

Comportamento Espectral do Fitoplâncton

JOSÉ EDUARDO MANTOVANI

INPE-Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
Cx.P. 515
12201-970 - São José dos Campos, SP, Brasil
Fax: (0055) (0123) 218743- E-mail: Manto@ltid.inpe.br

Abstract. The water spectral reflectance with phytoplankton was studied on controlled laboratory experiments. In 3 tanks, which differ in inner coatings, *Chlorella vulgaris* culture samples were diluted in 5 different concentrations. The water spectral signature was analysed through bidirectional reflectance factor curves, and the bands that show greater sensitivity to the concentrations of photosynthetic pigment presents in the *Chlorella vulgaris* were determined. The results showed the bands near the peak of greater absorption by chlorophyll a and carotenoids, and also the bands near the peak of chlorophyll a fluorescence.

Introdução

Nos estudos sobre ecossistemas aquáticos continentais e costeiros, os resultados obtidos a partir de dados gerados pelos sensores orbitais TM, MSS (LANDSAT) e HRV (SPOT) não têm sido de grande fidelidade, seja pela dificuldade de correção atmosférica, seja por serem excessivamente largas suas bandas espectrais, ou ainda por terem resolução espacial ruim (Shu e Chen, 1987; Topliss, 1989).

Novos sensores estão sendo desenvolvidos, e ainda nesta década deverá entrar em operação o sistema EOS (Earth Observing System), com sensores de grande resolução espectral. Um destes, o HIRIS (High-Resolution Imaging Spectrometer), um sensor espectro-imageador (192 bandas no intervalo de 400 a 2500 nm) projetado com a preocupação de atender às necessidades do

estudo de alvos aquáticos, gerará uma quantidade de dados muito grande, ao ponto de obrigar ao usuário uma seleção criteriosa das bandas de interesse no momento da requisição (NASA, 1987).

Com o objetivo de se conhecer o comportamento espectral da água e de seus componentes com a maior fidelidade possível, são recomendados estudos aos níveis de campo e de laboratório, onde podem ser controladas ou escolhidas as condições de iluminação e a geometria de aquisição, bem como evitada a interferência atmosférica sobre a pequena intensidade de REM proveniente de alvos aquáticos (Morel e Prieur, 1977).

Ao penetrar na água a radiação sofre absorção e espalhamento, que juntos atenuam a sua propagação.

As algas planctônicas, através de seus pigmentos,

absorvem radiação ativamente, para a realização da fotossíntese.

A quantidade de pigmentos dentro da célula varia muito, dependendo das condições reinantes e da história fótica do fitoplâncton (Calijuri, 1988), sendo maior para algas sob baixa iluminação e menor para aquelas sob alta intensidade luminosa.

Além da forte ação absorvedora dos pigmentos, também as outras estruturas celulares das algas interagem com a REM, de modo que são diferentes os espectros de absorção dos pigmentos "in vivo" e "in vitro", fenômeno conhecido como efeito pacote (Kirk, 1986). Este provoca um leve deslocamento lateral e diminuição da intensidade dos picos de absorção.

Raros são os estudos sobre comportamento espectral de fitoplâncton ao nível laboratorial, como feito nesta pesquisa, embora sua importância seja reconhecida (Morel e Prieur, 1977; Sathyendranath et al., 1989; Vertucci e Likens, 1989; Topliss, 1989).

No presente trabalho foi estudado o comportamento espectral da água contendo fitoplâncton e foram determinadas as faixas espectrais de maior sensibilidade ao mesmo, ao nível de laboratório, em tanques com revestimentos internos diferentes.

Material e método

Através do convênio INPE-USP foram realizados experimentos de radiometria ao nível laboratorial no Centro de

Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA) da Universidade de São Paulo (USP), em São Carlos (SP).

Os experimentos constaram basicamente da obtenção do fator de refletância bidirecional (FRB) de 5 diferentes concentrações da alga fitoplanctônica *Chlorella vulgaris*, em três tanques com revestimentos internos diferentes.

A alga e as concentrações utilizadas

As algas da divisão Chlorophyta, a qual pertence *Chlorella vulgaris*, apresentam como principais pigmentos as clorofilas a e b, carotenóides e luteína (Round, 1983). São unicelulares com células pequenas (<20 µm), aproximadamente esféricas, com parede celular delgada e sem ornamentação.

Infelizmente não foi possível determinar as concentrações de pigmentos utilizadas nos experimentos, pois os filtros (Millipore AP 20) usados nas filtrações das amostras foram extraviados. Entretanto, considerando a concentração mais baixa igual a x, temos as seguintes concentrações: 1x, 3x, 5x, 9x, e 13x.

O Experimento Radiométrico

Os experimentos radiométricos foram realizados à noite, para se evitar radiação solar.

Antes e ao final das medidas radiométricas, foram tomadas medidas das placas de referência. Foram utilizadas duas placas, uma de BaSO₄ e outra de madeira pintada de

preto fosco, de reflectância mais próxima daquela do alvo (Shu e Chen, 1987; Deering, 1989; Mantovani, 1993).

Após a adição das quantidades adequadas de cultura nos tanques, para a obtenção de uma determinada concentração, a água era agitada para homogeneizar a distribuição das células e então era dado um tempo de aproximadamente 30 s para a suavização da superfície líquida, após o qual era feita a medida radiométrica.

Para a obtenção dos espectros de radiância foi utilizado um espectrorradiômetro marca Spectron Engineering, modelo Spectron SE-590, com resolução espectral nominal de aproximadamente 3 nm e FOV de 15°, na posição nadir. E a fonte de iluminação foi uma lâmpada de 1000W de potência, com ângulo zenital de 35°. (Figura 1)

O FRB foi obtido com a divisão dos espectros das concentrações pelo espectro médio das duas medidas da placa preta. É possível obter-se o FRB com relação à placa de BaSO₄ multiplicando-se o FRB obtido com a placa preta por um fator de aproximadamente 0,01.

Os Tanques de Coleta de Dados

Foram empregados 3 tanques de fibra de vidro, de 82 litros de volume útil, onde foram feitas as 5 diluições da cultura algal.

Um dos tanques foi utilizado sem qualquer revestimento interno (FV), o segundo recebeu uma pintura de cor preta (P), e o terceiro uma pintura de cor

cinza metálica na lateral e de cor preta no fundo (AlP), e externamente os três foram cobertos por um tecido de cor preta. (Figura 2)

A Análise dos Dados

O comportamento espectral foi estudado através das curvas de FRB, e para a determinação das faixas espectrais de maior sensibilidade foi empregado uma análise de sensibilidade, definida pela equação:

$$S = (d_{FRB}/FRB_1) / (d_C/C_1)$$

onde:

d_{FRB} é a diferença entre FRB_2 e FRB_1 e d_C é a diferença entre as concentrações C_2 e C_1 .

Resultados e Discussão Comportamento Espectral do Fitoplâncton

Uma banda de absorção mais sutil, porém presente em todas as curvas e mais visível naquelas dos tanques AlP e FV, ocorre em torno de 605 nm, faixa onde existe uma banda de absorção pela própria água. A absorção nesta estreita faixa diminui em relação aos outros comprimentos de onda, na medida em que aumenta a concentração de *C. vulgaris*, demonstrando seu efeito retroespalhador.

As duas bandas mais fortes de absorção ocorrem nas faixas do azul e do vermelho. Nos tanques AlP e FV a banda de absorção no vermelho apresenta-se mais forte e mais larga, estendendo-se até o verde, de 670 a 570 nm, enquanto que no tanque preto a banda de absorção no azul é a mais forte.

Na banda do azul não se verifica um comprimento de onda que seja o pico de absorção de

luz, mas mesmo assim há uma maior diminuição da reflectância em torno de 480 nm nos tanques FV e ALP (figuras 3a e b), ao passo que no tanque preto (figura 3c) isto se dá em torno de 470 nm. Estas duas bandas de absorção verificadas coincidem com as bandas de absorção da clorofila (azul e vermelho) e dos carotenóides (azul).

Porquanto na literatura a absorção de luz por *Chlorella* seja atribuída quase que exclusivamente as clorofilas a e b, mesmo com uma concentração de carotenóides igual a aproximadamente 30% da concentração de clorofila a, como foi verificado nesta pesquisa, (Steeemann-Nielsen, 1961; Ochiai e Hase, 1970; Anderson e Barrett, 1986), foi verificado que a absorção na faixa correspondente a clorofila a e aos carotenóides, a maior diminuição da reflectância dá-se no final do azul (tanque preto) e começo do verde (tanques ALP e FV), que correspondem a faixa de maior absorção pelos carotenóides. (Figuras 3a, b e c).

Analisando as figuras 3a, b e c, verifica-se que a banda do vermelho estende-se até o verde, em torno de 570 nm, faixa onde os pigmentos mais atuantes, ficoeritrina e ficocianina, não são do grupo de pigmentos encontrados em clorofitas.

Na faixa do vermelho nota-se um pico de absorção que ocorre em comprimentos de onda distintos em função do tanque utilizado e da concentração. Para a menor concentração estudada, para o tanque preto esse pico situa-se em torno de 663 nm e para os tanques ALP e FV em torno de 673 nm. Esses picos sofrem um deslocamento de

10 nm em direção dos menores comprimentos de onda quando se atinge a maior concentração.

Na literatura são reportados diferentes picos de absorção da clorofila a nesta faixa do vermelho, explicados como resultado de diferentes regimes de radiação subaquática (Bidigare, 1989; Dekker et al., 1992). Tal deslocamento pode ser o resultado de uma interação com a banda seguinte, de aproximadamente 670 a 710 nm, onde ocorre, em função do tipo de revestimento interno, pouca diminuição ou até aumento da reflectância.

Nesta banda compreendida entre 670 e 700 nm e pico em 683 nm para o tanque preto e 680 e 710 nm com pico em torno de 700 nm para os tanques ALP e FV, verifica-se dois comportamentos distintos.

Nos tanques ALP e FV as algas comportam-se como levemente absorvedoras, pois a medida em que aumenta-se a concentração a reflectância diminui porém muito pouco se comparada com a banda do vermelho.

No tanque preto ocorre justamente o contrário, pois a reflectância varia positivamente com a concentração do fitoplâncton e em amplitude mais pronunciada que na sua banda de absorção do vermelho.

Outro interessante fato observado foi o deslocamento do pico de reflectância de 680 nm para 690 nm com o aumento da concentração nos tanques ALP e FV, ao passo que no tanque preto este deslocamento é praticamente nulo.

Duas hipóteses podem ser levantadas para explicar tal

comportamento, uma ligada ao comportamento de partículas puramente espalhadoras e outra ligada ao comportamento de fluorescência das algas, e ambas em função do tipo de revestimento interno dos tanques.

Na primeira hipótese, considerando apenas o espalhamento das células, a diminuição da reflectância nos tanques de revestimentos mais refletivos (Alp e FV) seria o resultado da interação entre a absorção pela clorofila *a* no final da banda do vermelho e o espalhamento promovido pelas próprias células. Mas neste caso o menor aumento da reflectância no restante do infravermelho, em comparação com o tanque preto, teria que estar sendo encoberto pelo espalhamento originado nas paredes do próprio tanque.

Esta hipótese encontra respaldo nos resultados obtidos por Gitelson (1992), que verificou que o pico de fluorescência permanece fixo no comprimento de onda de 680 nm enquanto um pico de reflectância se desloca de 680 nm, na concentração de 3 ug/l, para até 715 nm, com concentração de 100 ug/l. Todavia, esta comparação deve ser cautelosa pois os dados do sensor foram obtidos ao nível de campo, onde atuam diversos outros fatores.

No tanque preto, a reflectância de suas paredes seria suficientemente pequena para permitir a detecção do espalhamento pelas células, inclusive no infravermelho.

Na segunda alternativa, considerando a fluorescência das algas, o aumento da reflectância a partir de 670 nm no tanque preto poderia ser o

resultado de dois processos, o da fluorescência e o do espalhamento pelas células como partículas que são. Neste caso, nos tanques mais refletivos estaria havendo novamente uma sobreposição do espalhamento de suas paredes sobre o espalhamento e o processo de fluorescência das células.

O pico desta banda de espalhamento no tanque preto coincide com o pico de fluorescência das algas (Yentsch e Yentsch, 1979), o que reforça esta hipótese e a torna mais plausível que a primeira. Este fato reforça a identificação do tanque preto, como mais adequado a estudos desta natureza, permitindo uma análise mais precisa dos efeitos da variação de concentração de fitoplâncton na reflectância da água.

Faixas Espectrais de Maior Sensibilidade ao Fitoplâncton

Os resultados obtidos com a análise de sensibilidade empregada convergem para aquelas faixas espectrais onde as feições características, da alga utilizada, foram mais acentuadas e conspícuas nas diferentes condições e experimentos montados. (Figura 4)

Para o tanque preto as melhores faixas, desconsiderando-se cerca de 20 nm em cada extremidade do espectro devido a presença constante de ruídos no sinal, foram:

- a) uma banda de aproximadamente 15 nm, centrada em 690 nm, que engloba a banda de fluorescência da clorofila *a*;
- b) uma banda de cerca de 20 nm, centrada em 730 nm, que

deve ser influenciada pela banda de fluorescência;

c) uma banda de aproximadamente 20 nm centrada em 470 nm, que coincide com a banda de absorção por clorofila a, c e carotenóides;

d) uma banda de cerca de 15 nm, centrada em 660 nm, que engloba o pico de absorção da clorofila a.

Em termos de importância relativa, a ordem decrescente seria: 1) a; 2) c; 3) d; 4) b; pois assim teríamos a banda mais forte de reflexão e a banda mais forte de absorção juntas.

Para os tanques ALP e FV as melhores faixas foram:

a) uma banda de cerca de 15 nm, centrada em 668 nm, que engloba o pico de absorção da Cl a;

b) uma banda de cerca de 20 nm, centrada em 490 nm, que coincide com as bandas de absorção pelas Cl a, c e carotenóides;

Conclusões

De maneira geral apresentou maior sensibilidade ao retroespalhamento pelas células algais em suspensão, enquanto os sistemas com tanques mais refletivos responderam melhor à absorção pelas células e outras substâncias presentes no meio de cultura.

As faixas espectrais de maior sensibilidade ficaram subordinadas ao tipo de revestimento interno dos tanques e certamente com tanques de dimensões maiores os resultados apresentariam diferenças.

Como os resultados mostraram bandas finas sensíveis aos

pigmentos de *C. vulgaris*, certamente mostrariam sensibilidade a outros pigmentos algais acessórios mais importantes, de modo que é possível direcionar e planejar as novas pesquisas para se conseguir, num futuro próximo, detectar e distinguir algas de diferentes grupos algais com a utilização de sensores de bandas finas, cerca de 10 nm.

Referências

Anderson, J.M.; Barrett, J. Light-harvesting pigment-protein complexes of algae. In: **Encyclopedia of Plant Physiology**. Berlim, Germany, Springer-Verlag, 1986. 270-285 pp.

Bidigare, R.R.; Morrow, J.H.; Kiefer, D.A. Derivative analysis of spectral absorption by photosynthetic pigments in the western Sargasso Sea. **Journal of Marine Research**, 47(2):323-341, 1989.

Calijuri, M.C. **Respostas fisiocológicas da comunidade fitoplanctônica e fatores ecológicos em ecossistemas com diferentes estágios de eutrofização**. (Tese de Doutorado) -Escola de Engenharia de São Carlos - USP, São Carlos, 1988. 293p.

Deering, D.W. Field measurements of bidirectional reflectance. In: ASRAR, G. ed., **Theory and applications of the optical remote sensing**. New York, John Willey & Sons, 1989. Cap. 2, p. 14-65.

Dekker, A.G.; Malthus, T.J.; Wijnen, M.M.; Seyhan, E. The effect of spectral bandwidth and positioning on the spectral signature analysis

- of inland waters. **Remote Sensing of Environment**, 41(2/3):211-225, 1992.
- Gitelson, A. The peak near 700nm on radiance spectra of algae and water: relationships of its magnitude and position with chlorophyll concentration. **International Journal of Remote Sensing**, 13(17):3367-3373, 1992.
- Kirk, J.T.O. **Light and photosynthesis in aquatic ecosystems**. 2 ed., Cambridge, Cambridge University Press, 1986. 401p.
- Mantovani, J.E. **Comportamento espectral da água: faixas espectrais de maior sensibilidade ao fitoplâncton na presença de matéria orgânica dissolvida e matéria inorgânica particulada**. (Dissertação de Mestrado) São José dos Campos, INPE, 1993. (no prelo)
- Mantovani, J.E.; Cabral, A.P. Tank depth determination for water radiometric measurements, **International Journal of Remote Sensing**, 13(14):2727-2733, 1992.
- Morel, A.; Prieur, L. Analysis of variations in ocean color. **Limnology and Oceanography**, 22(4):709-722, 1977.
- NASA. **HIRIS High-resolution imaging spectrometer: science opportunities for the 1990s**. Washington, D.C., 1987. V.2c.
- Ochiai, S.; Hase, E. Studies on chlorophyll formation *Chlorella protothecoids* I. Enhancing effects of light and added o-aminolevulinic acid, and suppressive effect of glucose on chlorophyll formation. **Plant & Cell Physiology**, 11:663-673, 1970. Round, F.E. **Biologia das algas**. [Biology of algae]. 2 ed., Rio de Janeiro, Guanabara Dois, 1983. 263p.
- Sathyendranath, S.; Prieur, L.; Morel, A. A three-component model of ocean colour and its application to remote sensing of phytoplankton pigments in coastal waters. **International Journal of Remote Sensing**, 10(8):1373-1394, 1989.
- Shu, S.; Chen, J. A new method to measure chlorophyll concentration in different depth water using spectroradiometer. In: IGARS'87 Symposium. Ann Arbor, May 18-21, 1987. **Proceedings**. p. 1589-1594.
- Steemann-Nielsen, E. Chlorophyll concentration and rate of photosynthesis in *Chlorella vulgaris*. **Physiologia Plantarum**, 14:868-876, 1961.
- Topliss, B.J. Ocean colour imagery: an investigation of some water-related parameters influencing algorithm development and data product interpretation. **Canadian Journal of Remote Sensing**, 15(1):56-67, 1989.
- Vertucci, F.A.; Likens, G.E. Spectral reflectance and water quality of Adirondack mountain region lakes. **Limnology and Oceanography**, 34(8):1656-1672, 1989.
- Yentsch, C.S.; Yentsch, C.M. Fluorescence spectral signatures: the characterization of phytoplankton populations by

the use of excitation and emission spectra. *Journal of Marine Research*, 37(3):471-483, 1979.

Figuras

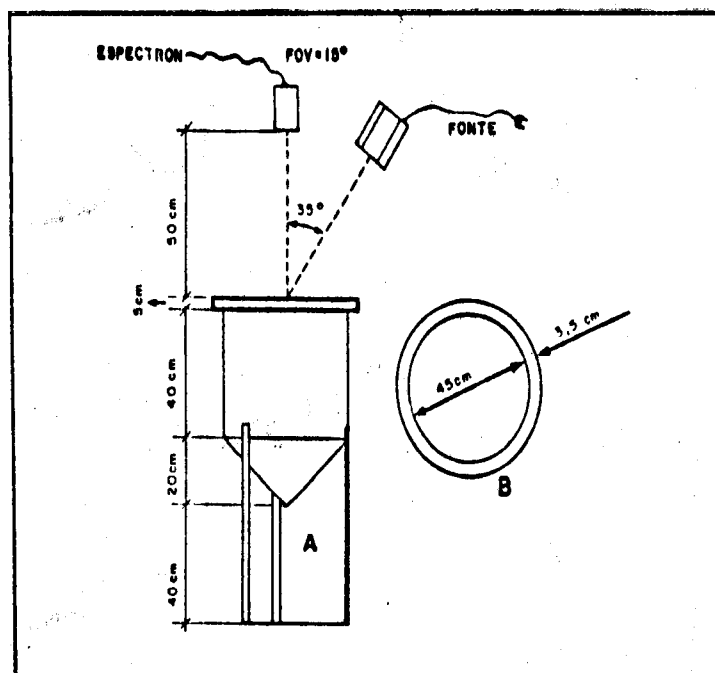


Fig. 1 - Vista lateral da estrutura montada para os experimentos radiométricos, mostrando a geometria de aquisição (A) e o diâmetro do tanque de coleta de dados radiométricos (B).

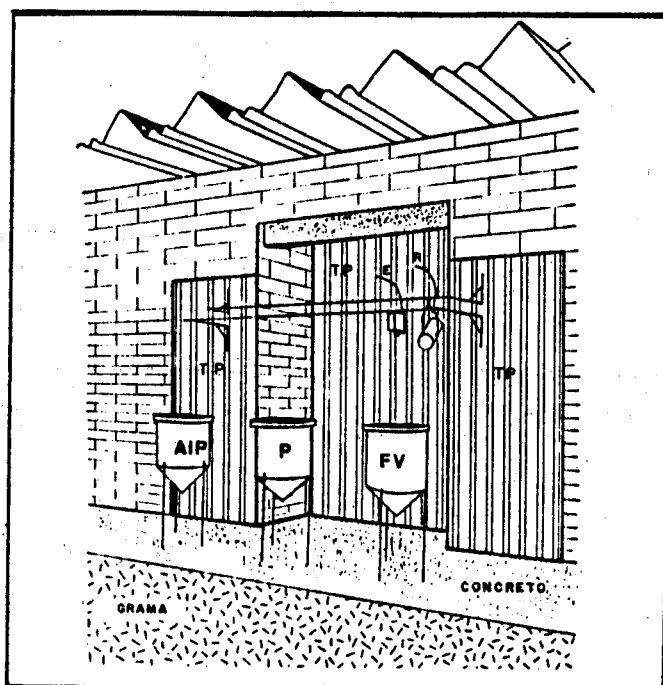


Figura 2 - Tanques de coleta usados no pré-experimento. AIP = tanque com laterais cor alumínio metálico e fundo preto; P = tanque preto; FV = tanque sem revestimento; TP = tecido preto; E = cabo do radiômetro; R = cabo da fonte de iluminação.

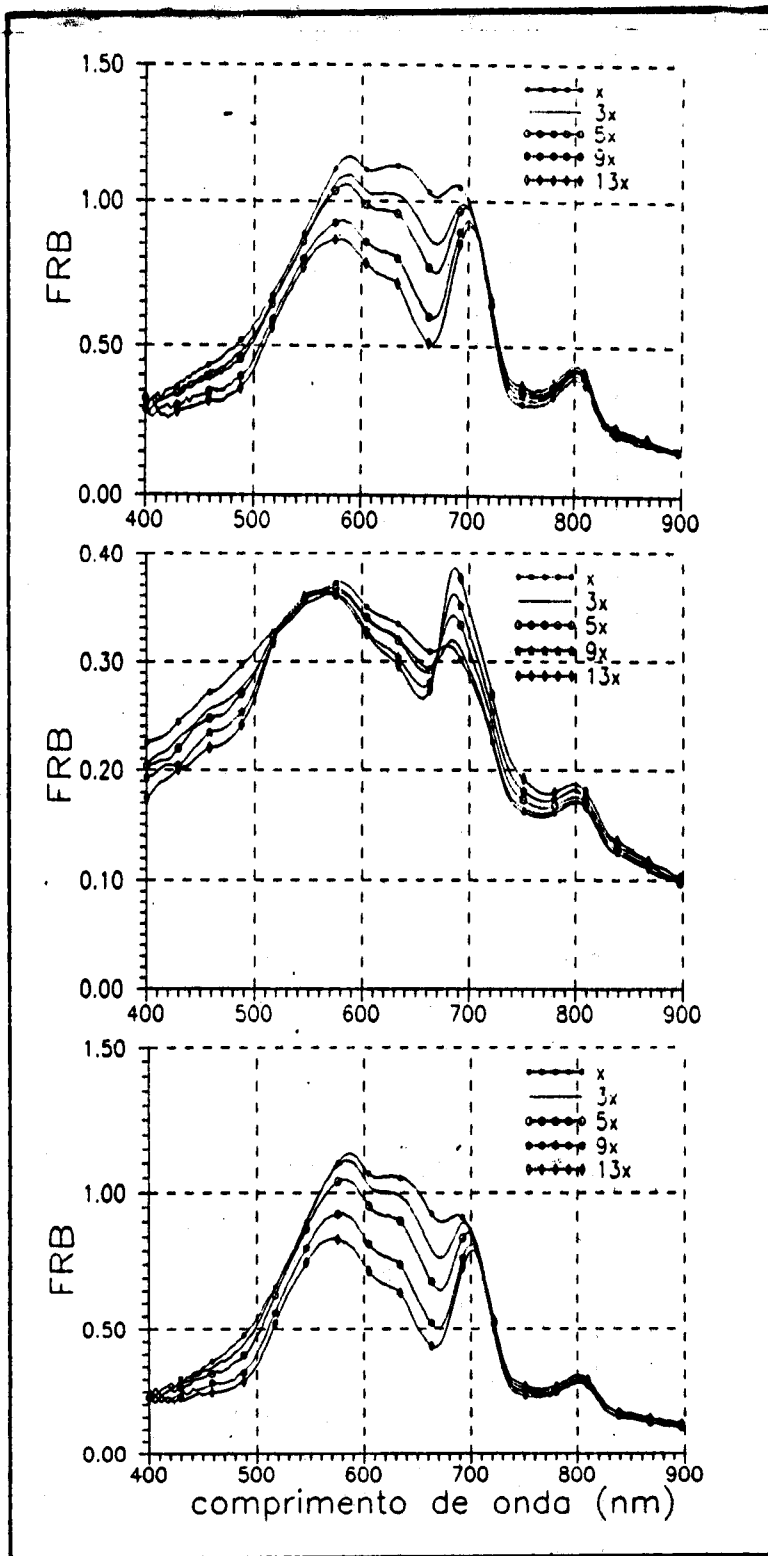


Fig. 3 - FRB de 5 concentrações de Cla em três tanques de revestimentos diferentes. A: tanque FV; B: tanque P; C: tanque AlP.

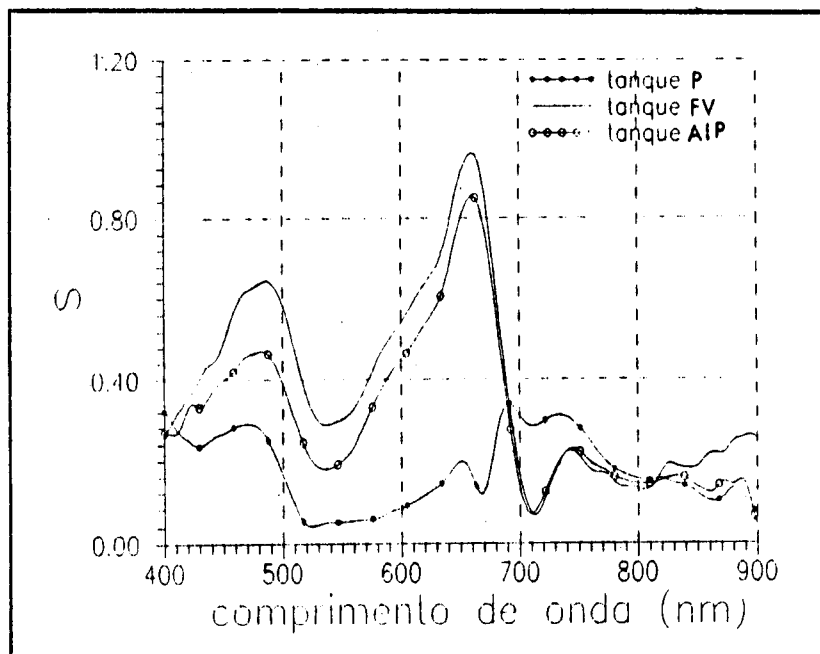


Fig. - 4 Curvas de sensibilidade para os três tanques com as cinco concentrações utilizadas (x, 3x, 5x, 9x, 13x).