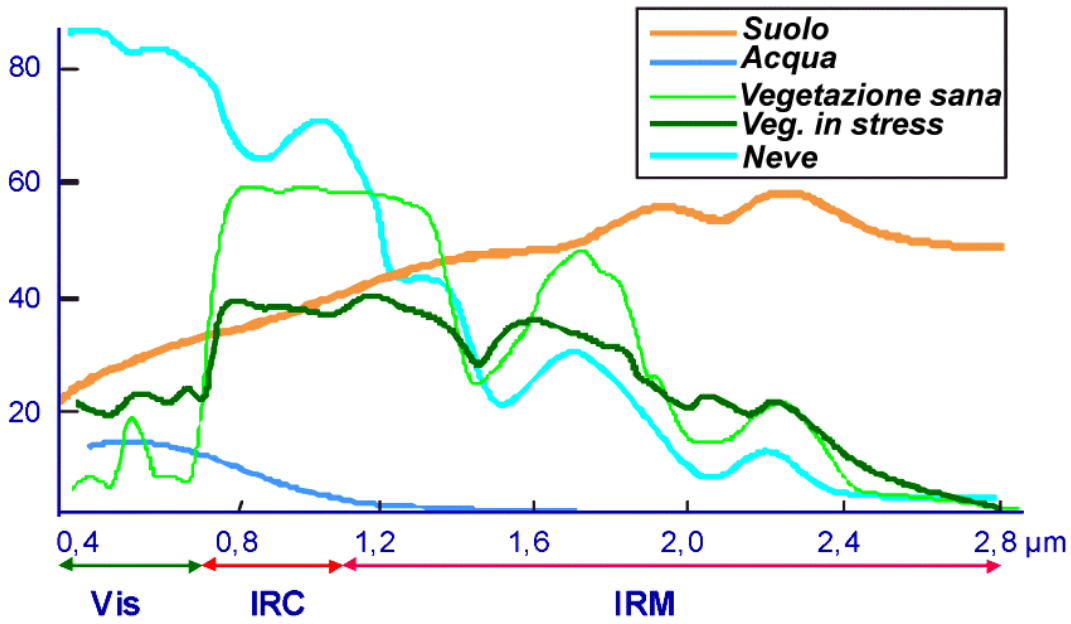
L’impronta ottica spettrale dei cianobatteri

Bresciani Mariano

Lauceri Sara, Lami Andrea, Pinardi Monica, Matta Erica, Giardino Claudia, Austoni Martina, Viaggiu Emanuela, Morabito Giuseppe

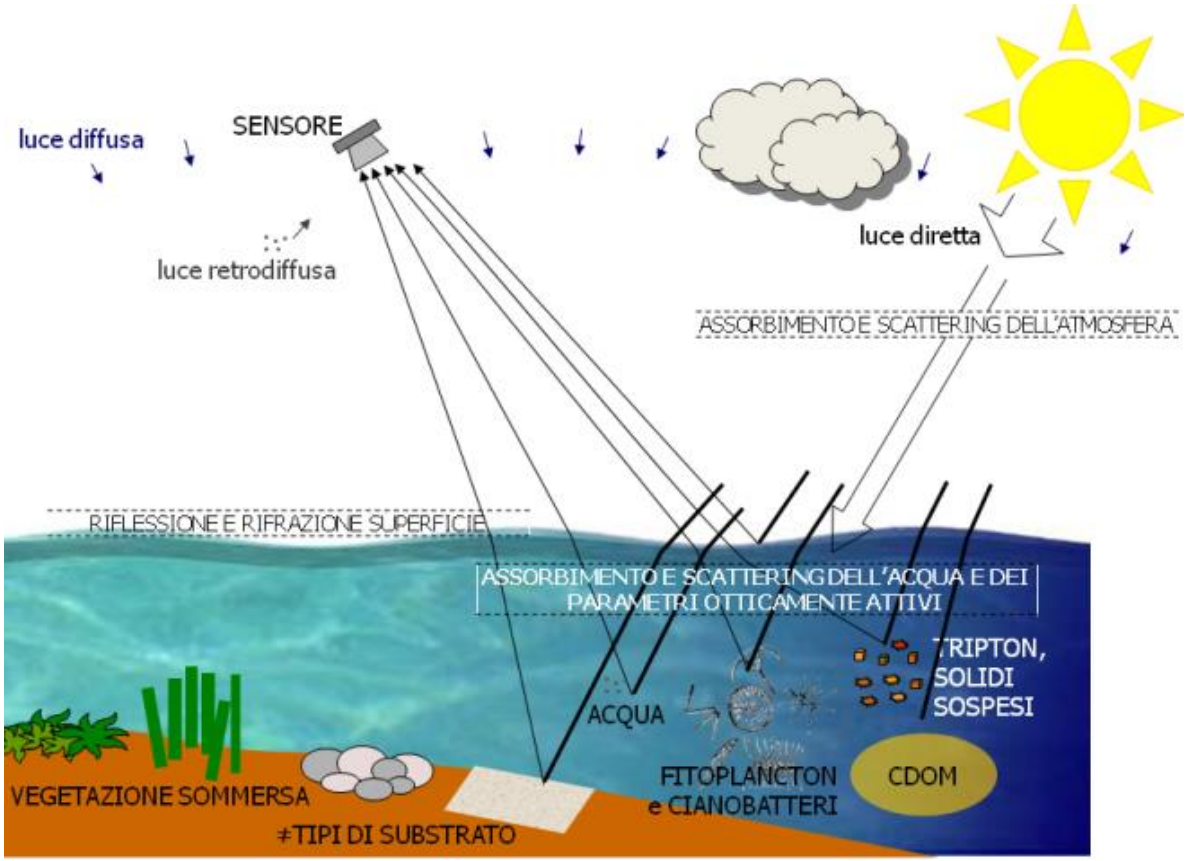
La “firma spettrale”

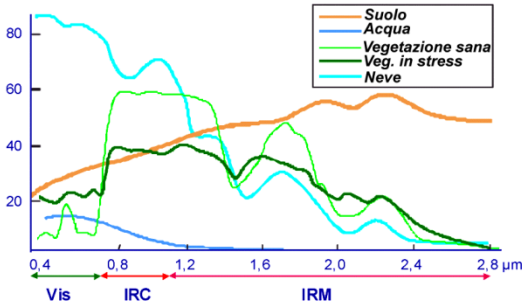
L’interazione tra l’energia incidente e le superfici naturali lascia una “traccia” chiamata firma spettrale.



La **firma spettrale** è una caratteristica che ogni materiale ha, ed è specifica per ogni combinazione di riflessi e assorbimenti delle radiazioni elettromagnetiche (EM) a diverse lunghezze d'onda.
Conoscendo la firma spettrale di un oggetto, è possibile identificarlo univocamente.

La risposta spettrale delle acque





L'acqua in condizioni di purezza, riflette fino ad un massimo del 5% dell'energia incidente, infatti il flusso radiante che penetra in acqua subisce fenomeni di trasmissione, assorbimento e di scattering che riducono fortemente l'energia che fuoriesce.

Proprietà ottiche dell'acqua

PROPRIETA' OTTICHE delle ACQUE

IOP

PROPRIETA' OTTICHE INERENTI

Dipendono dal *medium* e risultano indipendenti dalle condizioni di luce al suo interno

AOP

PROPRIETA' OTTICHE APPARENTI

Dipendono dal *medium* ma anche dalla struttura geometrica del campo di luce

Proprietà ottiche inerenti

Risposta Spettrale dell'acqua $= \dfrac{b_b}{a + b_b}$

Assorbimento

$$a(\lambda) = a_w + a_\Phi(\lambda, chl-a) + a_{NAP}(\lambda, SPM) + a_{CDOM}(\lambda, a_{CDOM}(440))$$

Back-scattering

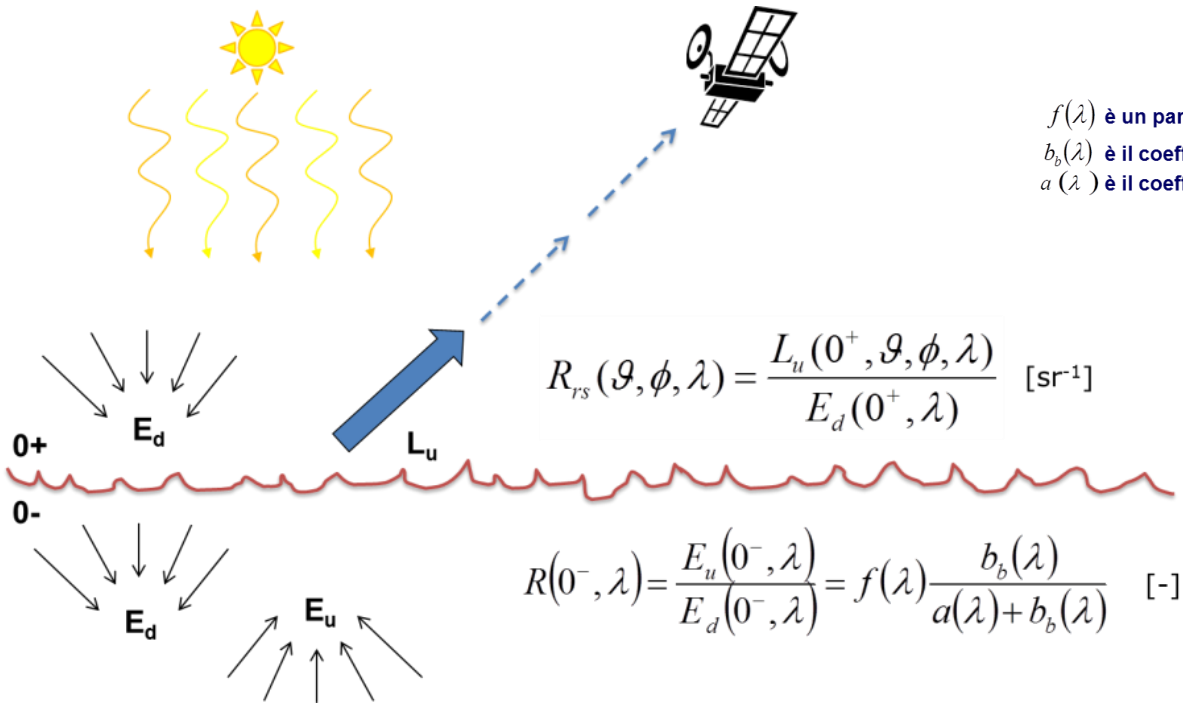
$$b_b(\lambda) = b_{bw}(\lambda) + b_{b\Phi}(\lambda, chl-a) + b_{bNAP}(\lambda, SPM)$$

HydroScat-6 per misure di back-scattering in situ

Ac-9/S per misure di attenuazione e scattering

Spettrofotometri per misure di assorbimento in laboratorio su campioni filtrati in situ

Proprietà ottiche apparenti



$f(\lambda)$ è un parametro che considera il campo anisotropo di luce in acqua

$b_b(\lambda)$ è il coefficiente di *backscattering*

$a(\lambda)$ è il coefficiente di assorbimento

$$R_{rs}(\vartheta,\phi,\lambda) = \frac{L_u(0^+,\vartheta,\phi,\lambda)}{E_d(0^+,\lambda)} \quad [\mathrm{sr}^{-1}]$$

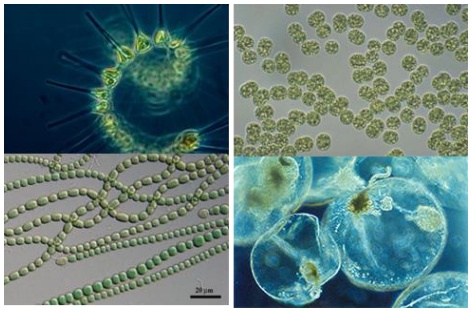
$$R(0^-,\lambda) = \frac{E_u(0^-,\lambda)}{E_d(0^-,\lambda)} = f(\lambda)\frac{b_b(\lambda)}{a(\lambda)+b_b(\lambda)} \quad [-]$$

$$R_{rs} = I\,\frac{R(0-)}{Q(1-\gamma R(0-))}$$

I è un parametro che tiene conto del trasferimento radiativo attraverso l'interfaccia aria-acqua

Q e **γ** sono parametri che tengono conto dell'angolo di vista e delle proprietà della colonna d'acqua

Costituenti otticamente attivi nella colonna d'acqua



Fitoplancton

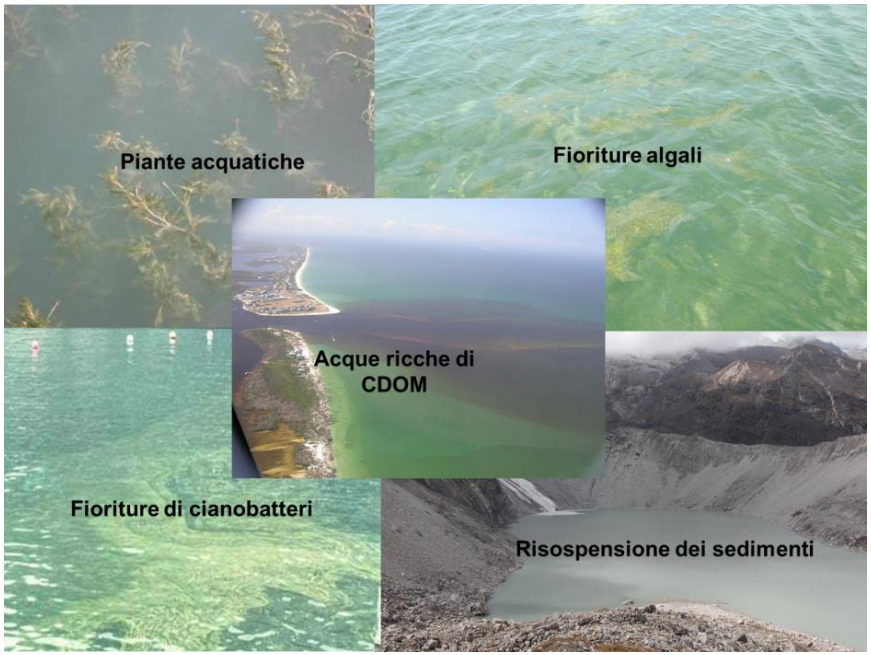
Pigmenti fotosintetici

Solidi sospesi totali

Sostanze organiche ed inorganiche

CDOM

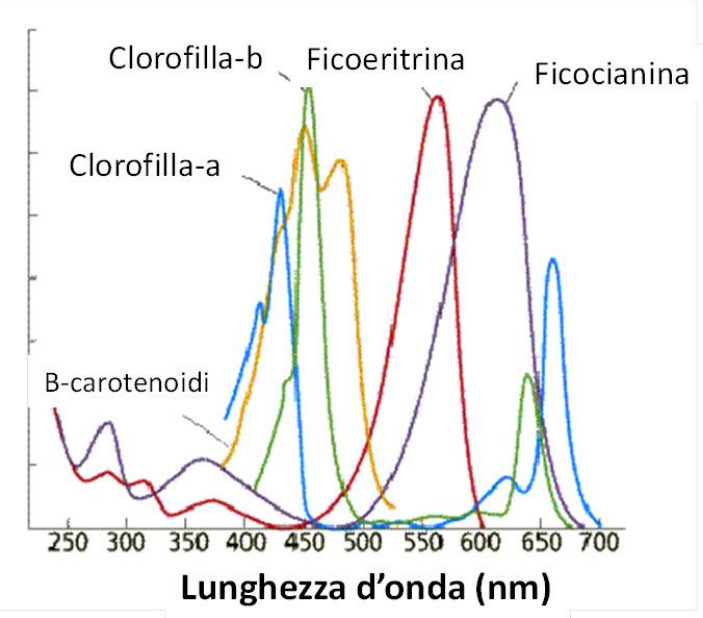
Sostanze organiche colorate disciolte

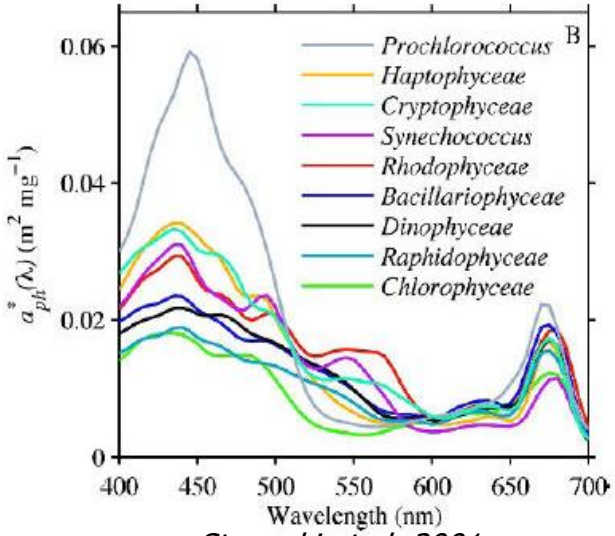


Vegetazione acquatica

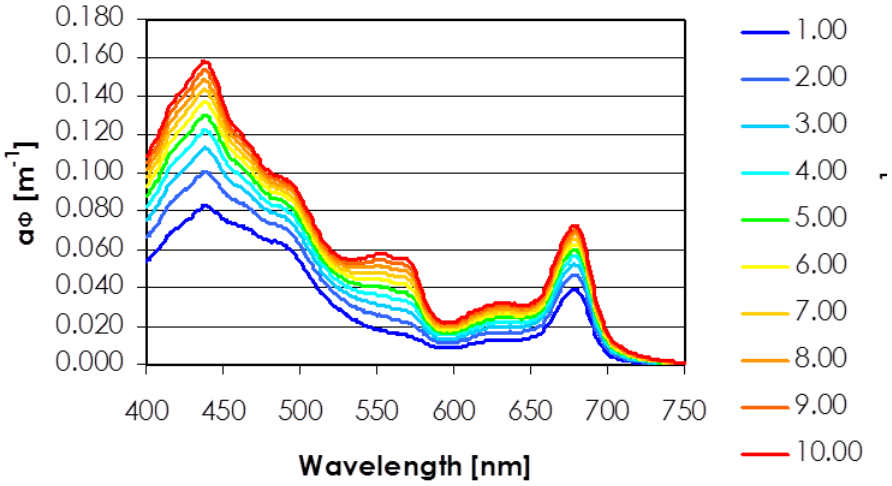
Assorbimento

Pigmenti fotosintetici
e fotoprotettivi

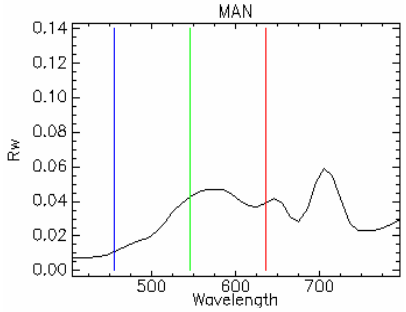


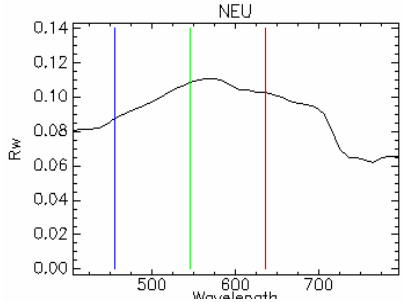


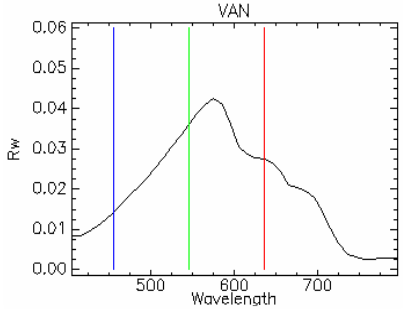
Stramski et al. 2001

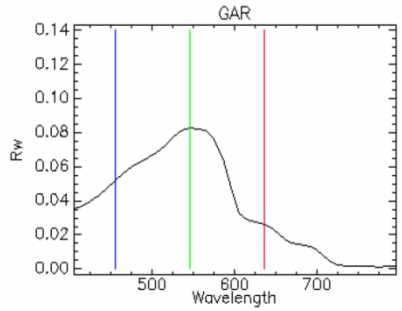


La variabilità spettrale delle acque

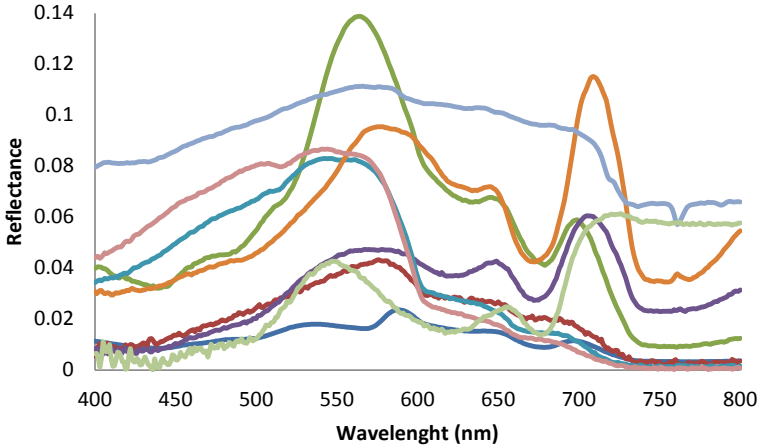




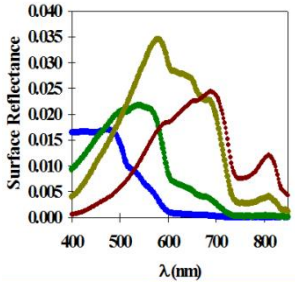


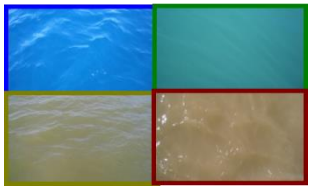


Laghi europei

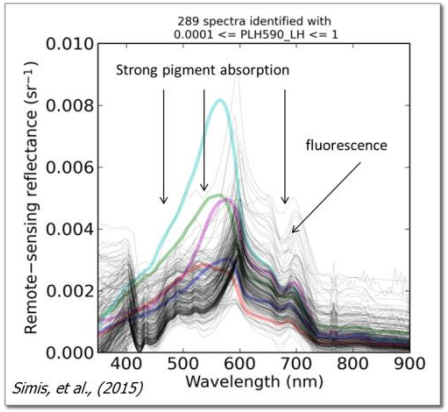


Laghi australiani





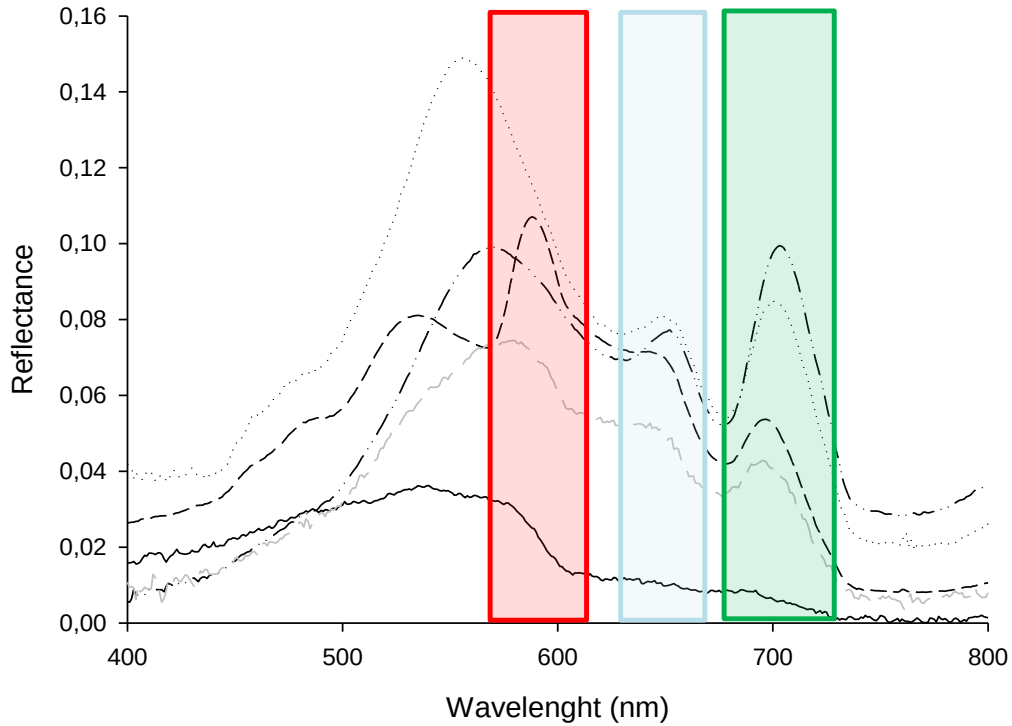
Mar Baltico

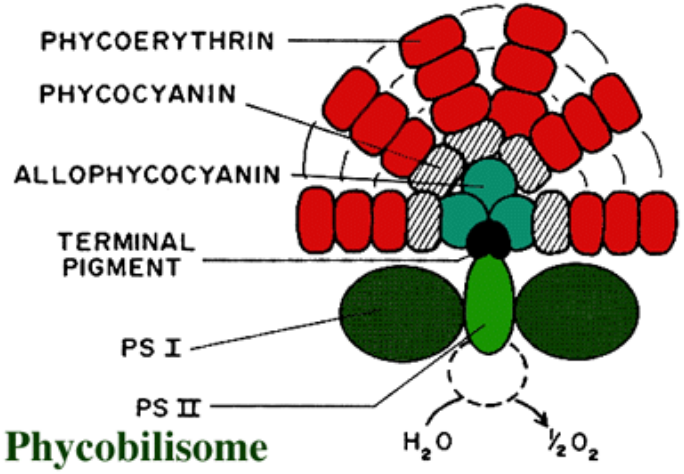


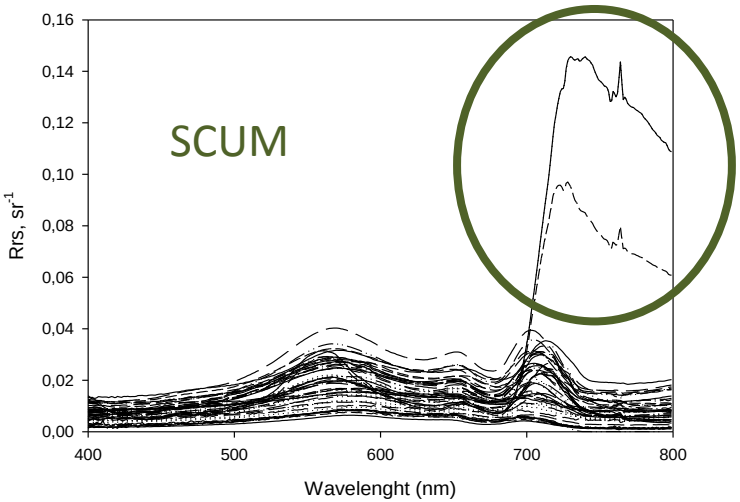
La variabilità spettrale dei cianobatteri

Presenza di differenti pigmenti fotosintetici:

Clorofilla-a
Ficocianine-Alloficianine
Ficoeritrine

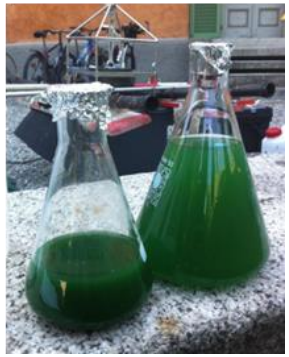




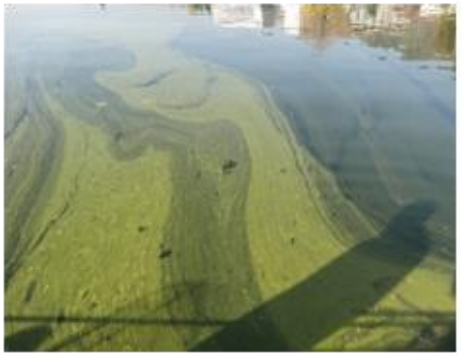


La variabilità spettrale dei cianobatteri

Culture di laboratorio



Fioriture In situ



Spettroradiometri

Strumentazione

Fluorimetri

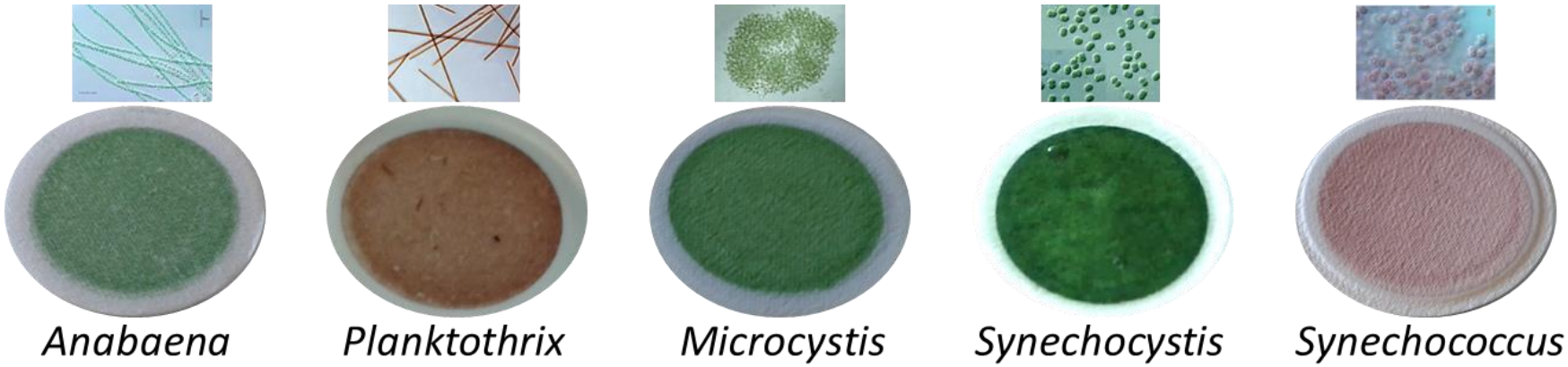
HPLC

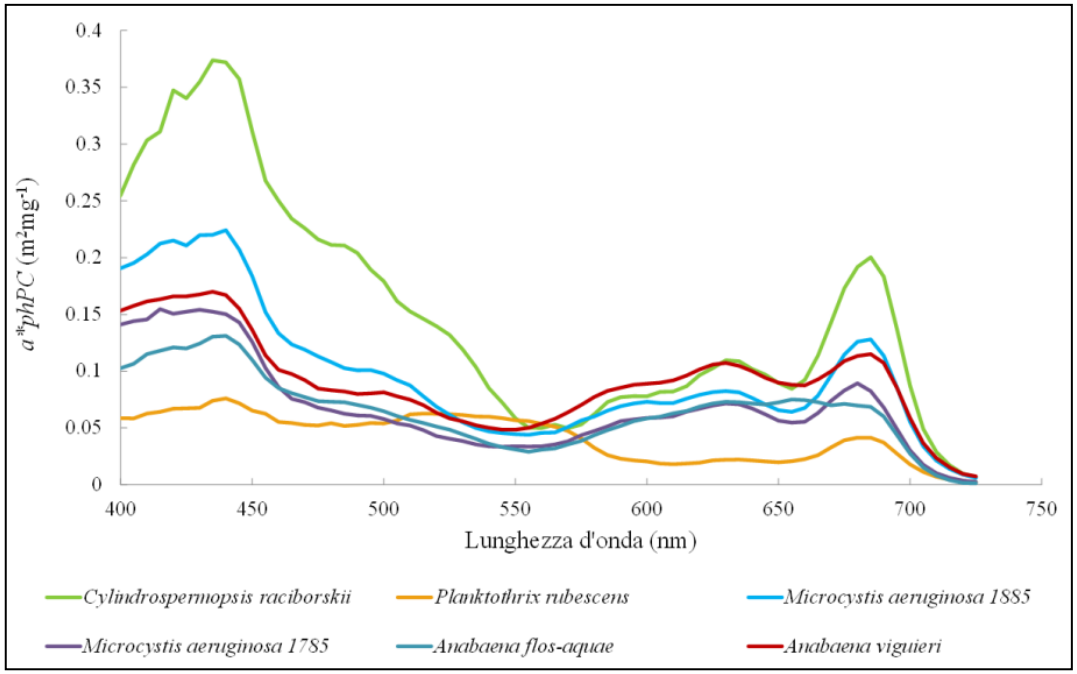
Spettrofotometri

Hydroscat-Ac9

Microscopio

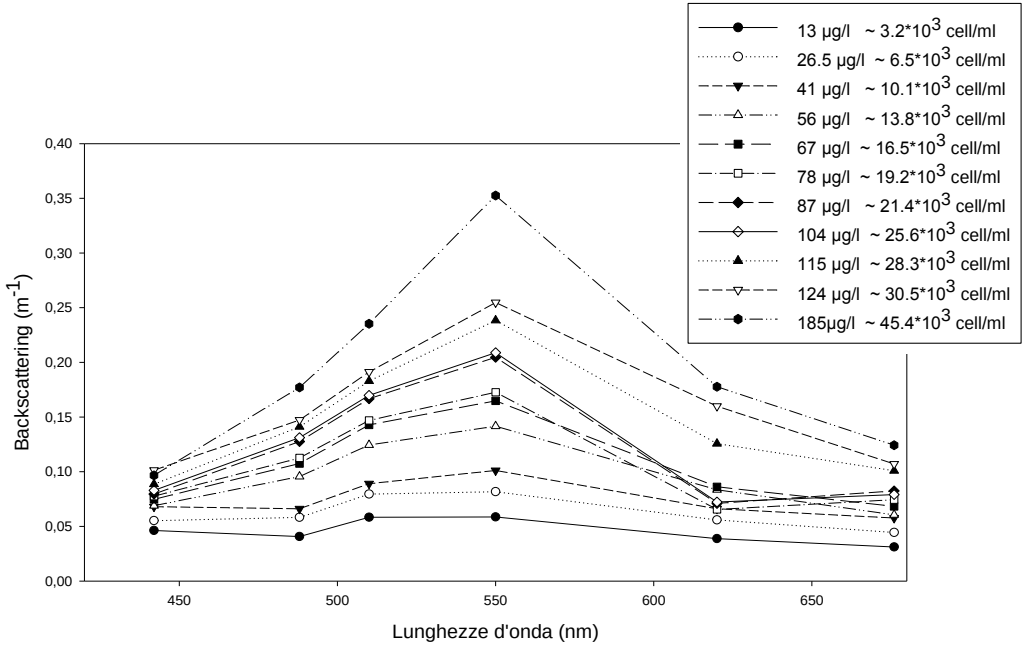
Proprietà inerenti



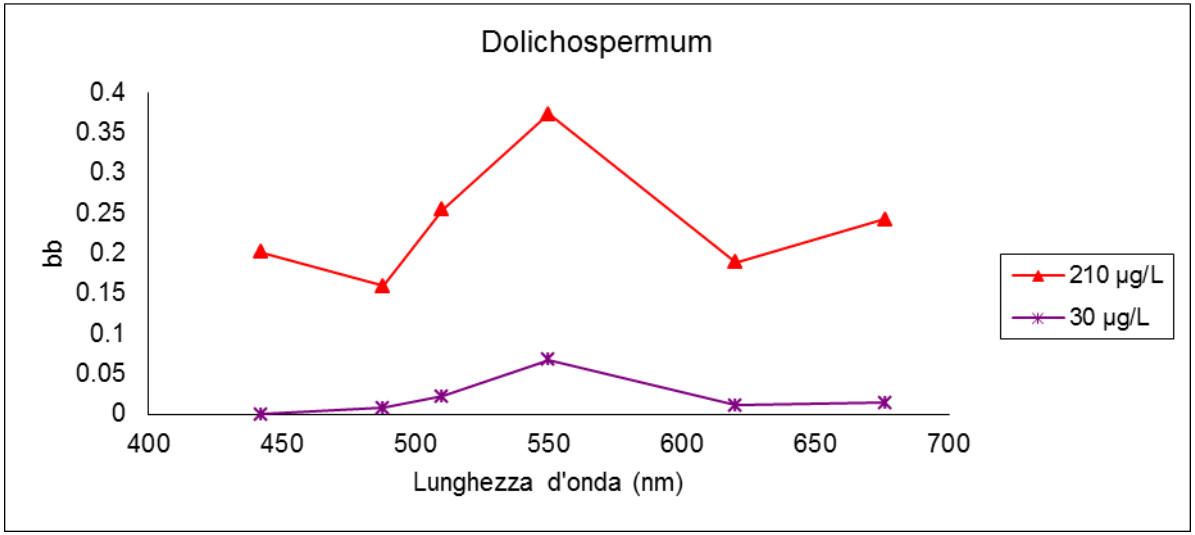


Assorbimenti specifici per le diverse specie di cianobatteri

backscattering

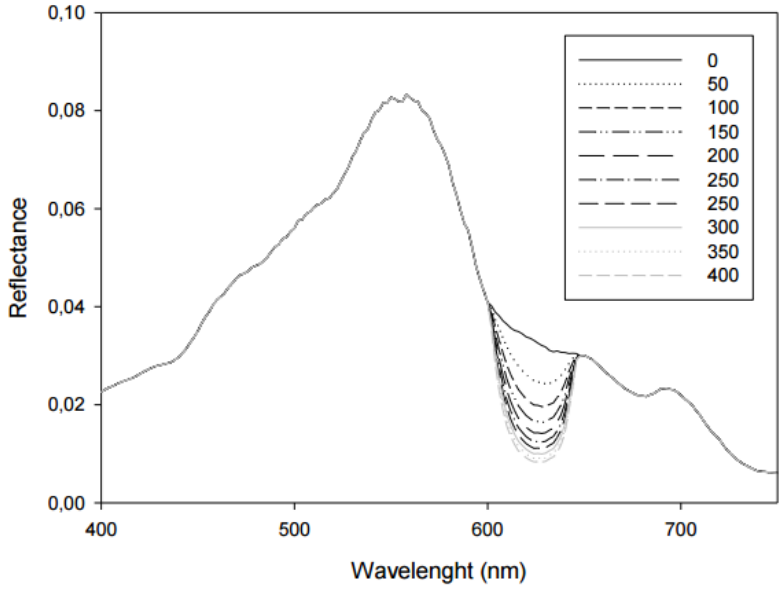


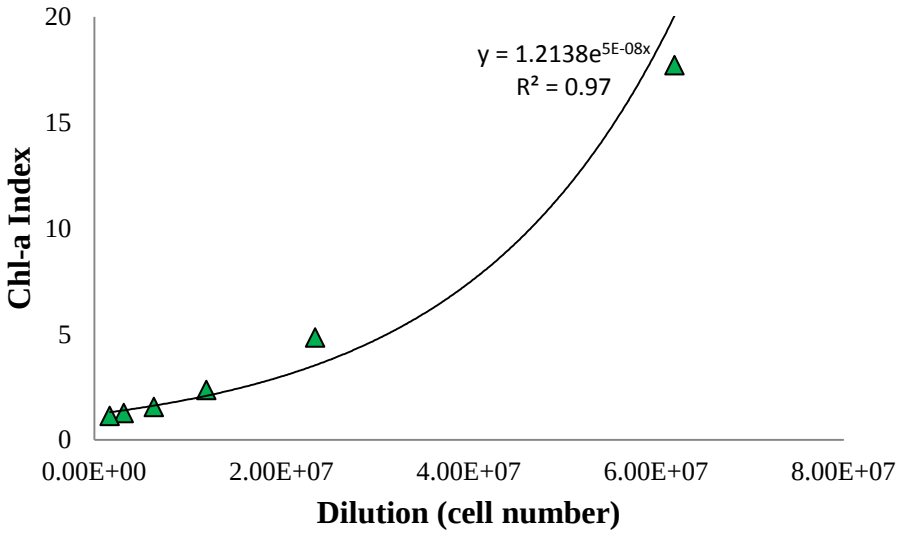
Valori di backscattering misurati su campioni noti di *Microcystis*.

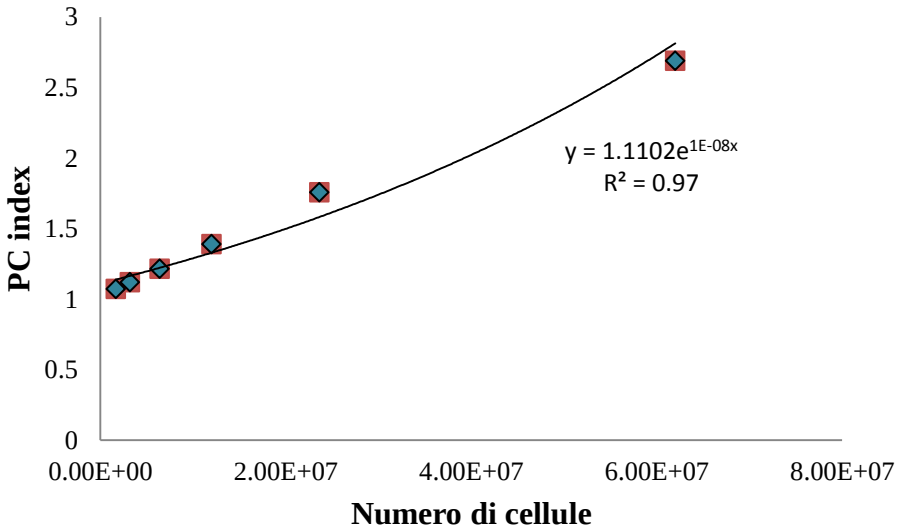


Valori di backscattering misurati su campioni noti di *Dolichospermum*.

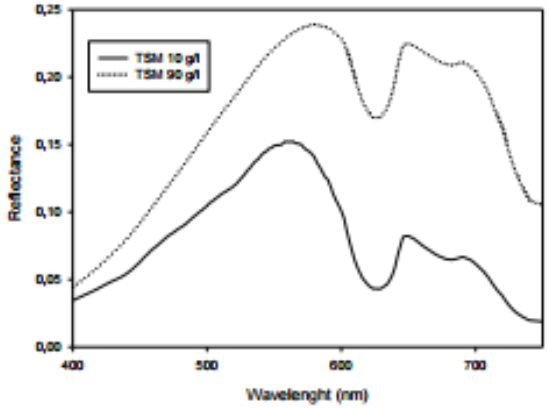
Simulazione modellistica



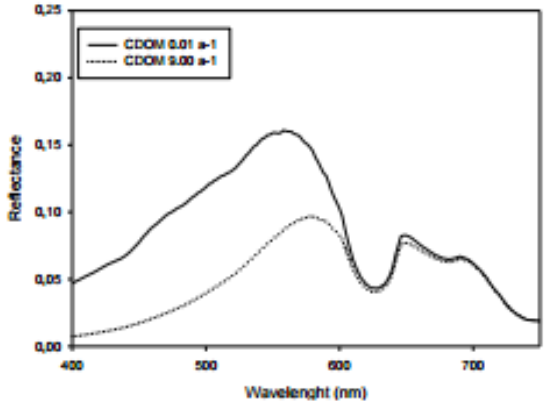




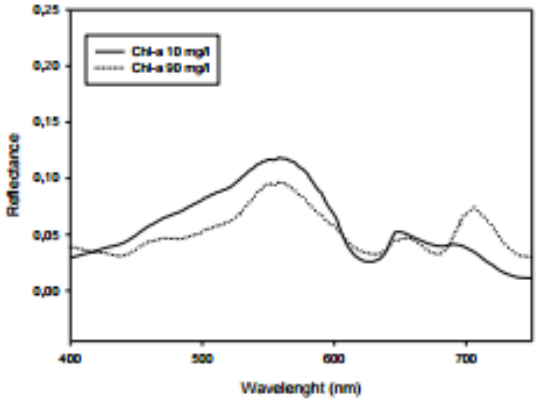
Valutazione dell'interazione con altri parametri ottici



La variazione delle concentrazioni di TSM non condiziona la stima tramite indici radiometrici dei pigmenti ficocianina e ficoeritrina mentre determina un errore di circa del 20% nella stima radiometrica della concentrazione di clorofilla.



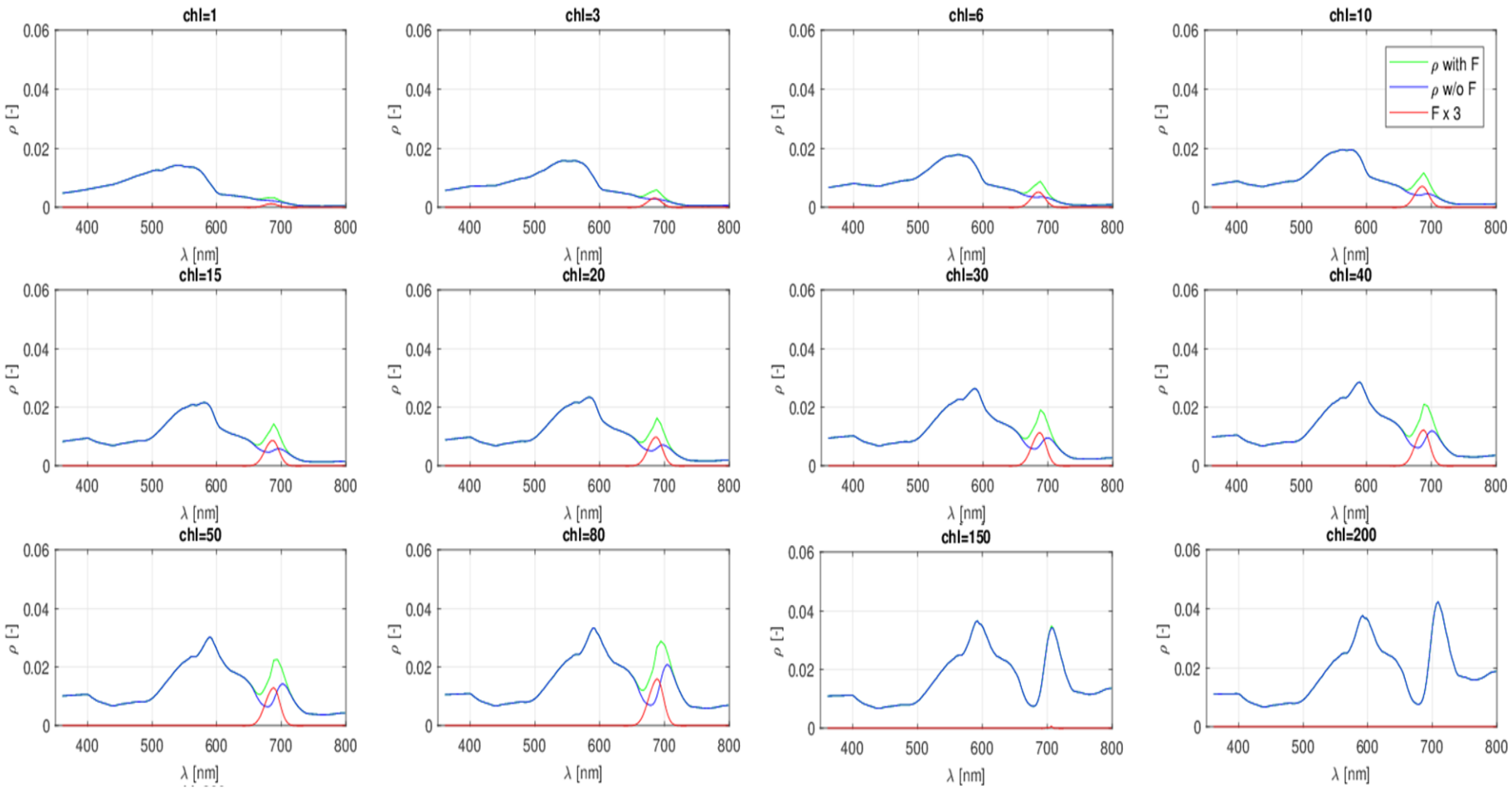
La variazione del CDOM non condiziona la stima radiometrica di CHl-a, PC e PE



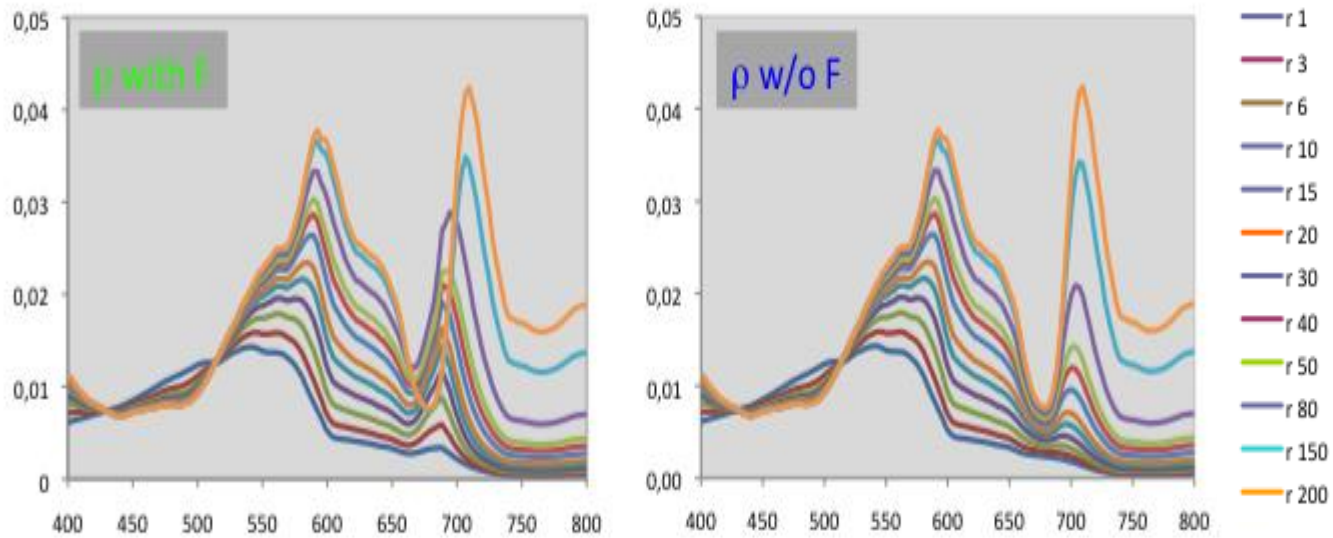
La variazione della concentrazione di Chl-a dovuta ad altri gruppi di fitoplancton determina variazioni notevoli nelle stime simulative dell'indice della clorofilla e determina una errore di circa il 10% per i pigmenti secondari

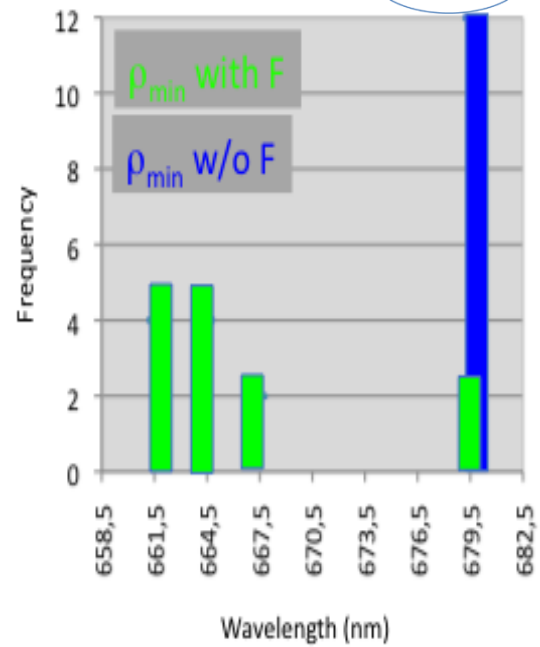
Simulazioni

Hydrolight riflettanze

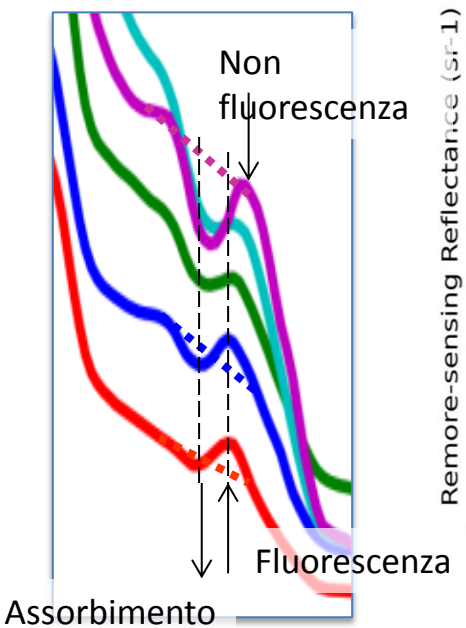


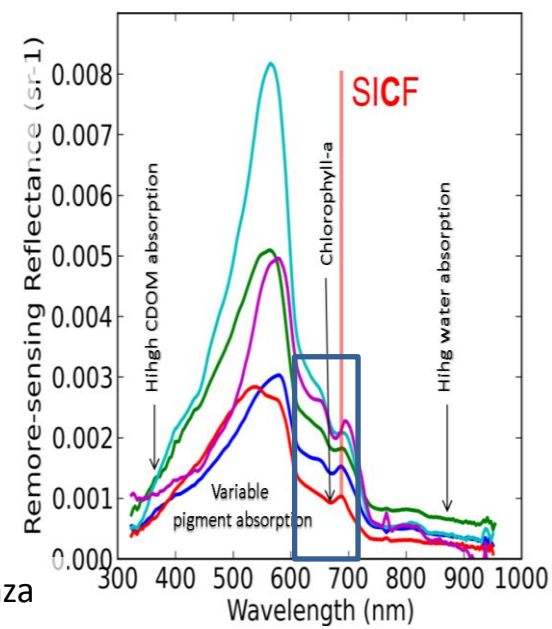
Hydrolight

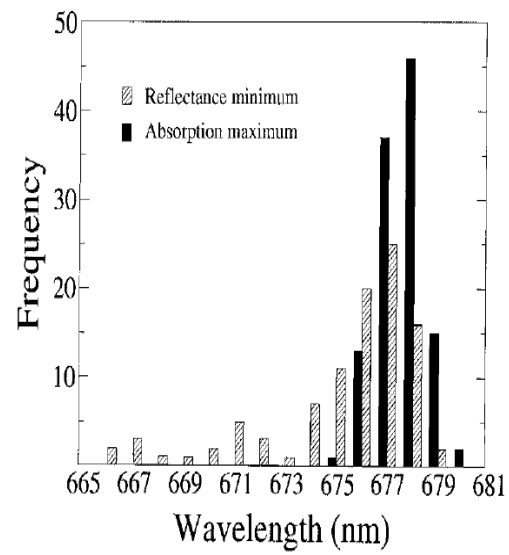




Simis et al. 2015







Dall'Olmo and Gitelson 2005

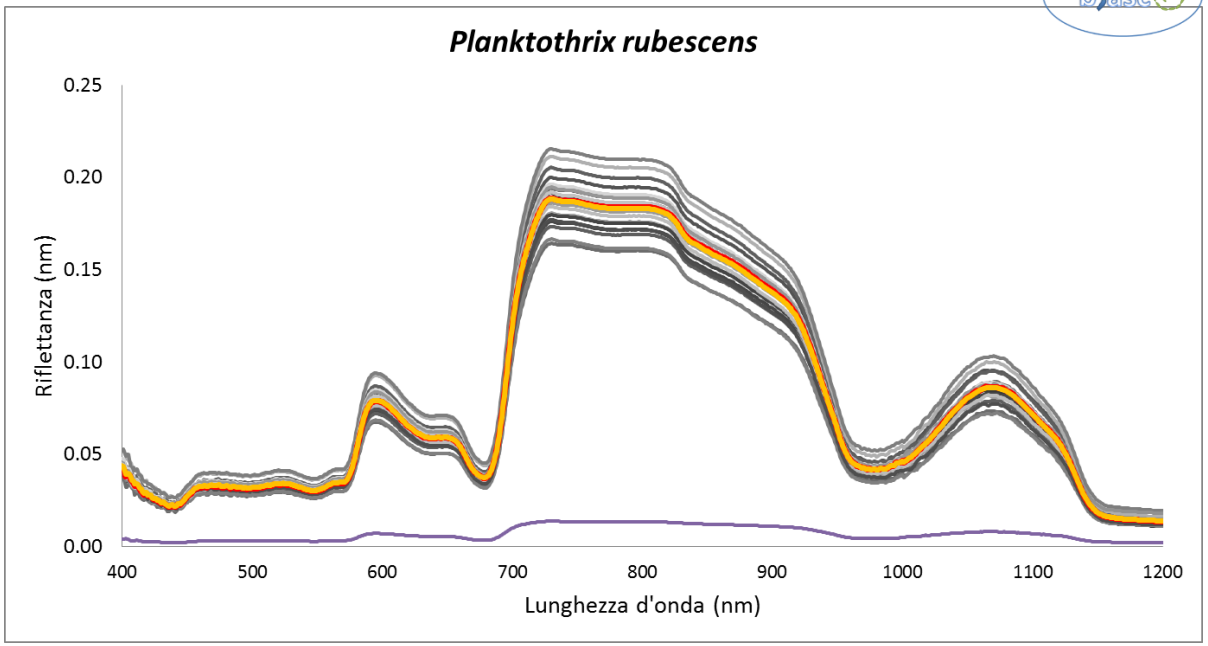
Riflettanza

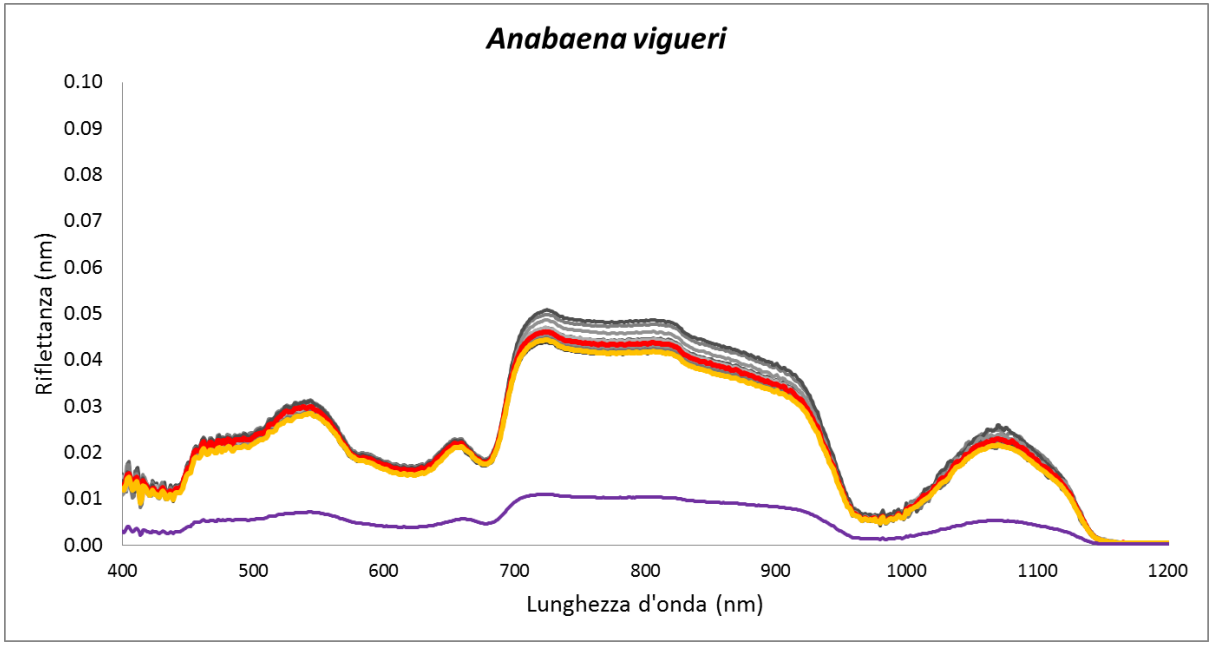
Misure radiometriche

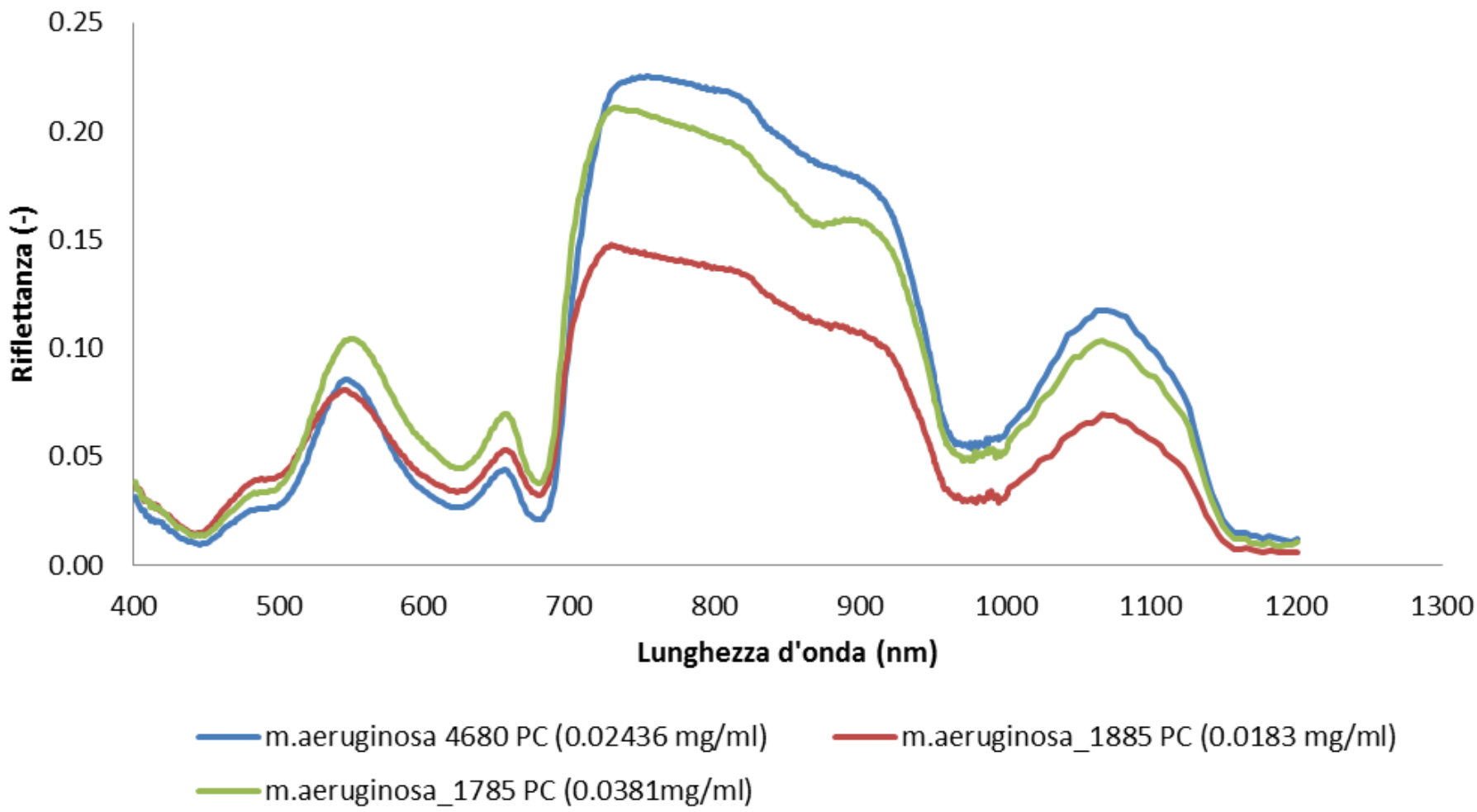
Standardizzazione protocollo di misura in laboratorio

- Misura spettrale della vetreria utilizzata
- Utilizzo di vetreria di ridotte dimensioni per ridurre gli effetti di disturbo
- Utilizzo di superficie di fondo in NEOPRENE
- Utilizzo di lampade stabilizzate a luce bianca
- Riduzione degli effetti speculari tramite angolazioni differenti d'illuminazione e misure sub nadirali
- Elevato numero di repliche

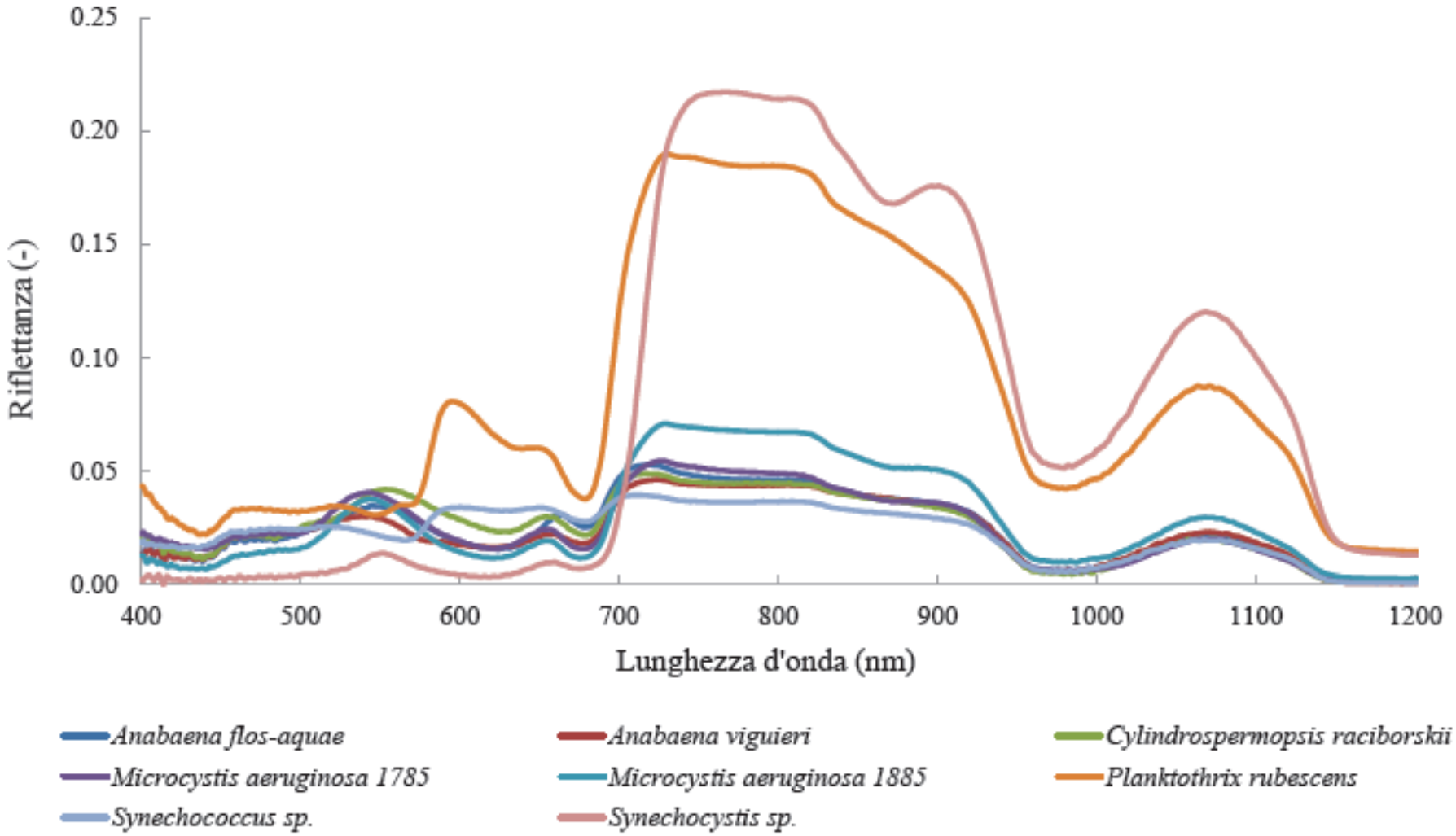
- Elevato numero di repliche
- Rimozione disturbo spettrale vetreria
- Analisi della presenza di effetti speculari e loro rimozione
- Calcolo di media, mediana, deviazione standard
- Rimozione degli outlier
- Analisi delle features spettrali
- Applicazione dei rapporti di banda e correlazione con le misure di concentrazione



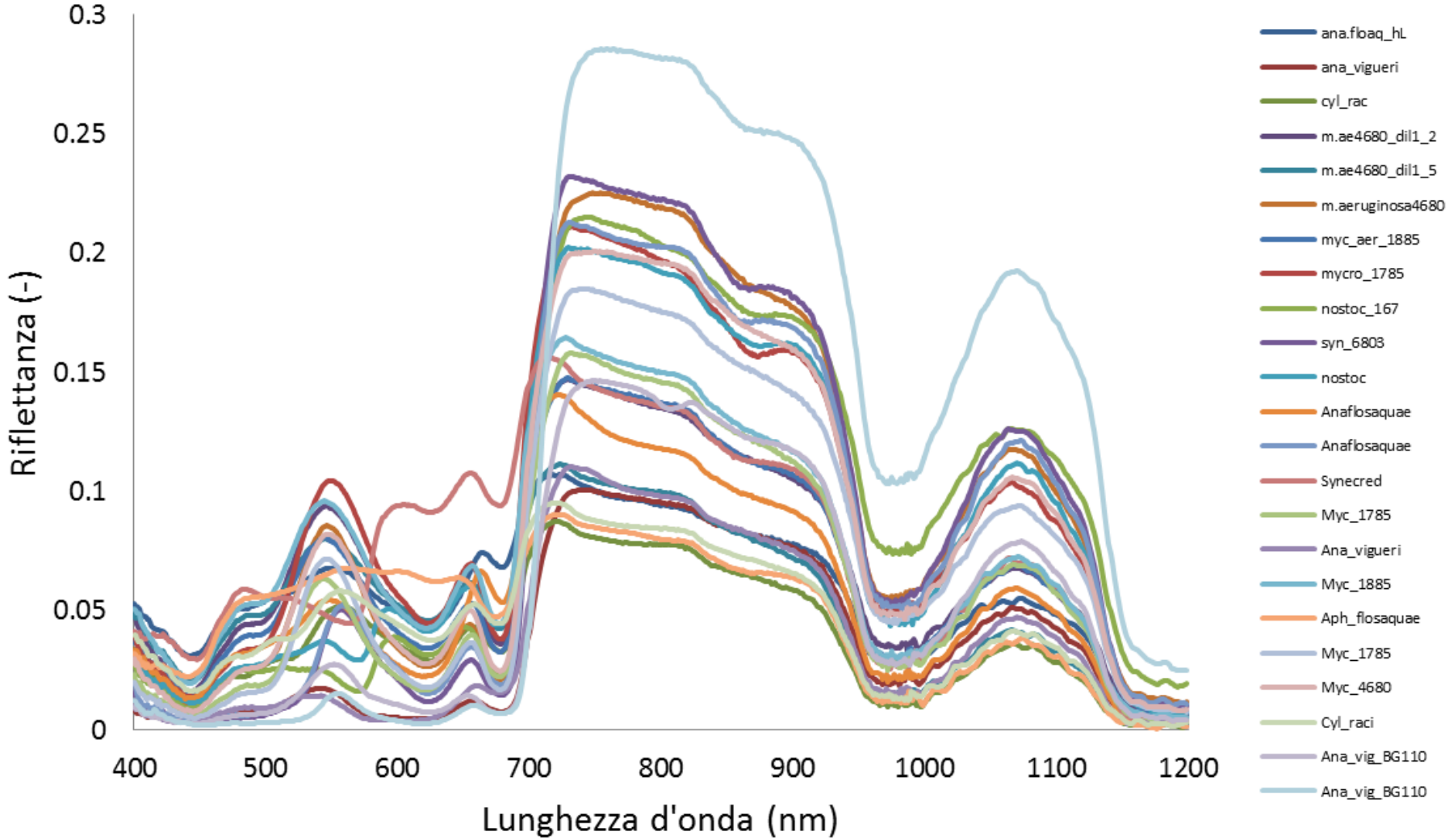




Confronto tra le differenti firme spettrali della stessa specie ma di ceppi differenti (creazione di banche dati di riferimento)

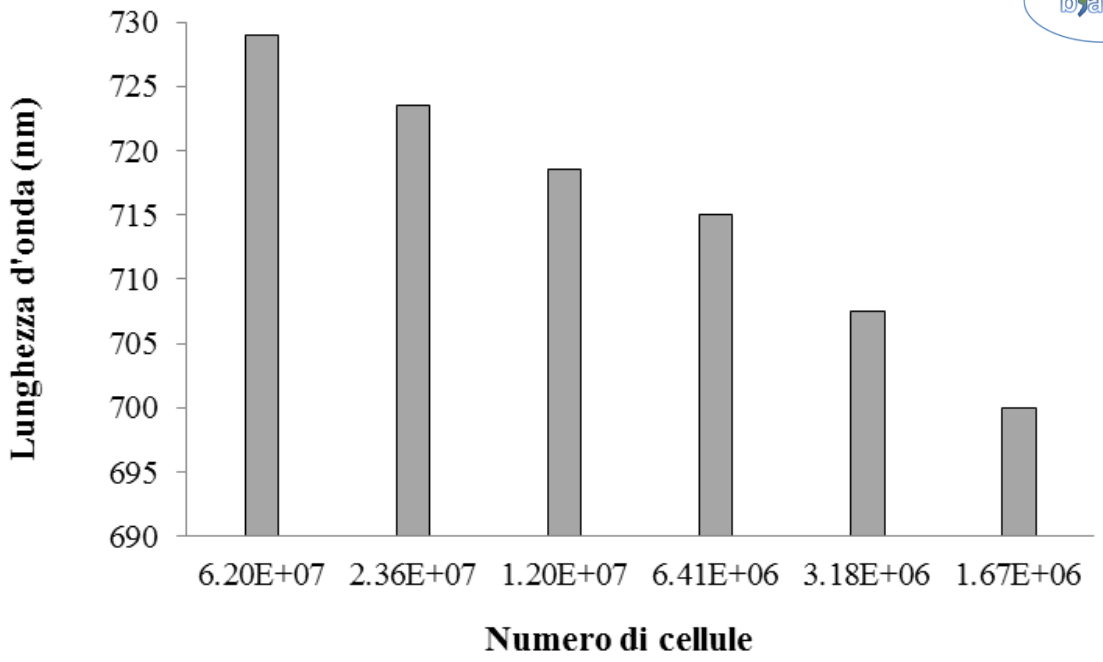


Confronto tra le differenti firme spettrali di specie differenti (creazione di banche dati di riferimento)

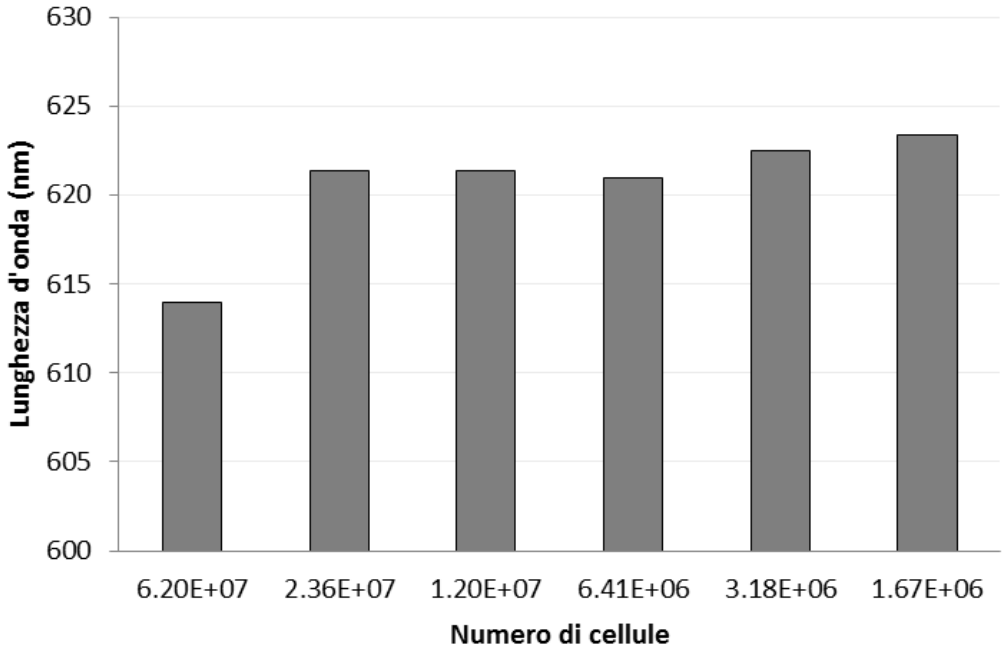


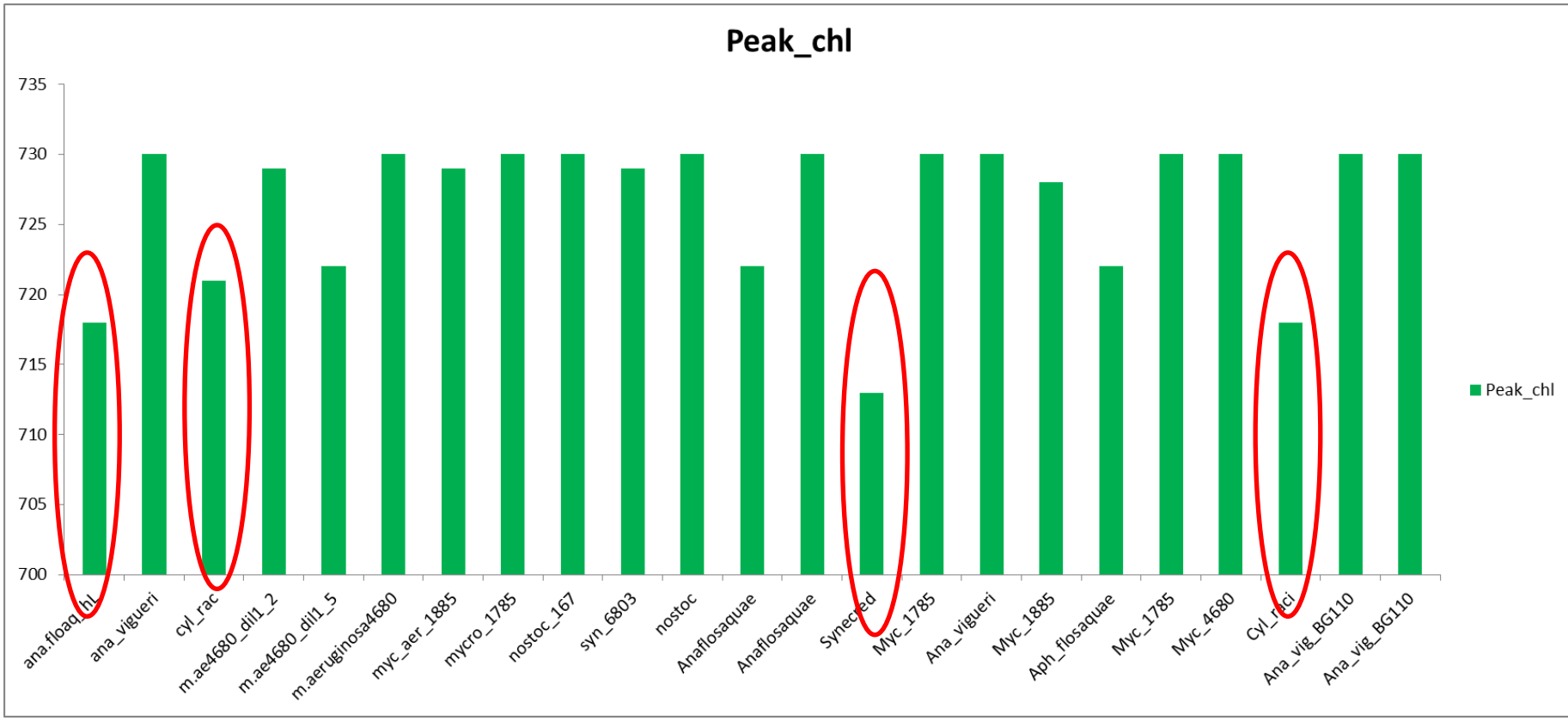
Confronto tra le differenti firme spettrali di specie differenti e differenti condizioni di concentrazione e condizione di crescita (creazione di banche dati di riferimento)

Picco massimo di riflettanza dovuto allo scattering nella regione della Clorofilla

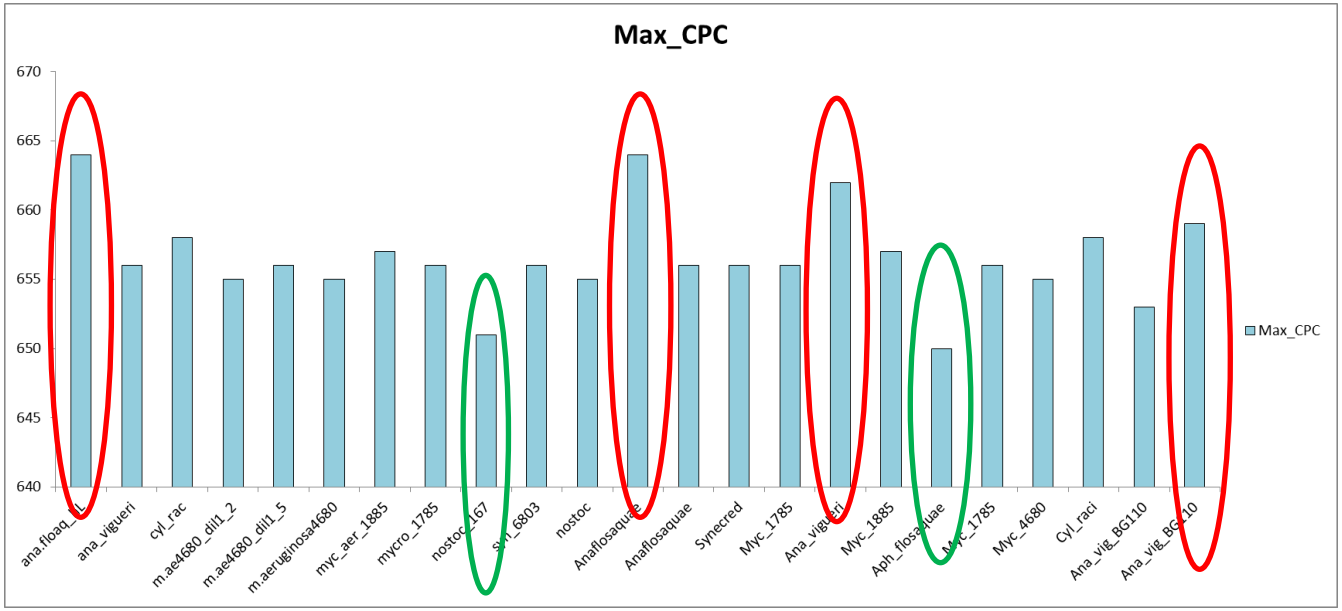


Picco massimo di assorbimento dovuto alla ficocianina

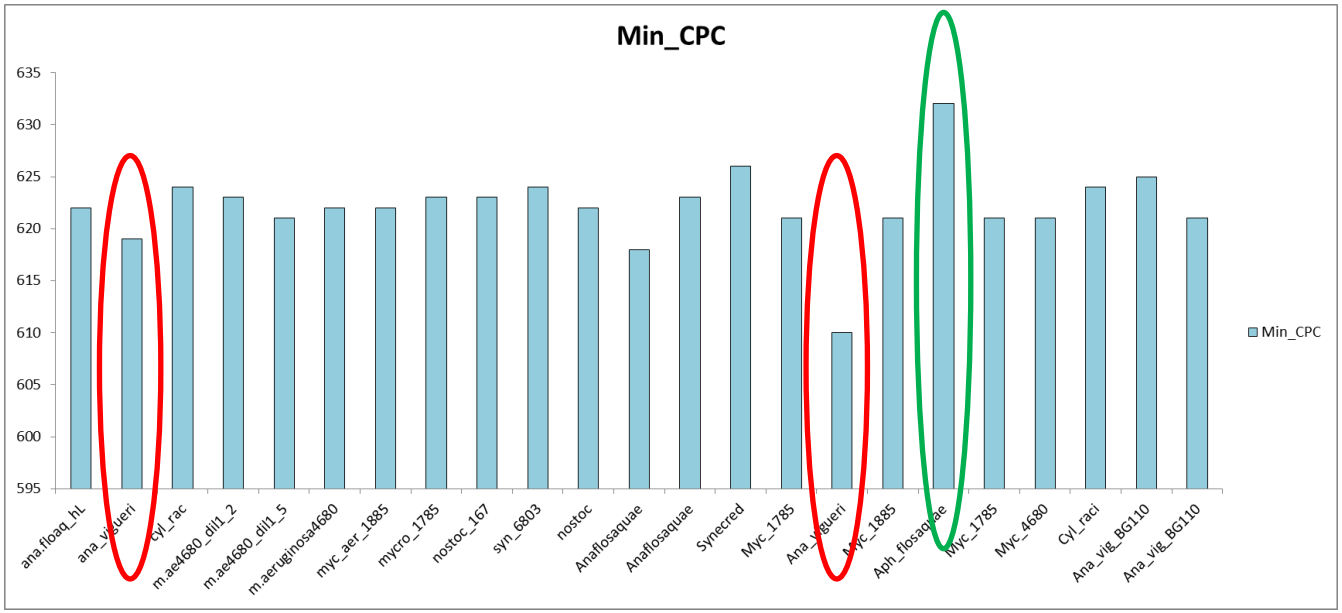


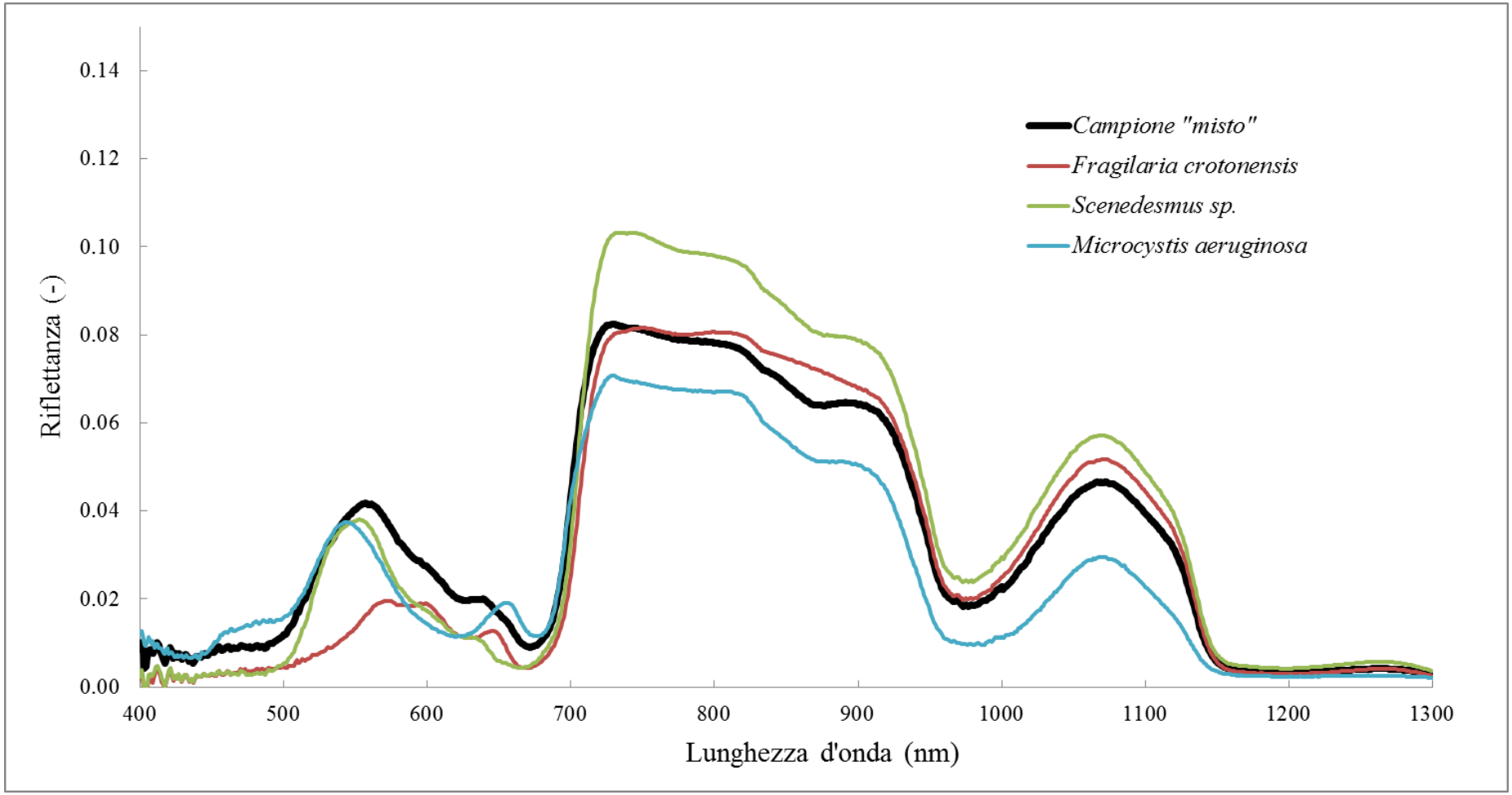

Peak_chl
735
730
725
720
715
710
705
700
ana.floaq_chl
ana_vigueri
cyl_rac
m.ae4680_dil1_2
m.ae4680_dil1_5
m.aeruginosa4680
myc_aer_1885
mycro_1785
nostoc_167
syn_6803
nostoc
Anaflosaquae
Anaflosaquae
Synechd
Myc_1785
Ana_vigueri
Myc_1885
Aph_flosaquae
Myc_1785
Myc_4680
Cyl_rici
Ana_vig_BG110
Ana_vig_BG110
Peak_chl

Anabaena presenta il picco di riflettanza nella regione delle ficocianine a lunghezze d'onda maggiori e anticipa spettralmente il minimo di riflettanza



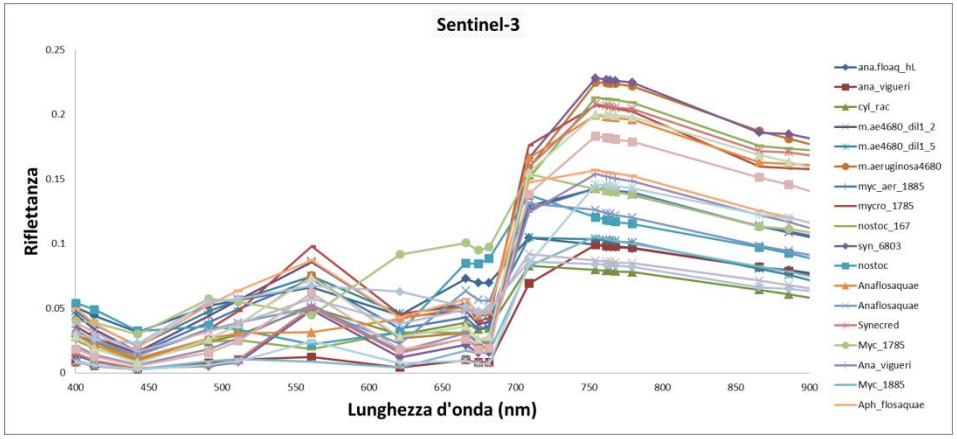
Aphanizomenon e *Nostoc* hanno i picchi di riflettanza a lunghezza d'onda minori, *Aphanizomenon* ha il minimo di riflettanza a lunghezze 'onda maggiori

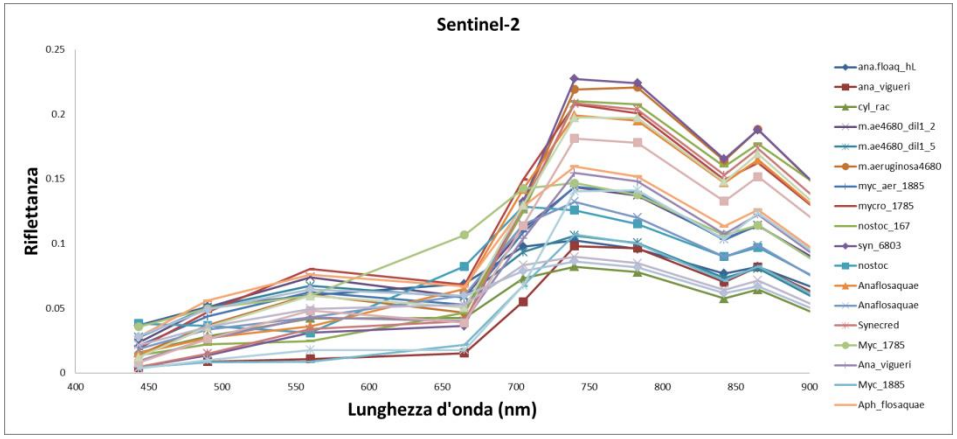


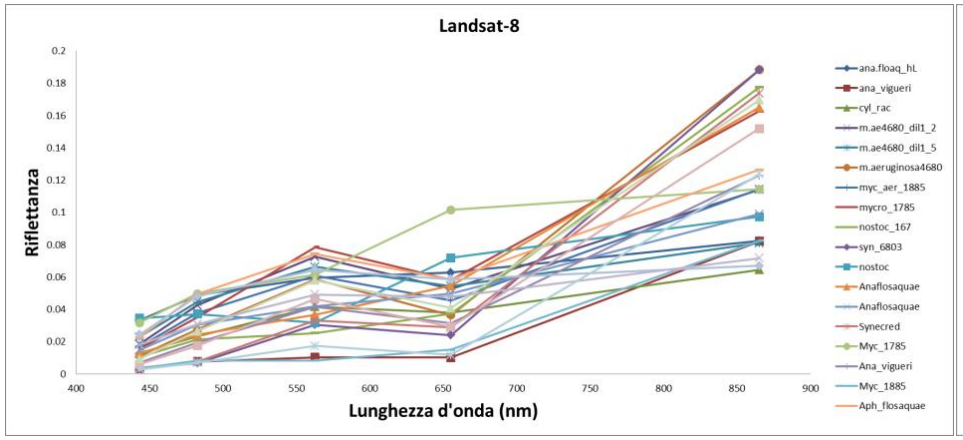


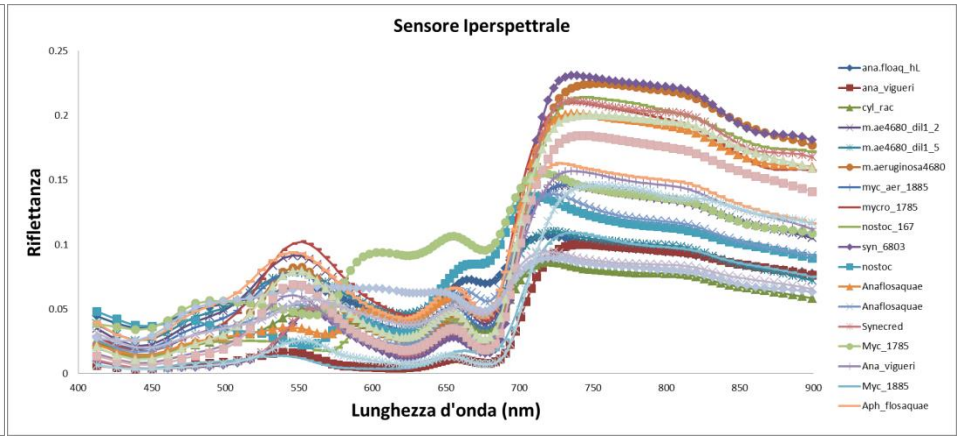
In una situazione di fioritura molto disomogenea caratterizzata da differenti gruppi di fitoplancton, la Clorofilla rimane un ottimo indicatore dell'evento mentre i pigmenti secondari tendono ad essere sottostimati

Ricampionamenti spettrali







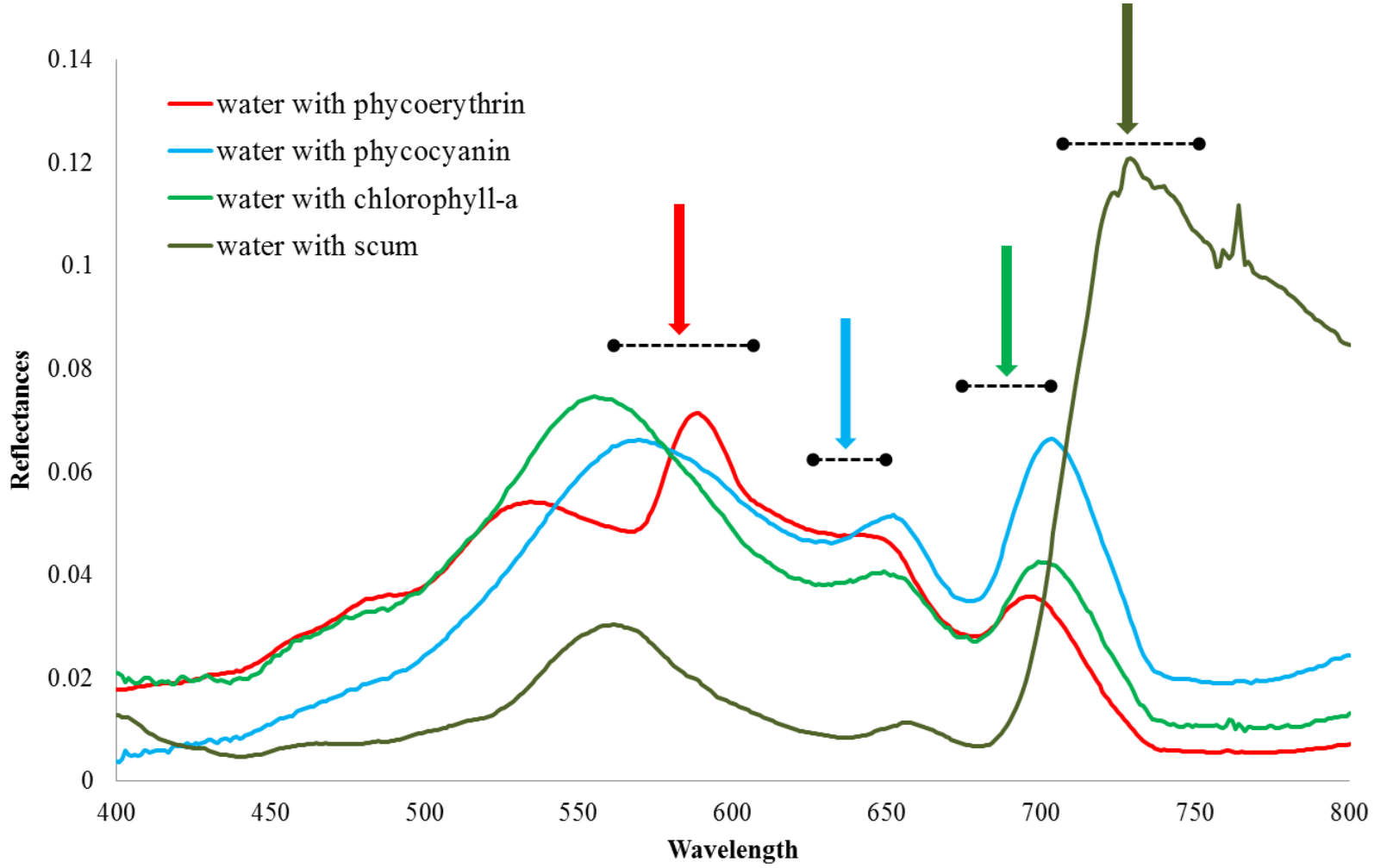


Ricampionamenti spettrali

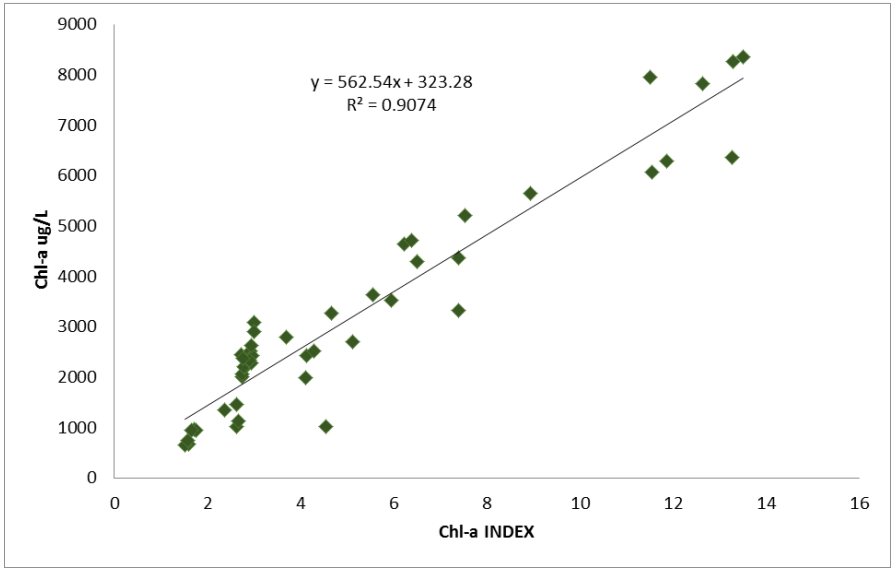
L'analisi dei dati ricampionati alle risoluzioni spettrali dei differenti sensori satellitari e aviotrasportati ha permesso di evidenziare:

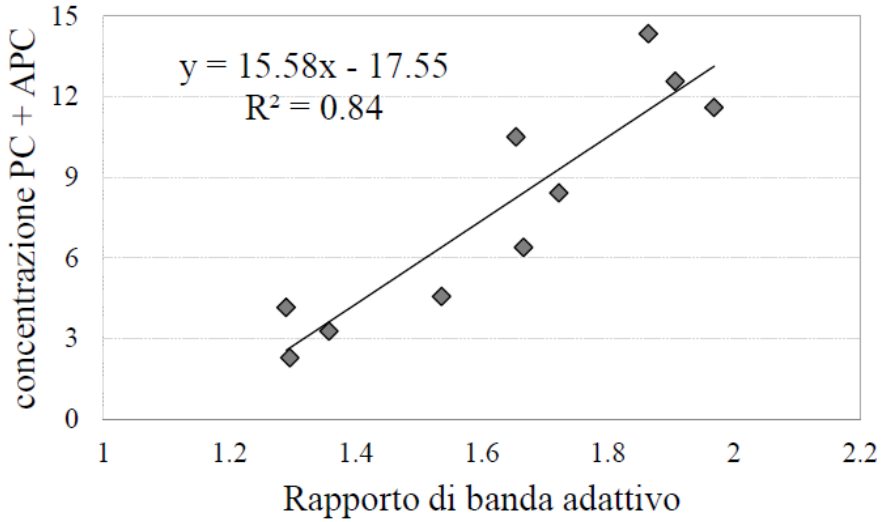
- I **sensori iperspettrali** (da aereo, future generazioni, HICO, CHRIS-PROBA e SENTINEL-3 / MERIS) presentano caratteristiche idonee per le stime quantitative di tutti i pigmenti dei cianobatteri. Applicazione di algoritmi semi-empirici con features spettrale maggiore del rapporto segnale rumore.
- **Sentinel-2** idoneo per chl-a con algoritmi semi-empirici e concentrazioni maggiori di 20 mg/m^3, con concentrazioni minori e per la stima di ficocianina e ficoeritrina necessaria modellistica bio-ottica e fioritura di tipo superficiale (Kd molto ridotto).
- **Landsat-8** idoneo solo per la Chl-a e solo con modellistica bio-ottica.

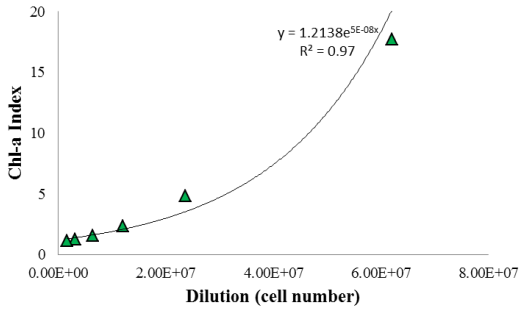
Algoritmi

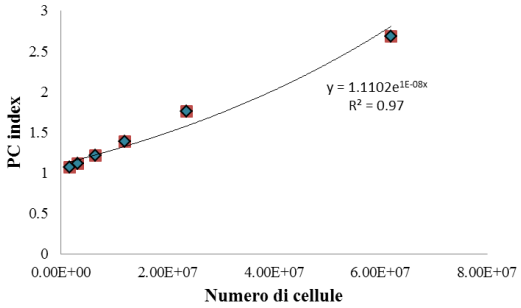

water with phycoerythrin
water with phycocyanin
water with chlorophyll-a
water with scum
Reflectances
0.14
0.12
0.1
0.08
0.06
0.04
0.02
0
400
450
500
550
600
650
700
750
800
Wavelength

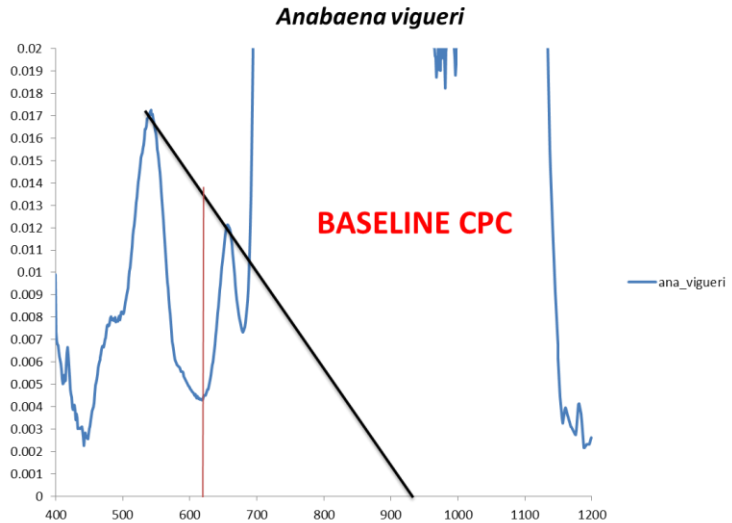
Algoritmi


y = 562.54x + 323.28
R² = 0.9074
Chl-a ug/L
Chl-a INDEX

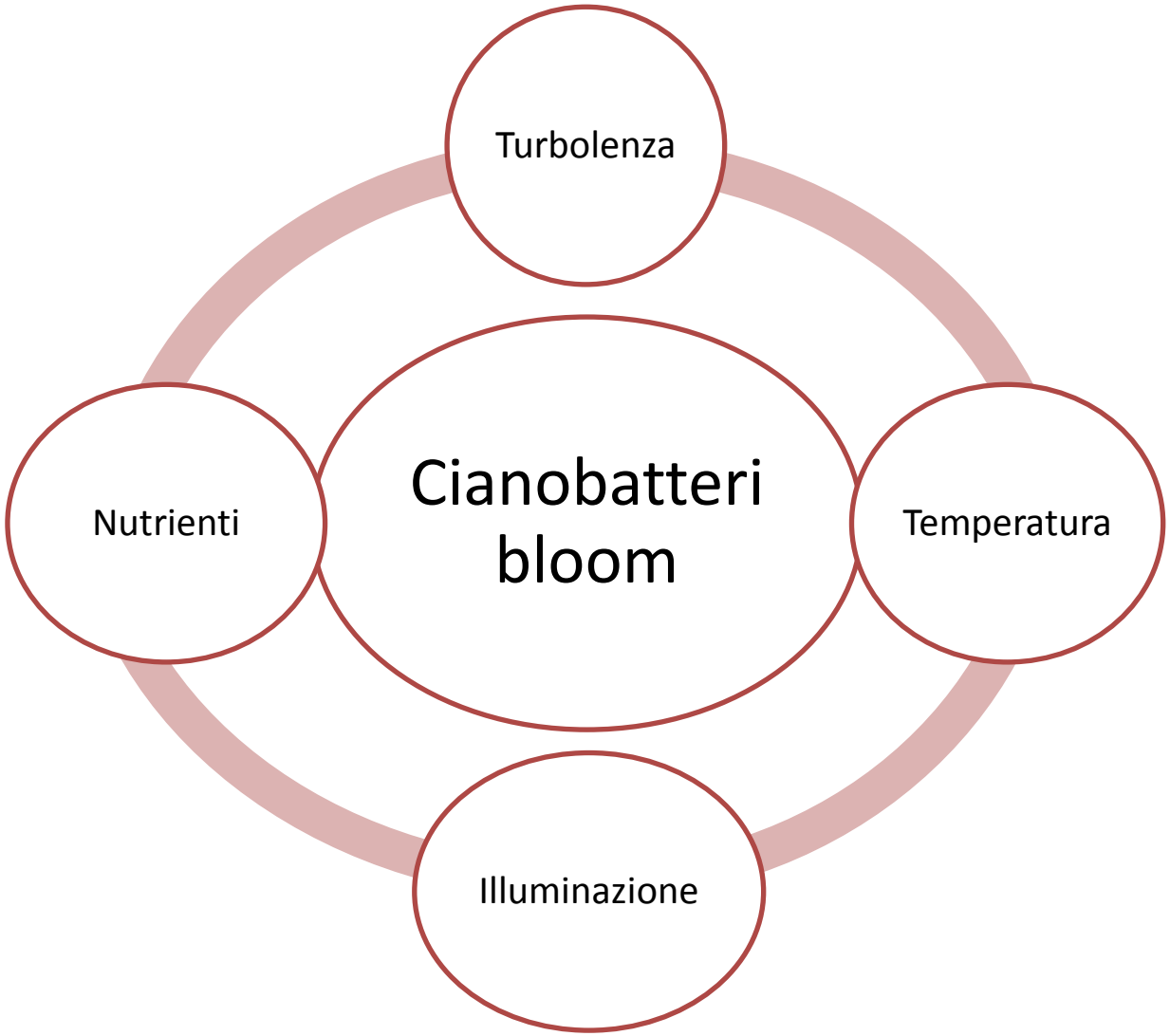

y = 15.58x - 17.55
R² = 0.84
concentrazione PC + APC
Rapporto di banda adattivo


y = 1.2138e^5E-08x
R² = 0.97
Chl-a Index
Dilution (cell number)

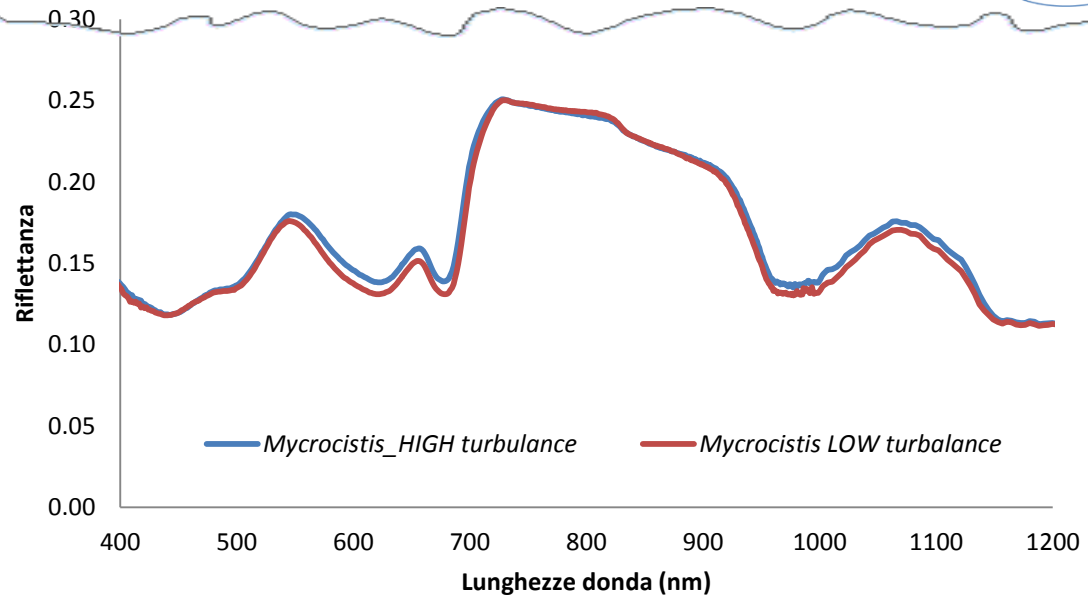

y = 1.1102e^1E-08x
R² = 0.97
PC index
Numero di cellule


Anabaena vigueri
BASELINE CPC
ana_vigueri

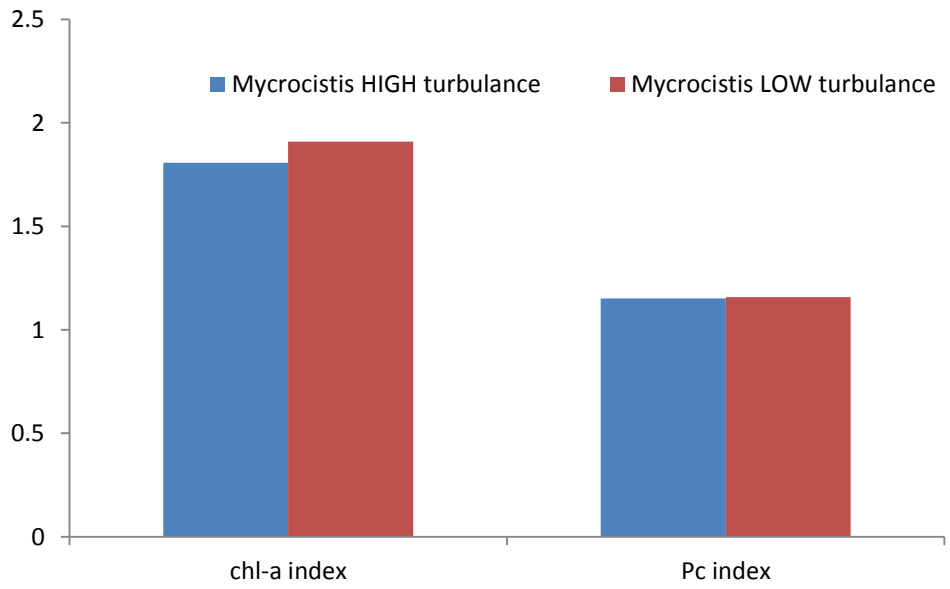
Fattori che condizionano le fioriture



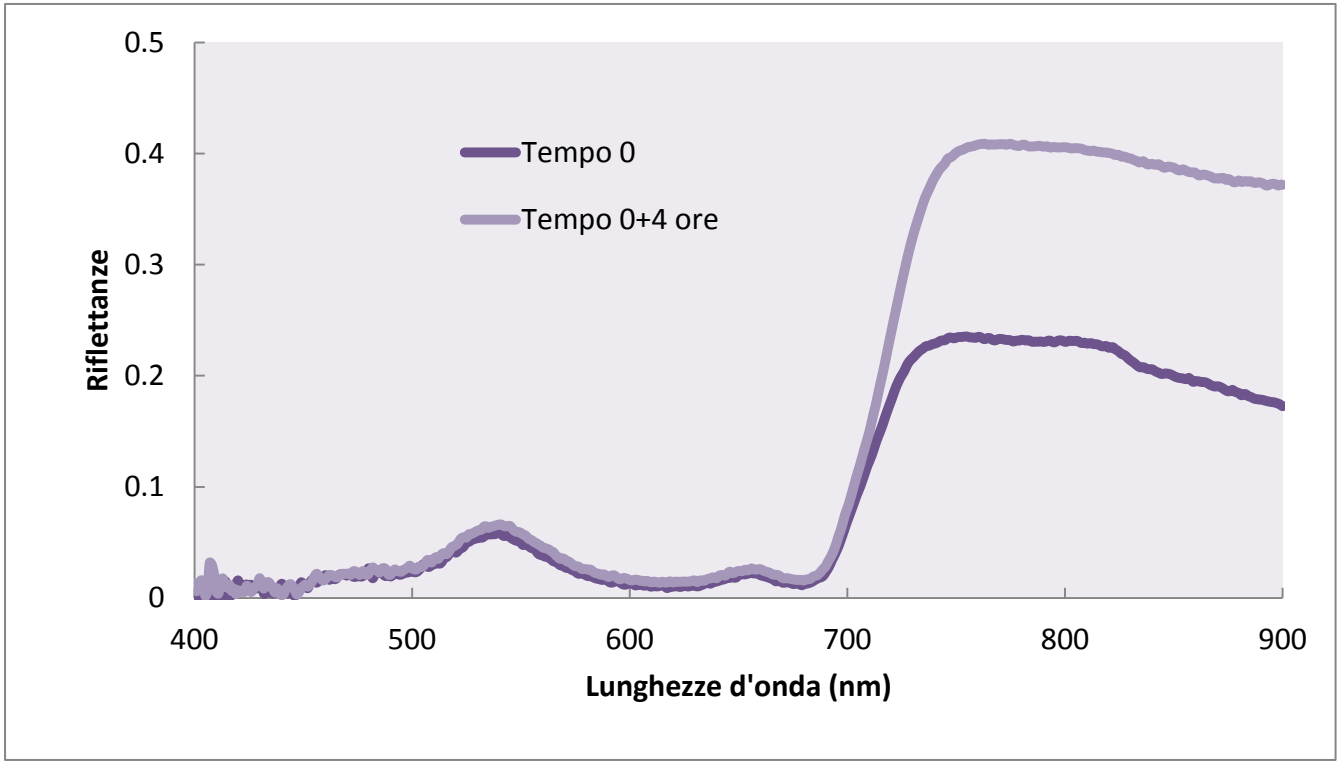
Turbolenza



Condizioni di turbolenza differenti determinano un cambiamento nei confronti della risposta spettrale dovuta alla clorofilla nel vicino infrarosso mentre non determinano grandi variazioni nella ficocianina



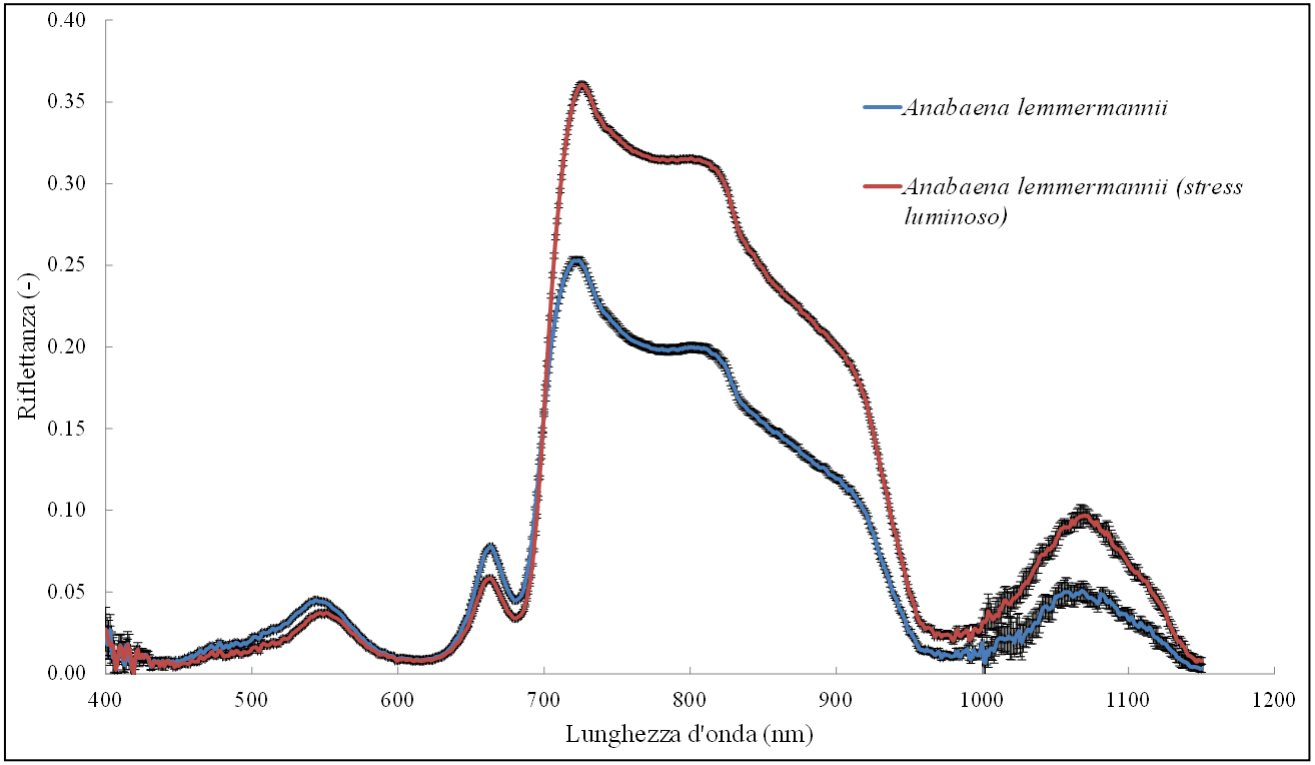
Turbolenza



A livello di applicabilità ai dati da satellite i risultati di questo esperimento evidenziano come la turbolenza/buoyancy e il tempo di permanenza in superficie condizionino la regione dell'infrarosso (identificazione tramite gli algoritmi di SCUM).

Illuminazione

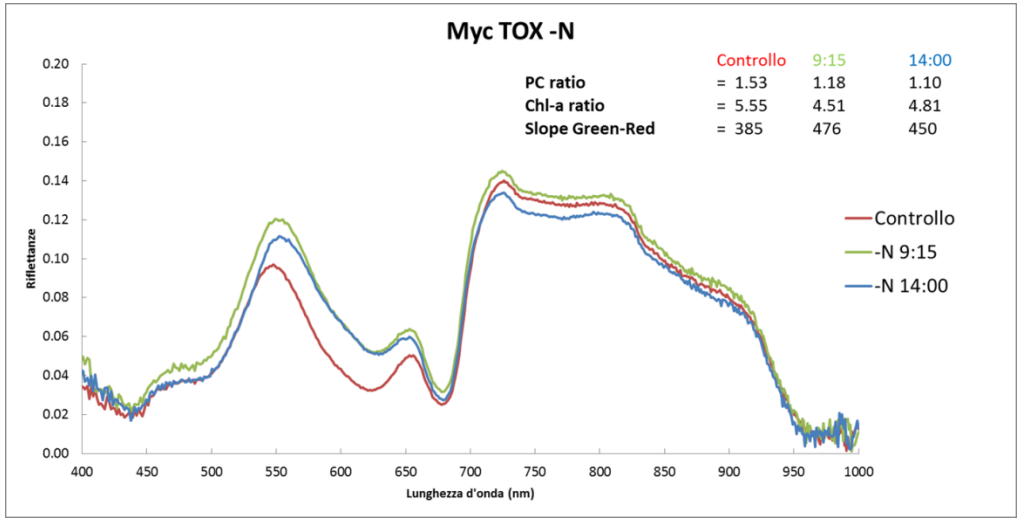
L'incremento dell'intensità luminosa prolungata per alcuni giorni determina una leggera diminuzione dell'assorbimento delle ficocianine e un maggiore scattering dovuto a cellule morte nell'infrarosso

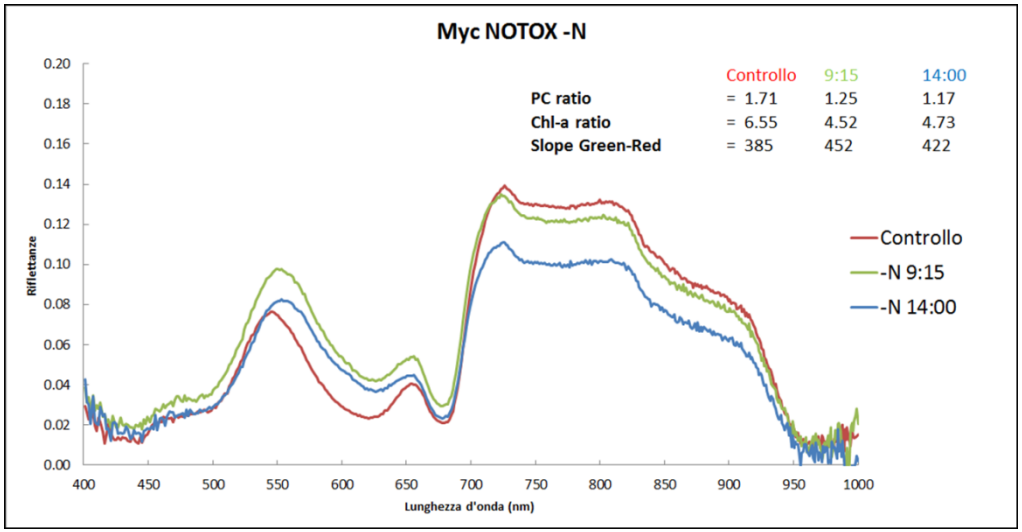


A livello di applicabilità ai dati da satellite i risultati di questo esperimento evidenziano come sia possibile discriminare da dati iperspettrali lo stato fenologico dell'evento di fioritura condizionato dall'illuminazione solare.

NUTRIENTI - N

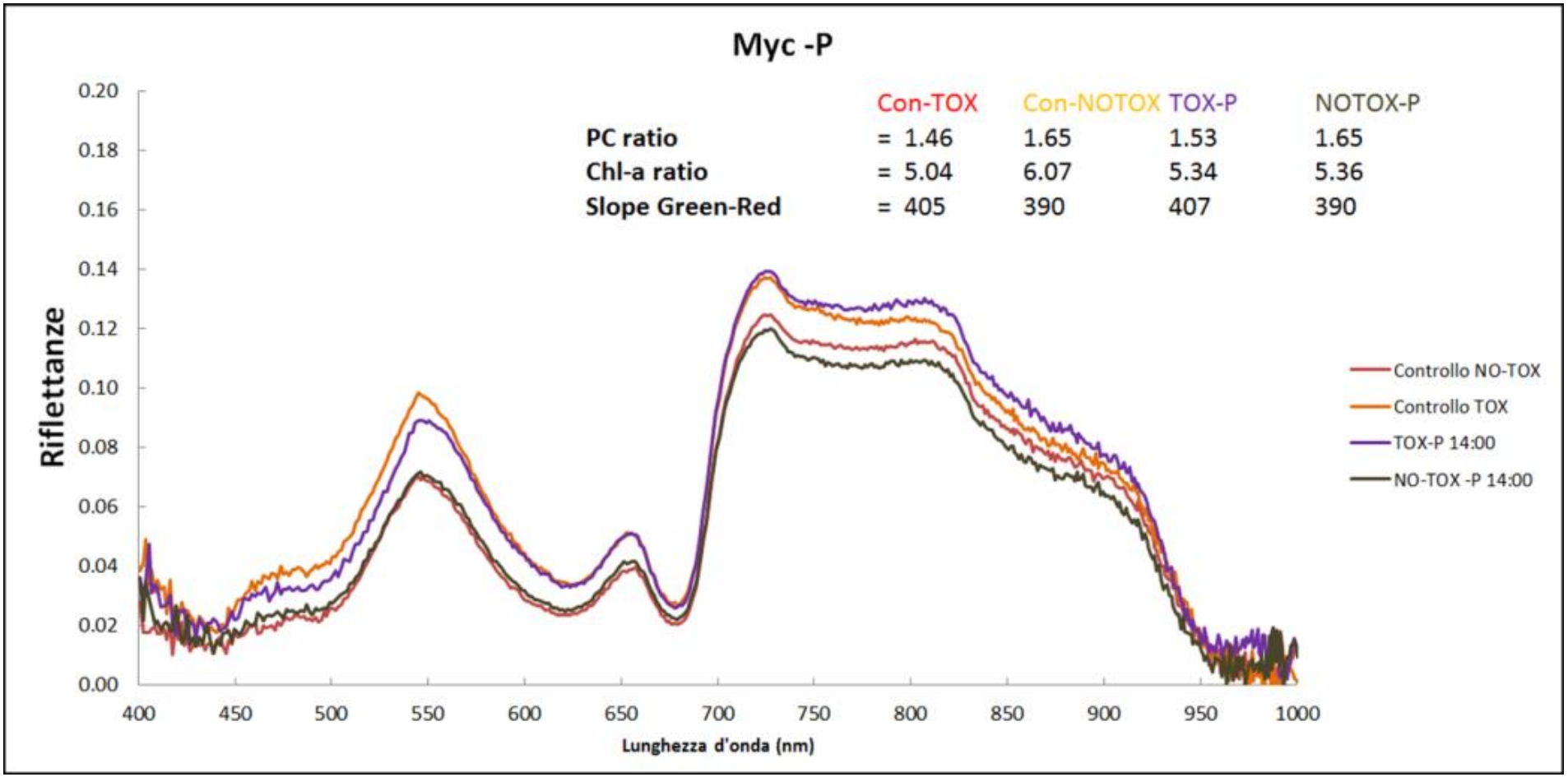
Nutrienti





Nutrienti

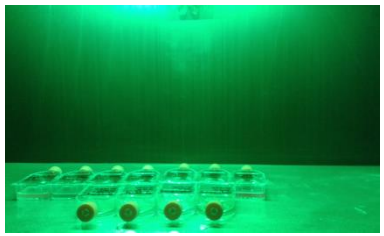
Nutrienti - P

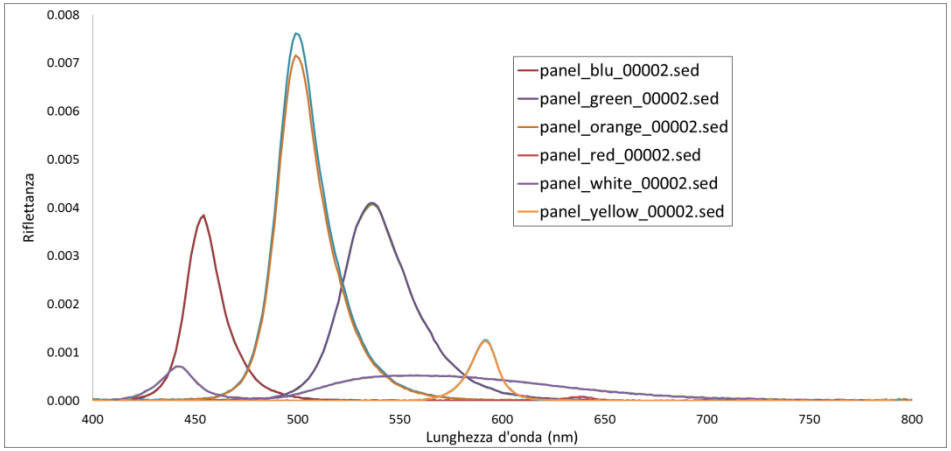


Illuminazione

Colors light

- I cianobatteri vengono fatti crescere in apposite colture di laboratorio poiché utilizzati come biomassa-biogas e prodotti cosmetici. L'ottimizzazione della crescita di queste colture è importante. Valutazione di come differenti tipologie di luce possono condizionare la crescita dei cianobatteri e i loro pigmenti fotosintetici. Questa conoscenza può essere anche utilizzata come meccanismo alternativo di abbattimento di questi organismi





Colors light

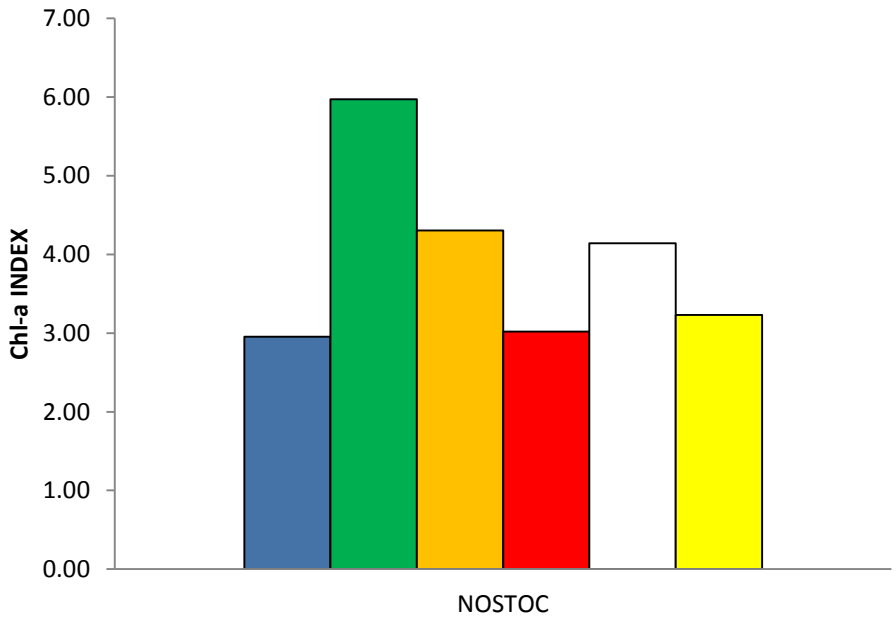
- *Anabaena flos-aquae*: la risposta nelle regioni dei pigmenti (Chl-a, PC) mediamente non cambiano in funzione dei colori della luce. Piccole variazioni sono mediamente che: la luce BIANCA è quella che fa registrare i più alti valori degli indici relativi alla Chl-a mentre quella la BLU e la GIALLA per la PC. I valori più bassi per la Chl-a si registrano con la BLU per la Chl-a e con la ROSSA per la PC.

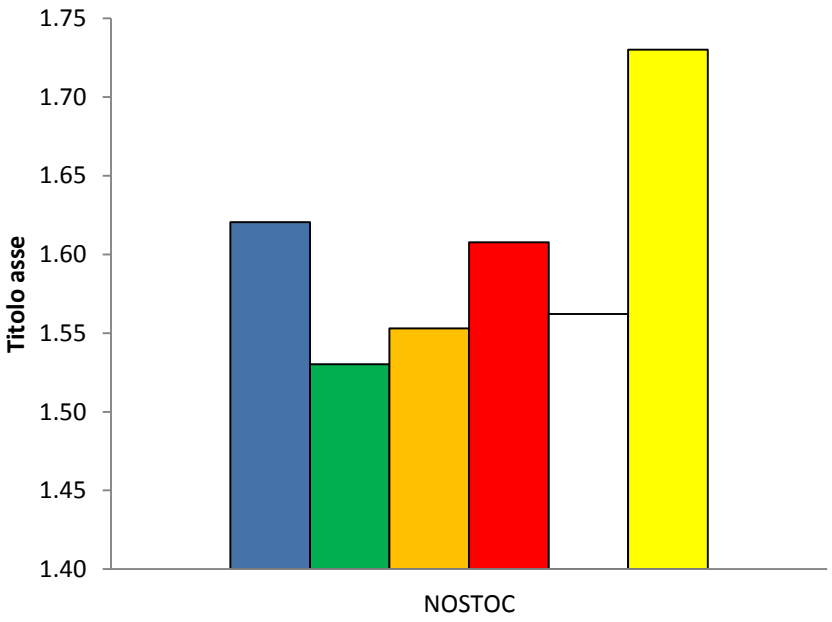
- *Mycrocistis aeruginosa*: le differenze per questa specie sono molto più marcata. La luce VERDE aumenta moltissimo gli indici della Chl-a mentre la BLU aumentano quelli della PC. Per entrambi i pigmenti con la luce ROSSA si registrano i valori più bassi.

- *Synechocystis* _6803: Valori massini degli indici per entrambi i pigmenti si sono registrati con la luce GIALLA mentre quelli minimi con la luce ROSSA

Colors light

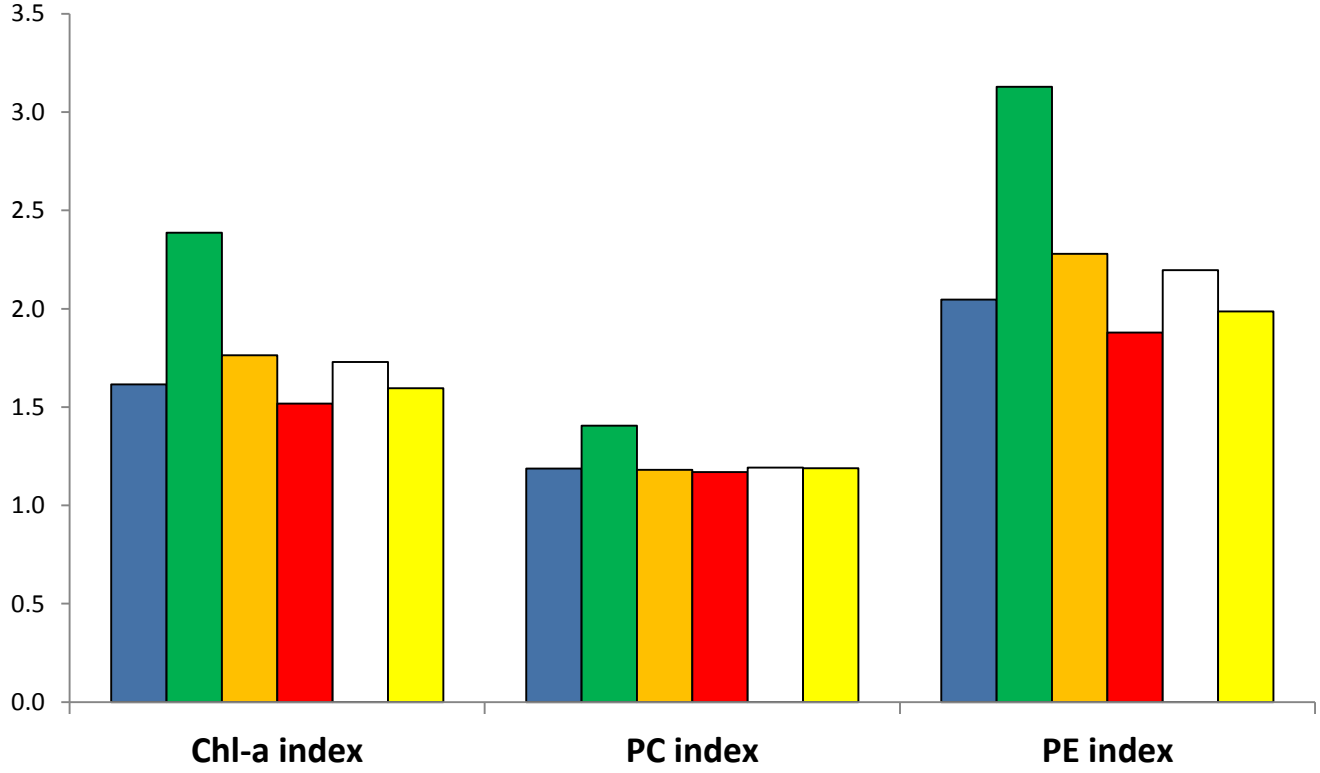
Nostoc: i grafici evidenziano la grande variabilità degli indici al variare delle condizioni di illuminazione





Colors light

- *Synechococcus* : Valori massini degli indici (Chl-a; PC-PE) si sono registrati con la luce VERDE mentre quelli minimi con la luce ROSSA



Conclusioni

- Caratterizzazione spettrale
- Conoscenza delle proprietà ottiche
- Banca dati
- Protocollo di misure
- Implementazione di algoritmi semi-empirici e parametrizzazione di modelli bio-ottici dedicati da applicare ad immagini satellitari
- Analisi di sensitività dei differenti sensori di Osservazione della terra

Conclusioni

- Grande variabilità spettrale (ceppi uguali ma mantenuti in condizioni differenti hanno diversità maggiori di specie diverse ma fatte crescere nelle stesse condizioni)
- Differenti risposte ai differenti stress di crescita
- La clorofilla è un buon indicatore della stima dei cianobatteri
- La produzione di tossine non determina in modo significativo una risposta spettrale univoca, difficilmente separabile se presenti contemporaneamente specie tossiche da specie non tossiche