



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

FLORE

Repository istituzionale dell'Università degli Studi di Firenze

Individuazione dei principali gruppi fitoplanctonici in base al loro contributo di assorbimento e retrodiffusione nella riflettanza

Questa è la Versione finale referata (Post print/Accepted manuscript) della seguente pubblicazione:

Original Citation:

Individuazione dei principali gruppi fitoplanctonici in base al loro contributo di assorbimento e retrodiffusione nella riflettanza / E. ORGANELLI; C. NUCCIO; L. MASSI. - ELETTRONICO. - (2007), pp. 181-187. (Ecologia Limnologia e Oceanografia: quale futuro per l'ambiente? Ancona 17 - 20 settembre 2007).

Availability:

The webpage <https://hdl.handle.net/2158/260958> of the repository was last updated on 2017-02-24T15:12:59Z

Publisher:

Società Italiana di Ecologia - Associazione Italiana Oceanografia e Limnologia - ISPRA

Terms of use:

Open Access

La pubblicazione è resa disponibile sotto le norme e i termini della licenza di deposito, secondo quanto stabilito dalla Policy per l'accesso aperto dell'Università degli Studi di Firenze (<https://www.sba.unifi.it/upload/policy-oa-2016-1.pdf>)

Publisher copyright claim:

La data sopra indicata si riferisce all'ultimo aggiornamento della scheda del Repository FloRe - The above-mentioned date refers to the last update of the record in the Institutional Repository FloRe

(Article begins on next page)



Individuazione dei principali gruppi fitoplanctonici in base al loro contributo di assorbimento e retrodiffusione nella riflettanza

Emanuele Organelli^{a*}, Caterina Nuccio^a, Luca Massi^a

^aDipartimento di Biologia Vegetale, Università di Firenze, Via P.A. Micheli 1 – 50121 Firenze, Italia

Abstract

Lo sviluppo delle conoscenze nel campo della bio-ottica marina e l'operatività dei sensori satellitari con elevata risoluzione spettrale fanno ipotizzare la possibilità di individuare i principali gruppi fitoplanctonici da misure del colore del mare (cioè dal rapporto fra retrodiffusione e assorbimento) effettuate anche con sensori remoti. Seguendo questo ambito di ricerca abbiamo cercato di valutare questa possibilità con i popolamenti fitoplanctonici delle acque superficiali del Mar Mediterraneo, utilizzando misure di riflettanza *in situ* e misure dell'assorbimento dei principali componenti marini otticamente attivi. Abbiamo elaborato un algoritmo basato sulla tecnica SAM (*Spectral Angle Mapper*) per valutare la similarità tra spettri di riferimento di ogni gruppo fitoplanctonico da individuare (dinoflagellati, coccolitofori, diatomee, cianobatteri cfr *Synechococcus* e *Prochlorococcus marinus*) e spettri incogniti. Sono state calcolate le regressioni fra gli indici di similarità e l'abbondanza fitoplanctonica valutata al microscopio o con analisi pigmentaria (HPLC). I coefficienti di correlazione ottenuti con l'assorbimento del fitoplancton sono risultati altamente significativi. L'unione in un vettore di assorbimento e retrodiffusione come unica proprietà, novità da noi introdotta, ha determinato performances pari ed in alcuni casi superiori a quelle dell'assorbimento. Ciò ha permesso di ricostruire con buona fedeltà la composizione dei popolamenti fitoplanctonici. © 2007 AIOL-SItE. All rights reserved

Keywords: reflectance; phytoplankton absorption; phytoplankton composition

1. Introduzione

In ambito marino il telerilevamento ha dato un forte impulso allo studio del fitoplancton con particolare riferimento alla sua distribuzione spaziale e temporale. Negli ultimi anni, con lo sviluppo delle conoscenze nel campo della bio-ottica marina e dell'operatività dei sensori remoti ad elevata risoluzione spettrale, sono stati effettuati diversi tentativi per individuare otticamente gruppi fitoplanctonici (Sathyendranath *et al.* 2004; Alvain *et*

al. 2005) o specie tossiche determinanti estese fioriture (Carder & Steward 1985; Balch *et al.* 1996; Millie *et al.* 1997; Morel 1997; Kahru & Mitchell 1998) mediante lo studio del colore del mare. Una misura di tale proprietà è data dalla *remote sensing reflectance* misurata dai sensori satellitari, oppure dalla riflettanza misurata *in situ*. Entrambe sono collegate alle proprietà ottiche inerenti assorbimento $a(\lambda)$ e retrodiffusione $b_b(\lambda)$ mediante la relazione (Gordon *et al.* 1975; Morel & Prieur 1977):

$$R(\lambda) \approx b_b(\lambda)/(a(\lambda) + b_b(\lambda))$$

* Corresponding author. Tel.: +39-0552757381; fax: +39-055282358; e-mail: emanuele.organelli@unifi.it

In questo lavoro abbiamo analizzato queste proprietà ottiche in relazione alla composizione fitoplanctonica per valutare la differenziazione spettrale e la possibilità di discriminare, su questa base, i principali gruppi fitoplanctonici. Il lavoro si è incentrato sui popolamenti naturali delle acque del largo del Mar Mediterraneo generalmente poco consistenti quantitativamente ed a composizione molto differenziata. Quindi si tratta di popolamenti con caratteristiche molto differenti da quelli in cui le tecniche di individuazione ottica del fitoplancton sono state applicate, volte solitamente all'individuazione di fioriture algali massive e spesso monospecifiche. Allo scopo abbiamo elaborato un algoritmo di calcolo basato sulla tecnica SAM (*Spectral Angle Mapper*) per poter quantificare nella riflettanza, nella retrodiffusione e nell'assorbimento del fitoplancton il contributo spettrale dei principali gruppi fitoplanctonici e quindi la loro abbondanza relativa nei popolamenti.

2. Materiali e Metodi

Lo studio ha interessato una vasta area del Mar Mediterraneo (Fig. 1) scegliendo 53 stazioni, in cui erano presenti contemporaneamente sia misure di irradianza che analisi biologiche, di acque di caso 1 cioè quelle acque in cui il fitoplancton ha il ruolo principale nel determinarne le caratteristiche ottiche e gli altri componenti otticamente attivi sono proporzionali al fitoplancton stesso (Morel & Prieur 1977; Morel 1988). È stato preso in esame solo lo strato superficiale (10-30 m) corrispondente a $1/K_d$ (K_d è il coefficiente di attenuazione verticale dell'irradianza PAR discendente nella zona eufotica) e cioè allo strato che determina il colore del mare (Morel 1988).

Le misure di irradianza spettrale (350-750 nm) ascendente e discendente sono state effettuate mediante spettrometro LICOR LI1800UW ed il loro rapporto ha consentito di calcolare la riflettanza spettrale $R(\lambda)$:

$$R(\lambda) = E_u(\lambda)/E_d(\lambda)$$

dove $E_u(\lambda)$ è l'irradianza ascendente ed $E_d(\lambda)$ quella discendente entrambe misurate a 5 m di profondità.

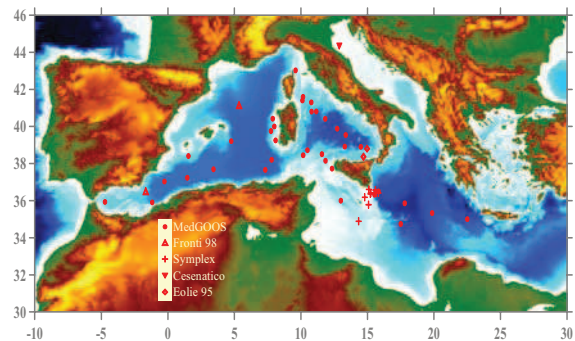


Fig. 1. Ubicazione delle stazioni di campionamento delle diverse campagne.

Mediante la relazione tra riflettanza e proprietà ottiche inerenti individuata in Gordon *et al.* (1975) e Morel & Prieur (1977) è stato possibile dedurre un coefficiente di retrodiffusione $b_{bc}(\lambda)$ corretto dal contributo dell'acqua, che per le acque di caso 1 è determinato principalmente dal fitoplancton:

$$b_{bc}(\lambda) = ((R(\lambda) * a(\lambda))/0.33) / (1 - (R(\lambda)/0.33)) - 0.5b_w(\lambda)$$

dove $R(\lambda)$ è la riflettanza spettrale *in situ*, $b_w(\lambda)$ è il contributo dell'acqua alla retrodiffusione (Smith & Backer 1981) e $a(\lambda)$ è la somma dei coefficienti di assorbimento misurati in ogni campione: detrito $a_d(\lambda)$, fitoplancton $a_{ph}(\lambda)$, sostanza organica disciolta $a_{ys}(\lambda)$ insieme a quello dell'acqua marina $a_w(\lambda)$ (Pope & Fry 1997).

Sono state effettuate: analisi della composizione dei popolamenti fitoplanctonici mediante microscopio ottico (Hasle 1978) e/o analisi dei pigmenti con HPLC (Vidussi *et al.* 1996; Barlow *et al.* 1997); misure degli spettri di assorbimento della sostanza organica disciolta mediante lettura spettrofotometrica (Bricaud *et al.* 1981); misura degli spettri di assorbimento del detrito e del fitoplancton mediante spettrometro con sfera integratrice (Massi *et al.* 1997; Tassan & Ferrari 2002) prima e dopo estrazione in metanolo dei pigmenti liposolubili (Kishino *et al.* 1985).

3. Risultati

In Fig. 2A è riportata la composizione dei campioni analizzati al microscopio ottico mentre in

Fig. 2B quelli analizzati con HPLC. Come pigmenti diagnostici di ciascun gruppo abbiamo utilizzato la peridina per i dinoflagellati, l'esanolfucoxantina per i coccolitofori, la fucoxantina per le diatomee, la zeaxantina per i cianobatteri assimilabili al genere *Synechococcus* sp. (SLC) e la divinil-clorofilla *a* per la specie *Prochlorococcus marinus*. L'abbondanza pigmentaria relativa di ogni pigmento è stata calcolata come il rapporto di ogni pigmento sul totale di quelli diagnostici.

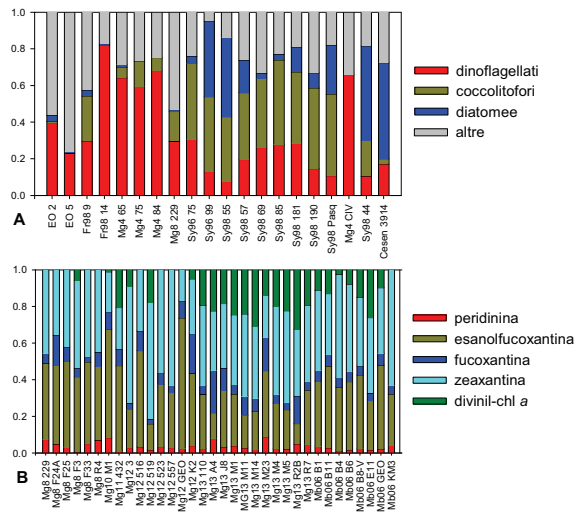


Fig. 2. A) Abbondanza cellulare relativa delle classi fitoplanctoniche alle varie stazioni nello strato superficiale. B) Composizione pigmentaria relativa (pigm. diag./ \sum pigm. diag.) dei pigmenti diagnostici dei vari gruppi fitoplanctonici alle varie stazioni nello strato superficiale.

I popolamenti descritti sulla base di conteggi cellulari al microscopio ottico risultano molto semplificati, escludendo a priori la frazione picoplanctonica che risulta sempre abbastanza significativa come dimostrano quelli descritti su base pigmentaria.

In tutti i popolamenti è stata riscontrata un'elevata eterogeneità della composizione, con i cianobatteri e i coccolitofori come gruppi prevalenti.

In prima istanza è stata effettuata un'analisi qualitativa della forma spettrale della riflettanza ottenuta alle varie stazioni in relazione alla composizione media dei relativi popolamenti fitoplanctonici. Su questa base non è stato possibile estrapolare una evidente relazione fra forme spettrali

e composizione fitoplanctonica. Così gli spettri di riflettanza sono stati scomposti nelle loro componenti di assorbimento e retrodiffusione.

La relazione tra forme spettrali e composizione è risultata più evidente negli spettri di assorbimento del fitoplancton e tale da consentirne una suddivisione in alcuni principali raggruppamenti.

Approfondendo questo tipo di analisi delle relazioni fra forme spettrali e composizione abbiamo potuto estrapolare gli spettri di assorbimento rappresentativi di ognuno dei cinque principali raggruppamenti tassonomici (Fig. 3). Gli spettri di riferimento sono stati scelti fra quelli dei campioni disponibili in base alla omogeneità della composizione, privilegiando quelli con biomassa abbastanza elevata, e quelli in cui erano maggiormente evidenti le firme spettrali dei pigmenti diagnostici di ciascun gruppo.

Nel caso di *P. marinus*, per la presenza di due forme spettrali dovute ad un diverso stato di fotoadattamento, abbiamo scelto quella più frequente tra i nostri campioni e più tipica di un adattamento ad elevate luminosità (Fig. 3). Per riflettanza e retrodiffusione sono stati scelti come spettri modello dei principali gruppi quelli delle stesse stazioni utilizzate per l'assorbimento del fitoplancton.

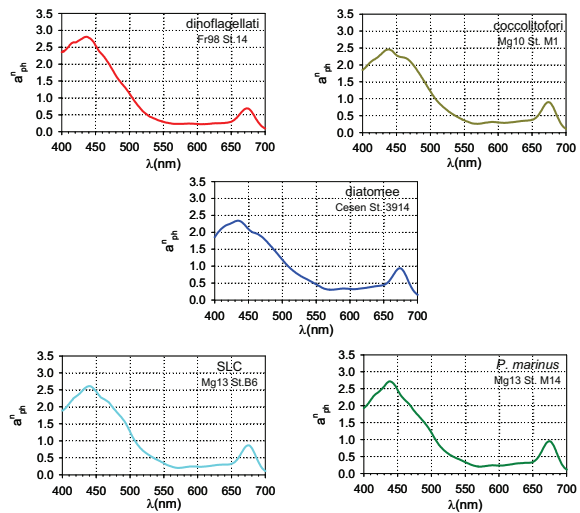


Fig. 3. Spettri di assorbimento normalizzati del fitoplancton scelti come riferimento di ciascun gruppo.

Per valutare in uno spettro incognito l'incidenza di una determinata firma spettrale conosciuta ed effettuare su questa base una classificazione spettrale, abbiamo messo a punto un algoritmo di calcolo basato sulla tecnica SAM (*Spectral Angle Mapper*). Tale analisi è stata effettuata sulla derivata IV degli spettri rispetto alle λ , il cui calcolo è stato fatto utilizzando un $\Delta\lambda$ pari a 7 nm (Millie *et al.* 1997; Schofield *et al.* 1999; Kirkpatrick *et al.* 2000), allo scopo di poter eliminare negli spettri la loro generale similarità dovuta alla clorofilla *a* ed altri pigmenti in comune. Per tale motivo gli spettri sono stati anche trasformati mediante rapporto di normalizzazione (Millie *et al.* 1997) e successivamente ne è stata calcolata la derivata IV.

L'algoritmo di calcolo messo a punto prevede una fase preliminare di normalizzazione rispetto alla media spettrale degli spettri di assorbimento, costituiti da 301 bande da 400 a 700 nm, e degli spettri di riflettanza e di retrodiffusione, costituiti solo da 251 λ (da 400 a 650 nm) in quanto è stata eliminata la banda 650-700 nm dominata dalla fluorescenza naturale della clorofilla *a* che risulta essenzialmente legata a biomassa ed attività fisiologica.

E' stato inoltre costituito un vettore unico di 552 bande derivato dall'unione delle 301 dell'assorbimento del fitoplancton e dalle 251 di retrodiffusione, una novità che si propone come ulteriore sistema per discriminare i diversi gruppi fitoplanctonici utilizzando contemporaneamente l'informazione relativa all'assorbimento e quella relativa alla retrodiffusione.

La tecnica SAM ha permesso di calcolare un indice di similarità dato dal coseno dell'angolo compreso tra due spettri, riferimento e spettro incognito, in forma vettoriale (Sohn & Rebello 2002; Girouard *et al.* 2004). Gli indici così ottenuti sono stati confrontati con l'abbondanza cellulare relativa di ogni popolamento o con il logaritmo della concentrazione del pigmento marcatore calcolando le rette di regressione ed i coefficienti di correlazione.

I risultati mostrano che con la riflettanza gli indici di similarità sono sempre molto bassi e simili tra loro ed il coefficiente di correlazione spesso è risultato negativo.

La retrodiffusione mostra indici di similarità più elevati, la trasformazione con rapporto di

normalizzazione ha consentito di ampliare il range di variazione di tali indici.

L'assorbimento è risultato la proprietà che meglio ha consentito di discriminare il contributo spettrale dei principali gruppi in popolamenti misti. Gli indici di similarità presentano un ampio range di variazione ed arrivano a valori maggiori rispetto a quelli ottenuti con riflettanza e retrodiffusione. La trasformazione con rapporto di normalizzazione ha consentito di aumentare la diversificazione tra le diverse forme spettrali aumentando il range di variazione degli indici di similarità.

Gli indici di similarità calcolati sul vettore unico sono risultati in certi casi elevati. La trasformazione mediante rapporto di normalizzazione non ha consentito nella maggior parte dei casi di ottenere un miglioramento sugli indici di similarità.

In fig. 4 sono riportati i valori dei coefficienti di correlazione ottenuti per ogni regressione.

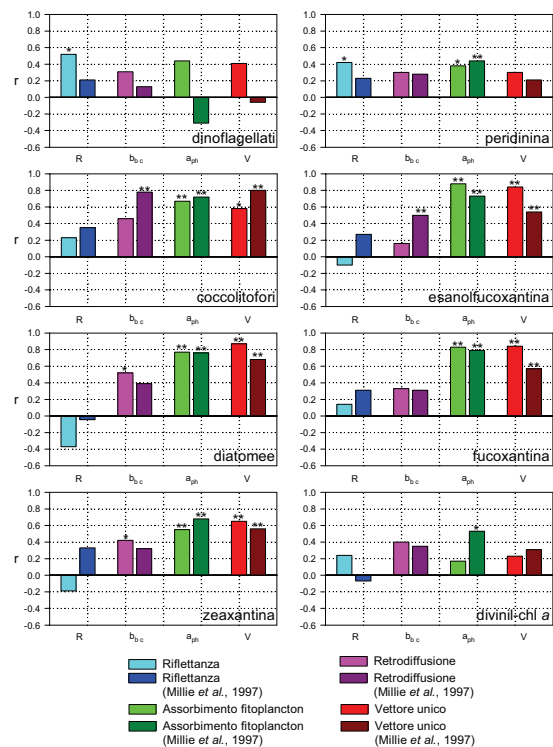


Fig. 4. Confronto fra i coefficienti di correlazione (r) delle regressioni sia relative all'abbondanza cellulare % che al logaritmo della concentrazione dei pigmenti diagnostici. * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$.

conferma una loro differenziazione spettrale fra le varie specie o gruppi fitoplanctonici, già individuata da vari autori (Hoepffner & Sathyendranath 1991; Balch *et al.* 1996; Stramski *et al.* 2001; Vaillancourt *et al.* 2004). La scelta di lavorare su assorbimento e retrodiffusione mantiene comunque la possibilità di utilizzare il metodo proposto con i dati telerilevati di colore del mare, in quanto sono stati messi a punto algoritmi perfezionati di calcolo che consentono di ottenere gli spettri di assorbimento del fitoplancton (Lee & Carder 2004) e del coefficiente di retrodiffusione (Loisel & Stramski 2000) direttamente dalla *remote sensing reflectance*.

Il riconoscimento del fitoplancton sulla base delle proprietà bio-ottiche è stato utilizzato essenzialmente per massicce fioriture algali monospecifiche e spesso tossiche (Carder & Steward 1985; Millie *et al.* 1997; Kahru & Mitchell 1998), noi abbiamo provato a ricostruire la composizione dei popolamenti naturali tipici delle acque del largo del Mar Mediterraneo mettendo a punto un algoritmo di calcolo che prevede, per ogni gruppo fitoplanctonico, la scelta di spettri di riferimento per assorbimento e retrodiffusione i quali vengono confrontati tramite la tecnica SAM (Sohn & Rebello 2002) con gli spettri incogniti per valutarne gli indici di similarità. Questi sono stati correlati con l'abbondanza cellulare relativa di ogni gruppo fitoplanctonico o con il logaritmo della concentrazione del pigmento che individua quel gruppo. I coefficienti di correlazione (r) calcolati sull'assorbimento del fitoplancton e sul vettore unico sono risultati significativamente correlati con la composizione dei gruppi fitoplanctonici, consentendo di ricostruirne la composizione quantitativa. Questa ricostruzione presenta errori relativi dell'ordine del 25-30 % e risulta meno accurata per i dinoflagellati e per *P. marinus*. Per i primi probabilmente a causa della loro grande variabilità in forma, dimensioni e contenuto pigmentario, mentre nel secondo all'elevata capacità di adattarsi in tempi brevi alle diverse condizioni di disponibilità luminosa. I risultati ottenuti e le tecniche messe a punto in questo lavoro ci appaiono incoraggianti nella prospettiva di consentire una rapida informazione, seppur a grandi linee, sui popolamenti fitoplanctonici mediante le analisi delle riflettanze iperspettrali rilevate da satellite.

5. Bibliografia

- Alvain, S., Moulin, C., Dandonneau, Y. & Brèon, F.M. (2005) Remote sensing of phytoplankton groups in case 1 waters from global SeaWiFS imagery. *Deep-Sea Research I*, **52**, 1989-2004.
- Balch, W.M., Kilpatrick, K.A. & Trees, C.C. (1996) The 1991 coccolithophore bloom in the central North Atlantic. 1. Optical properties and factors affecting their distribution. *Limnology and Oceanography*, **41** (8), 1669-1683.
- Barlow, R.G., Cummings, D.G. & Gibb, S.W. (1997) Improved resolution of mono- and divinyl chlorophylls *a* and *b* and zeaxanthin and lutein in phytoplankton extracts using reverse phase C-8 HPLC. *Marine Ecology Progress Series*, **161**, 303-307.
- Bricaud, A., Morel, A. & Prieur, L. (1981) Absorption by dissolved organic matter of the sea (yellow substance) in the UV and visible domains. *Limnology and Oceanography*, **26**(1), 43-53.
- Carder, K.L. & Steward, R.G. (1985) A remote sensing reflectance model of a red-tide dinoflagellate off west Florida. *Limnology and Oceanography*, **30** (2), 286-298.
- Girouard, G., Bannari, A., Harti, A.E. & Desrochers, A. (2004) Validated spectral angle mapper algorithm for geological mapping: comparative study between QuickBird and Landsat TM. *XXth ISPR Congress, Geo-Imagery Bridging Continents*, Istanbul, Turkey, 12-23 July 2004.
- 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**, 417-427.
- Hasle, G.R. (1978) Settling. The inverted microscope method. *Phytoplankton manual* (ed Sournia A.), pp 88-96. UNESCO, Parigi.
- Hoepffner, N. & Sathyendranath, S. (1991) Effect of pigment composition on absorption properties of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, **73**, 11-23.
- Kahru, M. & Mitchell, B.G. (1998) Spectral reflectance and absorption of a massive red tide off southern California. *Journal of Geophysical Research*, **103** (C10), 21601-21609.
- Kirkpatrick, G.J., Millie, D.F., Moline, M.A. & Schofield, O. (2000) Optical discrimination of a phytoplankton species in natural mixed populations. *Limnology and Oceanography*, **45** (2), 467-471.
- Kishino, M., Takahashi, M., Okami, N. & Ichimura, S. (1985) Estimation of the spectral absorption coefficients of phytoplankton in the sea. *Bulletin of Marine Science*, **37**, 634-642.
- Lee, Z. & Carder, K.L. (2004) Absorption spectrum of phytoplankton pigments derived from hyperspectral remote-sensing reflectance. *Remote sensing of environment*, **89**, 361-368.
- Loisel, H. & Stramski, D. (2000) Estimation of the inherent optical properties of natural waters from irradiance attenuation coefficient and reflectance in the presence of Raman scattering. *Applied Optics*, **39**, 3001-3011.

- Massi, L., Biondi, N., Innamorati, M. & Lazzara, L. (1997) L'assorbimento della luce da parte del fitoplancton e del detrito. *Biologia Marina Mediterranea*, **4**, 66-73.
- Millie, D.F., Schofield, O.M., Kirkpatrick, G.J., Johnsen, G., Tester, P.A. & Vinyard, B.T. (1997) Detection of harmful algal blooms using photopigments and absorption signatures: A case study of the Florida red tide dinoflagellate, *Gymnodinium breve*. *Limnology and Oceanography*, **42** (5), 1240-1251.
- Morel, A. (1988) Optical modeling of the upper ocean in relation to its biogenous matter content (case I waters). *Journal of Geophysical Research*, **93**, 10749-10768.
- Morel, A. (1997) Consequences of a *Synechococcus* bloom upon the optical properties of oceanic (case 1) waters. *Limnology and Oceanography*, **42** (8), 1746-1754.
- Morel, A. & Prieur, L. (1977) Analysis of variations in ocean color. *Limnology and Oceanography*, **22**, 709-722.
- Pope, R.M. & Fry, E.S. (1997) Absorption spectrum (380 - 700) of pure water. II. Integrating cavity measurements. *Applied Optics*, **36** (33), 8710-8723.
- Sathyendranath, S., Watts, L., Devred, E., Platt, T., Caverhill, C. & Maass, H. (2004) Discrimination of diatoms from other phytoplankton using ocean color data. *Marine Ecology Progress Series*, **272**, 59-68.
- Schofield, O., Grzymalski, J., Bisset, W.P., Kirkpatrick, G.J., Millie, D.F., Moline, M. & Roesler, C.S. (1999) Optical monitoring and forecasting system for harmful algal blooms: possibility or pipe dream?. *Journal of Phycology*, **35**, 1477-1496.
- Smith, R.C. & Baker, K.S. (1981) Optical properties of the clearest natural waters (200-800 nm). *Applied Optics*, **20** (2), 177-184.
- Sohn, Y. & Rebello, N.S. (2002) Supervised and Unsupervised Spectral Angle Classifiers. *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing*, **68**, 1271-1280.
- 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.
- Tassan, S. & Ferrari, G.M. (2002) A sensitivity analysis of the "Transmittance-Reflectance" method for measuring light absorption by aquatic particles. *Journal of Plankton Research*, **24** (8), 757-774.
- Vaillancourt, R.D., Brown, C.W., Guillard, R.R.L. & 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.
- Vidussi, F., Claustre, H., Bustillos-Gunzmann, J., Cailliau, C. & Marty, J.C. (1996) Determination of chlorophylls and carotenoids of marine phytoplankton: separation of chlorophyll *a* from divinyl-chlorophyll *a* and zeaxanthin from lutein. *Journal of Plankton Research*, **18**, 2377-2382.