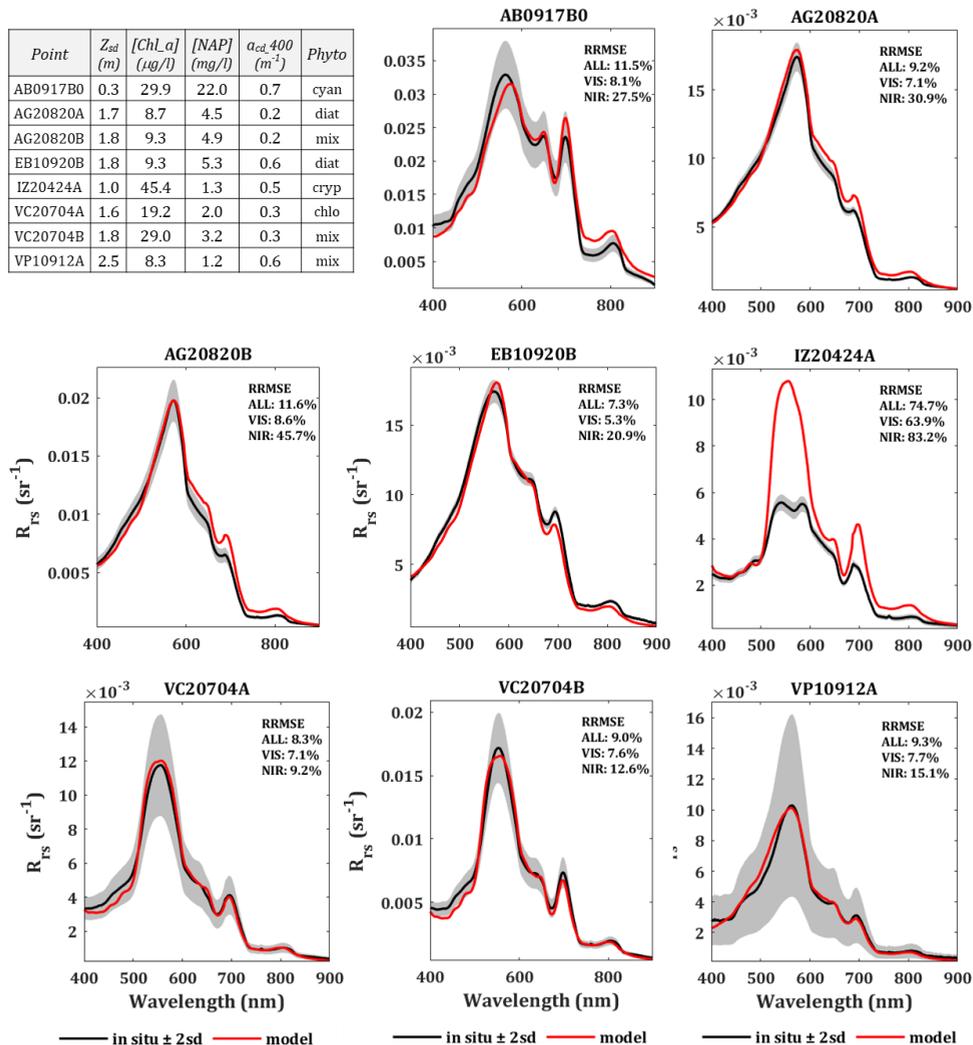


Figura 4.35. Espectros de reflectividad obtenidos por PHYBOM (rojo) y medidos in situ (negro) en ocho puntos de muestreo eutróficos, con proporciones de [Chl_a] y [NAP] variables. Los detalles de los gráficos y la tabla son los mismos que los descritos en la Figura 4.29.

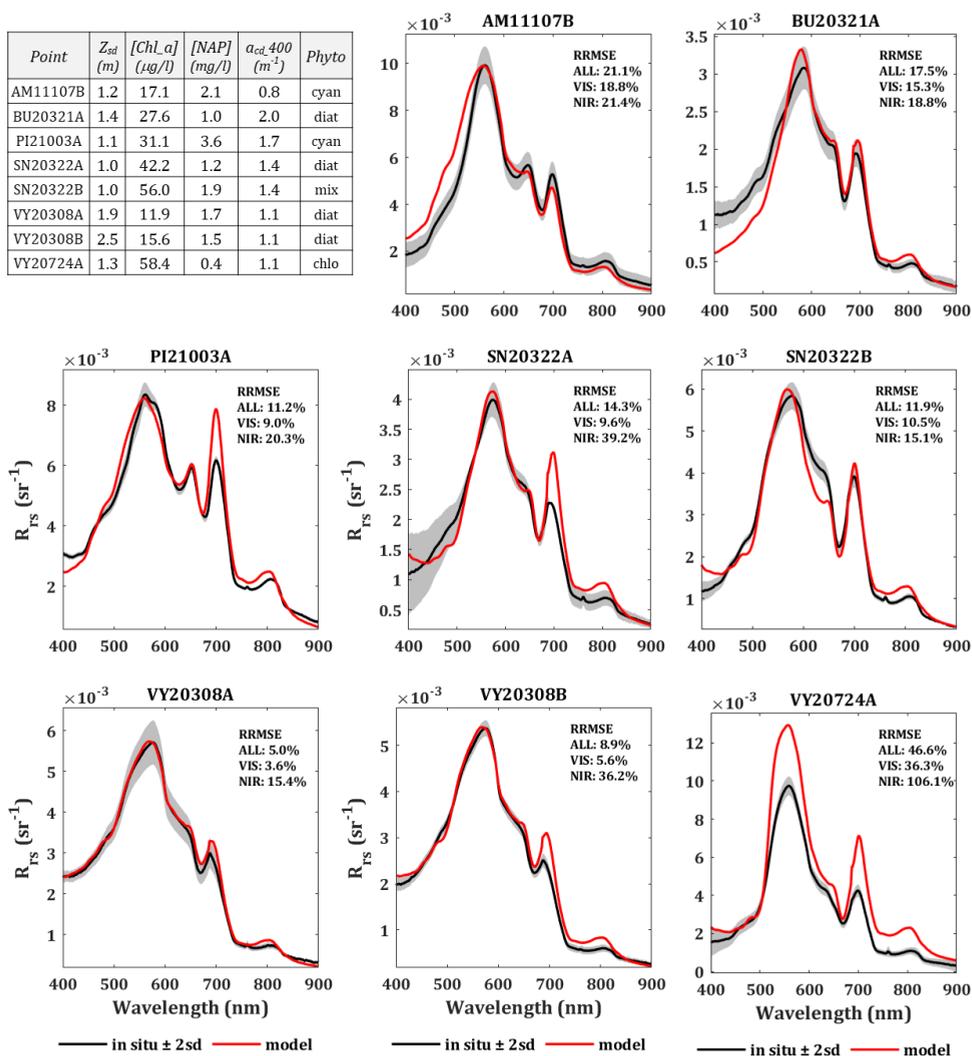


Figura 4.36. Espectros de reflectividad obtenidos por PHYBOM (rojo) y medidos in situ (negro) en ocho puntos de muestreo eutróficos, con proporciones de [Chl_a] y [NAP] variables. Los detalles de los gráficos y la tabla son los mismos que los descritos en la Figura 4.29.

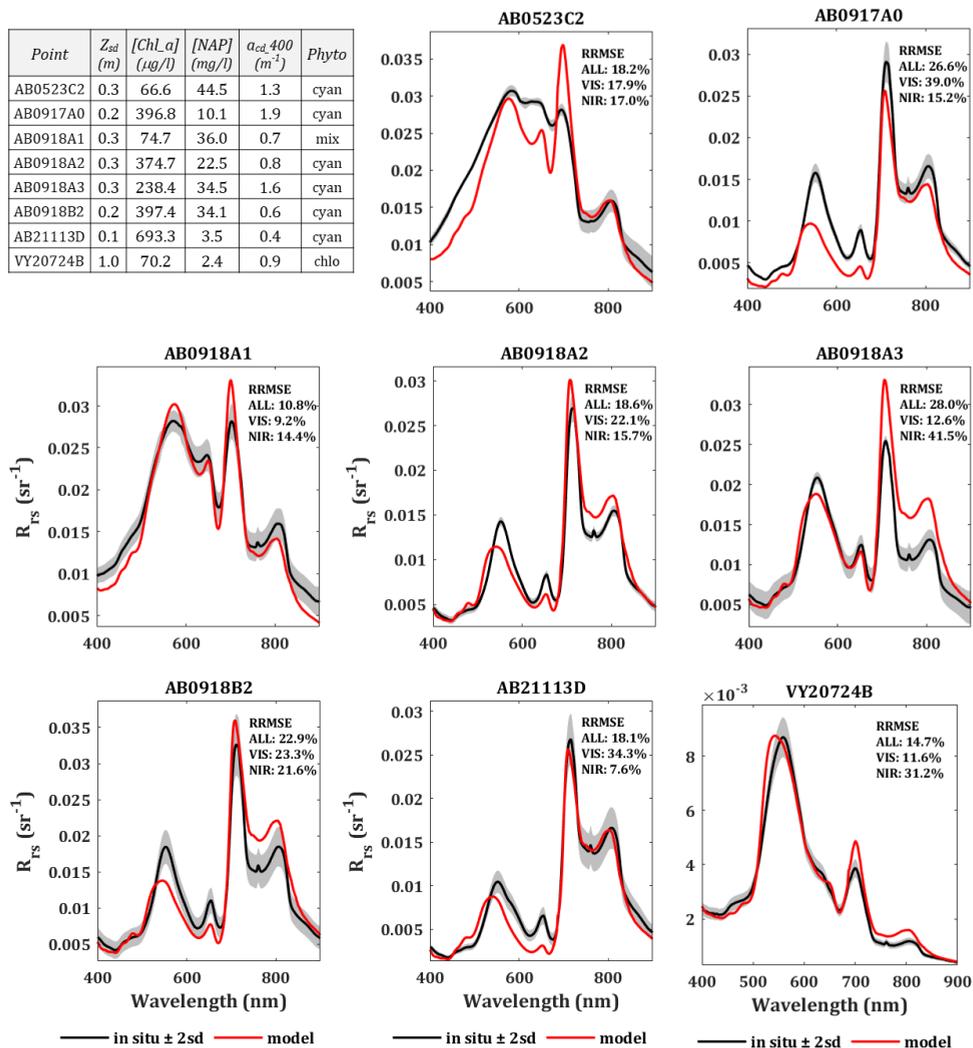


Figura 4.37. Espectros de reflectividad obtenidos por PHYBOM (rojo) y medidos in situ (negro) en ocho puntos de muestreo hipertróficos, con proporciones de [Chl_a] y [NAP] variables. Los detalles de los gráficos y la tabla son los mismos que los descritos en la Figura 4.29.

El análisis pormenorizado de los 72 puntos mostrados en las figuras anteriores excede el propósito de este capítulo, del que, no obstante se pueden extraer algunas conclusiones:

(1) Tanto un análisis cualitativo (capacidad de reflejar diferentes formas espectrales, ajuste de los valores absolutos, simulación de regiones concretas) como cuantitativo (RRMSE por punto) permiten calificar el resultado global como bueno o muy bueno, asumiendo que errores inferiores al 10% ya son un buen resultado.

(2) No hay patrones fácilmente identificables que asocien mayores errores con alguno de los grupos definidos, aunque sí se observa que en los puntos hipertróficos los errores tienden a ser más altos. Esto se puede asociar con el efecto de las reflectividades más altas, pero también con errores en las medidas, *in situ* o en laboratorio, de alguna de las variables de entrada como los pigmentos o las NAP (problemas en el filtrado, bajos rendimientos de extracción, pequeños volúmenes filtrados).

(3) El buen resultado general permite centrarse en aquellos puntos con errores significativamente altos en alguna región espectral. Se han identificado varios tipos de desviaciones:

En la pendiente de la reflectividad en el azul (por ejemplo *LS20716A*, Lago de Sanabria, en la Figura 4.29), indicando un posible desajuste en la pendiente de la absorción del CDOM.

En la forma espectral en el verde. El caso más llamativo es el de *IZ20424B* (Figura 4.33) e *IZ20424A* (Figura 4.35), dos puntos medidos en el mismo día en el embalse de Iznájar, con un dominio de las Criptofíceas (algo poco habitual) con valores de [Chl_a] bastante elevados ($40 - 45 \text{ mg m}^{-3}$). No parece muy descabellado hipotetizar que hay un pigmento que absorbe en la región de 550 nm (probablemente la Ficoeritrina) que no ha sido simulado por el modelo, bien porque no está en la lista de los 15 pigmentos simulados por PHYBOM o bien porque se infraestimó *in situ*.

Desajustes en el azul-violeta. Como es el caso de *SJ20924B* (embalse de San Juan, Figura 4.34), en el que parece que PHYBOM está sobreestimando la absorción de algún pigmento (tal vez una xantofila) y/o subestimando la absorción del CDOM.

Sobreestimación del pico de 705 nm. Este es un patrón que se repite en varios puntos y que parece tener un efecto en los cálculos globales de error mostrados en el Capítulo 4.3.1. Y no es una buena noticia, pues esta es una banda espectral presente en varios sensores satelitales para el estudio del agua y muy utilizada en modelos de obtención de variables de calidad del agua, en medios eutróficos, por teledetección. Ejemplos de este efecto, cuya causa requiere una investigación más detallada se pueden observar en la Figura 4.36.

Finalmente, otra de las desviaciones observadas, ya comentada en el análisis de los resultados, es el desplazamiento aparente de los máximos y mínimos de reflectividad, que se observa en la Figura 4.37, por ejemplo en *AB21113D* (Albufera de Valencia). El hecho de que todos los puntos en los que se observa este desplazamiento estén dominados por Cianobacterias, parece un indicio de que, o bien la curva de absorción o la absorción específica de alguna de las ficobiliproteínas no están bien parametrizadas en PHYBOM. Pero también podría ser un efecto debido a la fluorescencia de estos pigmentos que HydroLight no está teniendo en cuenta (al simular sólo el pico de la PS II).

Todas las hipótesis anteriores son razonables y están razonadas, aunque no hay que olvidar que en las aguas naturales la respuesta espectral no se puede imputar a un único OAC, con contadas excepciones, por lo que no dejan de ser posibles causas que debieran ser verificadas. Una primera aproximación ha sido el análisis de sensibilidad que se muestra en el siguiente capítulo.

4.3.3. Análisis de sensibilidad

Este análisis tenía la intención de evaluar qué impacto tienen en la $R_{rs}(\lambda)$ las variaciones de algunas de las variables o parámetros de entrada claves en PHYBOM. Para evaluarlo se han añadido tres niveles de error relativo aleatorio ($\pm 10\%$, $\pm 20\%$, $\pm 50\%$.) a diferentes entradas del modelo y se ha analizado su impacto en el error en la estimación de la reflectividad.

El diseño del análisis perseguía tener una estimación del impacto, en el error en la estimación de R_{rs} , de errores de medida (*in situ*, en laboratorio) o de estimación (cuando el parámetro no se ha medido, sino que se aproxima a partir de una hipótesis más o menos realista) y por tanto se han analizado de forma conjunta incrementos y disminuciones, definiendo el error añadido al valor inicial (el de la simulación de referencia) como $\pm \varepsilon$, donde ε es el porcentaje de error. A la hora de interpretar los resultados hay que tener en cuenta este diseño.

Comenzando por el **fitoplancton**, en la Figura 4.38 se observa que la reflectividad es bastante insensible a errores en los valores iniciales de hasta un $\pm 20\%$ en la [Chl_a]. E incluso con errores del $\pm 50\%$ respecto a los valores iniciales no alcanza a incrementar la mediana del error final por encima del 10%, en la parte de la región visible (550-700 nm) donde su efecto es más notorio. Hay que recordar que se está analizando el efecto de errores aleatorios, por lo que el impacto de incrementos y disminuciones tiende a compensarse.

Sin embargo, tal y como se muestra también en la Figura 4.38, el tamaño celular (ESD, diámetro esférico equivalente) sí que tiene un efecto más notable en los errores en R_{rs} , en especial para errores en el valor del ESD de $\pm 50\%$. El efecto se observa en todo el espectro visible, mientras que en el infrarrojo su magnitud es mucho menor.

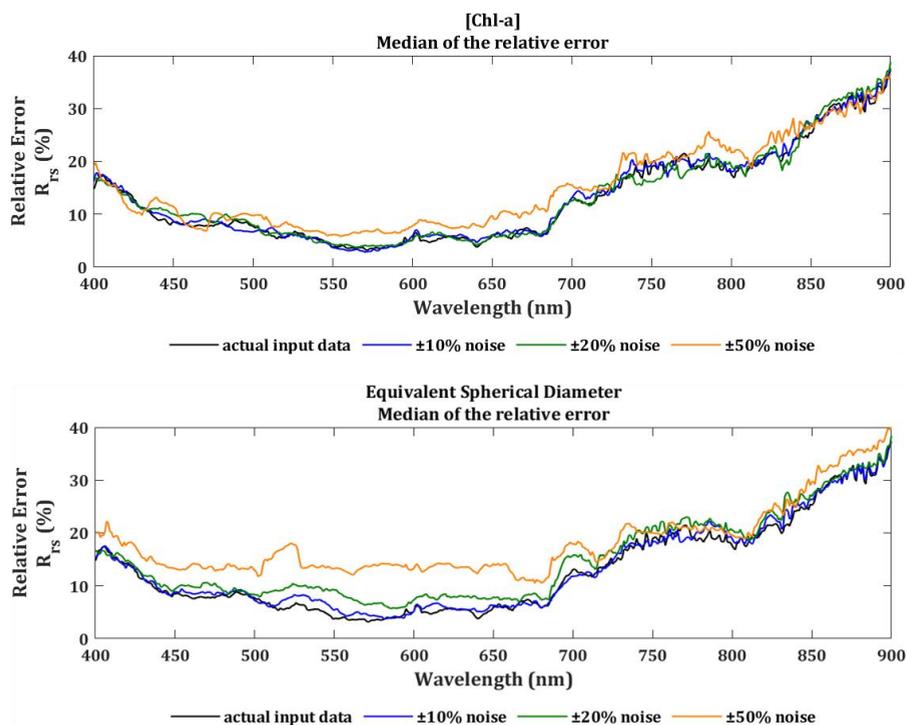


Figura 4.38. Mediana de los errores relativos de PHYBOM en la estimación de la reflectividad. Resultado de añadir un error aleatorio ($\pm 10\%$, $\pm 20\%$ y $\pm 50\%$) a los valores nominales (línea negra) de la concentración de Clorofila-a, [Chl_a], y el tamaño celular del fitoplancton (ESD, diámetro esférico equivalente).

Como se observa en la Figura 4.39, las variaciones en los valores iniciales de la absorción del **CDOM** a 400 nm, no tienen ningún efecto significativo en el infrarrojo, como cabe esperar dada la absorción casi despreciable del CDOM en esta región espectral, dominada por la absorción de la molécula de agua. Pero sí tienen un efecto, mayor que el de la [Chl_a] y del mismo orden de magnitud que el ESD, en la región visible.

El impacto en el error final de los cambios en los valores iniciales es mucho más marcado para la pendiente, S_c , del modelo exponencial de absorción del CDOM (Figura 4.39). El efecto no es apenas notable en el extremo azul-violeta, donde la absorción del CDOM es máxima, aunque esto es debido a que la λ de referencia es 400 nm y S_c multiplica al término $(\lambda - 400)$ en la ecuación 4.18. El máximo efecto se da en la región 450-600 nm, ya con errores del ± 10 o $\pm 20\%$

en S_c , pues en este intervalo espectral se combinan valores crecientes de $(\lambda - 400)$ con una absorción total todavía relativamente alta. Por encima de 600 nm, la baja absorción del CDOM compensa el efecto de $S_c(\lambda - 400)$ altos y el impacto en la R_{rs} es menor.

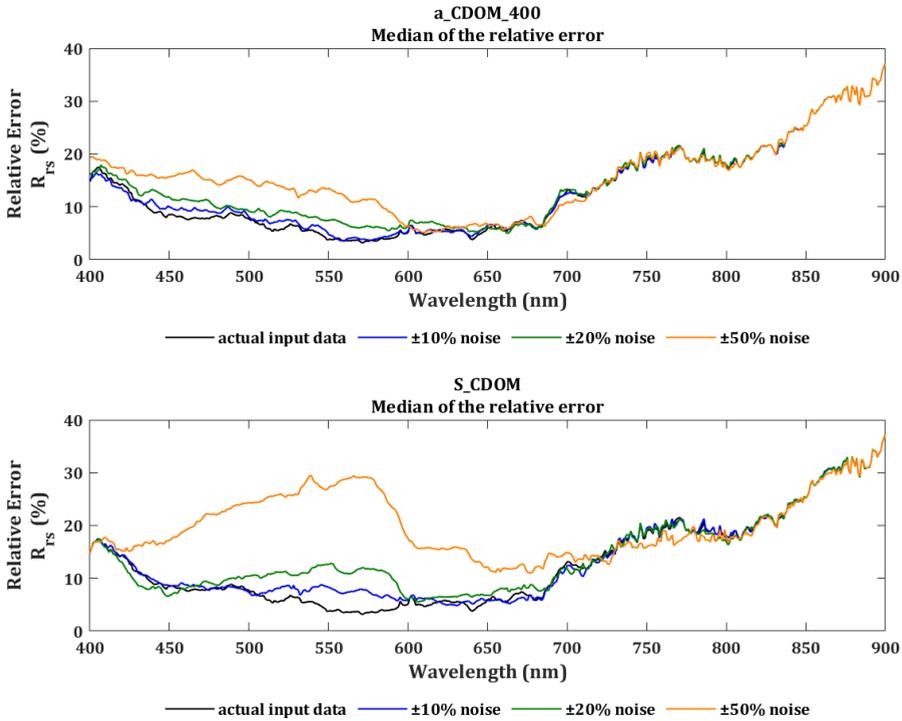


Figura 4.39. Mediana de los errores relativos de PHYBOM en la estimación de la reflectividad. Resultado de añadir un error aleatorio ($\pm 10\%$, $\pm 20\%$ y $\pm 50\%$) a los valores nominales (línea negra) del coeficiente de absorción del CDOM a 400 nm; $a_{CDM}(400)$, y la pendiente de su función de respuesta espectral, S_c .

En cuanto a las **partículas no algales (NAP)**, incrementos en su concentración $[NAP]$ aumentan el *backscattering* y por tanto la R_{rs} , mientras una menor $[NAP]$ disminuye el valor absoluto de R_{rs} . En el infrarrojo, con R_{rs} bajas y dominadas por la absorción de la molécula de agua, el resultado del análisis de sensibilidad de PHYBOM (Figura 4.40) es coherente con este comportamiento esperado, pues los errores positivos (más $[NAP]$ que la inicial) y negativos (menos $[NAP]$ que la inicial) se compensan, por lo que el efecto neto es que el modelo es insensible a variaciones en la $[NAP]$. Sin embargo, en la región visible sí que hay

un impacto significativo de los errores iniciales de $[NAP]$ en el error final en la estimación de R_{rs} , aunque se observa una cierta “saturación” al aumentar el error inicial desde un $\pm 20\%$ a un $\pm 50\%$.

El impacto del **tipo de NAP** (Figura 4.40) se ha evaluado de forma diferente, al no ser una variable cuantitativa. En este caso se cambió, para cada punto, el tipo de NAP utilizado en la simulación inicial por uno cualquiera de entre los cuatro restantes. El diferente diseño del análisis dificulta la comparación de los resultados con el resto de las variables analizadas, por lo que hay que ser cuidadoso al extraer conclusiones. En cualquier caso, el impacto del cambio del tipo de NAP es muy significativo, más notable en el visible, donde aumenta los errores en la estimación de R_{rs} de menos de un 10% a un 20-35%, pero también en el infrarrojo, con incrementos menores respecto del error inicial, pero igualmente significativos.

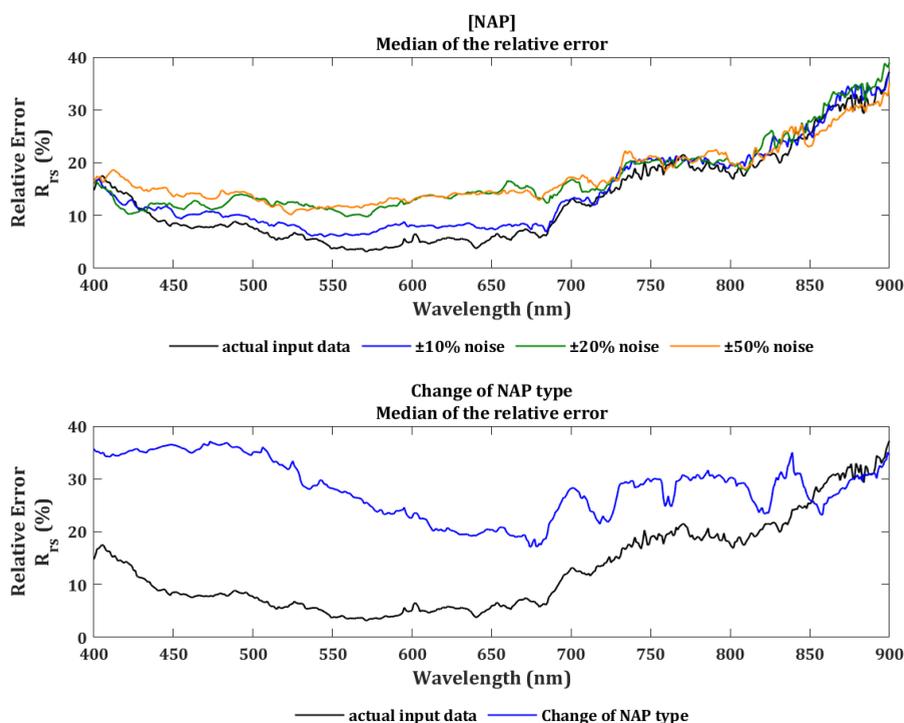


Figura 4.40. Mediana de los errores relativos de PHYBOM en la estimación de la reflectividad. Resultado de añadir un error aleatorio ($\pm 10\%$, $\pm 20\%$ y $\pm 50\%$) a los valores nominales (línea negra) de la concentración de partículas no algas, $[NAP]$, y de cambiar aleatoriamente el tipo de NAP por uno diferente al de la simulación nominal.

Para analizar la sensibilidad del modelo a cambios en la concentración de pigmentos (aparte de la Clorofila-a), se escogió la **Ficocianina**, [PC], por ser un pigmento muy relevante (como indicador de la biomasa de las Cianobacterias) y por tener un espectro de absorción centrado en una región en la que la absorción del resto de pigmentos es baja (clorofilas) o muy baja. Como era de esperar, los errores en el valor inicial de [PC] afectan al error final de R_{rs} en el intervalo 550-650 nm, pero el impacto es muy pequeño, incluso con variaciones de $\pm 50\%$ respecto del valor inicial (Figura 4.41).

El **rendimiento cuántico de la SICF** (ϕ_F) tiene un efecto muy similar al de la Ficocianina: pequeño y restringido a una región espectral muy estrecha, en torno a 685 nm (Figura 4.41). Hay que indicar, no obstante, que la señal de la emisión de fluorescencia en R_{rs} es ya de por sí muy baja, por lo que pequeños cambios en R_{rs} pueden tener un impacto notable en la estimación de la SICF (como se verá en el Capítulo 4.3.4).

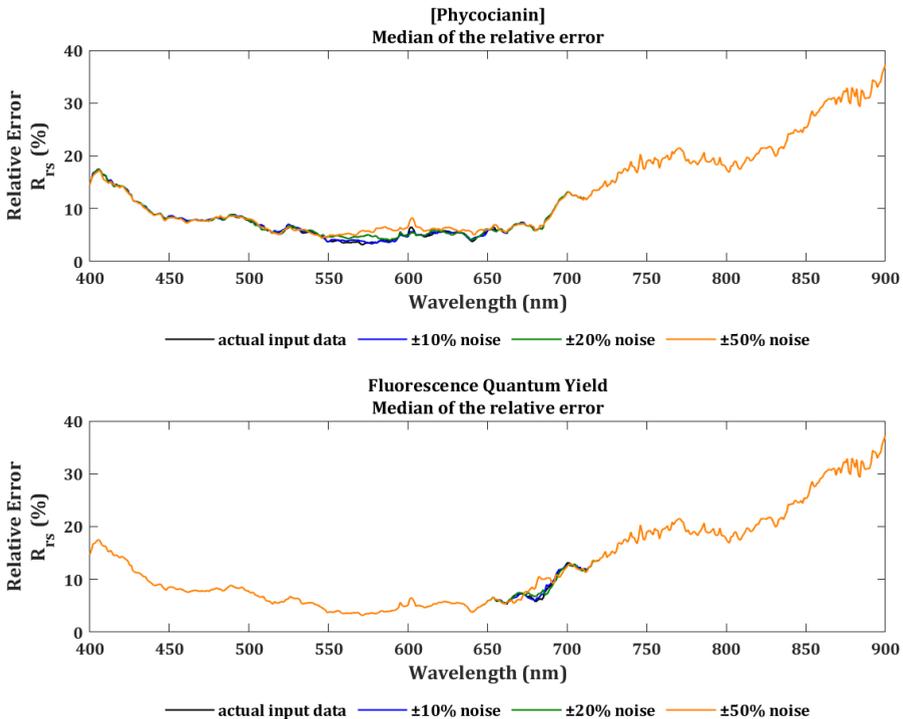


Figura 4.41. Mediana de los errores relativos de PHYBOM en la estimación de la reflectividad. Resultado de añadir un error aleatorio ($\pm 10\%$, $\pm 20\%$ y $\pm 50\%$) a los valores nominales (línea negra) de la concentración de Ficocianina, [PC], y del rendimiento cuántico de fluorescencia (ϕ_F).

Finalmente, se analizó el impacto de dos condiciones de contorno: la **velocidad del viento** (U) y el **ángulo cenital solar** (SZA). Tal y como se explicó en el Capítulo 2.1.3.1, la R_{rs} es muy robusta a cambios en las condiciones de iluminación. Y los resultados que se muestran en la Figura 4.42 así lo confirman. Cabe indicar que los porcentajes de variación respecto de las condiciones iniciales no son muy extremos, pero aun así no hay que esperar errores significativos en PHYBOM si no se conoce con exactitud el valor de estos dos parámetros y sólo se tiene una aproximación razonable.

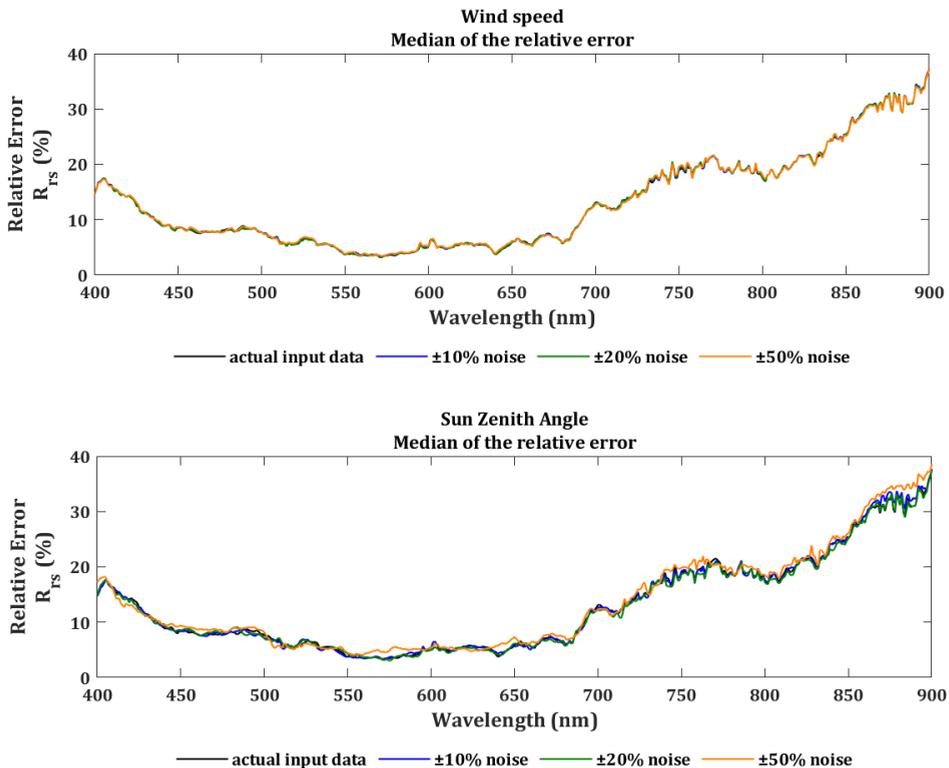


Figura 4.42. Mediana de los errores relativos de PHYBOM en la estimación de la reflectividad. Resultado de añadir un error aleatorio ($\pm 10\%$, $\pm 20\%$ y $\pm 50\%$) a los valores nominales (línea negra) de la velocidad del viento en el punto de muestreo, $[U]$, y del ángulo cenital solar (SZA).

4.3.4. Estimación de la SICF

Como se introdujo en el Capítulo 2.2.5, la fluorescencia en vivo del fitoplancton se produce cuando las moléculas de Clorofila-a de los fotosistemas (PS II y PS I) vuelven a su estado fundamental sin haber cedido un electrón al aceptor primario. El espectro de emisión de fluorescencia depende principalmente del PS II, con un máximo de emisión a aproximadamente 685 nm, detectándose, en medidas en laboratorio, un pico secundario a unos 740 nm procedente del PS I (Figura 2.20). No obstante, debido al elevado coeficiente de absorción de la molécula de agua por encima de 720 nm, este pico secundario suele ser indetectable en las masas de agua naturales, por lo que la SICF se suele simular, en los modelos bio-ópticos que la consideran, como una única curva de emisión con un máximo a 685 nm.

Este es el caso de HydroLight, que simula la emisión de la SICF como una gaussiana con un máximo a 685 nm y una desviación estándar de 10.6 nm, que se corresponde con un FWHM de 25 nm. Sin embargo, como se introdujo también en el Capítulo 2.2.5, esta aproximación no sólo obvia la contribución del PS I sino que tampoco tiene en cuenta la emisión de las ficobiliproteínas (Figura 2.21) ni permite simular cómo afectan los cambios en la emisión relativa de los fotosistemas (y/o de las ficobiliproteínas) a la magnitud y forma espectral de la curva de emisión debido a cambios en el estado fisiológico, como se ha observado experimentalmente, en vivo, con técnicas de fluorimetría inducida (Figura 2.22).

No obstante, esa información espectral, si bien no puede simularse actualmente con HydroLight (aunque es viable su implementación en un futuro cercano) sí es posible que esté presente en los espectros de $R_{rs}(\lambda)$ medidos en masas de agua naturales, como los que constituyen la base de datos de validación utilizada en esta tesis. La cuestión es cómo desacoplar la fracción de la reflectividad (aparente) que es debida a la emisión de fluorescencia de la reflectividad total medida. Las aproximaciones simples, basadas en una línea base, como el índice FLH, no reproducen, en la mayoría de los casos, el espectro de emisión real, pues ésta no se superpone sobre una reflectividad que decrece monótonamente, sino sobre un pico de reflectividad resultado de la combinación del backscattering de partículas y las absorciones (de las propias clorofilas y muy significativamente de la molécula de agua) en la misma región espectral de emisión como ya mostraron Gilerson *et al.* (2007) y, más recientemente Tenjo *et al.* (2021), entre otros trabajos.

Existen varios algoritmos propuestos para obtener la SICF de los espectros de reflectividad (Gupana *et al.*, 2021), pero sólo el de Tenjo *et al.* (2021) se basa en la reconstrucción de la forma de la curva de reflectividad (elástica) subyacente a la reflectividad aparente, a partir de tres longitudes de onda en las que es estimada por un modelo estadístico obtenido de datos simulados.

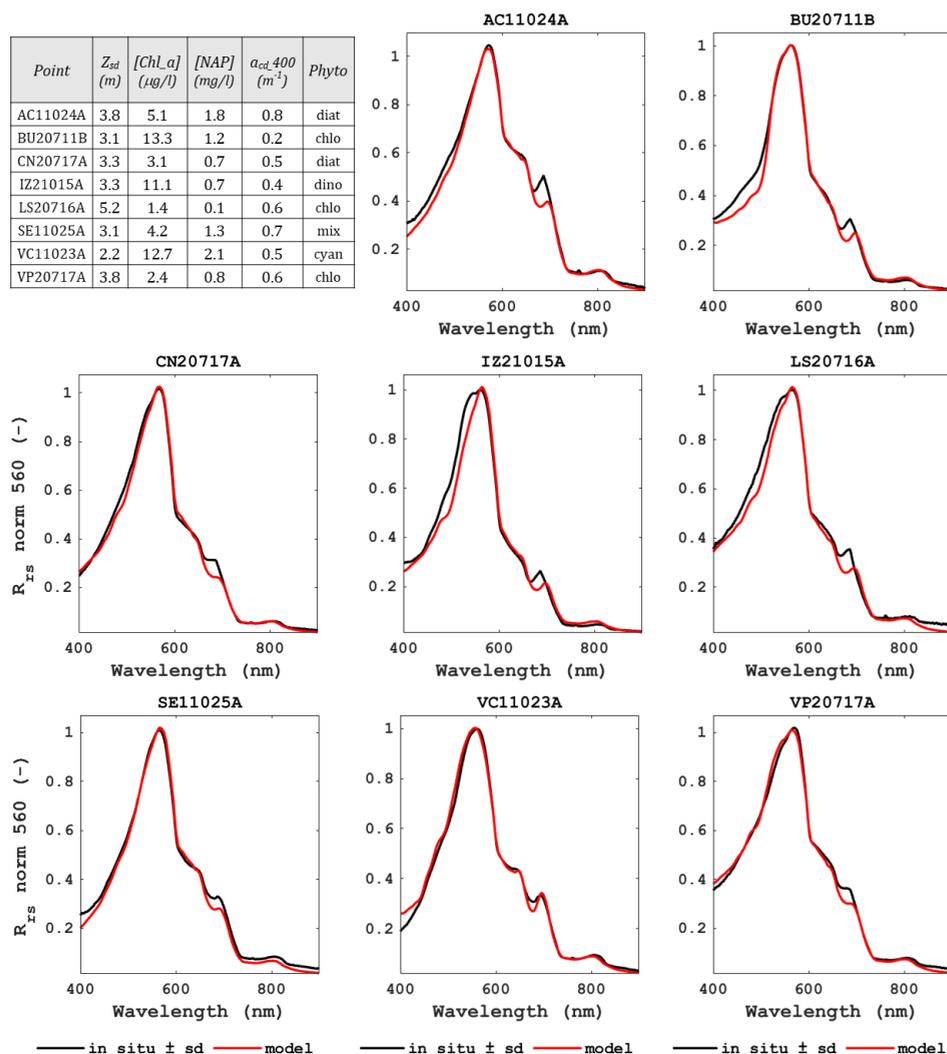


Figura 4.43. Ejemplos de espectros de $R_{rs}(\lambda)$ normalizada a 560 nm, obtenidos por PHYBOM sin fluorescencia (rojo) y medidos in situ (negro).

El análisis aquí realizado se inspira en la aproximación de Tenjo et al. (2021) pero en este caso lo que pretende es ajustar las curvas de reflectividad simulada, sin SICF, y la medida *in situ*, para obtener, por diferencia, la curva de emisión efectiva. Cualitativamente es fácil de entender si se superponen las curvas de reflectividad, normalizada a una λ dada, como se muestra en la Figura 4.43, que sugiere que la diferencia de espectros de reflectividad normalizados basta para obtener la curva de emisión.

Sin embargo, en la mayoría de los puntos, el ajuste entre las curvas en el entorno de la región espectral de emisión de la SICF no permite hacer una diferencia directa entre el espectro *in situ* y el simulado, bien porque ambas curvas van paralelas, pero no se superponen, o porque se cruzan (diferente pendiente de la reflectividad simulada y la medida). Para conseguir una superposición de las dos curvas de reflectividad elástica se siguió el siguiente método:

(1) Los espectros de R_{rs} simulado (sin fluorescencia) y medido (*in situ*) se normalizaron a 720 nm, que es una longitud de onda muy cercana a la región de emisión, por encima de la cual ($\lambda > 720 \text{ nm}$) se puede asumir que la señal de fluorescencia en la R_{rs} es despreciable, debido a la fuerte absorción de la molécula de agua.

(2) Se obtuvo un espectro inicial de *reflectividad inelástica* (es decir, de la fracción de la curva de reflectividad medida que es debida a dispersión inelástica) o *reflectividad de fluorescencia*, R_{rsFi} :

$$R_{rsFi}(\lambda) = R_{rs}N_{720}(\lambda)_{insitu} - R_{rs}N_{720}(\lambda)_{elastic} \quad 4.26$$

Donde $R_{rs}N_{720}(\lambda)_{insitu}$ es la R_{rs} medida *in situ*, normalizada a 720 nm, y $R_{rs}N_{720}(\lambda)_{elastic}$ es la R_{rs} simulada sin fluorescencia (sólo dispersión elástica) y normalizada también a 720 nm.

(3) Para eliminar los efectos residuales de diferencias en la pendiente de las reflectividades se calculó la reflectividad final, R_{rsF} , sobre la línea base entre 655 y 705 nm, como:

$$R_{rsF}(\lambda) = R_{rsFi}(\lambda) - \left[\left(\frac{R_{rsFi}(655) - R_{rsFi}(705)}{50} \right) (655 - \lambda) \right] \quad 4.27$$

En la Figura 4.44 se resume gráficamente el procedimiento seguido, ejemplificado en dos puntos con diferentes pendientes relativas de $R_{rs}N_{720}(\lambda)_{insitu}$ y $R_{rs}N_{720}(\lambda)_{elastic}$.

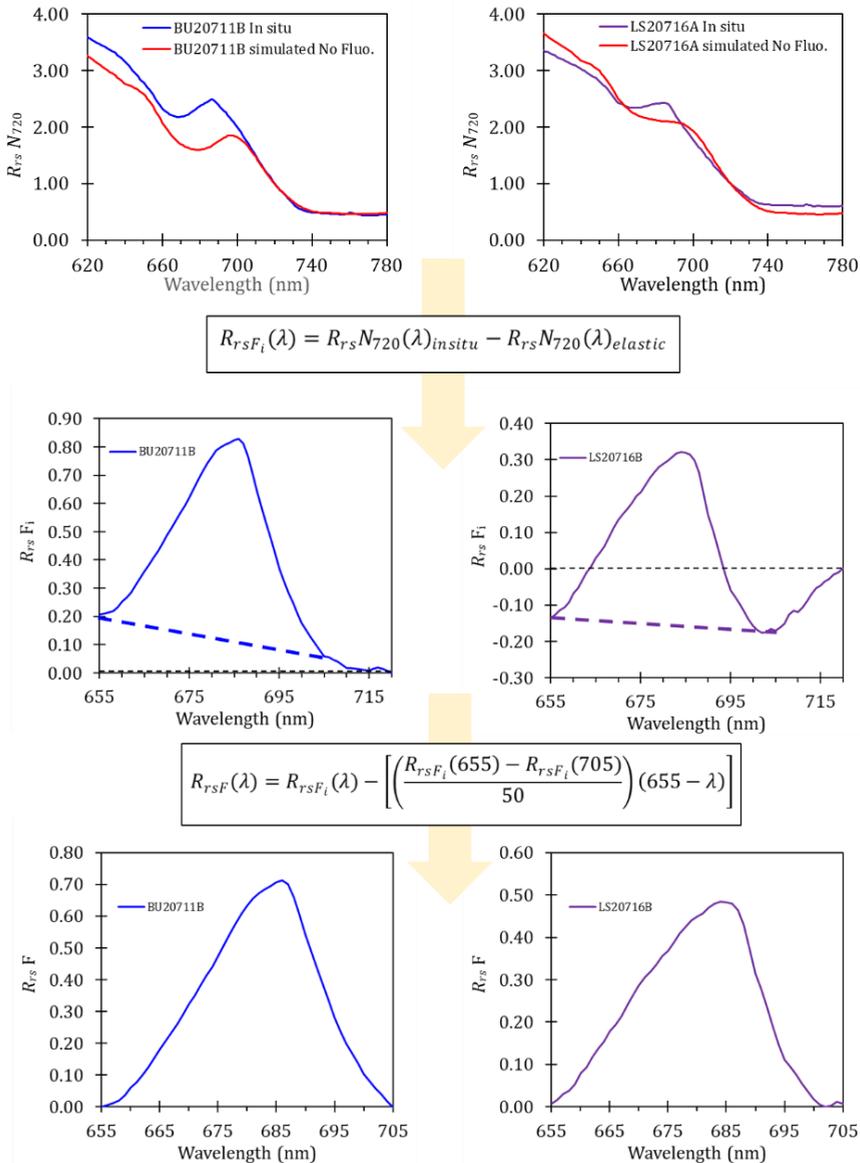


Figura 4.44. Resumen de la metodología empleada para obtener los espectros de $R_{rs}F(\lambda)$ en un punto en el que las pendientes de $R_{rs}N_{720}(\lambda)_{insitu}$ y $R_{rs}N_{720}(\lambda)_{elastic}$ son muy semejantes (izquierda) y en otro punto en el que son diferentes (derecha).

Los espectros resultantes de $R_{rsF}(\lambda)$ para $655 \leq \lambda \leq 705 \text{ nm}$, se examinaron cualitativamente, organizados en grupos según la clase taxonómica dominante y la $[Chl_a]$, de acuerdo con los siguientes criterios:

- Composición taxonómica:** considerando *dominancia* cuando la biomasa de un grupo taxonómico supera el 60% de la biomasa total y *mezcla* cuando ningún grupo alcanza el 60%
- Concentración de Clorofila-a:** Distinguiendo entre concentración “baja” ($<30 \text{ mg m}^{-3}$) y “alta” ($>30 \text{ mg m}^{-3}$)

Se observaron patrones comunes y diferencias en la forma espectral y en la posición de los máximos de emisión. Las figuras 4.45 y 4.46 muestran ejemplos de los espectros obtenidos, normalizados al máximo de $R_{rsF}(\lambda)$ para resaltar únicamente la forma espectral.

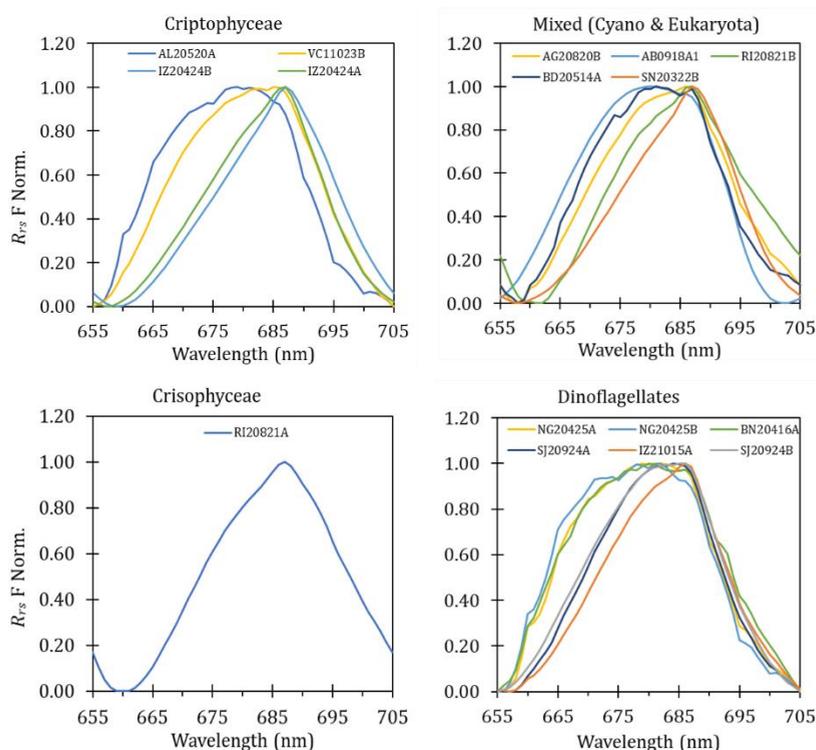


Figura 4.45. Espectros de $R_{rsF}(\lambda)$ (ver texto) normalizados al valor de $R_{rsF}(\lambda)_{max}$.

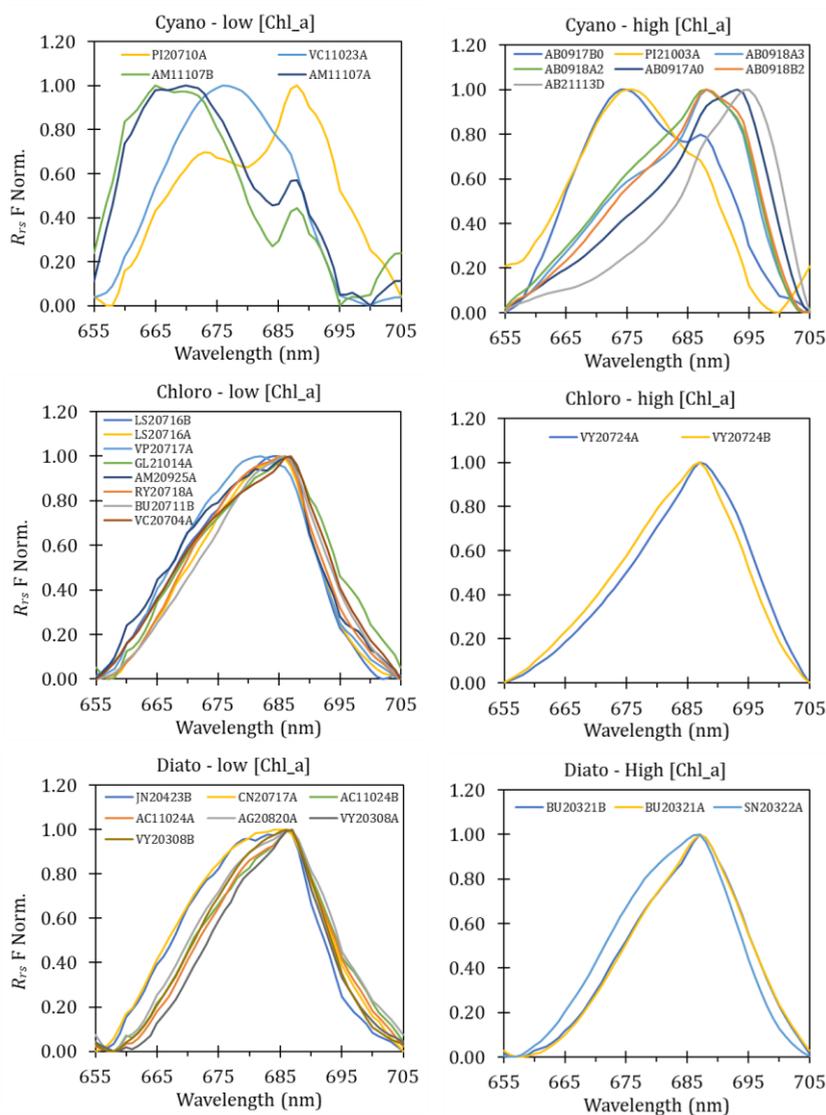


Figura 4.46. Espectros de $R_{rsF}(\lambda)$ (ver texto) normalizados al valor de $R_{rsF}(\lambda)_{max}$.

A falta de análisis cuantitativos más precisos (reconstrucción de la curva de emisión eliminando los efectos de la atenuación en la columna de agua, descomposición gaussiana para identificar contribuciones de ficobiliproteínas, PS II y PS I), el simple análisis cualitativo preliminar, permite extraer varias observaciones relevantes:

- En poblaciones dominadas por eucariotas (como, por ejemplo, Diatomeas o Clorofíceas), la forma de la curva es muy semejante en todos los puntos, con un máximo a $\lambda \approx 687 \text{ nm}$.
- No obstante, se observan diferencias en la forma espectral entre los puntos de baja y alta [Chl_a], que podrían deberse a un efecto mayor de reabsorción de la emisión de fluorescencia en los segundos.
- En poblaciones dominadas por Cianobacterias se observa una gran variedad de formas espectrales, que es coherente con la variedad esperada a partir de los espectros de emisión de fluorescencia en vivo (Figura 2.21). Los espectros de $R_{rsF}(\lambda)$ obtenidos muestran la contribución de al menos dos curvas de emisión combinadas en proporciones variables, con un pico a 687 nm, atribuible al PS II y otro pico, en torno a 670 nm que es muy verosímil pensar que se debe a la fluorescencia de las ficobiliproteínas (contando con la modificación de la forma espectral debida a la reabsorción de la Clorofila-a).
- Las diferencias observadas pueden deberse a diferencias interespecíficas dentro de las Cianobacterias, pero también a diferentes estados fisiológicos en el conjunto de las poblaciones observadas (y/o diferentes proporciones de células vivas y muertas, en especial en los puntos de elevada biomasa). El análisis más detallado de los géneros de Cianobacterias en cada punto, así como del perfil de [Chl_a], indicador de situaciones de *blooms* con alto porcentaje de células muertas en superficie, podría dar información adicional en apoyo de una u otra hipótesis.
- En aquellos eucariotas en los que la presencia de ficobiliproteínas es variable, según las especies (Criptofíceas y Dinoflagelados-Tipo-3, Figura 2.13) se observa también en algunos puntos el efecto de un segundo pico a 670 nm.
- En puntos con poblaciones mixtas, se observan también curvas anchas, con varios picos o sin un pico definido.

La forma espectral de los espectros obtenidos parece estar proporcionando, no sólo información cuantitativa relacionada con la emisión de SICF (y del rendimiento cuántico, como se verá más adelante), sino también información taxonómica y probablemente una indicación del estado fisiológico del fitoplancton, especialmente en el caso de las Cianobacterias.

4.3.4.1. Estimación del rendimiento cuántico

Para hacer un análisis cuantitativo de las curvas de $R_{rsF}(\lambda)$ obtenidas de la reflectividad *in situ*, se llevó a cabo una comparación con las obtenidas por HydroLight (HL), $R_{rsF}(\lambda)_{HL}$, al hacer la diferencia entre la simulación con y sin fluorescencia:

$$R_{rsF}(\lambda)_{HL} = R_{rs}N_{720}(\lambda)_F - R_{rs}N_{720}(\lambda)_{elastic} \quad 4.28$$

Donde $R_{rs}N_{720}(\lambda)_F$ es la reflectividad simulada con fluorescencia, utilizando el rendimiento cuántico calculado según la ecuación 4.11 (Capítulo 4.2.2.6); y $R_{rs}N_{720}(\lambda)_{elastic}$ es la reflectividad simulada sin fluorescencia,

La Figura 4.47 muestra varios ejemplos de los espectros obtenidos por HydroLight al correr dos simulaciones idénticas de PHYBOM, con y sin simulación de fluorescencia, comparándolos con los que se obtuvieron a partir de los datos *in situ*, con la metodología detallada en el capítulo anterior. Del análisis de esa comparación, en todos los espectros simulados, se extrajeron las siguientes conclusiones:

- Los espectros de $R_{rsF}(\lambda)_{HL}$ obtenidos no muestran, como era esperable, la diversidad de formas espectrales que se obtiene de los espectros *in situ*, pues en HydroLight la simulación se hace siempre con la misma gaussiana, por lo que las diferencias observadas se deben sólo a los efectos de atenuación en la columna de agua y de reabsorción por la Clorofila-a.
- No obstante, el efecto de esa reabsorción es similar en ambos casos (*in situ* y en HL), de manera que mientras que en los puntos de baja concentración de Clorofila-a las curvas mantienen una cierta simetría en torno al máximo, para [Chl_a] altas la curva queda "laminada" en la región $655 \leq \lambda \leq 685 \text{ nm}$, alejándose de la forma de la gaussiana y disminuyendo la magnitud de la curva y la pendiente espectral.
- El efecto neto es que, en los espectros obtenidos con la fluorescencia simulada, el máximo de $R_{rsF}(\lambda)_{HL}$ se encuentra siempre en $\lambda = 687 \text{ nm}$. Esta longitud de onda coincide con el máximo observado con los datos *in situ* cuando el fitoplancton está dominado por eucariotas. Pero, como ya se comentó anteriormente, la simulación con una única gaussiana no permite reproducir la forma espectral observada en Cianobacterias.

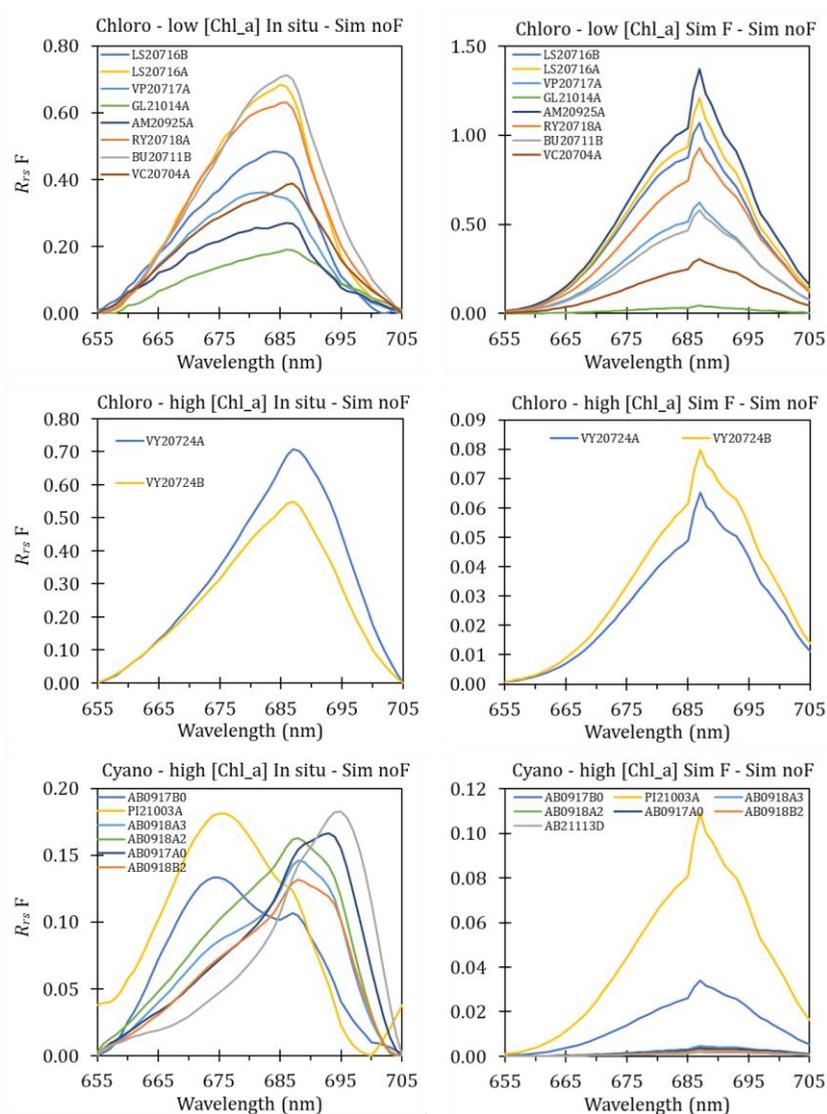


Figura 4.47. Ejemplos de espectros de $R_{rsF}(\lambda)$ obtenidos a partir de las reflectividades in situ (izquierda) y los obtenidos por HydroLight (derecha) con el valor inicial del rendimiento cuántico ($\phi_{F ini}$) calculado según se detalla en el Capítulo 4.2.2.6.

Otra conclusión del análisis de los espectros de $R_{rsF}(\lambda)_{HL}$ es que la estimación inicial, basada en el rendimiento cuántico, $\phi_{F ini}$, calculado con la aproximación empírica descrita en el Capítulo 4.2.2.6 (ecuación 4.11), era demasiado grosera

como para reproducir la variabilidad de rendimientos cuánticos que se dan en condiciones reales, en las que las diferencias interespecíficas y el estado fisiológico tienen un mayor peso que la [Chl_a], teniendo en cuenta que el ajuste empírico de la ecuación 4.11 ya asumía un error alto.

Aunque en algunos puntos la altura del pico en $R_{rsF}(\lambda)_{HL}$ es semejante a la de $R_{rsF}(\lambda)$, las diferencias son muy notables en algún caso, como se puede comprobar en los ejemplos mostrados en la Figura 4.47. A la vista de estos resultados se planteó la siguiente hipótesis: si existiera una relación lineal entre la altura del pico y/o el área de la curva y el rendimiento cuántico ϕ_F , se podría recalculer el ϕ_F para los puntos de validación y lanzar con esos nuevos valores una nueva simulación en la que, si bien la forma espectral seguiría estando limitada por el método usado en HydroLight, la altura del pico y el área resultante serían más próximos.

Para verificar esa hipótesis se comenzó calculando el área, la posición del máximo y su magnitud (altura del pico), tanto en $R_{rsF}(\lambda)_{HL}$ como en $R_{rsF}(\lambda)$.

Se calcularon las fracciones de alturas, f_{peak} , o de áreas, f_{area} , definidas como:

$$f_{peak} = \frac{\max [R_{rsF}(\lambda)]}{\max [R_{rsF}(\lambda)_{HL}]} \quad 4.29$$

$$f_{area} = \frac{\int_{\lambda=655}^{705} R_{rsF}(\lambda)}{\int_{\lambda=655}^{705} R_{rsF}(\lambda)_{HL}} \quad 4.30$$

Y se calcularon los nuevos rendimientos cuánticos, $\phi_{F_{fin}}$, como:

$$\phi_{F_{fin}(peak)} = f_{peak} \cdot \phi_{F_{ini}} ; \quad \phi_{F_{fin}(area)} = f_{area} \cdot \phi_{F_{ini}} \quad 4.31$$

Se analizó la relación entre los $\phi_{F_{fin}}$ obtenidos a partir de f_{peak} , o de f_{area} , obteniéndose:

$$\phi_{F_{fin}(area)} = 1.204 \cdot \phi_{F_{fin}(peak)} \quad R^2 = 0.989 \quad 4.32$$

Es decir, la estimación a partir de las áreas daba un valor un 20% más alto, de forma sistemática, que la estimación a partir de la altura de los picos. La estimación de $\phi_{F_{fin}(area)}$ se consideró potencialmente más inexacta, al partir de diferencias muy notables en la simulación de la forma de la curva, por lo que

se adoptó la estimación de $\phi_{F_{fin}(peak)}$ como la potencialmente más aproximada al rendimiento cuántico real de los datos *in situ*.

Con esta estimación de $\phi_{F_{fin}}$ para los 72 puntos de la validación, se repitió la simulación de HydroLight con exactamente los mismos datos de entrada que la simulación inicial, salvo el rendimiento cuántico de la SICF. En los espectros obtenidos se volvió a obtener $R_{rSF}(\lambda)_{HL}$ y se calcularon las alturas del pico. El resultado mostró una correlación muy alta (Figura 4.48) con las alturas obtenidas a partir de los datos *in situ*, lo que confirmaba que la hipótesis de partida era adecuada para recalculer ϕ_F .

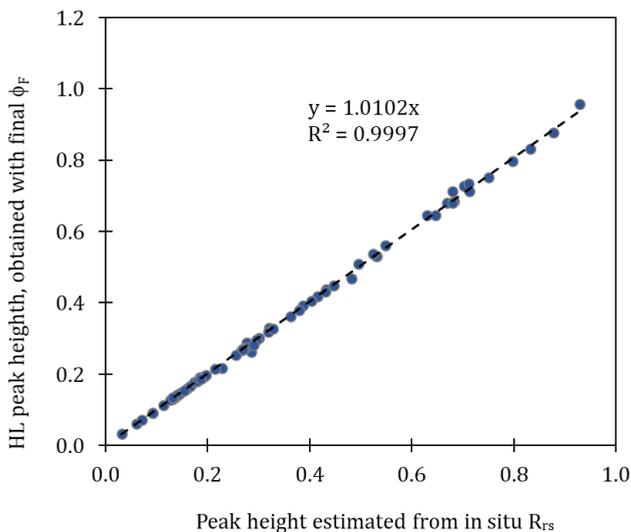


Figura 4.48. Ajuste por regresión lineal entre el pico de la curva de R_{rSF} obtenido de los datos *in situ* y el obtenido de la simulación final con la estimación final de ϕ_F .

Los resultados, analizados punto a punto (Figura 4.49) muestran como en la simulación final con $\phi_{F_{fin}}$ los espectros de $R_{rSF}(\lambda)_{HL}$ son ahora muy semejantes a los de $R_{rSF}(\lambda)$, en cuanto a la altura de pico, confirmando que la aproximación escogida ha servido para recalculer el rendimiento cuántico de la SICF y así obtener un espectro de reflectividad aparente mucho más cercano al de las $R_{rS}(\lambda)$ medidas *in situ*.

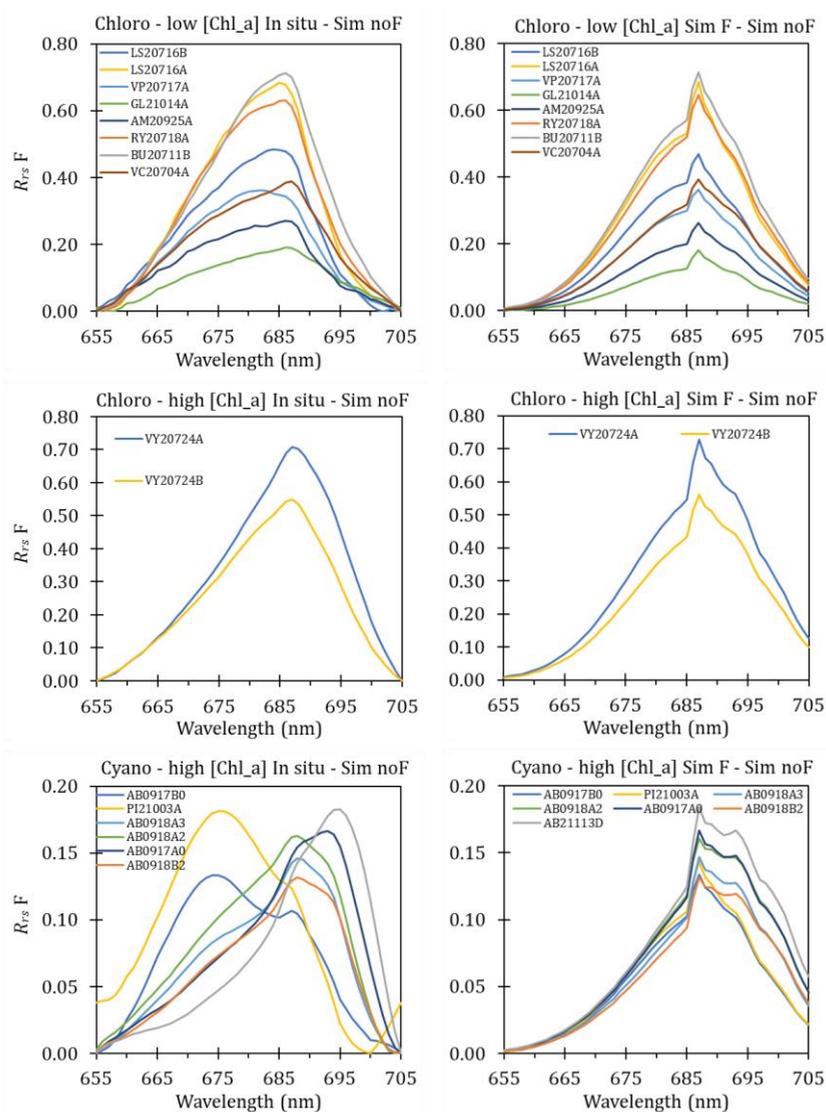


Figura 4.49. Ejemplos de espectros de $R_{rsF}(\lambda)$ obtenidos a partir de las reflectividades in situ (izquierda) y los obtenidos por HydroLight (derecha) con el valor final del rendimiento cuántico ($\phi_{F_{fin}}$) calculado según se detalla en el texto.

Al margen de la utilidad para refinar los resultados de la simulación, la aproximación utilizada podría aplicarse con carácter general, como un método para estimar el rendimiento cuántico real de poblaciones de fitoplancton, combinando medidas de reflectividad y simulación con PHYBOM e HydroLight.

5. Conclusiones

5.1. Conclusiones generales

Esta tesis partía de la hipótesis de que es posible estimar y modelizar la contribución de los distintos grupos del fitoplancton a la reflectividad espectral de las aguas continentales, partiendo de su composición pigmentaria y tamaño celular. Y para verificar la hipótesis, planteaba dos objetivos principales:

- 1) La caracterización conjunta de la composición taxonómica, pigmentaria y propiedades ópticas de poblaciones naturales del fitoplancton de lagos y embalses de la Península ibérica.
- 2) El desarrollo y validación de un modelo bio-óptico capaz de simular, con un error aceptable para aplicaciones de teledetección, la variabilidad óptica debida al fitoplancton, materia orgánica disuelta y partículas no algales, observada en la caracterización de lagos y embalses ibéricos.

Los resultados de la validación de PHYBOM con las reflectividades medidas en la caracterización bio-óptica, proporcionan un sólido respaldo a la hipótesis principal de esta tesis. PHYBOM ha reproducido, con un RRMSE global del 20%, la variabilidad de espectros de reflectividad de teledetección (R_{rs}) en un subconjunto de la base de datos (N=72) que incluía tanto puntos con poblaciones mixtas de fitoplancton como con dominancia de una clase taxonómica, coexistiendo con concentraciones variables de CDOM y partículas no algales.

La mediana de los errores relativos en la simulación de R_{rs} es inferior al 10% en casi todo el espectro visible (400-700 nm), que es la región cuya forma espectral está determinada por la composición pigmentaria del fitoplancton. En

44 de los 72 puntos el error en la región visible es inferior al 10% y tan sólo en 10 puntos es superior al 20%. Los errores inferiores al 10% se suelen considerar buenos en el contexto de la teledetección de la calidad del agua, aunque para aseverar esto de forma más precisa habría que analizar el impacto de estos errores en un conjunto representativo de los algoritmos de obtención de variables de calidad del agua más utilizados, hasta ahora, con sensores multispectrales. Igualmente, este análisis permitiría evaluar hasta qué punto los mayores errores relativos observados en el infrarrojo (en la mayoría de los puntos, inferiores a 20% hasta 800 nm, pero superiores en el intervalo 800-900 nm) tienen o no un impacto significativo en el error de los productos de teledetección obtenidos utilizando esta región espectral.

No se ha podido hacer una validación detallada de la simulación de las IOP en PHYBOM, por no contar con suficientes medidas en la base de datos de la caracterización, aunque los resultados en la simulación de la reflectividad indican, de manera indirecta, un buen desempeño del modelo la generación de las IOP, tanto del fitoplancton, como del resto de OAC (detritus, CDOM y NAP).

En conjunto, se puede afirmar que se han alcanzado los dos objetivos principales enunciados al comienzo de esta tesis y que la hipótesis central, si bien no se puede considerar plenamente verificada (para lo que harían falta más datos de validación, incluyendo IOP) sí se puede considerar suficientemente respaldada por los resultados obtenidos.

Del análisis de los resultados se pueden extraer más conclusiones, que se resumen a continuación, agrupadas según su contexto.

Caracterización bio-óptica

La base de datos obtenida es representativa, no sólo de los intervalos de concentraciones de OAC y tipos ópticos de masas de agua ibéricas, sino de una porción significativa de los que se han descrito hasta ahora en diferentes regiones del planeta, tal y como se ha puesto de manifiesto al comparar sus estadísticos con los de la base de datos global GLORIA (Lehman *et al.*, 2023).

Constituye un raro ejemplo, en aguas continentales, de estudio conjunto detallado de la composición taxonómica y pigmentaria del fitoplancton y de la reflectividad. Disponer de información taxonómica y pigmentaria, junto con la

de otros OAC ha sido esencial para interpretar los resultados de las simulaciones de la reflectividad espectral.

La información taxonómica, obtenida mediante análisis de microscopía óptica, ha permitido extraer información morfológica básica de las poblaciones de fitoplancton, comparable con la que se obtiene habitualmente con otros métodos de análisis.

Desarrollo del modelo bio-óptico

Las capacidades actuales de PHYBOM y los resultados obtenidos están condicionados por las asunciones y aproximaciones escogidas en su diseño e implementación. Se ha buscado un equilibrio entre la mejor representación posible del proceso físico simulado y su simplicidad, entendida como facilidad de implementación, bajo coste computacional y reducido número de parámetros.

La simulación de la dispersión de detritus, partículas no algales y fitoplancton, así como el efecto de empaquetamiento, se basa en la Aproximación de la Difracción Anómala (ADA) a la Teoría de Mie, que asume partículas esféricas homogéneas, grandes con respecto a la longitud de onda y con un índice de refracción relativo al agua cercano a 1. En el caso del fitoplancton, se utiliza una variante bicapa de esta aproximación, diferenciando además dos tipos celulares representativos de procariotas y eucariotas, respectivamente. En todos los casos se simula el efecto de la dispersión anómala en la cercanía de las bandas de absorción mediante las relaciones de Kramers-Kronig y se asume una forma hiperbólica en la función de distribución de partículas con una pendiente próxima a 4.

La caracterización bio-óptica muestra que las poblaciones naturales de fitoplancton se alejan en diferente grado, tanto en su forma y estructura interna como en su distribución de tamaños, de las asunciones anteriores, por lo que es esperable que parte del error en la simulación derive de la desviación de las poblaciones reales respecto de las simplificaciones y asunciones consideradas en PHYBOM. Esto es aplicable también a los detritus y a las partículas no algales, simuladas asumiendo un único tipo o cinco tipos genéricos de partícula, respectivamente.

En la simulación de los espectros de absorción del fitoplancton también se asume: un número limitado de pigmentos (quince, en la versión actual de PHYBOM); una resolución espectral de 1 nm; una concentración intracelular de clorofila estimada a partir del diámetro celular por una relación empírica obtenida de la caracterización bio-óptica (asumiendo una distribución homogénea en la célula y/o el cloroplasto) y unos espectros de absorción específica de los pigmentos *in vivo* determinados en estudios previos, principalmente a partir de muestras marinas. Es esperable que tanto el número de pigmentos presentes como su concentración y distribución intracelular, así como la forma y magnitud de sus espectros de absorción específica, varíen, en las poblaciones de la base de datos de validación, respecto de los valores nominales del modelo. El efecto de estas diferencias se puede intuir, de manera cualitativa, en las diferencias en la forma espectral simulada y medida en algunos puntos.

La simulación de la absorción del fitoplancton por grupos taxonómicos se basa en unos valores promedio de los ratios Pigmento : Clorofila-a, obtenidos principalmente de la caracterización bio-óptica. Deben considerarse como la mejor aproximación posible, basada en la información disponible, a los ratios reales de las clases taxonómicas consideradas, pero, obviamente, asumiendo que existe una notable desviación respecto de esos valores medios, debida a diferencias interespecíficas y a efectos de fotoaclimatación, como factores principales pero no únicos. No obstante, hay que considerar los ratios como valores nominales, que se pueden modificar para simular la variabilidad natural.

Validación del modelo bio-óptico

Además de las conclusiones generales descritas anteriormente, tanto el análisis de sensibilidad como el de la fluorescencia de la Clorofila-a (SICF), permiten extraer otras conclusiones relevantes:

Los errores en la simulación de la reflectividad parecen ser más sensibles a los parámetros relacionados principalmente con la retrodispersión que aquellos relacionados con la absorción. Así, variaciones relativas similares en los valores de entrada tienen un mayor impacto en el caso del diámetro celular o la concentración de NAP, que en el caso de la concentración de Clorofila-a o Ficocianina. El CDOM por su parte, tiene un impacto mayor que la Clorofila-a en

los cambios en el valor absoluto y forma espectral de la reflectividad en la región visible, mientras que las condiciones de contorno (velocidad del viento y ángulo cenital solar) tienen un efecto pequeño para los mismos intervalos de error relativo.

Atribuir qué proporción de los efectos observados es debida al impacto real de cada OAC en la reflectividad y qué proporción se debe a la propia formulación y diseño del modelo, es una tarea compleja que no se ha abordado en este trabajo. No obstante, asumiendo una cierta incertidumbre en esa atribución, es relevante el mayor impacto relativo de las partículas no algales y el CDOM en los errores observados, respecto de los parámetros del fitoplancton. Una conclusión práctica de esta observación es que, al menos en las aguas continentales, aunque el fitoplancton sea dominante en la señal, es importante medir de forma exacta y precisa el resto de OAC si queremos simular los espectros de reflectividad con un error pequeño.

En cuanto al análisis de la SICF, se pueden extraer varias conclusiones relevantes:

- La combinación de espectros de reflectividad simulada, sin fluorescencia, y medidos *in situ*, ha permitido extraer la contribución de la emisión de fluorescencia a la reflectividad aparente.
- La formas espectrales obtenidas son el resultado de la emisión de fluorescencia por los fotosistemas PS II y PS I y por las ficobiliproteínas, modificada por la reabsorción de la Clorofila-a.
- A partir de la altura del pico (máximo sobre la curva de reflectividad elástica) se ha estimado el rendimiento cuántico de fluorescencia. La coherencia de los resultados obtenidos con las medidas *in situ* es una indicación de la validez de la aproximación.

5.2. Perspectivas

PHYBOM ha sido concebido como una herramienta de simulación pensada preferentemente para aplicaciones en teledetección. Por ello, el desarrollo y la validación de esta primera versión se pueden considerar como los primeros pasos necesarios para comenzar su aplicación en los siguientes trabajos:

- Generación de una base de datos simulados de IOP y AOP (incluyendo R_{rs}) para un número elevado de combinaciones de abundancias de las clases principales de fitoplancton y/o concentraciones de pigmentos, variando también las concentraciones del resto de OAC (NAP y CDOM)
- Desarrollo y calibración de modelos de inversión para la estimación, a partir de las reflectividades simuladas, de la concentración de pigmentos fotosintéticos, composición taxonómica del fitoplancton y otros OAC.
- Validación de los modelos con datos in situ y aplicación en imágenes de sensores hiperespectrales (PRISMA, DESIS o EnMAP a corto plazo, PACE o FLEX a medio plazo).

En cuanto a posibles mejoras del modelo, la lista, que no pretende ser exhaustiva, incluye:

- Adaptar el código para simulaciones con perfiles verticales con concentraciones de OAC y/o IOP variables en profundidad (incluyendo la simulación de efectos de fotoaclimatación).
- Adaptar el código para simulaciones con profundidad “no infinita” con diferentes tipos de reflectividad del fondo.
- Mejorar la simulación de la SICF en HydroLight, incluyendo las funciones de fase para el fotosistema PS I y para las ficobiliproteínas.
- Introducir nuevos pigmentos, siendo la Diatoxantina el primer candidato, para poder simular el ciclo de las xantofilas existente en las Diatomeas.
- Explorar el uso de modelos multicapa y/o modelos para partículas no esféricas para simular las IOP y en especial la dispersión.

-
- Explorar la generalización de los modelos de simulación de las NAP para definir las poblaciones de partículas no algales en función de su índice de refracción relativo promedio y su PSD.
 - Modificar el código para poder realizar simulaciones “en bucle” con Hydrolight, en las que los parámetros de entrada se van modificando de manera iterativa mediante una función de minimización que lee los resultados de una salida de HydroLight y genera los parámetros ajustados para la ejecución siguiente, sin intervención del usuario.
 - Desarrollo e implementación de una interfaz gráfica de usuario (GUI) para extender el uso de PHYBOM a un número amplio de potenciales usuarios.
 - Desarrollo e implementación de un módulo de generación de informes automáticos con estadísticos y gráficos.

Referencias bibliográficas

Aguirre-Gómez, R., Boxall, S. R., & Weeks, A. R. (2001). Detecting photosynthetic algal pigments in natural populations using a high-spectral-resolution spectroradiometer. *International Journal of Remote Sensing*, 22(15), 2867-2884.

Ahn, Y. H., Bricaud, A., & Morel, A. (1992). Light backscattering efficiency and related properties of some phytoplankters. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 39(11-12), 1835-1855.

Ahn, Y. H. (1990). Propriétés optiques des particules biologiques et minérales présentes dans l'océan. Application: inversion de la réflectance (Doctoral dissertation, Paris 6).

Albert, A., & Mobley, C. D. (2003). An analytical model for subsurface irradiance and remote sensing reflectance in deep and shallow case-2 waters. *Optics Express*, 11(22), 2873-2890.

Armbrecht, L.H., Wright, S.W., Petocz, P., Armand, L.K. 2015. A new approach to testing the agreement of two phytoplankton quantification techniques: Microscopy and CHEMTAX: Agreement between microscopy and CHEMTAX. *Limnology and Oceanography: Methods*. 13: 425-437. doi:10.1002/lom3.10037

Babin, M., Morel, A., Fournier-Sicre, V., Fell, F., & Stramski, D. (2003). Light scattering properties of marine particles in coastal and open ocean waters as related to the particle mass concentration. *Limnology and oceanography*, 48(2), 843-859.

Babin, M., Stramski, D., Ferrari, G. M., Claustre, H., Bricaud, A., Obolensky, G., & Hoepffner, N. (2003). Variations in the light absorption coefficients of phytoplankton, nonalgal particles, and dissolved organic matter in coastal waters around Europe. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 108(C7).

Behrenfeld, M. J., Westberry, T. K., Boss, E., O'Malley, R. T., Siegel, D. A., Wiggert, J. D., ... & Mahowald, N. (2009). Satellite-detected fluorescence reveals global physiology of ocean phytoplankton. *Biogeosciences*, 6(5), 779-794.

Bennet, A., & Bogorad, L. (1973). Complementary chromatic adaptation in cyanobacteria. *J Bacteriol*, 130, 82-91.

Bennett, A., & Bogorad, L. (1973). Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *The Journal of cell biology*, 58(2), 419-435.

Bernard, S., Probyn, T. A., & Barlow, R. G. (2001). Measured and modelled optical properties of particulate matter in the southern Benguela. *South African Journal of Science*, 97(9), 410-420.

Bernard, S., Shillington, F. A., & Probyn, T. A. (2007). The use of equivalent size distributions of natural phytoplankton assemblages for optical modeling. *Optics express*, 15(5), 1995-2007.

- Bernard, S., Probyn, T. A., & Quirantes, A. (2009). Simulating the optical properties of phytoplankton cells using a two-layered spherical geometry. *Biogeosciences Discussions*, 6(1), 1497-1563.
- Bidigare, R. R., Ondrusek, M. E., Morrow, J. H., & Kiefer, D. A. (1990, September). In-vivo absorption properties of algal pigments. In *Ocean Optics X* (Vol. 1302, pp. 290-302). SPIE.
- Bohren, C. F., & Huffman, D. R. (2008). *Absorption and scattering of light by small particles*. John Wiley & Sons.
- Borics, G., Abonyi, A., Salmaso, N., & Ptacnik, R. (2021). Freshwater phytoplankton diversity: models, drivers and implications for ecosystem properties. *Hydrobiologia*, 848, 53-75.
- Bricaud, A., & Morel, A. (1986). Light attenuation and scattering by phytoplanktonic cells: a theoretical modeling. *Applied optics*, 25(4), 571-580.
- Bricaud, A., Morel, A., & Prieur, L. (1981). Absorption by dissolved organic matter of the sea (yellow substance) in the UV and visible domains. *Limnol. Oceanogr*, 26(1), 43-53.
- Bricaud, A., Babin, M., Morel, A., & Claustre, H. (1995). Variability in the chlorophyll-specific absorption coefficients of natural phytoplankton: Analysis and parameterization. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 100(C7), 13321-13332.
- Bricaud, A., Morel, A., Babin, M., Allali, K., & Claustre, H. (1998). Variations of light absorption by suspended particles with chlorophyll a concentration in oceanic (case 1) waters: Analysis and implications for bio-optical models. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 103(C13), 31033-31044.
- Bricaud, A., Claustre, H., Ras, J., & Oubelkheir, K. (2004). Natural variability of phytoplanktonic absorption in oceanic waters: Influence of the size structure of algal populations. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 109(C11).
- Buchaca, T., Felip, M., & Catalan, J. (2005). A comparison of HPLC pigment analyses and biovolume estimates of phytoplankton groups in an oligotrophic lake. *Journal of Plankton Research*, 27(1), 91-101.
- Canuti, E., Artuso, F., Bracher, A., Brotas, V., Devred, E., Dimier, C., ... & Wiegmann, S. (2022). *The Fifth HPLC Intercomparison on Phytoplankton Pigments (HIP-5) JRC Technical Report*.
- Carlson, R. E., & Simpson, J. (1996). *A coordinator's guide to volunteer lake monitoring methods*. North American Lake Management Society, 96, 305.
- Cavalier-Smith, T. (2006). Cell evolution and Earth history: stasis and revolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 361(1470), 969-1006.
- Chase, A. P., Boss, E., Cetinić, I., & Slade, W. (2017). Estimation of phytoplankton accessory pigments from hyperspectral reflectance spectra: toward a global algorithm. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 122(12), 9725-9743.
- Commission Internationale de l'Éclairage. (1931). *Commission internationale de l'Éclairage proceedings*.

- Clavano W.R., Boss E., Karp-Boss L. (2007). Inherent optical properties of non-spherical marine-like particles from theory to observation. *Oceanography and marine biology: an annual review*, 45, 1-38.
- Cleveland, J. S., & Weidemann, A. D. (1993). Quantifying absorption by aquatic particles: A multiple scattering correction for glass-fiber filters. *Limnology and Oceanography*, 38(6), 1321-1327.
- Cox, C., & Munk, W. (1954). Measurement of the roughness of the sea surface from photographs of the sun's glitter. *Josa*, 44(11), 838-850.
- Cvjetinovic, J., Nozdriukhin, D. V., Bedoshvili, Y. D., Salimon, A. I., Korsunsky, A. M., & Gorin, D. A. (2021, July). Assessment of diatom growth using fluorescence imaging. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1984, No. 1, p. 012017). IOP Publishing.
- Dauchet, J., Blanco, S., Cornet, J. F., & Fournier, R. (2015). Calculation of the radiative properties of photosynthetic microorganisms. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 161, 60-84.
- Hoyos, C. D., Negro, A. I., & Aldasoro Martín, J. J. (2004). Cyanobacteria distribution and abundance in the Spanish water reservoirs during thermal stratification. *Limnetica*, 23(1-2), 119-132.
- Descy, J. P., Sarmiento, H., & Higgins, H. W. (2009). Variability of phytoplankton pigment ratios across aquatic environments. *European Journal of Phycology*, 44(3), 319-330.
- Dokulil, M. T., & Qian, K. (2021). Photosynthesis, carbon acquisition and primary productivity of phytoplankton: a review dedicated to Colin Reynolds. *Hydrobiologia*, 848(1), 77-94.
- Edler, L., & Elbrächter, M. (2010). The Utermöhl method for quantitative phytoplankton analysis. *Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis*, 110, 13-20.
- Egeland, E. S., Garrido, J. L., Clementson, L., Andersen, K., Thomas, C. S., Zapata, M., ... & Roy, S. (2011). Data sheets aiding identification of phytoplankton carotenoids and chlorophylls.
- Falkowski, P., & Kiefer, D. A. (1985). Chlorophyll a fluorescence in phytoplankton: relationship to photosynthesis and biomass. *Journal of Plankton Research*, 7(5), 715-731.
- Falkowski, P. G., & Raven, J. A. (2013). *Aquatic photosynthesis*. Princeton University Press.
- Fargion, G. S. (2000). *Ocean optics protocols for satellite ocean color sensor validation, revision 2* (Vol. 209966). National Aeronautics and Space Administration, Goddard Space Flight Center.
- Ferrari, G. M., & Tassan, S. (1999). A method using chemical oxidation to remove light absorption by phytoplankton pigments. *Journal of Phycology*, 35(5), 1090-1098.
- Ficek, D., Kaczmarek, S., Stoń-Egiert, J., Wozniak, B., Majchrowski, R., & Dera, J. (2004). Spectra of light absorption by phytoplankton pigments in the Baltic; conclusions to be drawn from a Gaussian analysis of empirical data. *Oceanologia*, 46(4).
- Finlayson, C. (2014). *The improbable primate: how water shaped human evolution*. Oxford University Press.

- Fournier, G. R., & Forand, J. L. (1994, October). Analytic phase function for ocean water. In *Ocean Optics XII* (Vol. 2258, pp. 194-201). SPIE.
- Gege, P. (2004). The water color simulator WASI: an integrating software tool for analysis and simulation of optical in situ spectra. *Computers & Geosciences*, 30(5), 523-532.
- Gege, P. (2014). WASI-2D: A software tool for regionally optimized analysis of imaging spectrometer data from deep and shallow waters. *Computers & Geosciences*, 62, 208-215.
- Gege, P. (2017). Radiative transfer theory for inland waters. In *Bio-optical Modeling and Remote Sensing of Inland Waters* (pp. 25-67). Elsevier.
- Giardino, C., Candiani, G., Bresciani, M., Lee, Z., Gagliano, S., & Pepe, M. (2012). BOMBER: A tool for estimating water quality and bottom properties from remote sensing images. *Computers & Geosciences*, 45, 313-318.
- Giardino, C., Bresciani, M., Stroppiana, D., Oggioni, A., & Morabito, G. (2014). Optical remote sensing of lakes: an overview on Lake Maggiore. *Journal of Limnology*, 73.
- Gilerson, A., Zhou, J., Hlaing, S., Ioannou, I., Schalles, J., Gross, B., ... & Ahmed, S. (2007). Fluorescence component in the reflectance spectra from coastal waters. Dependence on water composition. *Optics Express*, 15(24), 15702-15721.
- Gilerson, A., Zhou, J., Hlaing, S., Ioannou, I., Schalles, J., Gross, B., ... & Ahmed, S. (2007). Fluorescence component in the reflectance spectra from coastal waters. Dependence on water composition. *Optics Express*, 15(24), 15702-15721.
- Gleick, P. H. (1993). *Water in crisis* (Vol. 100). New York: Oxford University Press.
- Gobierno de España, 2020. Agenda 2030. <https://www.agenda2030.gob.es/es/objetivos>
- Gordon, H. R., & McCluney, W. R. (1975). Estimation of the depth of sunlight penetration in the sea for remote sensing. *Applied optics*, 14(2), 413-416.
- Gordon, H. R., & Morel, A. Y. (1983). Remote assessment of ocean color for interpretation of satellite visible imagery: a review. Springer-Verlag. Berlin
- Gordon, H. R., Brown, O. B., & Jacobs, M. M. (1975). Computed relationships between the inherent and apparent optical properties of a flat homogeneous ocean. *Applied optics*, 14(2), 417-427.
- Gordon, H. R. (1989). Can the Lambert-Beer law be applied to the diffuse attenuation coefficient of ocean water? *Limnology and Oceanography*, 34(8), 1389-1409.
- Gould, R. W., Arnone, R. A., & Martinolich, P. M. (1999). Spectral dependence of the scattering coefficient in case 1 and case 2 waters. *Applied Optics*, 38(12), 2377-2383.
- Gregg, W. W., & Carder, K. L. (1990). A simple spectral solar irradiance model for cloudless maritime atmospheres. *Limnology and oceanography*, 35(8), 1657-1675.
- Grigoryeva, N., & Chistyakova, L. (2018). Fluorescence microscopic spectroscopy for investigation and monitoring of biological diversity and physiological state of cyanobacterial cultures. *Cyanobacteria*. Rijeka: IntechOpen, 11-44.
- Grigoryeva, N. (2019). Self-fluorescence of photosynthetic system-a powerful tool for investigation of microalgal biological diversity. *Microalgae-From Physiology to Application*, 3-26.

- Groom, S., Tyler, A., Hunter, P., Spyarakos, E., Martinez-Vicente, V., Merchant, C., ... & Scott, M. (2014, May). *GloboLakes: A global observatory of lake responses to environmental change*. In EGU General Assembly Conference Abstracts (p. 14124).
- Guanter, L., Ruiz-Verdú, A., Odermatt, D., Giardino, C., Simis, S., Estellés, V., ... & Moreno, J. (2010). Atmospheric correction of ENVISAT/MERIS data over inland waters: Validation for European lakes. *Remote Sensing of Environment*, 114(3), 467-480.
- Gupana, R. S., Damm, A., Rahaghi, A. I., Minaudo, C., & Odermatt, D. (2022). Non-photochemical quenching estimates from in situ spectroradiometer measurements: implications on remote sensing of sun-induced chlorophyll fluorescence in lakes. *Optics Express*, 30(26), 46762-46781.
- Hammerstein, S. (2019). *The meaning of phytoplankton diversity within lake ecosystems* (Doctoral dissertation, lmu).
- Harrison, A. W., & Coombes, C. A. (1988). An opaque cloud cover model of sky short wavelength radiance. *Solar Energy*, 41(4), 387-392.
- Hasle, G. R. (1978). The inverted-microscope method. In: Sournia, A. (ed.) *Phytoplankton manual*. UNESCO Monogr. Oceanogr. Method. 6: 88-96
- Hoepffner, N., & Sathyendranath, S. (1993). Determination of the major groups of phytoplankton pigments from the absorption spectra of total particulate matter. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 98(C12), 22789-22803.
- Højerslev, N. K. (2001). Analytic remote-sensing optical algorithms requiring simple and practical field parameter inputs. *Applied Optics*, 40(27), 4870-4874.
- Huan, Y., Sun, D., Wang, S., Zhang, H., Li, Z., Zhang, Y., & He, Y. (2022). Phytoplankton package effect in oceanic waters: Influence of chlorophyll-a and cell size. *Science of The Total Environment*, 838, 155876.
- International Ocean-Colour Coordinating Group (IOCCG). (2014). *Phytoplankton functional types from space*. Reports of the International Ocean-Colour Coordinating Group No. 15.
- Wright, S. W., Jeffrey, S. W., & Mantoura, R. F. C. (Eds.). (1997). *Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern Methods*. UNESCO publishing, Paris, 661 pp.
- Jeffrey, S. W., Wright, S. W., & Zapata, M. (2011). *Microalgal classes and their signature pigments*. In *Phytoplankton pigments: characterization, chemotaxonomy and applications in oceanography*. Cambridge University Press.
- Jeffrey, S. W. (1997). Introduction to marine phytoplankton and their pigment signatures. *Phytoplankton pigments in oceanography-Guidelines to modern methods*, 37-84.
- Jerlov, N. G. (1968). *Optical oceanography*. Elsevier.
- Johnsen, G., & Sakshaug, E. (1993). Bio-optical characteristics and photoadaptive responses in the toxic and bloom-forming dinoflagellates *Gyrodinium aureolum*, *gymnodinium galatheanum*, and two strains of *Prorocentrum minimum*. *Journal of Phycology*, 29(5), 627-642.
- Johnsen, G., Nelson, N. B., Jovine, R. V., & Prezelin, B. B. (1994). *dinoflagellates, Prorocentrum minimum and Heterocapsa pygmaea*. *Marine Ecology Progress Series*, 114, 245-258.

- Kauko, H. M., Pavlov, A. K., Johnsen, G., Granskog, M. A., Peeken, I., & Assmy, P. (2019). Photoacclimation state of an Arctic underice phytoplankton bloom. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 124(3), 1750-1762.
- Kirk, J. T. (1994). *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*. Cambridge university press.
- Kitchen, J. C., & Zaneveld, J. R. V. (1992). A three-layered sphere model of the optical properties of phytoplankton. *Limnology and oceanography*, 37(8), 1680-1690.
- Kravitz, J., Matthews, M., Lain, L., Fawcett, S., & Bernard, S. (2021). Potential for high fidelity global mapping of common inland water quality products at high spatial and temporal resolutions based on a synthetic data and machine learning approach. *Frontiers in Environmental Science*, 9, 587660.
- Lain, L. R., Bernard, S., & Evers-King, H. (2014). Biophysical modelling of phytoplankton communities from first principles using two-layered spheres: Equivalent Algal Populations (EAP) model. *Optics express*, 22(14), 16745-16758.
- Larkum, A. W., & Veski, M. (2003). Algal plastids: their fine structure and properties. *Photosynthesis in algae*, 11-28.
- Lee, Z., Carder, K. L., Mobley, C. D., Steward, R. G., & Patch, J. S. (1998). Hyperspectral remote sensing for shallow waters. I. A semianalytical model. *Applied optics*, 37(27), 6329-6338.
- Lee, Z., Marra, J., Perry, M. J., & Kahru, M. (2015). Estimating oceanic primary productivity from ocean color remote sensing: A strategic assessment. *Journal of Marine Systems*, 149, 50-59.
- Lehmann, M. K., Gurlin, D., Pahlevan, N., Alikas, K., Anstee, J., Balasubramanian, S. V., ... & Yue, L. (2023). GLORIA-A globally representative hyperspectral in situ dataset for optical sensing of water quality. *Scientific Data*, 10(1), 100.
- Lide, D. R. (Ed.). (2004). *CRC handbook of chemistry and physics* (Vol. 85). CRC press.
- Lide, D. R. (Ed.). (2004). *CRC handbook of chemistry and physics* (Vol. 85). CRC press.
- Lindell, T., Pierson, D., & Premazzi, G. (1999). *Manual for monitoring European lakes using remote sensing techniques*.
- Lohrenz, S. E., Weidemann, A. D., & Tuel, M. (2003). Phytoplankton spectral absorption as influenced by community size structure and pigment composition. *Journal of Plankton Research*, 25(1), 35-61.
- Lohrenz, S. E. (2000). A novel theoretical approach to correct for pathlength amplification and variable sampling loading in measurements of particulate spectral absorption by the quantitative filter technique. *Journal of plankton research*, 22(4), 639-657.
- Lozovik, P. A., Morozov, A. K., Zobkov, M. B., Dukhovicheva, T. A., & Osipova, L. A. (2007). Allochthonous and autochthonous organic matter in surface waters in Karelia. *Water Resources*, 34, 204-216.
- Mackey, M. D., Mackey, D. J., Higgins, H. W., & Wright, S. W. (1996). CHEMTAX-a program for estimating class abundances from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, 144, 265-283.

- Masuda, Y., Yamanaka, Y., Smith, S. L., Hirata, T., Nakano, H., Oka, A., & Sumata, H. (2021). Photoacclimation by phytoplankton determines the distribution of global subsurface chlorophyll maxima in the ocean. *Communications Earth & Environment*, 2(1), 128.
- Masuda, Y., Yamanaka, Y., Smith, S. L., Hirata, T., Nakano, H., Oka, A., ... & Aita, M. N. (2023). Acclimation by diverse phytoplankton species determines oceanic carbon to nitrogen ratios. *Limnology and Oceanography Letters*.
- Matthews, M. W., & Bernard, S. (2013). Using a two-layered sphere model to investigate the impact of gas vacuoles on the inherent optical properties of *Microcystis aeruginosa*. *Biogeosciences*, 10(12), 8139-8157.
- Matthews, M. W., & Bernard, S. (2013). Characterizing the absorption properties for remote sensing of three small optically-diverse South African reservoirs. *Remote Sensing*, 5(9), 4370-4404.
- Matthews, M. W., Bernard, S., Evers-King, H., & Lain, L. R. (2020). Distinguishing cyanobacteria from algae in optically complex inland waters using a hyperspectral radiative transfer inversion algorithm. *Remote Sensing of Environment*, 248, 111981.
- Mie, G. (1908). Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen der physik*, 330(3), 377-445.
- Mishchenko, M. I., Travis, L. D., & Mackowski, D. W. (1996). T-matrix computations of light scattering by nonspherical particles: A review. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 55(5), 535-575.
- Mobley, C. D., Gentili, B., Gordon, H. R., Jin, Z., Kattawar, G. W., Morel, A., ... & Stavn, R. H. (1993). Comparison of numerical models for computing underwater light fields. *Applied Optics*, 32(36), 7484-7504.
- Mobley, C. D., Sundman, L. K., & Boss, E. (2002). Phase function effects on oceanic light fields. *Applied optics*, 41(6), 1035-1050.
- Mobley, C. D. (1994). *Light and water: radiative transfer in natural waters*. Academic press.
- Mobley, C. D. (1999). Estimation of the remote-sensing reflectance from above-surface measurements. *Applied optics*, 38(36), 7442-7455.
- Mobley, C. D. (2015). Polarized reflectance and transmittance properties of windblown sea surfaces. *Applied optics*, 54(15), 4828-4849.
- Mobley, C. (2022). *The Oceanic Optics Book*.
- Moore, T. S., Dowell, M. D., Bradt, S., & Ruiz-Verdu, A. (2014). An optical water type framework for selecting and blending retrievals from bio-optical algorithms in lakes and coastal waters. *Remote sensing of environment*, 143, 97-111.
- Morel, A., & Bricaud, A. (1981). Theoretical results concerning light absorption in a discrete medium, and application to specific absorption of phytoplankton. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 28(11), 1375-1393.
- Morel, A., Bricaud, A. (1986) Inherent optical properties of algal cells including picoplankton: theoretical and experimental results. *Can Bull Fish Aquat Sci*, 214, 521-59.

- Morel, A., & Maritorena, S. (2001). Bio-optical properties of oceanic waters: A reappraisal. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 106(C4), 7163-7180.
- Morel, A. (1980). In-water and remote measurements of ocean color. *Boundary-layer meteorology*, 18(2), 177-201.
- Morowitz, H. J. (1993). *Beginnings of cellular life: metabolism recapitulates biogenesis*. Yale University Press.
- Moutier, W., Duforêt-Gaurier, L., Thyssen, M., Loisel, H., Mériaux, X., Courcot, L., ... & Alvain, S. (2016). Scattering of individual particles from cytometry: tests on phytoplankton cultures. *Optics express*, 24(21), 24188-24212.
- Mouw, C. B., Hardman-Mountford, N. J., Alvain, S., Bracher, A., Brewin, R. J., Bricaud, A., ... & Uitz, J. (2017). A consumer's guide to satellite remote sensing of multiple phytoplankton groups in the global ocean. *Frontiers in Marine Science*, 4, 41.
- Negro, A. I., & Hoyos, C. D. (2005). Relationships between diatoms and the environment in Spanish reservoirs. *Limnetica*, 24(1-2), 133-144.
- O'Shea, R. E., Pahlevan, N., Smith, B., Bresciani, M., Egerton, T., Giardino, C., ... & Vaičiūtė, D. (2021). Advancing cyanobacteria biomass estimation from hyperspectral observations: Demonstrations with HICO and PRISMA imagery. *Remote Sensing of Environment*, 266, 112693.
- Ostrowska, M., Woźniak, B., & Dera, J. (2012). Modelled quantum yields and energy efficiency of fluorescence, photosynthesis and heat production by phytoplankton in the World Ocean. *Oceanologia*, 54(4), 565-610.
- Pahlevan, N., Smith, B., Alikas, K., Anstee, J., Barbosa, C., Binding, C., ... & Ruiz-Verdú, A. (2022). Simultaneous retrieval of selected optical water quality indicators from Landsat-8, Sentinel-2, and Sentinel-3. *Remote Sensing of Environment*, 270, 112860.
- Palmer, J. D. (2003). The symbiotic birth and spread of plastids: how many times and whodunit? *Journal of Phycology*, 39(1), 4-12.
- Peña-Martínez, R., Ruiz-Verdú, A., & Domínguez-Gómez, J. A. (2005, April). Mapping of photosynthetic pigments in Spanish inland waters using MERIS imagery. In *Envisat & ERS Symposium (Vol. 572)*.
- Pérez, G. L., Galí, M., Royer, S. J., Gerea, M., Ortega-Retuerta, E., Gasol, J. M., ... & Simó, R. (2021). Variability of phytoplankton light absorption in stratified waters of the NW Mediterranean Sea: The interplay between pigment composition and the packaging effect. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 169, 103460.
- Phillips, G., Lyche-Solheim, A., Skjelbred, B., Mischke, U., Drakare, S., Free, G., ... & Carvalho, L. (2013). A phytoplankton trophic index to assess the status of lakes for the Water Framework Directive. *Hydrobiologia*, 704, 75-95.
- Pitarch, J., Ruiz-Verdú, A., Sendra, M. D., & Santoleri, R. (2017). Evaluation and reformulation of the maximum peak height algorithm (M PH) and application in a hypertrophic lagoon. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 122(2), 1206-1221.
- Pope, R. M., & Fry, E. S. (1997). Absorption spectrum (380–700 nm) of pure water. II. Integrating cavity measurements. *Applied optics*, 36(33), 8710-8723.

- Poulin, C., Zhang, X., Yang, P., & Huot, Y. (2018). Diel variations of the attenuation, backscattering and absorption coefficients of four phytoplankton species and comparison with spherical, coated spherical and hexahedral particle optical models. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 217, 288-304.
- Poulton, N. J., & Martin, J. L. (2010). Imaging flow cytometry for quantitative phytoplankton analysis-FlowCAM. *Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis*, 47.
- Preisendorfer, R. W. (1961). Application of radiative transfer theory to light measurements in the sea. *Union Geod. Geophys. Inst. Monogr.*, 10, 11-30.
- Quesada, A., & Vincent, W. F. (1993). Adaptation of cyanobacteria to the light regime within Antarctic microbial mats. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen*, 25(2), 960-965.
- Quirantes, A., & Bernard, S. (2004). Light scattering by marine algae: two-layer spherical and nonspherical models. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 89(1-4), 311-321.
- Reece, J. B., Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., & Jackson, R. B. (2014). *Campbell biology* (Vol. 9). Boston: Pearson.
- Reynolds, C. S., Huszar, V., Kruk, C., Naselli-Flores, L., & Melo, S. (2002). Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of plankton research*, 24(5), 417-428.
- Reynolds, C. S. (1988). Functional morphology and the adaptive strategies of freshwater phytoplankton. *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*, 388-433.
- Reynolds, C. S. (2006). *The ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press.
- Rice, E. W., Bridgewater, L., & American Public Health Association (Eds.). (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (Vol. 10). Washington, DC: American public health association.
- Roesler, C. S., Perry, M. J., & Carder, K. L. (1989). Modeling in situ phytoplankton absorption from total absorption spectra in productive inland marine waters. *Limnology and Oceanography*, 34(8), 1510-1523.
- Roy, S., Blouin, F., Jacques, A., & Therriault, J. C. (2008). Absorption properties of phytoplankton in the Lower Estuary and Gulf of St. Lawrence (Canada). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 65(8), 1721-1737.
- Roy, S., Llewellyn, C. A., Egeland, E. S., & Johnsen, G. (Eds.). (2011). *Phytoplankton pigments: characterization, chemotaxonomy and applications in oceanography*. Cambridge University Press.
- Ruiz-Verdú, A., Domínguez-Gómez, J. A., & Peña-Martínez, R. (2005). Use of CHRIS for monitoring water quality in Rosarito reservoir. *ESA Special Publication*, 593, 26.
- Ruiz-Verdú, A., Simis, S. G., de Hoyos, C., Gons, H. J., & Peña-Martínez, R. (2008). An evaluation of algorithms for the remote sensing of cyanobacterial biomass. *Remote Sensing of Environment*, 112(11), 3996-4008.

- Ruiz-Verdú, A., Koponen, S., Heege, T., Doerffer, R., Brockmann, C., Kallio, K., ... & Pulliainen, J. (2008). Development of MERIS lake water algorithms: Validation results from Europe.
- Salmaso, N., Naselli-Flores, L., & Padišak, J. (2015). Functional classifications and their application in phytoplankton ecology. *Freshwater Biology*, 60(4), 603-619.
- Sánchez, A. M., & Piera, J. (2016). Methods to retrieve the complex refractive index of aquatic suspended particles: going beyond simple shapes. *Biogeosciences*, 13(14), 4081-4098.
- Santabarbara, S., Remelli, W., Petrova, A. A., & Casazza, A. P. (2020). Influence of the Wavelength of Excitation and Fluorescence Emission Detection on the Estimation of Fluorescence-Based Physiological Parameters in Different Classes of Photosynthetic Organisms. In *Fluorescence methods for investigation of living cells and microorganisms*. IntechOpen.
- Sathyendranath, S., & Platt, T. (1997). Analytic model of ocean color. *Applied Optics*, 36(12), 2620-2629.
- Schaepman-Strub, G., Schaepman, M. E., Painter, T. H., Dangel, S., & Martonchik, J. V. (2006). Reflectance quantities in optical remote sensing—Definitions and case studies. *Remote sensing of environment*, 103(1), 27-42.
- Schlüter, L., Behl, S., Striebel, M., & Stibor, H. (2016). Comparing microscopic counts and pigment analyses in 46 phytoplankton communities from lakes of different trophic state. *Freshwater Biology*, 61(10), 1627-1639.
- Schlüter, L., Behl, S., Striebel, M., & Stibor, H. (2016). Comparing microscopic counts and pigment analyses in 46 phytoplankton communities from lakes of different trophic state. *Freshwater Biology*, 61(10), 1627-1639.
- Shifrin, K. S. (1998). *Physical optics of ocean water*. Springer Science & Business Media.
- Sieburth, J. M., Smetacek, V., & Lenz, J. (1978). Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions 1. *Limnology and oceanography*, 23(6), 1256-1263.
- Simis, S. G., & Kauko, H. M. (2012). In vivo mass-specific absorption spectra of phycobilipigments through selective bleaching. *Limnology and Oceanography: Methods*, 10(4), 214-226.
- Simis, S. G., Ruiz-Verdú, A., Domínguez-Gómez, J. A., Peña-Martínez, R., Peters, S. W., & Gons, H. J. (2007). Influence of phytoplankton pigment composition on remote sensing of cyanobacterial biomass. *Remote Sensing of Environment*, 106(4), 414-427.
- Sournia, A. (Ed.). (1978). *Phytoplankton manual*. UNESCO, UK. 337 pp
- Spyrakos, E., O'donnell, R., Hunter, P. D., Miller, C., Scott, M., Simis, S. G., ... & Tyler, A. N. (2018). Optical types of inland and coastal waters. *Limnology and Oceanography*, 63(2), 846-870.
- Spyrakos, E., O'donnell, R., Hunter, P. D., Miller, C., Scott, M., Simis, S. G., ... & Tyler, A. N. (2018). Optical types of inland and coastal waters. *Limnology and Oceanography*, 63(2), 846-870.
- Spyrakos, E., Hunter, P., Simis, S., Neil, C., Riddick, C., Wang, S., ... & Tyler, A. (2020, March). Moving towards global satellite based products for monitoring of inland and coastal waters. Regional examples from Europe and South America. In *2020 IEEE Latin American GRSS & ISPRS Remote Sensing Conference (LAGIRS)* (pp. 363-368). IEEE.

- Stramski, D., Morel, A., & Bricaud, A. (1988). Modeling the light attenuation and scattering by spherical phytoplanktonic cells: a retrieval of the bulk refractive index. *Applied Optics*, 27(19), 3954-3956.
- Stramski, D., Bricaud, A., & Morel, A. (2001). Modeling the inherent optical properties of the ocean based on the detailed composition of the planktonic community. *Applied Optics*, 40(18), 2929-2945.
- Stramski, D., Babin, M., & Woźniak, S. B. (2007). Variations in the optical properties of terrigenous mineral-rich particulate matter suspended in seawater. *Limnology and Oceanography*, 52(6), 2418-2433.
- Sun, J., & Liu, D. (2003). Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of plankton research*, 25(11), 1331-1346.
- Sun, D., Li, Y., Wang, Q., Lv, H., Le, C., Huang, C., & Gong, S. (2010). Partitioning particulate scattering and absorption into contributions of phytoplankton and non-algal particles in winter in Lake Taihu (China). *Hydrobiologia*, 644, 337-349.
- Suthers, I., Rissik, D., & Richardson, A. (Eds.). (2019). *Plankton: A guide to their ecology and monitoring for water quality*. CSIRO publishing.
- Tamm, M., Freiberg, R., Tönno, I., Nõges, P., & Nõges, T. (2015). Pigment-based chemotaxonomy—a quick alternative to determine algal assemblages in large shallow eutrophic lake? *PLoS one*, 10(3), e0122526.
- Tassan, S., & Ferrari, G. M. (1995). An alternative approach to absorption measurements of aquatic particles retained on filters. *Limnology and oceanography*, 40(8), 1358-1368.
- Tassan, S., & Ferrari, G. M. (1998). Measurement of light absorption by aquatic particles retained on filters: determination of the optical pathlength amplification by the 'transmittance-reflectance' method. *Journal of Plankton Research*, 20(9), 1699-1709.
- Tenjo, C., Ruiz-Verdú, A., Van Wittenberghe, S., Delegido, J., & Moreno, J. (2021). A new algorithm for the retrieval of sun induced chlorophyll fluorescence of water bodies exploiting the detailed spectral shape of water-leaving radiance. *Remote Sensing*, 13(2), 329.
- Thackeray, S. J., Noges, P., Dunbar, M. J., Dudley, B. J., Skjelbred, B., Morabito, G., ... & Clarke, R. T. (2013). Quantifying uncertainties in biologically-based water quality assessment: a pan-European analysis of lake phytoplankton community metrics. *Ecological Indicators*, 29, 34-47.
- Tilstone, G. H., Pardo, S., Dall'Olmo, G., Brewin, R. J., Nencioli, F., Dessailly, D., ... & Donlon, C. (2021). Performance of Ocean Colour Chlorophyll algorithms for Sentinel-3 OLCI, MODIS-Aqua and Suomi-VIIRS in open-ocean waters of the Atlantic. *Remote Sensing of Environment*, 260, 112444.
- Twardowski, M. S., Boss, E., Macdonald, J. B., Pegau, W. S., Barnard, A. H., & Zaneveld, J. R. V. (2001). A model for estimating bulk refractive index from the optical backscattering ratio and the implications for understanding particle composition in case I and case II waters. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 106(C7), 14129-14142.
- Twardowski, M. S., Boss, E., Sullivan, J. M., & Donaghay, P. L. (2004). Modeling the spectral shape of absorption by chromophoric dissolved organic matter. *Marine Chemistry*, 89(1-4), 69-88.

- Utermöhl H (1958) Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. Mitt int. Verein. theor. angew. Limnol. 9: 1-38
- Vaillancourt, R. D., Brown, C. W., Guillard, R. R., & Balch, W. M. (2004). Light backscattering properties of marine phytoplankton: relationships to cell size, chemical composition and taxonomy. *Journal of plankton research*, 26(2), 191-212.
- Van de Hulst, H. C. (1957) *Light Scattering by Small Particles*. John Wiley and Sons, New York.
- Wang, G., Lee, Z., Mishra, D. R., & Ma, R. (2016). Retrieving absorption coefficients of multiple phytoplankton pigments from hyperspectral remote sensing reflectance measured over cyanobacteria bloom waters. *Limnology and Oceanography: Methods*, 14(7), 432-447.
- Waterman, P. C. (1965). Matrix formulation of electromagnetic scattering. *Proceedings of the IEEE*, 53(8), 805-812.
- Watson, P. E., Watson, I. D., & Batt, R. D. (1980). Total body water volumes for adult males and females estimated from simple anthropometric measurements. *The American journal of clinical nutrition*, 33(1), 27-39.
- Whitmire, A. L., Pegau, W. S., Karp-Boss, L., Boss, E., & Cowles, T. J. (2010). Spectral backscattering properties of marine phytoplankton cultures. *Optics Express*, 18(14), 15073-15093.
- Wilhelm, C., Büchel, C., Fisahn, J., Goss, R., Jakob, T., LaRoche, J., ... & Kroth, P. G. (2006). The regulation of carbon and nutrient assimilation in diatoms is significantly different from green algae. *Protist*, 157(2), 91-124.
- Wilhelm, C. (1990). The biochemistry and physiology of light-harvesting proteins in chlorophyll b- and chlorophyll c-containing algae. *Plant Physiol. Biochem.*, 28, 293-306.
- Witzel, M. (2015). Water in Mythology. *Daedalus*, 144(3), 18-26.
- Wozniak, B., Dera, J., Ficek, D., Majchrowski, R., Kaczmarek, S., Ostrowska, M., & Koblentz-Mishke, O. I. (2000). Model of the in vivo spectral absorption of algal pigments. Part 1. Mathematical apparatus. *Oceanologia*, 42(2).
- Wright, S. W., & Jeffrey, S. W. (2006). Pigment markers for phytoplankton production. *Marine organic matter: biomarkers, isotopes and DNA*, 71-104.
- Wright, S. W., Jeffrey, S. W., Mantoura, R. F. C., Llewellyn, C. A., Bjørnland, T., Repeta, D., & Welschmeyer, N. (1991). Improved HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton. *Marine ecology progress series*, 183-196.
- Xi, H., Hieronymi, M., Röttgers, R., Krasemann, H., & Qiu, Z. (2015). Hyperspectral differentiation of phytoplankton taxonomic groups: a comparison between using remote sensing reflectance and absorption spectra. *Remote Sensing*, 7(11), 14781-14805.
- Yang, J. R., Yu, X., Chen, H., Kuo, Y. M., & Yang, J. (2021). Structural and functional variations of phytoplankton communities in the face of multiple disturbances. *Journal of Environmental Sciences*, 100, 287-297.
- Zaneveld, J. R. V., & Kitchen, J. C. (1995). The variation in the inherent optical properties of phytoplankton near an absorption peak as determined by various models of cell structure. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 100(C7), 13309-13320.

Zhang, Y., Feng, L., Li, J., Luo, L., Yin, Y., Liu, M., & Li, Y. (2010). Seasonal-spatial variation and remote sensing of phytoplankton absorption in Lake Taihu, a large eutrophic and shallow lake in China. *Journal of Plankton Research*, 32(7), 1023-1037.

Zhou, W., Wang, G., Sun, Z., Cao, W., Xu, Z., Hu, S., & Zhao, J. (2012). Variations in the optical scattering properties of phytoplankton cultures. *Optics Express*, 20(10), 11189-11206.

Zolfaghari, K., Pahlevan, N., Binding, C., Gurlin, D., Simis, S. G., Verdú, A. R., ... & Duguay, C. R. (2021). Impact of spectral resolution on quantifying cyanobacteria in lakes and reservoirs: A machine-learning assessment. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, 60, 1-20.