



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DELLA
Tuscia

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA TUSCIA DI VITERBO

DIPARTIMENTO DI SCIENZE ECOLOGICHE E BIOLOGICHE

Corso di Dottorato di Ricerca in

Ecologia e gestione delle risorse biologiche

XXVI Ciclo

STIMA DELLA PRODUZIONE PRIMARIA PELAGICA NEL MAR MEDITERRANEO ATTRAVERSO IL

MODELLO PhytoVFP:

VALIDAZIONE E APPLICAZIONE A DATI *IN SITU* E TELERILEVATI

Settore Scientifico Disciplinare – BIO/07

Tesi di dottorato di:

Dott.ssa Chiara Stefani

Coordinatore del corso

Prof. Daniele Canestrelli

Tutore

Prof. Marco Marcelli

25 giugno 2015

INDICE

PARTE I – La Produzione primaria fitoplanctonica: processi e metodi di stima	4
1. Introduzione	4
2. Scopo della tesi	6
3. Fotosintesi e produzione primaria	6
3.1. Luce e fotosintesi	6
3.1.1. La curva PE	8
3.1.2. I parametri della curva PE	9
3.1.3. La fotoacclimatazione	11
3.2. Efficienza fotosintetica e la fluorescenza variabile	13
3.3. Biomassa fotosintetica	19
4. I metodi di stima della produzione primaria fitoplanctonica	21
4.1. Metodo di assimilazione del ^{14}C	22
4.2. Metodo dell'ossigeno	26
4.3. Confronto tra i due metodi	27
4.4. Metodo basato sulla fluorescenza variabile	28
4.5. Modelli matematici empirici	29
4.5.1. Modello di Morel	30
5. Il modello PhytoVFP	33
5.1. Prima versione del modello	33
5.2. Nuova versione del modello	34
5.2.1. Modulo di stima della PAR superficiale	36
5.2.2. Modulo di foto-fisiologia del fitoplancton	39
5.2.3. Modulo di calcolo del tasso fotosintetico	42
5.2.4. Modulo di calcolo della produzione primaria puntuale ed integrata	43
PARTE II – Messa a punto e validazione di nuovi moduli nel modello Phyto-VFP	45
6- Struttura del lavoro	45
7 - Dataset utilizzato	46
7.1. Il progetto SIMBIOS-MURST e le campagne MedGOOS	50
7.2. Il progetto Cluster10 e le campagne SAMCA	51
7.3. Le campagne per la stima dei parametri fotosintetici	52

7.3.1. La campagna MOMAR	52
7.3.2. La campagna Civitaporto	53
8- Acquisizione ed analisi dati	53
8.1. Variabili bio-ottiche: la sonda PrimProd 1.08	54
8.1.2. Analisi dei dati raccolti	58
8.2. Analisi di laboratorio	59
8.2.1. Estrazione e quantificazione dei pigmenti fotosintetici	59
8.2.2. Misura dei parametri fotosintetici	62
9 – Sviluppo ed integrazione del modulo fotoacclimatazione e dinamica della colonna d'acqua	64
9.1. Introduzione	64
9.2. Sviluppo del modulo fotoacclimatazione e dinamica della colonna d'acqua	67
9.3. Risultati	70
9.3.1. Analisi di sensibilità	73
9.3.1.1. Analisi di sensibilità per β	74
9.3.1.2. Analisi di sensibilità per Φ_e	77
9.3.2. Ottimizzazione dei risultati del modello	79
9.3.3. Validazione del modello	87
9.3.4. Confronto tra le stime effettuate con la vecchia versione del modello PhytoVFP ed i valori di ^{14}C	89
9.3.5. Confronto tra le stime effettuate tra il modello PhytoVFP e di Morel	92
9.4. Discussione	97
10- Sviluppo ed integrazione del modulo di stima del profilo di biomassa efficiente	101
10.1. Introduzione	101
10.2. Analisi dei dati <i>in situ</i>	104
10.3. Sviluppo del modulo di stima del profilo di biomassa efficiente	112
10.3.1. Impostazione della rete neurale	117
10.3.2. Costruzione della matrice di <i>input</i>	118
10.3.2.1. Relazione tra <i>input</i> ed <i>output</i>	124
10.3.3. Addestramento della rete neurale	127
10.4. Risultati	128
10.5. Discussione	134

PARTE III – Integrazione dei nuovi moduli ed applicazione del nuovo modello	136
11- Nuova struttura del modello PhytoVFP	136
12- Applicazione del modello per lo studio di fenomeni a mesoscala	140
12.1. Individuazione delle strutture a mesoscale da analizzare	142
12.2. <i>Setup</i> del modello	146
12.3. Risultati	146
12.3.1. Influenza delle diverse variabili sul risultato del modello	149
12.4. Discussione	154
PARTE IV – Conclusioni e sviluppi futuri	158
13- Conclusioni e sviluppi futuri	158
 BIBLIOGRAFIA	 163
 RINGRAZIAMENTI	 182

PARTE I

LA PRODUZIONE PRIMARIA FITOPLANCTONICA: PROCESSI E METODI DI STIMA

1. Introduzione

Negli ultimi decenni la scienza si è occupata intensamente dello studio del ciclo del carbonio e soprattutto della comprensione dei fenomeni che modificano i flussi di CO₂ tra l'atmosfera e l'oceano.

Lo sviluppo delle attività antropiche a partire dalla rivoluzione industriale fino ai giorni nostri ha portato ad un aumento della CO₂ e di altri gas (vapor acqueo, clorofluorocarburi, metano e ossido di azoto) nell'atmosfera che ha determinato un effetto a lungo termine sul clima. I gas serra, trattenendo la radiazione infrarossa riemessa dalla terra, permettono al pianeta di non perdere totalmente il calore che arriva tramite la radiazione solare ma di trattenerne una parte. Il mantenimento della temperatura in un *range* di variazione ristretto così come la variazione stagionale del clima sono caratteristiche fondamentali per il corretto svolgimento di tutti i processi connessi alla presenza della vita sul pianeta terra .

E' proprio per questo stretto legame tra ciclo del carbonio, clima e presenza della vita sulla terra che l'aumento repentino delle immissioni di gas serra negli ultimi decenni in atmosfera ha fatto concentrare gli sforzi della comunità scientifica internazionale nella direzione di una migliore comprensione dei meccanismi di sequestro e rilascio della CO₂ da parte dei diversi comparti del pianeta (Charlson *et al.*, 1987; Falkowski *et al.* 1998; Gregg *et al.* 2003; Beaugrand, 2014).

Gli oceani svolgono da questo punto di vista un ruolo di primo piano rappresentando il principale sito di scambio e stoccaggio della CO₂ atmosferica. Lo scambio tra oceano ed atmosfera può avvenire per diffusione in dipendenza della temperatura superficiale dell'oceano, ma la CO₂ può anche essere stoccata all'interno della materia organica attraverso il processo di fotosintesi. Il ruolo

assunto dall'oceano nel sequestro di CO₂ atmosferica e di stoccaggio tramite l'organizzazione è definito pompa biologica (Antoine e Morel, 1996).

La produzione primaria (PP) operata dal fitoplancton, ovvero il tasso di carbonio assimilato attraverso i processi fotoautotrofi, svolge ruolo chiave nel ciclo del carbonio controllandone la ripartizione tra le grosse riserve presenti nell'oceano e le riserve atmosferiche relativamente più basse. L'importanza di tale processo risulta ancora più evidente se si osserva che il fitoplancton rappresenta solo l'1% della biomassa totale terrestre ma contribuisce per oltre il 40% della produzione primaria globale (Falkowski *et al.*, 2003). Cambiamenti nella produttività rappresentano quindi uno dei meccanismi di controllo del contenuto di CO₂ nell'oceano (Broecker 1982; Broecker and Peng, 1982) ed hanno un importante feedback sui cambiamenti climatici (Berger *et al.*, 1989).

La quantificazione della PP fitoplanctonica rappresenta un punto cruciale dell'ecologia. La sua stima avviene classicamente tramite metodi analitici che misurano l'assimilazione del ¹⁴C (Steemann e Nielsen, 1952) o della concentrazione di ossigeno solubile (Williams e Jenkinson, 1982; Langdon, 1984) e restituiscono risultati in massa di carbonio assimilato per unità di tempo e di volume riferito alla clorofilla – a (Chl-a). Le tecniche analitiche presentano tuttavia degli svantaggi che hanno posto dei limiti allo studio su larga scala della PP oceanica, primo fra tutti l'inadeguata copertura spaziale connessa alla necessità di effettuare campionamenti *in situ* per ottenere tali misure .

Per superare questa difficoltà sono stati sviluppati modelli matematici in grado di stimare la PP fitoplanctonica a grande scala a partire da dati di Chl-a superficiale acquisiti con sensori remoti. Alcuni di questi modelli (Morel, 1991) hanno permesso di effettuare numerosi passi avanti nello studio di questa problematica e sono correntemente utilizzati per l'interpretazione di dati satellitari . Tuttavia è stato ampiamente dimostrato come questi modelli forniscano delle stime che sono spesso lontane dalle misure effettuate *in situ* (Siegel *et al.*, 2002; Campbell *et al.*, 2002; Carr *et al.*, 2006). La sfida che resta quindi ancora aperta in questo campo di studio è quella di avere delle stime di PP fitoplanctonica in scala spaziale e temporale tale da risultare utile alla comprensione della problematica di base, ma allo stesso tempo di tener conto di tutti gli aspetti fisici e biologici che concorrono al processo fotosintetico che possono essere compresi adeguatamente solo attraverso le misure dirette.

2. Scopo della tesi

Lo scopo di questo lavoro di tesi è quello di contribuire al miglioramento della stima della PP fitoplanctonica mediante l'utilizzo del modello biottico PhytoVFP. Questo scopo sarà raggiunto tenendo conto di processi fisici (mescolamento della colonna d'acqua) e biologici (fotoacclimatazione del fitoplancton) che saranno inseriti in nuovi moduli di calcolo nel modello ed integrati nella prima versione proposta da Marcelli *et al.* (1997) e Piermattei *et al.* (2006). Il modello nella nuova versione sarà applicabile sia a dati acquisiti *in situ* dalla sonda Primprod 1.08, che tramite il metodo *pump-and-probe*, rileva l'efficienza fotosintetica del fitoplancton, sia a dati satellitari per stimare la PP anche a meso e macroscale. Nel primo caso i risultati del modello PhytoVFP sono stati confrontati con i valori di PP misurati con il metodo di assimilazione del ^{14}C in alcune stazioni delle campagne oceanografiche SAMCA3 (maggio 2003) e SAMCA4 (febbraio 2004) e con i risultati del modello bio-ottico di Morel (1991). Per quanto riguarda la stima della produzione primaria da dati satellitari è stato aggiunto un ulteriore modulo al modello che calcola i profili di biomassa efficiente utilizzando misure della sonda PrimProd effettuate dal 2002 al 2006 durante 8 campagne oceanografiche condotte nel Mediterraneo occidentale. Il modello integrato dei due nuovi moduli sarà quindi applicato nel mar di Sardegna, al fine di valutare l'effetto delle strutture fisiche a mesoscale che caratterizzano il bacino algero-provenzale sul processo produttivo.

3. Fotosintesi e produzione primaria

3.1. Luce e fotosintesi

La luce, e nello specifico la PAR (*Photosynthetically Available Radiation*), rappresenta il principale fattore limitante per la fotosintesi acquatica.

L'oceano rispetto all'atmosfera mostra un'elevata attenuazione dell'irradianza solare, il coefficiente di attenuazione esponenziale medio K per la radiazione fotosinteticamente attiva varia da 0.30 a 0.025m^{-1} .

$$K = \frac{\ln E_{z+1}}{E_z} \quad (3.1.-1)$$

con E: irradianza alla profondità z; E_{z+1} è l'irradianza alla profondità di z+1.

La profondità media dell'oceano è di circa 4000 m e raramente l'1% dell'irradianza fotosinteticamente attiva penetra oltre i 100 m. La profondità alla quale si ha l'1% del valore di PAR presente in superficie è definita profondità eufotica (Z_e). Quindi la fotosintesi netta è ristretta agli strati più superficiali della colonna d'acqua che rappresentano circa il 2% del totale. Il carbonio fissato in questa parte superficiale rifornisce tutti i processi respiratori nell'oceano.

La luce non è attenuata in modo uniforme lungo tutto lo spettro, le prime lunghezze d'onda che vengono assorbite (già nei primi centimetri), a causa dell'assorbimento e dello *scattering* delle molecole dell'acqua stessa, sono quelle del rosso lontano; all'aumentare della profondità vengono assorbite di seguito quelle del rosso e del verde e per ultime quelle del blu (Kirk, 1983). Quindi nelle acque dell'oceano aperto alla base della profondità eufotica l'irradianza *downwelling* è rappresentata dalle lunghezze d'onda che vanno da 450 a 500nm (blu). Nelle acque costiere invece lo spettro è *shiftato* verso lunghezze d'onda maggiori centrato su ~540nm (verde) poiché i fenomeni di assorbimento della luce visibile sono influenzati dalle più elevate concentrazioni di biomassa e di solido sospeso.

Tutti i modelli di stima della produzione primaria prendono in considerazione la distribuzione della biomassa fotosintetica e dell'irradianza lungo la colonna d'acqua. In particolare la relazione esistente tra la fotosintesi (P) e l'irradianza (E) è fondamentale per la stima della produzione primaria anche perché permette il calcolo dei parametri fotosintetici che descrivono la così detta curva PE. Questi parametri consentono di caratterizzare le risposte del fitoplancton ai diversi parametri ambientali e dipendono sia dallo stato fisiologico del fitoplancton che dai meccanismi di controllo e di *feedback* della fotosintesi (Lewis *et al.* 1984; Geider *et al.*, 1996; Sakshaug *et al.*, 1997).

3.1.1. La curva PE

La curva fotosintesi-irradianza descrive l'andamento del tasso fotosintetico (P) al variare dell'intensità luminosa (E) e permette il calcolo dei principali parametri fotosintetici. Al fine di descrivere questa relazione sono stati sviluppati numerosi modelli (Smith, 1936; Jassby e Platt, 1976; Dubinsky *et al.* 1986). Nella sua descrizione comune accettata, una curva tipo fotosintesi – irradianza può essere suddivisa in tre zone: (1) zona di fotolimitazione, (2) zona di fotosaturazione e (3) zona di fotoinibizione.

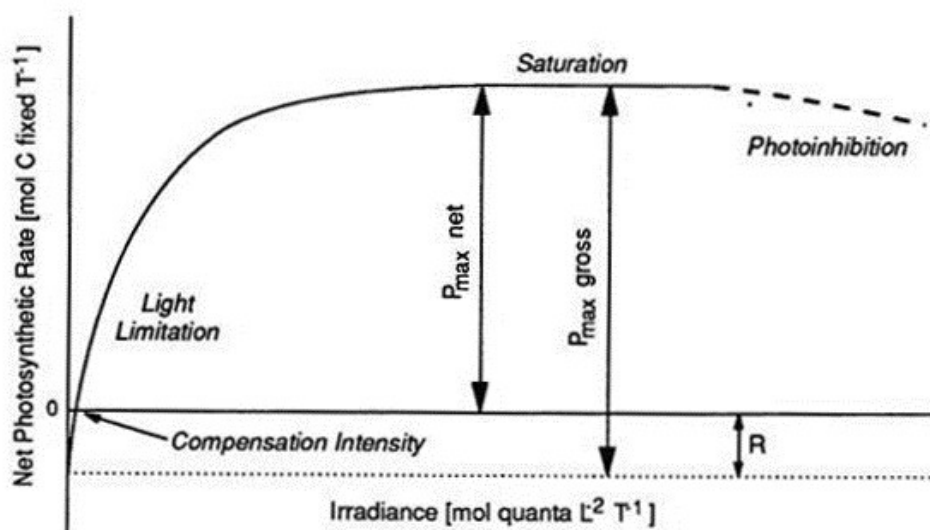


Fig.3.1.1.-1: Curva tipo fotosintesi-irradianza (modificata da Kirk, 1994).

La prima zona descrive la relazione tra irradianza e tasso fotosintetico quando la luce rappresenta il fattore limitante, in questa regione di fotolimitazione all'aumentare dell'intensità di luce corrisponde un aumento del tasso fotosintetico. Questa relazione è lineare ed il tasso fotosintetico continua ad aumentare fino a quando il sistema non viene completamente saturato. Al raggiungimento del punto di saturazione, all'aumento dell'irradianza non corrisponde più un aumento del tasso fotosintetico, ma il suo valore resta sostanzialmente costante. Superato un certo valore di irradianza, strettamente legato alla fisiologia del popolamento fitoplanctonico, per

l'instaurarsi di meccanismi di fotoprotezione il tasso fotosintetico può diminuire.

L'algoritmo più utilizzato nel campo dell'oceanografia per la descrizione di questa relazione e che è stato anche implementato nel modello PhytoVFP è quello proposto da Platt *et al.* (1980).

$$P^B = P_{\max}^B [1 - \exp(-\alpha^B E / P_{\max}^B)] \exp(-\beta E / P_{\max}^B) \quad (3.1.1.-1)$$

Dove P^B : tasso di produzione specifica normalizzato per la biomassa (B) intesa come clorofilla-a [$\text{mgC}(\text{mgChla})^{-1}\text{h}^{-1}$]; $P_{\max}^B$: tasso fotosintetico massimo teorico in assenza di fotoinibizione; α^B :coefficiente angolare della zona di foto-limitazione della curva [$\text{mgC}(\text{mgChla})^{-1}\text{h}^{-1}$]/ $\mu\text{moli fotoni m}^{-2}\text{s}^{-1}$; β : indice di fotoinibizione, ovvero il coefficiente angolare negativo della retta ad alta irradianza [$\text{mgC}(\text{mgChla})^{-1}\text{h}^{-1}\text{W}^{-1}\text{m}^2$].

3.1.2. I parametri della curva PE

Alla curva PE sono associati i corrispondenti parametri fotosintetici che sono rappresentati da α , E_k , $P_{\max}$ e β .

Il parametro α rappresenta, come accennato nel paragrafo precedente la pendenza della curva in condizioni di luce limitante, $P_{\max}$ è il tasso fotosintetico nella zona di fotosaturazione e β è la pendenza della curva nella regione di fotoinibizione. E_k è detto indice di luce-saturazione ed è il valore di PAR al quale si passa dalla condizione di foto-limitazione a quella di foto-saturazione. Generalmente α , β e $P_{\max}$ sono normalizzati da un indice di biomassa come la concentrazione di clorofilla- a (α^B , $P_{\max}^B$ e β^B).

L'inclinazione iniziale della curva PE, α , può essere definito come il prodotto della sezione trasversale di assorbimento (a^*) ed l'efficienza quantica di fotosintesi (Φ):

$$\alpha = a^* \cdot \Phi \quad (3.1.2.-1)$$

La sezione trasversale può essere esplicitata come il prodotto tra il numero di fotosistemi (n)

(PSU) presenti sia i centri di reazione del fotosistema II (PS II) che del fotosistema I (PSI) e la sezione trasversale della singola unità fotosintetica σ_{PSU} (Mauzerall and Greenbaum, 1989):

$$a^* = n \cdot \sigma_{PSU}$$

(3.1.2.-2)

In questo senso l'efficienza quantica di fotosintesi può essere espressa come il rapporto tra le sezioni trasversali di assorbimento del PSII (σ_{PSII}) e dell'intera unità fotosintetica

$$\Phi = \sigma_{PSII} / \sigma_{PSU}$$

(3.1.2.-3)

Il valore di α quindi può essere considerato relativamente costante se si suppone che la clorofilla-a sia il pigmento principale di cattura della luce e che il rapporto tra il numero di fotosistemi PSII e PSI sia costante.

In condizioni di luce saturante, il tasso fotosintetico di trasporto elettronico, come descritto nel paragrafo 3.1.1., diventa indipendente dall'assorbimento della luce ma viene limitato dal tasso massimo di trasporto della catena degli elettroni. $P_{\max}^B$ è invece legato alle componenti di trasporto degli elettroni e dei componenti del ciclo di Calvin, ossia il contenuto di carbonio (MacIntyre *et al.* 2002), e la concentrazione e / o attività dell'enzima rubisco (Behrenfeld *et al.* 2004). Il tasso fotosintetico a luce saturante ($P_{\max}$) può essere quindi descritto come il prodotto tra il numero (n) delle unità fotosintetiche ed il tasso massimo al quale un elettrone viene trasferito dall'acqua all'accettore finale ($1/\tau$).

$$P_{\max} = n / \tau$$

(3.1.2.-4)

Tuttavia questo valore non è ricavabile da misure dirette ma piuttosto un'indicazione della capacità massima ricavabile da relazioni empiriche.

Il punto al quale la luce diventa saturante per il processo fotosintetico, E_k , è definito come:

$$E_k = P_{\max} / \alpha$$

(3.1.2.-5) (Kirk, 1994)

Come riportato da Sakshaug *et al.* (1997) e ricavabile dalle formule precedenti α è direttamente

proporzionale alla sezione di assorbimento del PSII (σ_{PSII}) ed al numero di unità fotosintetiche (n)

$$\alpha = n \cdot \sigma_{PSII}$$

(3.1.2.-6)

Quindi la (3.1.2.-5) può essere riscritta come:

$$E_k = 1 / (\tau \cdot \sigma_{PSII})$$

(3.1.2.-7)

Quando il valore dell'irradianza supera E_k il rendimento quantico diminuisce con il reciproco dell'irradianza incidente. L'irradianza incidente supera sempre il valore di E_k tranne che nei giorni di nuvolosità sulla superficie dell'oceano mentre più in profondità la luce diventa limitante ($<E_k$).

3.1.3. La fotoacclimatazione

Lo studio delle curve PE e dei parametri fotosintetici è fondamentale per comprendere i fenomeni di fotoacclimatazione a cui sono soggetti gli organismi fitoplanctonici e per quantificarne di conseguenza la risposta fotosintetica.

Per comprendere bene i meccanismi che regolano la produzione primaria nelle comunità fitoplanctoniche, è necessario distinguere il processo di fotoacclimatazione da quello di fotoadattamento. Il fotoadattamento descrive la risposta genotipica delle alghe alla luce che avviene nel corso dell'evoluzione, al contrario la fotoacclimatazione descrive la risposta fenotipica degli organismi fitoplanctonici ai cambiamenti di irraggiamento (Falkowski e LaRoche, 1991) e può essere valutata misurando variazioni a livello fisiologico o biochimico del processo fotosintetico, in un dato *taxon*, in risposta alla quantità di luce.

Questo legame tra meccanismi fisiologici e cambiamento dei parametri caratteristici della curva PE è basilare ai fini di predire l'andamento della produzione primaria fitoplanctonica (Richardson *et al.*, 1983; Cullen e MacIntyre, 1998; MacIntyre *et al.*, 2002).

La fotoacclimatazione può determinare variazioni sia nell'efficienza di cattura della luce (quindi a livello dei pigmenti) che nella capacità fotosintetica (fissazione del carbonio). In linea generale in

tutti i *taxa* si assiste ad una diminuzione del contenuto di pigmenti in condizioni di acclimatazione ad alti valori di irradianza (MacIntyre *et al.* 2002). A basse intensità luminose invece l'acclimatazione può avvenire seguendo due possibili vie che consentono di assorbire luce in modo più efficiente, alcuni *taxa* sono in grado di aumentare la taglia dell'antenna PSII e di conseguenza la sezione trasversale di assorbimento, in altri invece si ha un aumento del numero di antenne PSII di sezione costante (Falkowski e Owens 1980; Perry *et al.* 1981; Dubinsky *et al.* 1986). I cambiamenti nel corredo pigmentario e nella sezione trasversale di assorbimento del fotosistema II (PSII), σ_{PSII} , che avvengono attraverso transizioni di stato ed una serie di meccanismi di deattivazione termica, sono rapidamente reversibili e permettono aggiustamenti dell'efficienza quantica della cellula quando cambia l'irradianza.

L'apparato fotosintetico nel fitoplancton è estremamente plastico e quindi la rimozione dei pigmenti (Sukenik *et al.*, 1989), l'alterazione del numero di unità fotosintetiche e della loro sezione trasversale (Dubinsky *et al.*, 1986; Falkowski e Owens, 1980) avviene in piccole scale temporali, ovvero in poche ore o giorni. La fotoacclimatazione può inoltre portare al cambiamento nel rapporto tra Rubisco / capacità di trasporto elettronico, tale rapporto è correlato linearmente con $1/\tau$ (Sukenik *et al.*, 1987).

Esistono comunque dei limiti alla fotoacclimatazione che sono imposti geneticamente sia nel tasso con cui l'apparato fotosintetico risponde ai cambiamenti di irradianza sia con quale velocità questo avviene.

La fotoacclimatazione include anche meccanismi di fotoprotezione e fotoinibizione che è stata definita come l'inibizione luce-dipendente delle reazioni della fotosintesi (Ewart, 1895-1897) o come la riduzione luce-dipendente dell'efficienza di fotosintesi (Kok, 1956). Lo scopo dell'attivazione di processi fotoinibitori è quello di ridurre l'efficienza di assorbimento e di conseguenza l'energia trasferita ai centri di reazione, ciò avviene mediante:

- il ciclo delle xantofille;
- il sistema dei carotenoidi;
- la deviazione degli elettroni dal ciclo di Calvin verso alternative fonti di energia

Di conseguenza si attivano tutta un'altra serie di meccanismi quali:

- il trasporto pseudo ciclico degli elettroni
- il trasporto ciclico tra PSII e PSI
- riduzione dei nitrati
- cloro-respirazione
- foto-respirazione.

Per quanto affermato, la fotoacclimatazione ha un effetto diretto sui parametri della curva PE in particolar modo α , P_{max} e β ; in genere è possibile infatti ottenere curve PE diverse per una stessa specie, quando sottoposta a luce continua, a seconda se questa si sia acclimatata ad una bassa (alto valore di α e basso valore di P_{max}) o ad un'alta irradianza (alto valore di α e basso valore di P_{max}).

Queste risposte, tutte dipendenti dalla luce, nella colonna d'acqua sono da considerarsi inoltre limitate dalle condizioni dinamiche esterne. Questo aspetto sarà tenuto in conto nella nuova versione del modello PhytoVFP e trattato ampiamente nella parte II.

3.2. Efficienza fotosintetica e misure di fluorescenza variabile

I parametri della curva PE descrivono la tipologia di risposta della cellula fitoplanctonica al livello di illuminazione alla quale è sottoposta, esistono tuttavia dei metodi che permettono di misurare direttamente l'efficienza del processo fotosintetico.

In tutti gli organismi fotoautotrofi esistono due centri di reazione chiamati fotosistema 1 (PSI) e fotosistema 2 (PSII). Nel fotosistema 2 l' H_2O viene fotossidata con il conseguente rilascio di O_2 elettroni e protoni. Nel PSI l'energia luminosa viene utilizzata per trasferire gli elettroni all'accettore finale ovvero CO_2 o nitrati. Quindi in generale il processo fotosintetico può essere definito come l'ossidazione fotochimica dell' H_2O per la formazione di ossigeno molecolare ed agenti riducenti, in particolare questa è definita fotosintesi lorda.

Il centro di reazione PSII consiste in una molecola speciale di Chl-a (denominata P680) e da un accettore primario di elettroni (un chinone chiamato Qa). Al buio il P680 è ridotto mentre Qa è ossidato in questa situazione si dice che il centro di reazione è aperto. Con l'esposizione alla luce i fotoni possono essere assorbiti dai pigmenti fotosintetici e l'energia di eccitazione viene trasferita al

centro di reazione determinando una separazione di cariche. Durante la separazione di carica il P680 è ossidato a $P680^+$ e Q_a è ridotto a Q_a^- . In queste condizioni però i centri di reazione non possono usare l'energia derivante dalla separazione di carica e sono quindi detti chiusi. Solo quando il $P680^+$ è stato nuovamente ridotto e il Q_a^- riossidato l'energia di un altro fotone può essere usata per promuovere un successivo trasferimento di elettroni. La ri-riduzione del $P680^+$ avviene molto rapidamente ($<1\mu s$). Q_a^- è ri-ossidato da un accettore secondario, Q_b (un plastochinone PQ) il quale una volta ridotto si dissocia dal complesso proteico del centro di reazione per diventare una parte del *pool* di plastochinoni. Il posto lasciato vuoto viene quindi ad essere occupato da un altro PQ permettendo il successivo trasferimento elettronico dal Q_a . Normalmente, la concentrazione di PQ supera 5-30 volte quella di Q_a (Suknik *et al.* 1987), quindi il *pool* di PQ rappresenta una sorta di deposito temporaneo per gli elettroni nel loro passaggio dal PSII al PSI. Ogni molecola di Q_b accetta due elettroni (e due protoni) per formare il Plastochinolo, PQH_2 . Poiché il Q_a può accettare solo un elettrone alla volta (Crofts e Wraight 1983), il tempo necessario per l'ossidazione di PQH_2 , τ_p , è controllato nel sito dell'accettore PSI dalle reazioni oscure della fotosintesi (2-15ms), mentre il tempo necessario all'ossidazione di Q_a^- , τ_q , è più veloce di un ordine di grandezza ($\sim 0.6ms$) (Crofts e Wraight 1983; Suknik *et al.* 1987). Per un basso flusso fotonico, il tasso di assorbimento dei fotoni da parte del centro di reazione del PSII è minore rispetto al tasso di ri-ossidazione del PQH_2 , e gli elettroni sono trasferiti efficientemente dal Q_a^- al PQ (Falkowski *et al.*, 1986b; Kolber *et al.*, 1988). All'aumentare dell'irradianza, comunque, il *pool* di PQ si riduce progressivamente, la ri-ossidazione di Q_a^- rallenta.

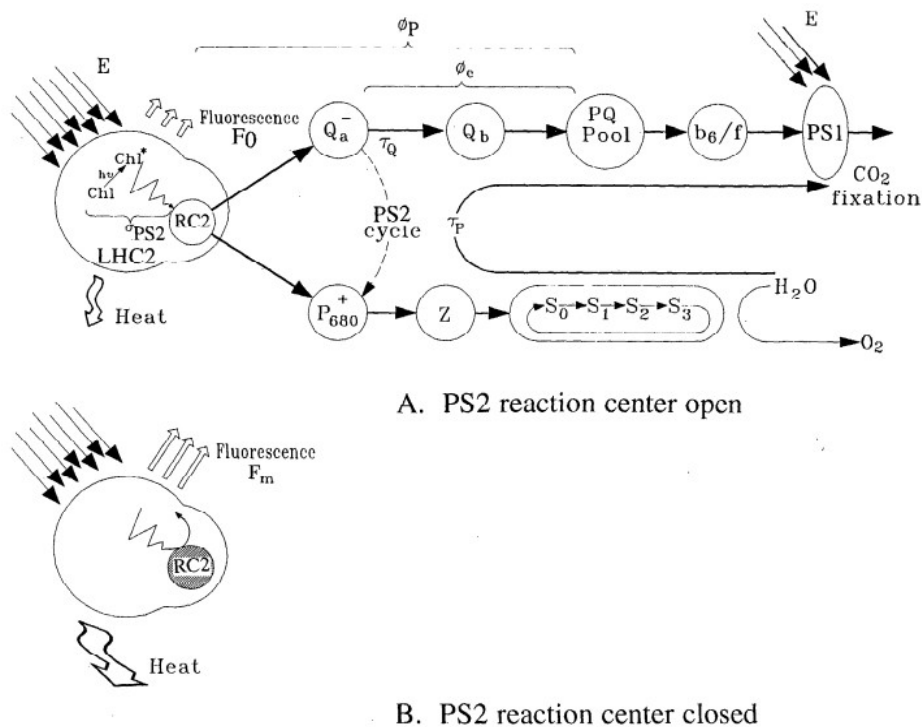


Fig. 3.2.-1: Modello di evoluzione fotosintetica dell'ossigeno. (da Kolber e Falkowski, 1993).

Alle temperature fisiologiche, la fluorescenza viene emanata quasi esclusivamente dal PSII . Le basi teoriche per la correlazione tra la fluorescenza e la fotosintesi postulano che, l'energia di eccitazione che arriva al PSII, può essere convertita fotosinteticamente in energia chimica attraverso la separazione di carica, essere ri-emessa come fluorescenza, o essere dissipata non radiativamente tramite processi di de-attivazione termica. Se il centro di reazione è aperto la probabilità che l'energia di eccitazione venga ri-emessa come fluorescenza è di circa 0.02 (Duysens e Swers, 1963). Se invece i centri di reazione sono chiusi la probabilità che l'energia di eccitazione sia riemessa come fluorescenza aumenta fino a circa 0.05 . Al buio, quando Q_a è completamente ossidato, la fluorescenza è al livello minimo, F_0 . Alla luce ambiente la fluorescenza, F , aumenta fin quando Q_a si riduce, raggiungendo il massimo valore, F_{max} , quando tutti i centri di reazione sono chiusi (Van Kooten e Snel, 1990). La fluorescenza variabile può essere quindi definita come la differenza tra questi due valori:

$$F_v = (F_{\max} - F_0)$$

(3.2.-1)

I cambiamenti relativi nell'efficienza quantica di fluorescenza riflettono il livello di riduzione di Qa (Duysens e Sweers 1963; Kitajima e Butler 1975), e la relazione tra fotosintesi e fluorescenza è inversa e controllata da singoli processi, a seconda dello stato *redox* di Qa. In realtà raramente la fluorescenza mostra una semplice relazione inversa con la fotosintesi. La fluorescenza è controllata da due fenomeni di *quenching*. Questi sono il *quenching* fotochimico, q_p , che è associato con lo stato *redox* di Qa, ed il *quenching* non fotochimico, q_N (Schreiber *et al.* 1986; Weis e Berry 1987; Owens 1991), che può essere dovuto ad una serie di cause, tra cui il potenziale elettrochimico transmembrana ed il gradiente di pH nei cloroplasti, la conversione della fluorescenza in calore dai carotenoidi nel ciclo delle xantofille, il flusso ciclico degli elettroni intorno al PSII, e la fotodegradazione dei centri di reazione PSII (Horton e Haugue 1988; Owens 1991).

La tecnica della fluorescenza passiva è basata sull'assunzione che il rapporto tra la fluorescenza e la fotosintesi è costante (Kiefer *et al.* 1989). Se ciò è vero allora le misure di fluorescenza possono essere correlate quantitativamente alla fissazione del carbonio se il tasso di assorbimento della luce è conosciuto. Vi sono comunque dei problemi associati ai modelli di fluorescenza passiva. Innanzitutto, sia la curva fotosintesi/irradianza (PE) che la curva fluorescenza/irradianza (FE) sono note e mentre la curva PE satura, la curva teorica FE no, piuttosto aumenta rapidamente all'aumentare dell'irradianza. Nei casi più semplici il rapporto PF diminuisce con una funzione esponenziale dell'irradianza ed è quindi difficile generare una curva quantitativa PE a partire da una curva FE costruita in condizioni ideali di laboratorio. Per correlare l'efficienza quantica di fluorescenza alla fissazione del carbonio per la fotosintesi l'efficienza quantica è assunta massima e costante. In realtà assumere costante questo valore non è realistico nell'oceano, è risultato ormai evidente infatti che la massima efficienza quantica è variabile nelle comunità fitoplanctoniche (Kolber *et al.* 1990; Falkowski 1992). Il *quenching* non fotochimico può alterare significativamente la curva teorica FE infatti q_N può dare l'illusione che le curve FE e PE si comportino in modo simile (Stegmann *et al.* 1992). Il *quenching* non fotochimico di fluorescenza può essere correlato con una curva PE anche se la scala di tempo del processo di *quenching* è molto più lenta. Quindi per

identiche condizioni di irradianza, cellule che si trovano nella parte superiore dell'oceano ad elevata turbolenza il q_N è basso oppure assente mentre cellule quiescenti nello strato mescolato mostrano alti valori di q_N . Il valore per il quale q_N determina una riduzione nell'efficienza fotochimica è impossibile da quantificare solo attraverso la fluorescenza passiva.

E' stato proposto che la fluorescenza può essere usato per stimare contemporaneamente biomassa clorofilliana e tasso fotosintetico (Kiefer *et al.*, 1989)

Per poter usare il segnale per misurare la fotosintesi è stato assunto che il prodotto tra a^* e l'efficienza quantica debba essere costante; quindi il rapporto tra luce emessa e luce assorbita per unità di clorofilla è costante (Falkowski e Kiefer, 1985). Contemporaneamente al fine di usare il segnale per misurare la fotosintesi è necessario assumere che il rapporto tra l'efficienza quantica di fluorescenza e la fotosintesi sia costante ma dato che l'efficienza quantica di fotosintesi varia con l'irradianza le due affermazioni risultano essere in contraddizione tra loro.

La tecnica *pump-and-probe* non parte dall'assunzione che la fluorescenza si comporti come una funzione dell'irradianza; i cambiamenti nell'efficienza sono misurati.

Poichè la tecnica *pump-and-probe* permette la misura quantitativa del *quenching* non fotochimico, l'effetto di questo processo sul tasso fotosintetico può essere determinato direttamente e quindi considerato nei modelli fotosintetici. La tecnica *pump-and-probe* permette inoltre di non solo di investigare sull'efficienza fotosintetica ma anche sulla sezione trasversale ed il tempo di *turn-over*.

Le tecniche *pump-and-probe* e di fluorescenza indotta dalla luce solare possono dare una stima simile dei tassi fotosintetici nella porzione iniziale della curva PE soprattutto se l'efficienza quantica di fotosintesi si avvicina alla massima teorizzata (Kiefer e Reynolds 1992) tuttavia, se la fotosintesi del fitoplancton è limitata dai nutrienti o si avvicina a saturazione, l'incertezza nella stima del tasso di fotosintesi fatta con la tecnica della fluorescenza indotta dalla luce solare diventa alta.

La più grande incertezza nell'uso del *pump-and-probe* per la misura del tasso fotosintetico Chl-a specifico (P_B) è che il calcolo di n_{PS2} (rapporto tra i centri di reazione PSII e la Chl-a) richiede di conoscere la concentrazione media dei centri di reazione in PSII e l'assunzione che n_{PS2} sia relativamente costante. Un'altra incertezza deriva dal fatto che se le misure vengono effettuate su campioni prelevati a profondità discrete e successivamente adattamenti al buio, il q_N può subire

delle modifiche.

La dissipazione di q_N può aumentare il valore della sezione trasversale di circa il 15 % in una scala di tempo di 10-15 minuti. Ciò potrebbe portare ad un aumento del valore della sezione trasversale di assorbimento di circa il 15% per il fitoplancton vicino alla superficie. Questo artefatto sperimentale può essere superato misurando la sezione trasversale rapidamente con le condizioni di irradianza sperimentale o dopo un'esposizione al buio. Dato che q_N sembra essere significativo ad irradianze alle quali la fotosintesi è saturata e non troppo controllata dalla sezione trasversale quest'errore è relativamente inferiore per il calcolo del tasso fotosintetico nella porzione superiore della colonna d'acqua. Tuttavia esistono delle sonde che permettono di applicare la tecnica *pump-and-probe* direttamente *in situ*, evitando totalmente il problema della dissipazione di q_N .

Sulla base delle osservazioni riportate, si è tenuto conto delle misure effettuate *in situ* mediante la sonda Primprod 1.08, che utilizza il metodo *pump-and-probe*, per individuare la porzione di popolamento fitoplanctonico che è effettivamente produttivo sul totale individuato con il metodo fluorimetrico tradizionale (par. 3.3). Inoltre la sonda effettuando misure *in situ* permette di discriminare il q_N che non è facilmente derivabile dalle curve PE. Nello specifico infatti, l'efficienza di conversione dell'energia nelle reazioni fotochimiche totale, Φ , è proporzionale al numero relativo di centri di reazione nel PSII aperti ed attivi (f) nelle cellule fitoplanctoniche, all'efficienza di conversione fotochimica della luce nei centri di reazione aperti (Φ_{RC}) ed all'efficienza di trasferimento degli elettroni da H_2O a CO_2 (Φ_e).

L'efficienza fotochimica di un centro di reazione aperto del PSII può essere determinato a partire dal rapporto tra i parametri di fluorescenza descritti in precedenza:

$$\Phi_{RC} \approx F_v / F_{max}$$

(3.2.-2) (Klughammer, 1992)

E' stato inoltre dimostrato che la diminuzione del valore di tale rapporto corrisponde anche ad una diminuzione della frazione di centri di reazione del PSII funzionanti (f) (Kolber *et al.*, 1988, 1990). In definitiva i parametri Φ_{RC} ed f sono proporzionali all'efficienza relativa di fluorescenza variabile della clorofilla del fitoplancton adattato alla radiazione naturale e si può quindi assumere

che :

$$f\Phi_{RC} = F_v / F_{\max}$$

(3.2.-3)

Il valore di Φ_e viene stimato partendo dall'assunzione che per ridurre una molecola di CO_2 devono essere trasferiti 4 elettroni dall' H_2O . Teoricamente tale valore dovrebbe quindi essere pari a 0.25, tuttavia una parte del flusso elettronico viene consumato per i nitrati ed i solfati, nonché per il trasporto ciclico che avviene tra PSI e PSII e la riduzione di ossigeno (Slovacek *et al.*, 1980; Dubinsky *et al.*, 1986; Falkowski *et al.*, 1986b; Myers, 1987; Laws, 1991), questo valore è stato quindi stimato essere sostanzialmente costante (Kiefer *et al.*, 1989; Morel; 1991) e mai superiore al valore di 0.16 nelle popolazioni naturali di fitoplancton (Banister e Weidemann, 1984).

Quindi mentre il valore di Φ_e può essere mantenuto costante, $f\Phi_{RC}$ è molto più variabile e deve poter essere misurato, questa porzione di efficienza fotosintetica è quella che può essere misurata tramite il metodo *pump-and-probe*.

3.3. Biomassa fotosintetica

La principale fonte di variazione della produzione primaria fitoplanctonica dipende dalla concentrazione e distribuzione della biomassa in grado di fotosintetizzare. Le stime di produzione primaria vengono effettuate considerando la quantità di biomassa fotosintetizzante pari alla concentrazione di clorofilla-a nella colonna d'acqua. La distribuzione della biomassa dipende dai gradienti di luce e nutrienti che hanno una relazione tra loro inversa. Tuttavia in zone caratterizzate da fenomeni fisici in grado di redistribuire i nutrienti lungo la colonna d'acqua possono verificarsi pattern di distribuzione differenti.

Il fitoplancton è distribuito lungo tutta la colonna d'acqua e non resta fermo nello spazio, infatti a causa della turbolenza negli strati superiori dell'oceano dovuta allo stress del vento ed all'energia tidale le cellule sono continuamente mescolate verticalmente (Denman e Marra, 1986; Falkowski, 1983; Falkowski e Wirick, 1981).

Nello specifico la distribuzione orizzontale è soggetta a variazioni dipendenti dalla

latitudine, variazioni locali sono dovute all'azione dei venti dominanti e alla deriva delle acque che ne consegue nonché all'azione predatrice degli organismi fitoplanctofagi. Nelle zone costiere inoltre proliferazione locale caratterizzata da *bloom* si può osservare a causa dell'apporto di acque cariche di nutrienti dall'entroterra.

La distribuzione verticale, invece, dipende dalla composizione pigmentaria degli organismi fitoplanctonici e dal loro adattamento alla temperatura. In generale tale distribuzione dipende, a parità di altri fattori, dalla trasparenza delle acque e dalla disponibilità di nutrienti.

Il fitoplancton è limitato dalla disponibilità dei nutrienti sia in termini di biomassa che di tasso di crescita (Falkowski *et al.*, 1992). La limitazione da parte dei nutrienti è dovuta al debole rimescolamento tra le acque superficiali e quelle profonde ricche di nutrienti. In generale la concentrazione è bassa negli strati superficiali a causa del fenomeno di fotoinibizione, mentre la profondità alla quale si riscontra la concentrazione massima di clorofilla-a (*Deep Chlorophyll Maximum*) (Cullen, 1982), si trova a livello o subito sopra il termocline dove il flusso di nutrienti è elevato ma l'intensità di luce non è tale da determinare la fotoinibizione.

Ad oggi il metodo più usato per stimare l'abbondanza del fitoplancton nell'oceano (Falkowski e Raven, 1997) è basato sulla correlazione tra fluorescenza (FL), misurata tramite sensore ottico alla lunghezza d'onda maggiore di 670nm, e la concentrazione Chl-a compresa tra 0.01 e 10 mg / m³ (Yentsch e Menzel, 1963). Nello specifico di questo lavoro di tesi i metodi utilizzati per determinare l'abbondanza e la distribuzione della biomassa fitoplanctonica sono riportati nel capitolo 8.

Le caratteristiche fisiologiche della comunità fitoplanctonica sono della sua composizione tassonomica che influenza la risposta della fotosintesi alle condizioni di illuminazione. In ogni litro di acqua dell'oceano si possono trovare numerosissime specie di fitoplancton (>100), tra le diverse classi algali esiste un'ampia varietà nell'assortimento di pigmenti fotosintetici (Larkum e Barrett, 1983). Questa diversità è rappresentata dal diverso assortimento presentato dagli organismi fitoplanctonici di clorofilla c1, c2 e c3 e di altri pigmenti accessori come ad esempio fucoxantina, peridina, violaxantina e ficobiline (Jeffrey, 1980). Tutte le clorofille accessorie ed i pigmenti accessori trasferiscono la luce dai centri di reazione con una buona efficienza (Owens, 1991) ed in generale aumentano l'assorbimento della luce nelle regioni dello spettro corrispondenti al blu ed al

verde. Nonostante l'alta diversità tassonomica che può essere riscontrata nella colonna d'acqua esistono dei meccanismi di fotoacclimatazione (vedi par. 3.1.3.) comuni a tutte le specie che vengono influenzati fortemente dalla dinamica della colonna d'acqua. Tali meccanismi saranno analizzati nel dettaglio nel capitolo 9.

4. Metodi di stima della produzione primaria fitoplanctonica

Esistono numerosi metodi per la quantificazione della produzione primaria nel tempo che seguono fondamentalmente quattro approcci differenti (Falkowski *et al.* 2003): (1) misura della variazione di ossigeno, (2) misura della variazione di CO₂, (3) misura della formazione di sostanza organica, o (4) consumo di luce dipendente dal tempo misurato attraverso variazioni fluorescenza della clorofilla.

La misura sia della fotosintesi che della produzione primaria netta negli ecosistemi marini è stata storicamente caratterizzata da controversie e problemi metodologici (Falkowski e Woodhead, 1992; Williams, 1993) che persistono ancora oggi. I metodi utilizzati tra l'altro non sono sempre comparabili poiché misurano la produzione primaria a diversi livelli, bisogna fare quindi chiarezza anche riguardo alla terminologia che viene utilizzata come esposto da Williams (1993) e Falkowski *et al.* (2003). La distinzione principale da fare è quella tra la produzione lorda (P_g), che quantifica la conversione di energia luminosa in energia chimica di legame (Platt *et al.* 1984), e la produzione primaria netta (P_n) che tiene conto delle perdite respiratorie degli autotrofi (R_a) (4.-1).

$$P_n = P_g - R_a$$

(4.-1)

Si parla invece di produzione netta di comunità (P_c) se si considerano anche le perdite dovute alla respirazione degli eterotrofi (R_h) (Platt *et al.* 1989) (4.-2).

$$P_c = P_g - (R_a + R_h)$$

(4.-2)

Se invece si fa riferimento al ruolo svolto dai nutrienti si può parlare di produzione nuova (P_{new})

e di produzione rigenerata a seconda che la fonte di azoto sia il nitrato (NO_3^-), utilizzato nel processo fotosintetico, o altri composti azotati come l'ammonio (NH_4^+) che invece vengono tipicamente utilizzati in aree oligotrofiche dove la produzione si basa sul riciclo della materia organica già formata. Nel complesso la quantificazione di questi due processi fornisce una stima della produzione totale (P_T)(Kaiser *et al.*, 2005) (4.-3).

$$P_T = P_{new} - P_r$$

(4.-3)

Nei paragrafi seguenti saranno descritti i metodi più correntemente utilizzati, nello specifico, tra i metodi analitici per le stime a piccola scala, si riporta il metodo basato sull'assimilazione del ^{14}C (par. 4.1.) ed il metodo dell'ossigeno (par. 4.2.), mentre per le stime a meso e macro scala i metodi bio-ottici e i modelli matematici.

4.1. Metodo di assimilazione del ^{14}C

Il metodo di stima della produzione primaria tramite l'assimilazione di ^{14}C è stato proposto da Steemann e Nielsen nel 1952 è tuttora il metodo più utilizzato in acque aperte e costiere.

Il metodo consiste nell'incubare dei campioni di acqua in due bottiglie chiare ed una scura in cui viene inoculata una quantità nota di soluzione radioattiva ($\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$). Le due bottiglie chiare servono a mediare eventuali differenze dovute alla non omogeneità del campione e danno come risultato il valore della produzione primaria. La bottiglia scura è invece necessaria per stimare i valori di ^{14}C organica di *background* e l'eventuale fissazione di C che può avvenire al buio per cause fisiche e chimiche. I processi che possono avvenire nella bottiglia scura sono tuttavia controversi per questo motivo il protocollo messo a punto da Knap *et al.* (1996) raccomanda, oltre all'utilizzo della bottiglia scura, quello di una bottiglia che rappresenti il tempo zero (Chavez e Barber, 1987), il cui contenuto è stato filtrato subito dopo l'inoculo al fine di valutare la presenza di ^{14}C organico nell'inoculo stesso e di escludere eventuali errori dovuti a contaminazione e rumori di fondo.

Le quote di campionamento variano solitamente da 5 ad 8 in un intervallo di luce che va dal

95% allo 0.6% dell'irradianza incidente. Per la scelta delle quote di campionamento è quindi necessario stimare l'ampiezza della zona eufotica (Innamorati, 1990) mediante l'utilizzo di sensori in grado di restituire profili di irradianza subacquea e fluorescenza.

Per evitare al minimo qualsiasi tipo di contaminazione il campione deve essere prelevato con bottiglie Niskin di tipo Go-Flo con tappo in teflon, preventivamente acidificate e sciacquate (Knap *et al.* 1996).

Il campione viene raccolto dalla Niskin in un'unica bottiglia scura di 1-2L in modo che nelle bottiglie di incubazione il campione risulti essere omogeneo e rappresentativo. Prima di distribuire il campione nelle bottiglie di incubazione deve essere ben agitato e filtrato con l'ausilio di un retino con maglia di 200µm per eliminare dal campione la componente zooplanctonica di dimensioni superiori. Per ciascuna quota vengono utilizzate due bottiglie chiare ed una scura di vetro del volume di 100ml anch'esse acidificate e sciacquate con acqua MilliQ prima dell'utilizzo per evitare contaminazione da parte di metalli in tracce (Fizwater *et al.*, 1982).

L'acqua raccolta nelle bottiglie di incubazione viene inoculata con bicarbonato di sodio radioattivo ($\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$) con attività variabile (da 1 a 20µCi⁻¹mL) a seconda della concentrazione della biomassa fitoplanctonica. Le bottiglie vengono mantenute al buio fino al momento dell'incubazione.

La durata minima della sperimentazione che consente una misura affidabile è di 2ore in generale si preferisce un'incubazione di 3-4 ore intorno alle ore centrali della giornata.

L'incubazione può essere effettuata *in situ* oppure *in situ* simulato. Per quanto riguarda l'incubazione *in situ* dopo il campionamento e l'inoculo le bottiglie vengono poste in apposite strutture di mantenimento e posizionate lungo una cima metrata, alle rispettive profondità, la perpendicolarità è garantita da un peso posizionato in fondo alla cima, l'estremità superiore è invece assicurata ad un'asta di circa due metri alle cui estremità sono posizionate due boe. L'incubazione *in situ* permette di sottoporre il campione alle effettive condizioni di illuminazione presente alla profondità di prelievo, inoltre questa tipologia di incubazione permette di scegliere senza troppi condizionamenti le profondità di campionamento. Lo svantaggio principale di questa tipologia di incubazione è rappresentato dall'allungamento del “tempo nave” sulle stazioni di prelievo rendendo di fatti impossibile effettuare campionamenti in altre stazioni nello stesso giorno. In alternativa è

possibile simulare le condizioni presenti *in situ* tramite l'utilizzo di strumentazione specifica e procedere all'incubazione a bordo. In questo caso quindi l'incubazione viene condotta in appositi incubatori di PVC scuro, uno per ogni quota ottica schermati con filtri neutri e termostatati, per riprodurre le intensità luminose delle varie profondità e le temperature rilevate alle quote di campionamento. Al fine di ridurre l'errore di non schermare qualitativamente la luce è consigliato l'utilizzo di filtri con correzione per il blu.

Dopo l'incubazione il campione viene filtrato su filtri di lana di vetro (Whatman GF/F), che vengono lavati con acqua di mare filtrata una volta terminato il processo per eliminare l'acqua contenente carbonio inorganico marcato. Dopo quest'operazione il filtro viene posto al fondo di una fiala da scintillazione e congelarlo a -20°C . Sui filtri all'interno delle fiale vanno aggiunti 100mL di HCl 0.5N al fine di eliminare eventuali tracce di ^{14}C inorganico. Successivamente vengono aggiunti 10mL di liquido da scintillazione e le fiale vengono agitate e poste al buio ed al freddo (4°C) per un'ora. Successivamente è quindi determinata la radiattività tramite uno scintillatore in fase liquida. E' necessario determinare il *quenching* del segnale dovuto al liquido di scintillazione, alle particelle presenti in soluzione o a pigmenti disciolti. Proprio per tale motivo alcuni scintillatori possiedono una fonte esterna di raggi che permette di calcolare un fattore di conversione che trasformi i conteggi per minuto (CPMs) nel numero effettivo di disintegrazioni per minuto (DPMs). Il grado di *quenching* di ciascun cocktail di scintillazione va testato prima di effettuare le analisi

La misura della produzione primaria totale viene misurata sul campione tal quale mentre quella essudata sul campione filtrato. Nella misura della produzione totale si tiene conto sia del carbonio organico incorporato all'interno delle cellule algali sia quello che è stato organicato e di seguito essudato dalle cellule e non permette di distinguere tra le due. La misura della produzione primaria totale permette di evitare gli artefatti ed i danni alle cellule che invece rappresentano il limite della produzione primaria particellata dovuto alla filtrazione del campione (Lignell, 1992).

La misura della produzione primaria essudata invece è utile al fine di ottenere informazioni sullo stato fisiologico delle alghe (Wood e Van Valen, 1990). Sia che si misuri la produzione totale che la produzione essudata, da ogni bottiglia di incubazione, si prelevano due subcampioni da 5-7mL in fiale da scintillazione che vengono messe in agitazione per un'ora sotto cappa per radiochimica. Questa procedura permette di eliminare, grazie al contributo dell'acido e dell'agitazione tutto il ^{14}C

inorganico sottoforma di $^{14}\text{CO}_2$. Dopo un'ora di agitazione si aggiungono 0.5mL di NaOH 6N e 10-20mL di cocktail di scintillazione. Si procede quindi alla determinazione della radioattività come descritto in precedenza per il calcolo della produzione particellata totale.

Il calcolo per determinare il tasso di assimilazione del carbonio tiene conto della concentrazione iniziale del DIC (*Dissolved Inorganic Carbon*) nel campione, la quantità di ^{14}C -DIC aggiunto e il ^{14}C incorporato alla fine dell'incubazione. E' introdotto inoltre un fattore di correzione (1.05) per compensare la differente velocità di assimilazione della $^{14}\text{CO}_2$ che inferiore del 5% rispetto a quella del ^{12}C .

$$\text{Prod. Prim. (mgCm}^{-3}\text{h}^{-1}) = \frac{\text{DIC} * ^{14}\text{C} - \text{POC} * 1.05}{^{14}\text{C} - \text{DIC} * h}$$

(4.1.-1)

Per la stima dell'attività inoculata (^{14}C -DIC) si diluisce, in un matraccio da 100cm³ contenente acqua distillata basica, la stessa quantità di $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ inoculata nei campioni. Dalla soluzione ottenuta si prelevano almeno 5 aliquote tali che il valore ottenuto dalla loro lettura allo scintillatore ricada nella zona più lineare della curva di efficienza dell'apparecchio. Ogni aliquota è posta in una fiala di vetro alla quale è aggiunto liquido da scintillazione, il campione viene quindi stabilizzato e letto allo scintillatore.

Il calcolo viene effettuato per le due bottiglie chiare e viene quindi sottratto il valore ottenuto per la bottiglia scura. Se i dispone di un numero di campioni adeguati disposti nella zona eufotica è quindi possibile ottenere la produzione primaria integrata.

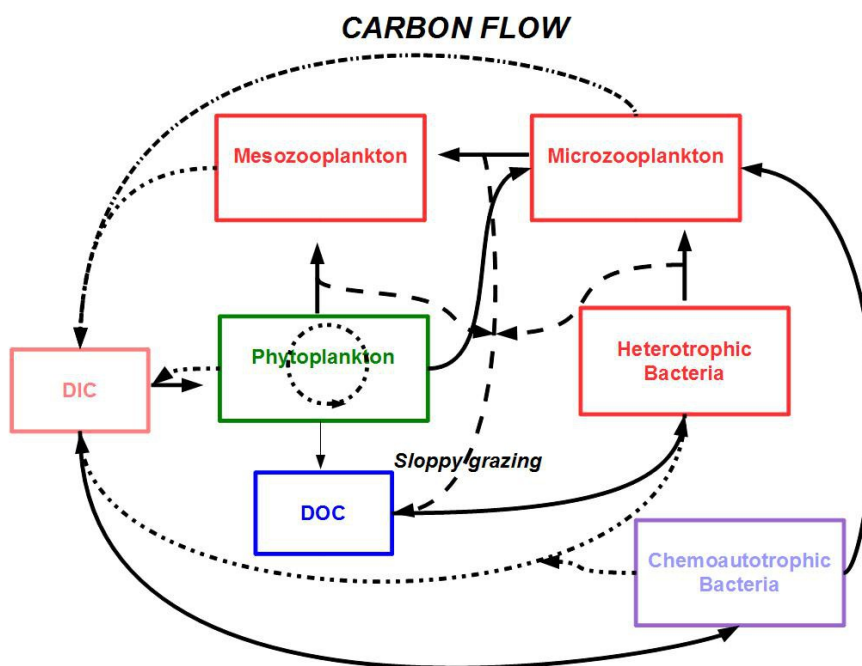


Fig.:4.1.-1: Modificata da “ *Methods for estimating Primary Production using ^{14}C* ”. Nel diagramma è schematizzato quello che avviene all'interno della camera di incubazione .

4.2. Metodo dell'ossigeno

Il metodo dell'ossigeno è sempre un metodo diretto per la stima della produzione primaria. Consiste nella stima della concentrazione dell'ossigeno disciolto prima e dopo un periodo di incubazione.

Il metodo è stato introdotto per la prima volta da Gaarder e Gran nel 1927 e presenta una minore sensibilità rispetto al metodo del ^{14}C soprattutto per quanto riguarda acque oligotrofiche.

Successivamente è stata proposta una tecnica di titolazione automatica dell'ossigeno particolarmente sensibile da utilizzare in acque oligotrofiche (Williams e Jenkins, 1982).

Il campionamento dell'acqua è effettuato alle profondità desiderate in modo da coprire omogeneamente la colonna d'acqua. Nei campioni prelevati viene immediatamente misurato il contenuto di ossigeno disciolto mediante la titolazione Winkler. Per ogni profondità vengono quindi disposte due bottiglie di incubazione, una chiara ed una scura. L'incubazione anche in questo caso può avvenire direttamente *in situ* oppure *in situ* simulato come descritto anche per il metodo del ^{14}C .

Bisogna prestare particolare attenzione nel non esporre i campioni all'azione diretta della luce solare per evitare la fotoinibizione. La durata dell'incubazione può variare da un minimo di 2 ad un massimo di 24 ore.

Al termine dell'incubazione si può quindi misurare la produzione lorda e la produzione netta nel seguente modo:

- la produzione primaria netta si otterrà sottraendo il valore dell'ossigeno disciolto presente nella bottiglia chiara dopo l'incubazione meno la concentrazione di ossigeno disciolto misurato prima dell'incubazione.
- La respirazione è stimata sottraendo alla concentrazione finale di ossigeno disciolto all'interno della bottiglia scura la concentrazione iniziale dell'ossigeno
- La produzione primaria lorda è quindi ottenuto sottraendo la concentrazione di ossigeno nella bottiglia scura alla concentrazione misurata nella bottiglia chiara.

4.3. Confronto tra i due metodi

Il metodo del ^{14}C è, ad oggi, convenzionalmente utilizzato soprattutto per le acque oligotrofiche perché ritenuto più sensibile rispetto al metodo dell'ossigeno; inoltre il metodo del ^{14}C restituisce il dato già in termini di carbonio mentre il metodo dell'ossigeno fornisce un valore di $d\text{O}_2/dt$ che necessita di essere poi convertito in una variazione di carbonio (dC/dt). Il metodo ^{14}C , combinato con la stima dell'attività fotosintetica dei pigmenti, può essere utilizzato per calcolare la produzione ed il tasso di crescita *taxon-specifica*. (Redalje e Laws, 1981; Redalje, 1983; Gieskes e Kraay 1989, Strom e Welschmeyer 1991, Goericke e Welschmeyer 1993).

Tuttavia questo metodo può calcolare solo la P_T e non permette di distinguere tra P_n e P_g cosa che è invece in grado di fare il metodo dell'ossigeno. Inoltre come sarà descritto anche in seguito il metodo ^{14}C crea numerosi artefatti soprattutto quando viene effettuata la stima della produzione primaria in superficie.

In questo lavoro per la validazione dei risultati del modello messo a punto, è stata effettuata con valori di produzione primaria stimata con il metodo del ^{14}C al fine di renderli comparabili con gli

altri lavori presenti in letteratura, ma una discussione critica dei risultati è fornita nella parte II.

4.4. Metodo basato sulla fluorescenza variabile

I parametri necessari per la stima della fotosintesi (vedi par. 3.1.2.) alternativi a quelli descritti basati sugli scambi gassosi, sono costituiti dalle misure di fluorescenza variabile come accennato nel paragrafo 3.3. Al contrario di quanto avviene per i metodi che misurano *in situ* la concentrazione dei gas coinvolti nel processo fotosintetico (O_2 e CO_2), le misure di fluorescenza variabile sono specifiche per gli organismi fotoautotrofi poiché è la clorofilla-a del PSII ad emettere la quasi totalità della fluorescenza mentre gli altri componenti, presenti nel mezzo, contribuiscono in modo trascurabile e comunque con altre caratteristiche spettrali non mostrando una componente variabile.

Sulla base del principio base della fluorescenza variabile sono stati poi sviluppati diversi approcci come ad esempio il metodo basato sulla fluorescenza variabile modulata (Schreiber *et al.*, 1986) ed il metodo *pump-and-probe* (Mauzerall 1972; Falkowski *et al.* 1986 a)

I fluorimetri tradizionali hanno una sorgente di luce che emette nel blu-verde ed un rivelatore con filtri in grado di lasciar passare solo la luce emessa, questa è quindi proporzionale alla luce assorbita ed influenzata dalla luce attinica ambientale (Schreiber *et al.*, 1986). Al contrario nei fluorimetri ad impulsi modulati la sorgente debole modulata ad intensità costante ($1-2 \mu E m^{-2} sec^{-1}$) non è in grado di indurre fluorescenza variabile ed in più il *detector* rivela solo i segnali che hanno la stessa frequenza e fase della sorgente rendendo di fatto indipendente l'emissione di fluorescenza dall'irradianza ambientale attinica (Geider e Osbone, 1992).

Il metodo *pump-and-probe* si basa sulla misura della fluorescenza indotta da una rapida successione di tre impulsi luminosi: sondaggio - pompaggio – sondaggio. A differenza di quanto avviene con i fluorimetri ad impulsi modulati, nei fluorimetri *pump-and-probe* viene utilizzata un'unica fonte di luce attinica (*pump*) che genera degli impulsi brevi ma abbastanza intensi da saturare i centri di reazione PSII quasi istantaneamente.

Questi strumenti che misurano la fluorescenza variabile *in situ* sono attualmente ampiamente utilizzati in oceanografia, si integrano infatti facilmente su piattaforme usate come profilatori o su

strumentazione trainata. Questi fluorimetri hanno permesso di fare numerosi passi avanti per la conoscenza della distribuzione verticale della produzione primaria nella colonna d'acqua (Boyd *et al.* 1997; Melrose *et al.*, 2006), la distribuzione della fotofisiologia a meso e macroscale (Behrenfeld e Kolber 1999), della variazione stagionale e inter-annuali della produzione primaria (Corno *et al.*, 2006; Suggett *et al.* 2006; Fujiki *et al.* 2008).

Dalle misure del tasso fotosintetico effettuate tramite i fluorimetri ad impulsi modulati (PAM) si possono ricostruire le curve PE e da qui ricavare i parametri fotosintetici. Questi insieme alla stima dell'efficienza fotosintetica (par. 3.3.) che, può essere misurata tramite fluorimetri *pump-and-probe* (PrimProd), ed i valori di biomassa rappresentano gli *input* necessari per la stima della produzione primaria fitoplanctonica tramite i modelli matematici più diffusi. La descrizione del funzionamento dei fluorimetri che sono stati utilizzati in questo lavoro per l'acquisizione di questa tipologia di dati verrà descritta nella parte II nei paragrafi 8.1.2. e 8.2.2.

4.5. Modelli matematici empirici

I campionamenti *in situ*, necessari per la misura della produzione primaria tramite i metodi descritti in precedenza, hanno il limite della bassa risoluzione spazio-temporale, di conseguenza non possono essere applicati per quantificare la variabilità a scala di bacino (Carr *et al.*, 2006).

I satelliti forniscono una soluzione (McClain *et al.*, 1998) a questa problematica, i sensori che misurano il colore dell'oceano, infatti, restituiscono, tra gli altri prodotti, anche stime della concentrazione di clorofilla-a superficiale. Valori di biomassa integrata possono essere quindi ottenuti assumendo che esista una relazione tra il profilo verticale di carbonio e la clorofilla. Per passare dal valore di biomassa a quello di fotosintesi, che è un tasso, è necessaria una variabile dipendente dal tempo come la radiazione solare. I modelli meccanicistici più semplici calcolano la produzione a partire dalla biomassa, la PAR, il rendimento del processo fisiologico di risposta della clorofilla misurato alla luce ed eventuali altre variabili ambientali come la temperatura della superficie del mare (SST); questa variabile, infatti, essendo facilmente ottenibile da dati telerilevati viene spesso utilizzata per parametrizzare il potenziale fotosintetico.

Numerosi autori hanno proposto approcci differenti per la modellizzazione della produzione:

Platt e Sathyendranath (1993), Longhurst *et al.* (1995), Howard e Yoder (1997), Antoine e Morel (1996), Behrenfeld and Falkowski (1997b), Ondrusek *et al.* (2001). Questi modelli possono essere classificati in base ai livelli impliciti di integrazione matematica, come descritto da Behrenfeld e Falkowski (1997a), in *Wavelength- and Depth- Integrated* (WIDI), *Wavelength- Integrated and Depth-Resolved* (WIDR), *Wavelength- and Depth- Resolved* (WRDR).

4.5.1. Modello di Morel

Il modello WRDR proposto da Morel (1991) è uno dei modelli più ampiamente utilizzati sia dallo stesso autore che da altri ricercatori (Field, *et al.* 1998; Bosc *et al.* 2004) per stimare la produzione primaria a scala globale e nel mar Mediterraneo.

Il modello si basa su misure fotosintesi Vs irradianza e tiene conto del valore dell'assorbimento clorofilla-specifico risolto sulla lunghezza d'onda e dell'efficienza quantica del processo. Il tasso fotosintetico massimo $P_{\max}^B$ è considerato dipendente dalla temperatura come proposto da Eppley (1972). Il profilo di clorofilla è determinato sulla base delle condizioni mescolamento o stratificazione della colonna d'acqua stimate dal rapporto tra profondità eufotica Z_e e profondità dello strato mescolato Z_m . In condizioni di stratificazione viene assegnato un profilo gaussiano come già proposto in Morel e Berthon (1989).

Il modello si fonda quindi su la seguente equazione :

$$PP = 12 \int_0^D \int_0^L \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} Chl(Z) \cdot PAR(\lambda, Z, t) \cdot a^*(\lambda) \cdot \phi_{\mu}(\lambda, Z, t) \cdot d\lambda \cdot dZ \cdot dt \quad (4.5.1.-1)$$

con PP: produzione primaria giornaliera ($gCm^{-2}d^{-1}$); 12 : fattore di conversione per esprimere la produzione in unità di massa piuttosto che in moli di carbonio; D: profondità dello strato produttivo; L: lunghezza del giorno; λ_1 e λ_2 : limiti del dominio spettrale fotosintetico (solitamente 400 e 700nm); Chl è la concentrazione di clorofilla ad una determinata profondità ed istante ($mgChl\ m^{-3}$); a^* è il coefficiente di assorbimento specifico delle alghe ($m^2(mgChl)^{-1}$); ϕ_{μ} : efficienza quantica di

trasformazione dell'energia catturata in carbonio; PAR: radiazione fotosinteticamente attiva (tra 400 e 700 nm) al tempo t ($\text{molQ m}^{-2} \text{s}^{-1}$), ad una determinata profondità e per un determinato range spettrale.

Il valore di PAR superficiale stimato con cielo libero da nubi viene corretto, a seconda della copertura nuvolosa, secondo la formula di Reed (1977).

Non tutte le informazioni necessarie per il computo della PP sono sempre disponibili ed alla risoluzione necessaria, nel modello sono state quindi introdotte delle approssimazioni (Antoine e Morel, 1996): 1) a^* e $\phi\mu$ sono considerate costanti e non dipendenti dall'ora del giorno o dal profilo verticale di clorofilla; 2) la dipendenza dell'assorbimento specifico dalla profondità non è considerato, mentre viene espressa la dipendenza dalla lunghezza d'onda come :

$$a^* = a^*_{\max} \cdot A^*(\lambda)$$

(4.5.1.-2)

con $a^*_{\max}$: massimo valore dello spettro di assorbimento specifico della clorofilla (435 nm); $A^*(\lambda)$: funzione adimensionale definita in un intervallo (1, 0) che descrive l'andamento dello spettro di assorbimento delle alghe; questa semplificazione permette di calcolare , per tutte le specie un'unica PUR anche se $a^*(\lambda)$ varia da specie a specie proprio tenendo conto di $A^*(\lambda)$:

$$PUR(z, t, \lambda) = PAR(z, t, \lambda) \cdot A^*(\lambda)$$

(4.5.1.-3)

La radiazione realmente assorbita dalle alghe (ARA) dipende anche dalla quantità di clorofilla-a e viene espressa nel seguente modo:

$$ARA(z, t, \lambda) = a^*(\lambda) \cdot Chl(z) \cdot PAR(z, t, \lambda)$$

(4.5.1.-4)

3) quando non vi sono informazioni sufficienti anche la dipendenza di $\phi\mu$ dalla lunghezza d'onda può essere ignorata . $\phi\mu$ può essere considerata una variabile dipendente della PUR(z, t) ed il valore massimo di efficienza $\phi\mu_{\max}$ diminuisce per valori di luce elevati. Questa relazione può essere meglio espressa nel modo seguente:

$$\phi\mu(x) = \phi\mu_{\max} \cdot f(x)$$

(4.5.1.-5)

con $x = \text{PUR}/\text{KPUR}$ (KPUR valore normalizzato $\text{KPUR} = \text{PUR}_{1/2}/x_{1/2}$; $f(x)$: funzione definita tra (1, 0), che descrive la relazione tra luce e fotosintesi è, cioè, una curva PE, nella quale l'irradianza è quantificata in termini di PUR invece che di PAR. Anche in questo caso la curva è descritta da una serie di parametri come (α_B) e produzione massima ($P^B_{\max}$) direttamente dipendenti da $a^*_{\max}$, $\phi\mu_{\max}$ e KPUR. Il modello può utilizzare diverse formulazioni per il computo della curva PE: *Steele type* (1962), *Webb type* (1974) o *Platt type* (1980).

4) Inoltre il solo effetto della temperatura sulla crescita è associato alla dipendenza di KPUR dalla temperatura :

$$\text{KPUR}(T) = \text{KPUR}(20^\circ\text{C}) \cdot 1.065^{(T-20^\circ\text{C})}$$

(4.5.1.-6)

In base a queste approssimazioni proposte da Morel (1991) la (4.5.1.-1) può essere descritta nel modo seguente:

$$PP = 12 \cdot a^*_{\max} \cdot \phi\mu_{\max} \cdot \int_0^D \int_0^L \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \text{Chl}(z) \cdot \text{PUR}(\lambda, z, t) \cdot f[x(z, t)] \cdot d\lambda \cdot dz \cdot dt$$

(4.5.1.-7)

Nelle versioni successive dello stesso modello (Morel *et al.*, 1996) sono stati calcolati i valori dei parametri fisiologici medi ed è stata messa a punto una versione “satellitare” (Antoine *et al.*, 1996) in cui la PP è calcolata come il prodotto tra la biomassa integrata, l'irradianza giornaliera e ψ^* (sezione trasversale del fitoplancton per fotosintesi ed unità di biomassa). Un'implementazione successiva di questo modello ha previsto la stima della PAR incidente risolta spettralmente utilizzando una *look-up-table* generata da una singola esecuzione del modello di stima dell'irradianza di Gregg e Carder (1990), l'effetto della copertura nuvolosa e dell'aereosol sono essenzialmente scalati linearmente.

Il modello di Morel a fronte della sua ampia applicazione e validazione *in situ* resta ad oggi uno dei principali riferimenti per il confronto con nuovi approcci modellistici per la stima della produzione primaria nel mar Mediterraneo.

5. Il modello PhytoVFP

Il modello PhytoVFP (Phytoplankton Variable Fluorescence Production model) si basa su un modello sviluppato, da Marcelli *et al.* (1997) e successivamente modificato da Marcelli *et al.* (2003) e Piermattei *et al.* (2006)

Il modello calcola la produzione primaria fitoplanctonica puntuale ed integrata nella colonna d'acqua e nel tempo, in acque di caso I (Morel e Prieur, 1977), a partire dai principali fattori che regolano il processo fotosintetico ovvero la disponibilità di luce in superficie e lungo la colonna d'acqua, la concentrazione e la distribuzione della biomassa fitoplanctonica, l'efficienza del processo fotosintetico nonché i processi di fotoacclimatazione che coinvolgono il popolamento fitoplanctonico. Questo scopo è raggiunto considerando da una parte le formulazioni teoriche che legano la fotosintesi all'irradianza tramite i parametri fotosintetici dall'altra le misure di fluorescenza variabile per determinare l'effettivo numero di fotosistemi attivi e la loro efficienza di conversione della luce in energia (vedi par.3.2.).

5.1. Prima versione del modello

La prima versione del modello PhytoVFP è stato sviluppata (Marcelli *et al.*,1997; Marcelli *et al.*, 2003) al fine di integrare, nella stima della PP fitoplanctonica, i dati di efficienza fotosintetica raccolti con la sonda Primprod 1.08 che utilizza il metodo della fluorescenza variabile (vedi par. 3.2.).

Il calcolo della PP era basato sulla scomposizione della curva PE in tre regioni a seconda del valore di PAR subacquea (zona di fotolimitazione, fotosaturazione e fotoinibizione -vedi par. 3.1.1.) alle diverse profondità (z).

1) Zona di fotolimitazione – $PAR(z) < E_K$

$$PP(z) = 0.1 \cdot PAR(z) \cdot F_v / F_{max}(z) \cdot Chl - a(z)$$

(5.1.-1)

2) Zona di fotosaturazione – $E_K < PAR(z) < E_d$

$$PP(z) = 0.1 \cdot E_K(z) \cdot F_v / F_{\max}(z) \cdot Chl - a(z)$$

(5.1.-2)

3) Zona di fotoinibizione – $PAR(z) > E_d$

$$PP(z) = \frac{0.1 \cdot E_d(z) \cdot F_v / F_{\max}(z) \cdot Chl - a(z)}{PAR(z)}$$

(5.1.-3)

Con E_K = intensità di PAR per la quale la relazione PE passa da fotolimitata a saturata; E_d = valore di PAR a cui si attribuisce il massimo valore del tasso fotosintetico (P); $PP(z)$ = produzione primaria (mg C/m³ h) alla profondità z; $F_v/F_{\max}(z)$ = efficienza fotosintetica alla profondità z; $Chl-a$ = concentrazione di clorofilla- a stimata con metodo fluorimetrico (mg/m³); 0.1 = efficienza di trasferimento degli elettroni da H₂O a CO₂; PAR = radiazione disponibile per la fotosintesi (μE/m² s).

I valori di E_K ed E_d variavano a seconda se il popolamento oggetto di studio fosse considerato sciafilo ($E_K=197 \mu E/m^2$, $E_d=300 \mu E/m^2$) oppure eliofilo ($E_K=300 \mu E/m^2$, $E_d=600 \mu E/m^2$).

5.2. Nuova versione del modello

I nuovi moduli sviluppati ed integrati nel modello PhytoVFP che saranno descritti nella parte II, hanno apportato delle modifiche alla nuova versione del modello così come descritta da Bonamano (2013) e riportata qui di seguito.

L'architettura del modello è basata su quattro componenti:

- 1 . Modulo di stima della PAR superficiale e della PAR subacquea ;
- 2 . modulo di fotofisiologia del fitoplancton;
- 3 . modulo di calcolo del tasso fotosintetico ;

4. modulo di calcolo della produzione primaria puntuale ed integrata.

Il modello stima la PAR superficiale e subacquea. Sulla base delle condizioni di illuminazione e dell'ora del giorno riproduce il comportamento fisiologico del fitoplancton. Nello specifico il calcolo della funzione di produzione (vedi par. 5.2.3.), utilizzando la formulazione proposta da Platt *et al.* (1980), viene utilizzato nel modello per riprodurre, i meccanismi fisiologici che determinano la fotoacclimatazione. La variazione del valore dei parametri α^B e P^B_{max} (vedi par. 5.2.2.) permette di considerare in termini di cambiamento della sezione trasversale e di tasso di trasporto della catena degli elettroni, il potenziale fotosintetico. Per il calcolo della produzione primaria infine, il modello tiene anche conto attraverso misure di fluorescenza variabile del numero dei centri di reazione attivi ed aperti e dell'efficienza di conversione della luce in energia in particolare dell'efficacia di ripartizione delle cariche del centro di reazione (vedi par. 5.2.4). Le misure di efficienza fotosintetica ottenute con il metodo *pump and probe* permettono quindi di considerare gli aspetti del processo non tenuti in conto nella variazione dei parametri fotosintetici ed in più di individuare la porzione di popolamento, tra tutto quello che risponde in termini di fluorescenza, che ha i fotosistemi funzionanti (Fig.5.2.-1).

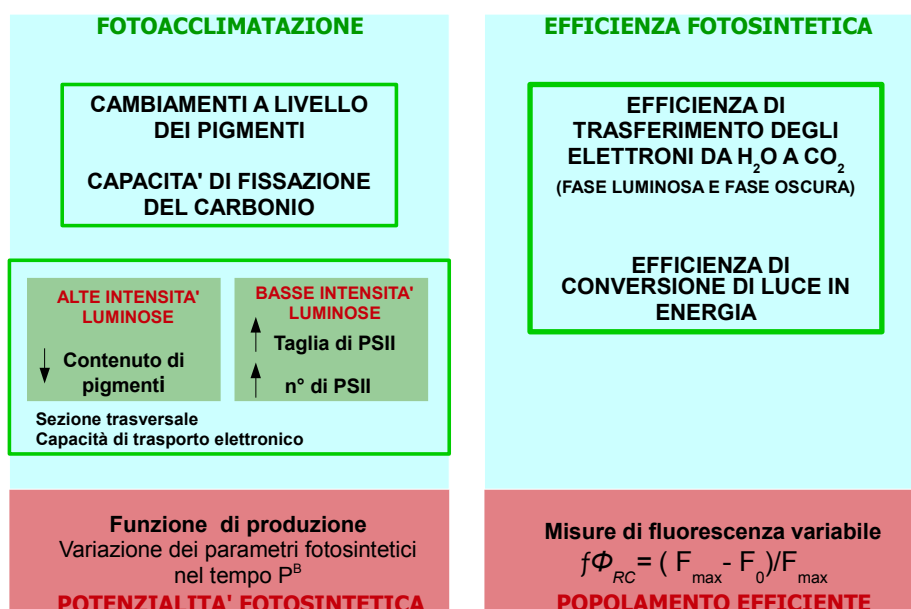


Fig.5.2.-1: Schema concettuale della riproduzione dei processi di fotoacclimatazione ed efficienza fotosintetica nel modello PhytoVFP. Nel riquadro in verde è riportato il significato del processo fisiologico in rosso la simulazione del processo nel modello.

5.2.1. Modulo di stima della PAR

Il primo modulo del modello esegue la stima della radiazione solare sulla superficie del mare (PAR) e del suo profilo lungo la colonna d'acqua integrando i parametri relativi alle 61 lunghezze d'onda in cui è stato scomposto lo spettro del visibile ($\Delta\lambda=5$ nm). Analogamente alla versione WRDR del modello di Morel (1991) il modello di luce utilizzato è stato quello proposto da Gregg e Carder (1990) in cui la PAR incidente è risolta spettralmente utilizzando una *look-up-table* generata da singoli *run* del modello. Il calcolo della PAR viene quindi effettuato sulla base della data (giorno giuliano) e della posizione geografica (latitudine) che ne influenzano l'intensità e dai valori di clorofilla-a e feofitina lungo la colonna d'acqua che ne influenzano l'attenuazione.

Nella prima parte viene calcolata la profondità della zona eufotica sulla base del profilo di PAR teorico come riportato da Morel (1991). Questo calcolo necessita della stima di una serie di parametri a monte:

- 1) Coefficienti di insolamento (diretto e diffuso) e di riflessione (diretta e diffusa)

$$es0m(\lambda, \theta) = es0mdr(\lambda, \theta) + es0mdf(\lambda, \theta)$$

(5.2.1.-1)

con λ : lunghezze d'onda dello spettro; θ : coefficiente relativo all'angolo dell'altezza zenitale del sole.

I valori dell'insolamento diretto $es0mdr(\lambda, \theta)$ e diffuso $es0mdf(\lambda, \theta)$, per ognuna delle 61 lunghezze d'onda sono ottenuti rispettivamente dalla 5.2.1.-2 e dalla 5.2.1.-3:

$$es0mdr(\lambda, \theta) = esdr(\lambda, \theta) \cdot (1 - refdir(\theta, w))$$

(5.2.1.-2)

$$es0mdf(\lambda, \theta) = esdf(\lambda, \theta) \cdot (1 - refdif)$$

(5.2.1.-3)

con: $refdir(\theta, w)$: coefficiente di riflessione diretta; $refdif$: coefficiente di riflessione diffusa e w :

l'intensità del vento.

2) L'eccentricità (ec)

$$ec = 1.00011 + 0.034221 \cdot \cos(xjr) + 0.00128 \cdot \sin(xjr) + 0.000719 \cdot \cos(2 \cdot xjr) + 0.000077 \cdot \sin(2 \cdot xjr)$$

(5.2.1.-4)

con xjr: giorno giuliano (espresso in radianti).

3) Angolo zenitale del sole (azsun)

$$azsun = 90 - hsun$$

(5.2.1.-5)

con hsun: angolo complementare dell'altezza del sole ottenuto dalla (5.2.1.-6):

$$hsun = \sin^{-1}(\sin(lat) \cdot \sin(\Delta) + \cos(lat) \cdot \cos(\Delta))$$

(5.2.1.-6)

con lat: latitudine espressa in radianti; Δ : declinazione espressa in radianti.

Il valore di PAR superficiale e la sua variazione lungo la colonna d'acqua saranno quindi calcolati come mostrato nell'equazione (5.2.1.-7) e (5.2.1.-8):

$$PAR(\lambda, z = 0) = ecc \cdot \int es0m(\lambda, \theta - 1) + es0m(\lambda, \theta) - es0m(\lambda, \theta - 1) \cdot \left(\frac{\theta - 1}{azsun} \right) \cdot d\lambda$$

(5.2.1.-7)

$$PAR(\lambda, z) = PAR(\lambda, z - 1) \cdot e^{-\int \int xkw(\lambda) + xk(\lambda) \cdot chl(z)^{ee(\lambda)} d\lambda dz}$$

(5.2.1.-8)

con $x_{kw}(\lambda)$, $x_k(\lambda)$ e $ee(\lambda)$: coefficienti per il calcolo dell'attenuazione della luce; e $Chl(z)$: profilo verticale di biomassa fitoplanctonica.

La profondità eufotica Z_e viene calcolato come la profondità alla quale l'irraggiamento è ridotto all'1% del suo valore superficiale come descritto da Morel e Berton (1989):

$$PAR(Z = z_e) = 0.01 \cdot PAR(Z = 0)$$

(5.2.1.-9)

La produzione primaria verrà quindi calcolata entro la zona eufotica individuata come avviene per molti dei modelli di stima di produzione primaria (Behrenfeld e Falkowski, 1997a).

A differenza dei modelli di Morel (1991) e di Platt (1988) di cui si discute nel lavoro di Carr M.E. et al (2006) l'effetto delle nuvole non viene scalato linearmente. Nel modello PhytoVFP invece viene utilizzato il *dataset* ERA-INTERIM (Berrisford P. et al., 2009) dello European Centre for Medium-Range Weather Forecasts (ECMWF) per simulare la variazione giornaliera relativa alla copertura nuvolosa. L'effetto della copertura è rappresentato dalla trasmittanza nuvolosa ottenuta combinando, secondo l'algoritmo proposto da Alados (2000), l'effetto delle nuvole alte, medie e basse:

$$\tau = (1 - 0.334 \cdot c_l^{1.66}) \cdot (1 - 0.290 \cdot c_m^{1.65}) \cdot (1 - 0.104 \cdot c_h)$$

(5.2.1.-10)

con τ : termine di trasmittanza nuvolosa e c_l , c_m e c_h : copertura nuvolosa (espressa %) relativa alle nuvole basse, medie e alte.

Ne deriva che il calcolo della PAR superficiale si otterrà come mostrato nella (5.2.1.-11):

$$PAR(\lambda, t, z = 0) = ec \cdot (\Delta\lambda \cdot 8.35962 \cdot 10^{-3}) \cdot \iint \left(es0mdr(\lambda, \theta(t) - 1) + es0mdr(\lambda, \theta(t)) - es0mdr(\lambda, \theta(t) - 1) \cdot \frac{\theta(t) - 1}{azsun(t)} \cdot \tau(t) \right) d\lambda dt +$$

$$+ ec \cdot (\Delta\lambda \cdot 8.35962 \cdot 10^{-3}) \cdot \iint \left(es0mdf(\lambda, \theta(t) - 1) + es0mdf(\lambda, \theta(t)) - es0mdf(\lambda, \theta(t) - 1) \cdot \frac{\theta(t) - 1}{azsun(t)} \cdot \tau(t) \right) d\lambda dt$$

(5.2.1.-11)

Il profilo di PAR viene calcolato mediante la relazione seguente che tiene conto anche della concentrazione di clorofilla che influenza la penetrazione della luce lungo la colonna d'acqua.

$$PAR(\lambda, t, z) = \iiint [ezmdr(\lambda, t, z-1) + ezmdf(\lambda, t, z-1)] \cdot e^{-xkw(\lambda) + xk(\lambda) \cdot chl(z)^{eq(\lambda)}} d\lambda dt dz$$

(5.2.1.-12)

con: $ezmdr(\lambda, t, z-1)$: componente diretta e $ezmdf(\lambda, t, z-1)$: componente diffusa.

Anche i prodotti di degradazione della clorofilla-a influenzano la penetrazione della luce nella colonna d'acqua. In particolare nel modello viene stimato il contributo della feofitina-a oltre che della clorofilla-a all'estinzione della luce in acqua, utilizzando una regressione lineare tra la concentrazione di clorofilla-a [C] e la concentrazione totale [C+F] come indicato in D'Ortenzio *et al.* (2002).

$$[C + F] = 1.1635 \cdot [C] + 0.0072$$

(5.2.1.-13)

5.2.2. Modulo di foto-fisiologia del fitoplancton

Questo modulo è basato sui risultati degli esperimenti condotti sulla specie *Skeletonema costatum* e riportati in Nardello (2008). Gli esperimenti sono stati condotti con lo scopo di simulare all'interno del modello il processo di fotoacclimatazione considerando la variazione circadiana dei parametri fotosintetici.

Gli esperimenti di laboratorio sono stati effettuati su tre popolazioni della specie *Skeletonema costatum* sottoposte a tre differenti regimi di luce (25, 300 e 500 $\mu E / (m^2 * s)$).

Sulle popolazioni acclimatate ai tre diversi regimi luminosi sono state misurate le curve PE tramite il fluorimetro ad impulsi modulati PAM (vedi par. 8.2.2). La fotoacclimatazione può considerarsi completa quando è raggiunta una condizione di crescita bilanciata, in tale condizione il tasso specifico di ricambio di tutte le strutture cellulari è uguale (Eppley, 1981). Per cellule

cresciute con un ciclo luce/buio la crescita equilibrata è raggiunta quando la composizione della cellula ritorna allo stesso valore a intervalli di 24 ore.

I parametri fotosintetici ricavati dalle curve PE, α , $P_{\max}$ ed E_k , sono stati misurati ogni due ore, durante periodi sperimentali di 62 ore.

La relazione PE di questi organismi è stata quindi parametrizzata ed i parametri α , $P_{\max}$, E_k sono stati modellati in funzione dell'ora del giorno per ognuna delle tre condizioni fisiologiche.

Il segnale fisiologico della serie storica dei parametri PE è stato decomposto attraverso l'analisi di Fourier.

Dai risultati ottenuti è stato possibile constatare che il parametro α , per ogni range di irradianza studiato (zona foto-limitata, 25 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$; zona foto-saturata 300 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$; zona foto-inibito 500 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$), può essere considerato costante, non mostra cioè una variazione in funzione del tempo.

I parametri $P_{\max}$ ed E_k hanno invece mostrato una variazione in funzione del tempo. Sono state distinte quindi le armoniche legate all'orologio biologico della popolazione, in particolare le misure effettuate dopo 24, 12 e 6 ore di incubazione che sono risultate essere le più significative rispetto alle altre armoniche (quelli a 8 e 16 ore). L'analisi ha permesso di riconoscimento di ciascuna armonica ed il suo peso in tre differenti regimi di radiazione. I modelli per E_k e $P_{\max}$ sono riportati nelle figure 5.2.2.-1 e 5.2.2.-2 rispettivamente.

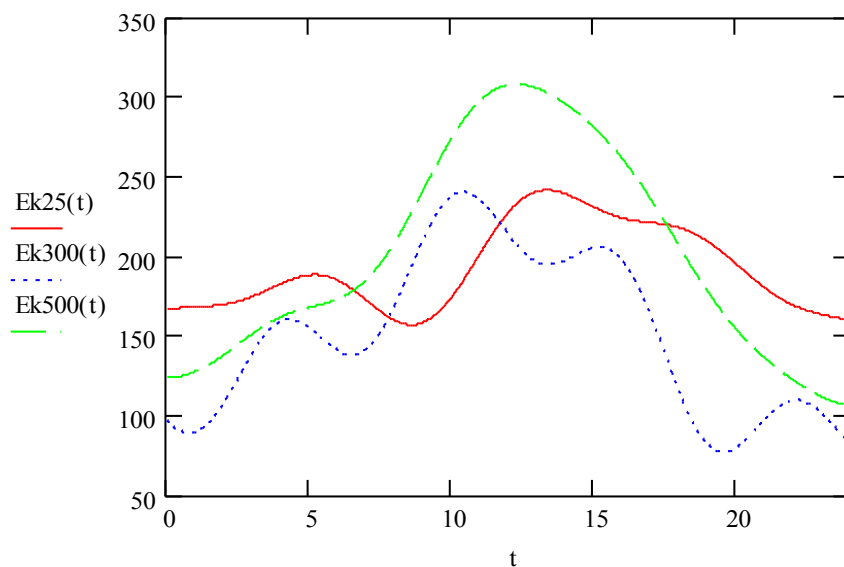


Fig.5.2.2.-1: Andamento nel tempo dei valori di E_k nei tre diversi regimi di luce.

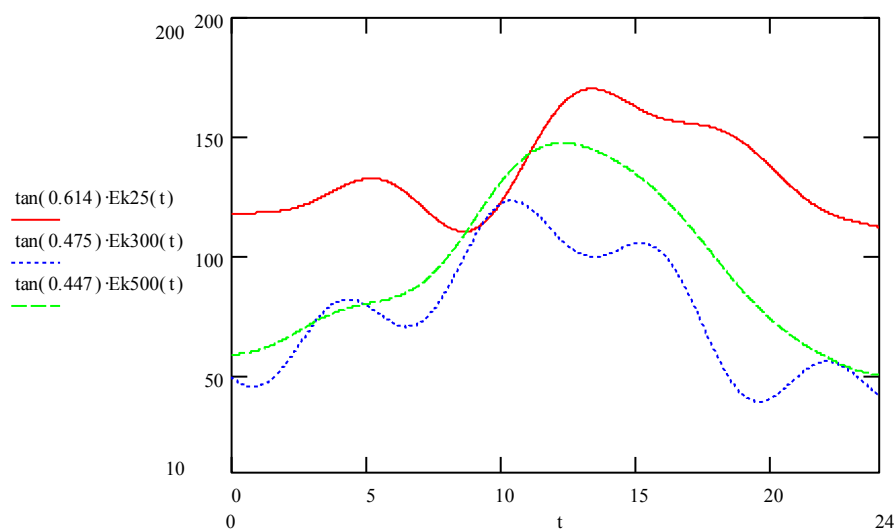


Fig.5.2.2.-2: Andamento nel tempo dei valori di P_{max} nei tre diversi regimi di luce.

I risultati ottenuti e le relazioni in funzione del tempo osservate sono riportate di seguito:

$$\alpha(x) := \begin{cases} 0.614 & \text{if } 0 \leq I(x) < a \\ 0.475 & \text{if } a \leq I(x) < b \\ 0.447 & \text{otherwise} \end{cases}$$

(5.2.2.-1)

$$E_k(t, x) := \begin{cases} E_{k25}(t) & \text{if } 0 \leq I(x) < a \\ E_{k300}(t) & \text{if } a \leq I(x) < b \\ E_{k500}(t) & \text{otherwise} \end{cases}$$

(5.2.2.-2)

$$P_{\max}(t, x) = \begin{cases} 0.705 \cdot E_{k25}(t) & \text{if } 0 \leq I(x) < a \\ 0.514 \cdot E_{k300}(t) & \text{if } a \leq I(x) < b \\ 0.479 \cdot E_{k500}(t) & \text{otherwise} \end{cases}$$

(5.2.2.-3)

I parametri a e b sono imposti di volta in volta al modello, sono dei valori di irradianza il cui valore identifica i limiti, inferiore e superiore, per cui i parametri fisiologici assumono un determinato valore e dipendono dal tipo di popolamento studiato, sciafilo, eliofilo o misto.

5.2.3. Modulo di calcolo del tasso fotosintetico

Il terzo modulo descrive la curva fotosintesi-irradianza (P^B [$\text{mgC}(\text{mgChl-a})^{-1}\text{h}^{-1}$]) utilizzando uno degli algoritmi più utilizzati in letteratura (Platt *et al.*, 1980) a partire dal valore dei parametri fotosintetici e della PAR lungo la colonna d'acqua. Nel modello PhytoVFP, questa formulazione, come nel modello di Morel, è considerata una funzione di produzione in grado di simulare il comportamento fotosintetico, nello specifico tramite l'inserimento della variazione circadiana dei parametri fotosintetici viene riprodotto il fenomeno di fotoacclimatazione.

A seconda dell'ora del giorno vengono estratti i valori dei parametri dal modulo di fisiologia del fitoplancton ed insieme al profilo di PAR istantanea descritta la curva PE.

$$P^B = P_{\max}^B \cdot \left[1 - e^{\left(-\frac{\alpha \cdot PAR(z)}{P_{\max}^B} \right)} \right] \cdot e^{\left(-\frac{\beta \cdot PAR(z)}{P_{\max}^B} \right)}$$

(5.2.3.-1)

Nel modello è possibile scegliere se utilizzare altre formulazioni anziché quella di Platt, scegliendo tra Michaelis-Menten-Monod curve, Steele curve (Steele 1962) e Webb curve (Webb *et al.* 1974). Tuttavia in questa trattazione si farà sempre riferimento alla formulazione proposta da Platt *et al.* (1980) che permette di descrivere adeguatamente la curva PE nel tratto della fotoinibizione, per elevati valori di PAR, tramite l'introduzione del parametro β .

In questa versione del modello il valore assegnato al parametro β era 0.11, ovvero il valore medio ottenuto nelle misure effettuate mediamente il fluorimetro WaterPAM nella campagna Civitaporto (vedi par.7.3.2.) per un popolamento considerato misto.

5.2.4. Modulo di calcolo della produzione primaria puntuale ed integrata

Nel quarto ed ultimo modulo del modello PhytoVFP avviene il calcolo della produzione primaria puntuale (PP_p) ed integrata nella colonna d'acqua (PP_i) e nel giorno (PP_g).

Per passare dal calcolo della funzione di produzione a quello della PP_p è necessario considerare la biomassa in termini di clorofilla-a (vedi par. 8.2.1.) e l'efficienza fotosintetica dell'intero processo (vedi par. 3.3.). La PP_p sarà quindi ottenuta mediante la seguente espressione:

$$PP_p(t, z) = \Phi_e \cdot P^B(t, z) \cdot \frac{F_v}{F_{\max}}(z) \cdot Chl - a(z)$$

(5.2.4.-1)

In questa versione il parametro Φ_e è stato posto costante e pari a 0.125.

La produzione primaria integrata (PP_i) nella colonna d'acqua e la produzione integrata giornaliera (PP_g) sono date dalle seguenti espressioni:

$$PP_i(t) = \Phi_e \cdot \int_0^D P^B(t, z) \cdot \frac{F_v}{F_{\max}}(z) \cdot Chl - a(z) \cdot dz$$

(5.2.4.-2)

$$PP_g = \Phi_e \cdot \int_0^D \int_0^L P^B(t, z) \cdot \frac{F_v}{F_{\max}}(z) \cdot Chl - a(z) \cdot dz \cdot dt$$

(5.2.4.-3)

con D: profondità della colonna d'acqua produttiva; L: lunghezza del giorno.

I profili di efficienza fotosintetica sono quelli ottenuti mediante al fluorimetro a doppio impulso PrimProd 1.08 (Antal *et al.*, 1999; Antal *et al.*, 2001) che utilizza il metodo *pump-and-probe* (Mauzerall, 1972; Falkowski *et al.* 1986 a; Kolber *et al.* 1990) (vedi par.3.3. e 8.1.2.). Come descritto in precedenza consente di considerare la porzione di PSII funzionanti e la loro efficienza di ripartizione delle cariche.

La concentrazione di biomassa fitoplanctonica, in termini di clorofilla-a, lungo la colonna d'acqua, viene ricavata attraverso i coefficienti di calibrazione della retta di regressione tra i valori di F_0 e la concentrazione di clorofilla-a ottenuti analiticamente. La concentrazione di clorofilla-a viene determinato sull'estratto acetone utilizzando la misura spettrofotometrica di densità ottica (Jeffrey e Humphrey, 1975) e tecniche fluorimetriche quando la densità ottica a 664nm è inferiore a 0.080 (Lazzara *et al.*, 1997); la concentrazione di pigmento fotosintetico attivo e dei feopigmenti è stato determinato tramite l'acidificazione (Lorenzen, 1967) (vedi par.8.2.1.).

L'efficienza fotosintetica misurata dalla sonda Primprod 1.08 insieme alla concentrazione di biomassa fitoplanctonica permette di considerare la porzione di popolazione che produce con un tasso che è quello derivato dai parametri fotosintetici individuati.

PARTE II

MESSA A PUNTO E VALIDAZIONE DI NUOVI MODULI NEL MODELLO PHYTO-VFP

6- Struttura del lavoro

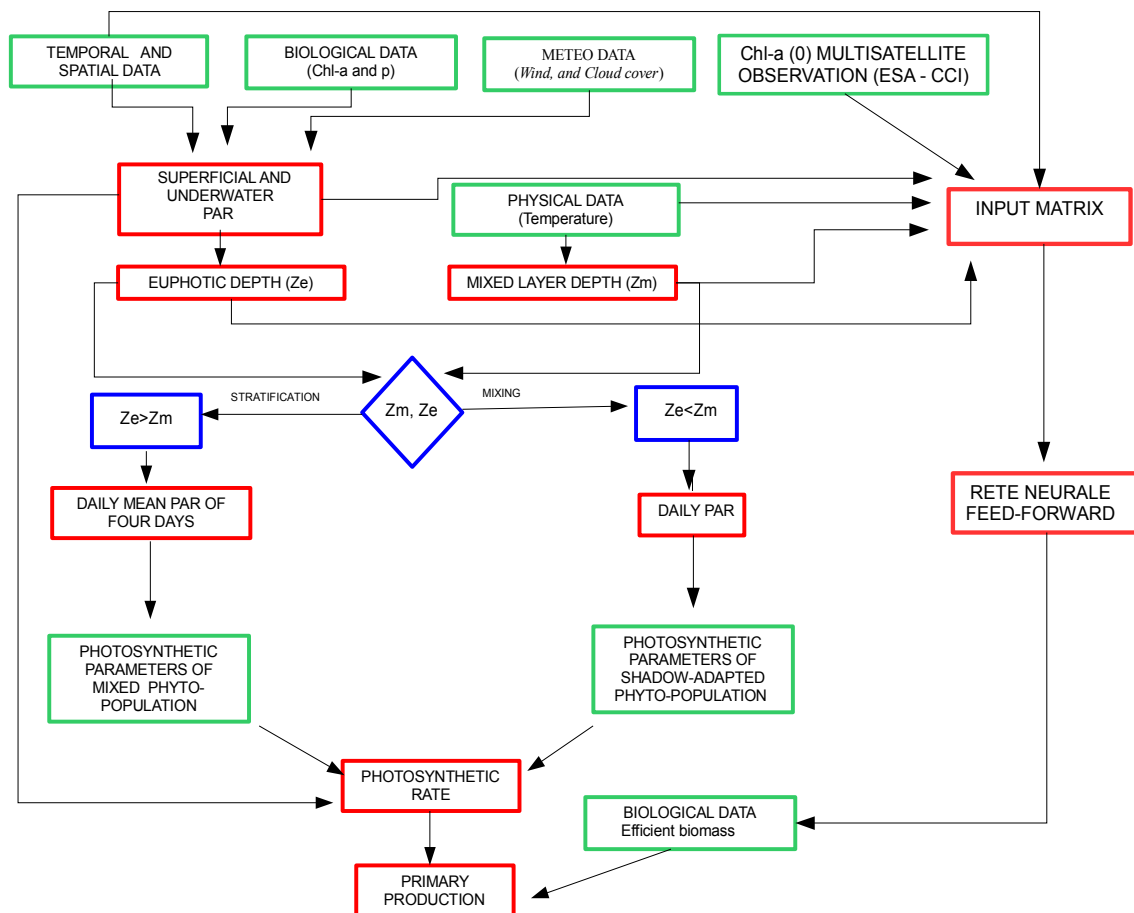


Fig.6.-1: Schema concettuale della nuova struttura del modello PhytoVFP. Nei riquadri in verde sono riportati gli *input* dei blocchi di calcolo, riportati in rosso, e in blu i blocchi di scelta.

In figura 6.-1. è riportata la mappa concettuale di quella che sarà la nuova struttura del modello PhytoVFP. Nello specifico nel capitolo 9 sarà descritto e validato il modulo di calcolo

“fotoacclimatazione e la dinamica della colonna d'acqua” che andrà di fatto ad integrare e modificare i primi tre moduli del vecchio modello PhytoVFP, fornendo in *output* il valore del tasso fotosintetico. Nel capitolo 10 invece sarà messo a punto un metodo per la stima del profilo di biomassa efficiente da dati telerilevati che confluirà insieme al tasso fotosintetico nel blocco di calcolo della produzione primaria.

Nei prossimi due capitoli, è invece riportata la descrizione del *dataset* utilizzati per lo sviluppo dei nuovi moduli, nonché della strumentazione e delle analisi di laboratorio necessarie per l'acquisizione e l'elaborazione di tali dati.

Nella parte III saranno presentate le due nuove possibili configurazioni del modello per la stima della produzione, a partire da dati *in situ* o da dati modellati e telerilevati. La configurazione che utilizza dati telerilevati permetterà di indagare il processo a meso e macro scala, un esempio della sua applicazione a mesoscala per lo studio delle interazioni fisico-biologiche è riportato nel capitolo 11.

7-Dataset utilizzato

Dallo studio condotto sui fattori che influenzano in modo significativo la produzione primaria fitoplanctonica nella colonna d'acqua è emerso, come visibile nella prima parte, che i principali modelli che stimano la produzione, sia *in situ* che da satellite, presentano dei limiti nella determinazione nella riproduzione dei meccanismi connessi alla fisiologia del fitoplancton ed alla sua interazione con il mezzo circostante che è in continuo cambiamento.

Al fine di applicare e quindi testare l'efficacia degli *upgrade* apportati alla precedente versione del modello PhytoVFP è stato selezionato un *dataset* che comprende i dati acquisiti nell'ambito di diverse campagne oceanografiche svolte tra il 2002 al 2013 dal Laboratorio di Oceanologia sperimentale ed Ecologia Marina dell'Università della Tuscia (Tab7-1.).

Tab.7-1: Localizzazione , periodo di svolgimento delle campagne oceanografiche del *dataset* e uso dei dati in questo lavoro.

Campagna	Zona	Periodo	Note	Utilizzo in questo lavoro
MedGOOS 4	Mar di Sardegna	10-23 Maggio 2002	Stazione 24 ore	Messa a punto e validazione del modulo di stima del profilo di biomassa efficiente
MedGOOS 5	Mar di Sardegna Mar Tirreno	11-14 Novembre 2002	Stazione 24 ore	Messa a punto e validazione del modulo di stima del profilo di biomassa efficiente
MedGOOS 6	Mar di Sardegna Mar Tirreno	29 Marzo - 14 Aprile 2003	Stazione 24 ore	Messa a punto e validazione del modulo di stima del profilo di biomassa efficiente
SAMCA 3	Adriatico meridionale	17-25 Maggio 2003	Misure ¹⁴ C	Validazione della PP stimata con misure ¹⁴ C. Messa a punto e validazione del modulo di stima del profilo di biomassa efficiente
MedGOOS 7	Mar di Sardegna Mar Tirreno	8-24 Gennaio 2004	Stazione 24 ore	Messa a punto e validazione del modulo di stima del profilo di biomassa efficiente
SAMCA 4	Mar Tirreno Stretto di Messina	17-21 Febbraio 2004	Misure ¹⁴ C	Validazione della PP stimata con misure ¹⁴ C. Messa a punto e validazione del modulo di stima del profilo di biomassa efficiente
SAMCA MED-BIO	Mar Ionio Canale di Sicilia	16-29 Novembre 2004		Messa a punto e validazione del modulo di stima del profilo di biomassa efficiente
MedGOOS 13	Mar di Sardegna Mar Mediterraneo occidentale	08-27 Ottobre 2006 (II LEG)		Messa a punto e validazione del modulo di stima del profilo di biomassa efficiente
MoMAR	Mar Tirreno	Marzo-Aprile 2010, luglio 2010 e gennaio- febbraio 2011.		Misure del parametro β
Civita- PORTO	Civitavecchia	21-22 giugno 2012		Misure del parametro β

La selezione delle campagne da utilizzare è stata effettuata sulla base delle misure e delle analisi effettuate e dal periodo e dalla localizzazione geografica.

Nello specifico sono state selezionate quelle campagne oceanografiche durante le quali sono state

acquisite misure di biomassa e di efficienza fotosintetica con la sonda Primprod 1.08 e che sono state effettuate durante periodi dell'anno differenti in modo da avere misure rappresentative sia delle condizioni di stratificazione che di quelle di mescolamento della colonna d'acqua. Di particolare interesse sono inoltre risultate le campagne durante le quali sono state effettuate delle stazioni *24 ore* (ovvero stazioni nelle quali le variabili sono state acquisite con la frequenza di una o tre ore per 24 ore consecutive) che hanno consentito di valutare la dinamica nel tempo delle variabili connesse alla stima della produzione primaria. Nello specifico sono state scelte quelle campagne condotte per la maggior parte in acque di caso I in cui, secondo la definizione avanzata da Morel e Prieur (1977) e perfezionata successivamente da Gordon e Morel (1983), la penetrazione della luce risulta influenzata principalmente dalla presenza della biomassa fitoplanctonica.

Inoltre sono state prese in considerazione delle campagne di misura condotte *ad hoc* per la misura dei principali parametri fotosintetici ed in particolare per la stima del parametro β di fotoinibizione che non è stato misurato durante gli esperimenti effettuati su *Skeletonema costatum*.

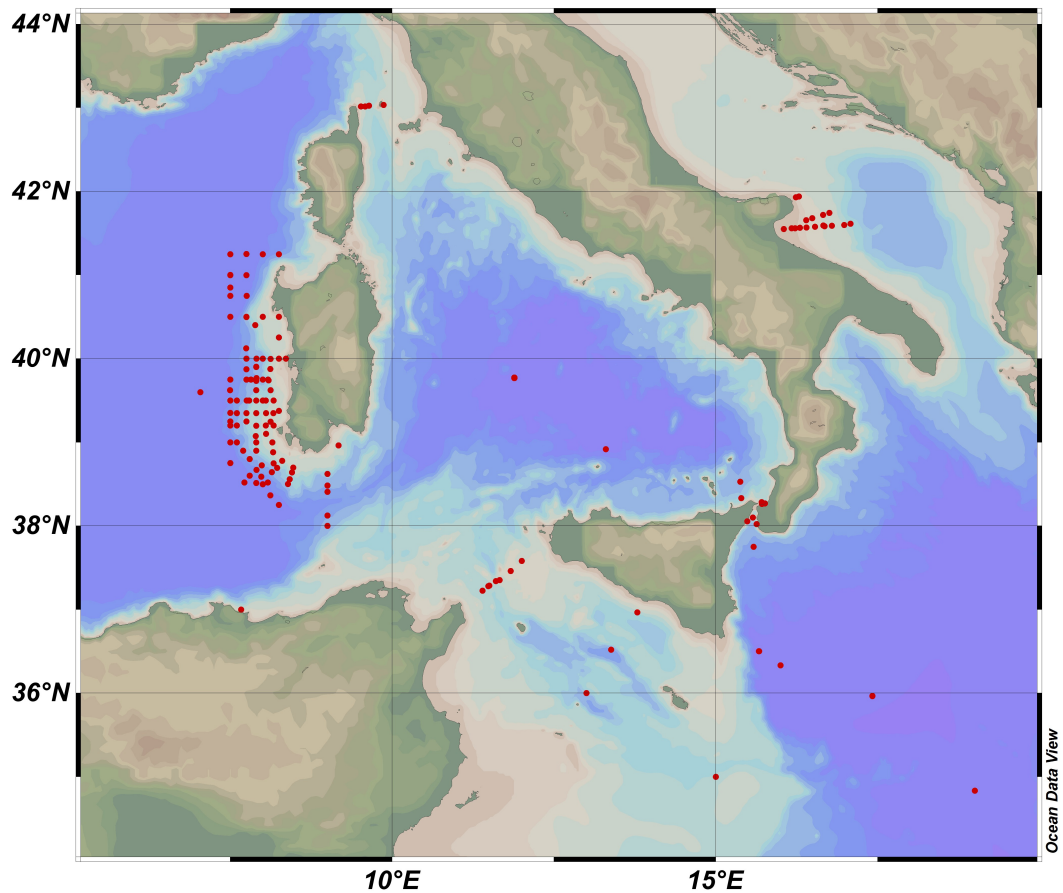


Fig.7.-1: Localizzazione delle stazioni delle campagne comprese nel *dataset*.

Come visibile nella figura 7.-1, le aree indagate sono diffuse in gran parte del bacino Mediterraneo occidentale ed in particolare nel di Mar di Sardegna che risulta una delle zone più dinamiche a causa della presenza di strutture anticicloniche a mesoscala che si originano sia dalla corrente Algerina a sud, sia dall'instabilità del Fronte Nord Balearico nella parte settentrionale (Olita *et al* 2013).

7.1. Il progetto SIMBIOS-MURSTL e le campagne MedGOOS

Le campagne MedGOOS, selezionate per il *dataset* utilizzato in questo lavoro, sono state condotte nell'ambito del progetto di ricerca SIMBIOS-MURST (*Sistema per lo studio del Mare con Boa Integrata OffShore*) finanziato dal MIUR. Nello specifico il progetto ricadeva nei programmi internazionali *EuroGOOS* e *MedGOOS*, rispettivamente *European* e *Mediterranean Global Ocean Observing System*, ed in relazione ai progetti EC-MAST III MFSPP (*Mediterranean Forecasting System Pilot Project*), EC MFSTEP e EC MAMA (*Mediterranean network to Access and upgrade the Monitoring and forecasting Activity*).

Il primo obiettivo di queste campagne era lo studio della variabilità spazio-temporale delle masse d'acqua nel Mar Tirreno, fino al Canale di Sicilia, e nel Mar di Sardegna, fino alla zona immediatamente fuori dallo Stretto di Gibilterra nell'Oceano Atlantico, anche al fine di testare e validare modelli numerici di circolazione e fisico-biologici.

Questo progetto oltre all'acquisizione dei principali dati di interesse biologico ed oceanografico acquisiti durante le campagne ha compreso anche la messa a mare di boe *off-shore* attrezzate per la raccolta di dati meteorologici e di parametri idrologici\correntometrici.

Nell'ambito di questo lavoro sono stati utilizzati di dati acquisiti nelle campagne MedGOOS4, MedGOOS5, MedGOOS6, MedGOOS7 e MedGOOS13. In tabella 7.1-1 sono riportati il dettaglio di dati acquisiti nelle cinque campagne.

Tab. 7.1-1: Dettaglio del numero di stazioni, strumentazione e numero di profili e campioni acquisiti nelle cinque campagne MedGOOS.

Campagna	Stazioni totali	Strumentazione a bordo	N° di profili PrimProd1.08	N° di campioni d'acqua analisi clorofilla-a (Chl-a) ; misure ¹⁴C (¹⁴C)
MedGOOS4	76	CTD-Seabird Primprod1.08 Idronaut senore Satlantic	25	97 (Chl-a)
MedGOOS5	67	CTD-Seabird Primprod1.08 Idronaut senore Satlantic	38	73 (Chl-a)
MedGOOS6	70	CTD-Seabird Primprod1.08 Idronaut senore Satlantic	80	80 (Chl-a)
MedGOOS7	74	CTD-Seabird Primprod1.08 Idronaut senore Satlantic	53	100 (Chl-a)
MedGOOS13 (IILEG)	67	CTD-Seabird Primprod1.08 ADCP T-flap	8	24 (Chl-a)

7.2. Il programma Cluster 10 e le campagne SAMCA

Le campagne oceanografiche SAMCA si inquadrano entrambe nell'ambito del programma Cluster 10 "Potenziamento delle reti di ricerca nelle aree depresse" e sono state coordinate dal settore di oceanografia biologica dell'Istituto per l'Ambiente Marino Costiero (IAMC) del CNR, sezione Talassografico di Messina.

Per il loro carattere multidisciplinare, le due crociere hanno seguito un approccio sistemico allo studio degli ambienti marini costieri del Mediterraneo (*System Approach to Mediterranean Coastal Areas*).

Gli aspetti trofici del livello base della rete alimentare marina sono stati argomentati con misure ottiche e di sali nutritivi strettamente correlati al fitoplancton, con stime di produzione primaria fitoplanctonica e determinazioni dei tassi di assimilazione e degradazione batterica, oltre a misure

qualitative e quantitative dello zooplankton. Il quadro è stato completato da misure chimico-fisiche delle acque in grado di fornire le caratteristiche e l'aspetto dinamico delle masse d'acqua presenti nell'area.

Nell'ambito di questo lavoro sono stati utilizzati di dati acquisiti nelle campagne SAMCA3, SAMCA4 e SAMCAMedBIO, di cui in tabella 7.2-1 viene riportato il dettaglio dei dati acquisiti.

Tab. 7.2-1: Dettaglio del numero di stazioni effettuate, strumentazione usata e numero di profili e campioni acquisiti durante le tre campagne SAMCA.

Campagna	Stazioni totali	Strumentazione a bordo	N° di profili PrimProd1.08	N° di campioni d'acqua analisi clorofilla-a (Chl-a) ; misure ^{14}C (^{14}C)
SAMCA 3	44	CTD-Seabird Primprod1.08	20	28(^{14}C)
SAMCA 4	81	CTD-Seabird Primprod1.08 ADCP CHIRP	9	23(^{14}C)
SAMCA MedBIO	30	CTD-Seabird Primprod1.08	17	30(Chl-a)

7.3. Le campagne per la stima dei parametri fotosintetici

7.3.1. La campagna MOMAR

Nel corso del progetto MOMAR (Sistema integrato per il MONitoraggio e il controllo dell'ambiente MARino, 2010-2011), svolto dall'Università di Firenze, sono state misurate le curve PE su popolamenti naturali superficiali e profondi del mar Tirreno toscano raccolti nei siti al largo di San Rossore (SR), Piombino (PB) e Talamone (T), a 3 km, 10 km e 25-30 km al largo della costa, a Marzo-Aprile 2010, luglio 2010 e gennaio-febbraio 2011.

Le misure delle curve PE dalle quali sono stati poi ricavati i valori di β sono state effettuate in relazione alla struttura della colonna d'acqua. Sia in condizioni invernali, cioè di mescolamento della colonna d'acqua, sia in condizioni di stratificazione tipicamente estive sono stati ricavati i valori del parametro β per popolamenti con comportamento sciafilo, mediando i valori misurati in

profondità nelle stazioni estive e in superficie ed in profondità nelle stazioni in cui la colonna d'acqua risultava mescolata, mentre i valori dei parametri misurati sui campioni superficiali sono stati utilizzati per ricavare valori tipicamente eliofili.

7.3.2. La campagna Civitaporto

Durante la campagna Civitaporto sono stati effettuati dei prelievi con un'elevata frequenza di campionamento (2-3 ore) al fine di valutare la variazione circadiana del parametro in esame. I campioni sono stati raccolti nei giorni 21-22 giugno 2012 alla profondità di 7 m all'imboccatura del porto di Civitavecchia (Banchina- long 42°06'23.44"N, lat 11°46'12.60"E, profondità massima: 14.5 m), in cui era stata installata dal Laboratorio di Oceanologia Sperimentale del Dipartimento di Scienze Ecologiche e Biologiche dell'Università degli Studi della Tuscia una stazione fissa di campionamento con una stazione meteo che misura in continuo una serie di parametri atmosferici ed una boa posta a 7 m di profondità con sensori CTD e fluorescenza (Idronaut).

8- Acquisizione ed analisi dati

Una parte consistente di questo lavoro è stato quello di elaborare i dati acquisiti dalla sonda PrimProd1.08 al fine di creare un unico *dataset* utilizzabile per le fasi di messa a punto, validazione ed applicazione del nuovo modello PhytoVFP. Durante le campagne analizzate sono stati acquisiti 250 profili di PAR, temperatura, fluorescenza con i centri di reazione aperti (F_0), e con i centri di reazione chiusi (F_{max}) mediante la batisonda Primprod1.08. Dalle variabili di fluorescenza acquisite è stato poi calcolato il valore di F_v/F_{max} che come descritto nel paragrafo 3.2. è un parametro fondamentale per il computo della produzione primaria fitoplanctonica.

Durante le campagne sono state anche prelevati, mediante l'utilizzo di bottiglie Niskin installate su una rosette, campioni d'acqua per la determinazione della concentrazione sia della clorofilla-a che dei pigmenti fotosintetici accessori mediante il metodo spettrofotometrico. I dati ottenuti sono stati poi utilizzati per la calibrazione dei dati

Nelle campagne MOMAR e Civitaporto è stato inoltre utilizzato il fluorimetro a doppio impulso WaterPAM per la determinazione dei parametri fotosintetici.

8.1. Variabili bio-ottiche: la sonda PrimProd 1.08

I metodi basati sulla misura della fluorescenza della clorofilla sono utili perché permettono, al contrario dei metodi tradizionali, di conoscere la fotosintesi lorda in continuo ed in tempo reale senza che lo stato fisiologico del fitoplancton sia alterato, evitando quindi la creazione di artefatti.

La sonda *Primprod 1.08*, realizzato dall'istituto di Biofisica dell'Università di Mosca (Antal *et al.*, 1999, Antal *et al.*, 2001) ospita sensori per la misura di :

- Concentrazione di fitoplancton
- Efficienza fotosintetica
- Irradianza (PAR)
- Temperatura

Lo schema della sonda *Primprod 1.08* è riportato in figura 8.1.-1. La sonda è composta di una parte cilindrica interna (1), su cui è montato il sistema ottico dell'apparecchio, e da un corpo ermetico sferico (2), che ha una giunzione nella regione equatoriale, collegata con i volani (3) sotto e sopra. Questa costruzione permette di garantire sia l'ermeticità che l'apertura facilitata della sonda.

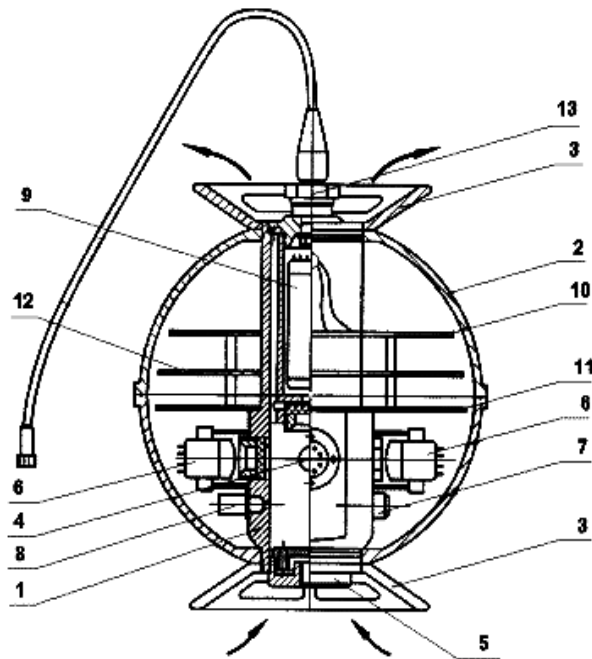


Fig.8.1.-1: Sezione della sonda *Primprod 1.08*.

Nell'emisfero inferiore sono presenti: la cella di misurazione del fluorimetro (4), che è chiusa inferiormente da un coperchio che impedisce il passaggio della luce (5), quattro sorgenti di impulsi luminosi (6) con sistemi di messa a fuoco nel centro della cella di misurazione, i trasduttori di temperatura (7) e profondità (pressione) (8). Nell'emisfero superiore sono presenti: il moltiplicatore fotoelettronico (9) per la registrazione dei segnali di fluorescenza, il supporto dei trasduttori (10), i blocchi di alimentazione FEU e elettronica (11), ed anche l'interfaccia di controllo e trasferimento dei dati (12). Tutti i supporti sono collegati fra loro con le giunzioni dei cavi. Nella parte superiore dell'apparecchio c'è una giunzione ermetica (13) per allacciare il cavo ed il trasduttore dell'illuminazione subacqueo.

Il fluorimetro è comandato da un computer IBM-compatibile e fornisce procedure di raccolta e lavorazione dei dati, programmate dall'utente.

Il metodo si basa sulla misura della fluorescenza indotta da una rapida successione di tre impulsi luminosi: sondaggio - pompaggio – sondaggio (*pump and probe*).

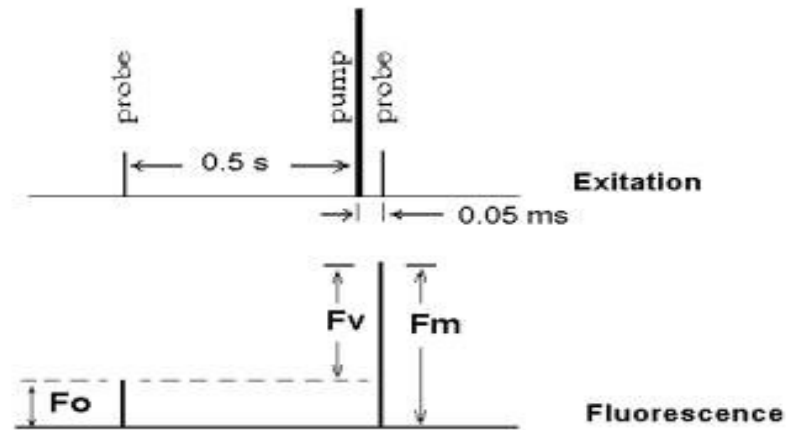


Fig.8.1.-2:: Schema del funzionamento del metodo *pump-and-probe*

Durante il primo impulso (sondaggio) viene determinata l'intensità di fluorescenza della clorofilla-a con i centri di reazione PSII aperti (F_0). Dopo un breve intervallo si produce un impulso luminoso di intensità saturante (pompaggio), che trasforma tutti i centri di reazione in stato chiuso. Il secondo sondaggio misura l'intensità massima di fluorescenza (F_{max}). In ogni ciclo di misurazione vengono determinati i valori F_0 e F_{max} (Fig. 8.1.-2).

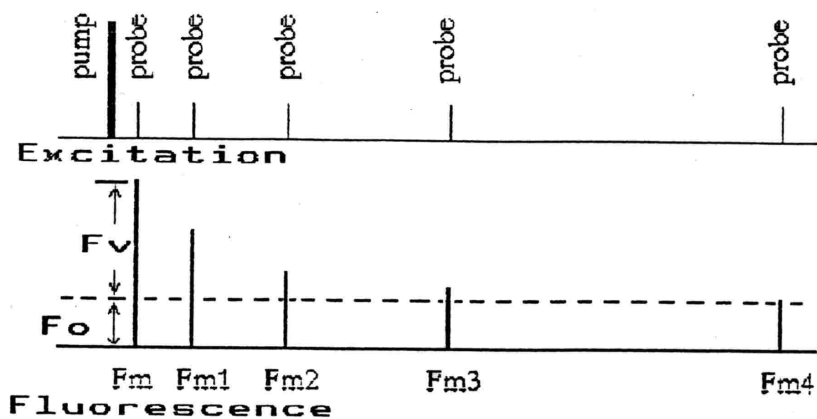


Fig.8.1.-3: Misurazione della durata del ciclo dei centri di reazione della fotosintesi

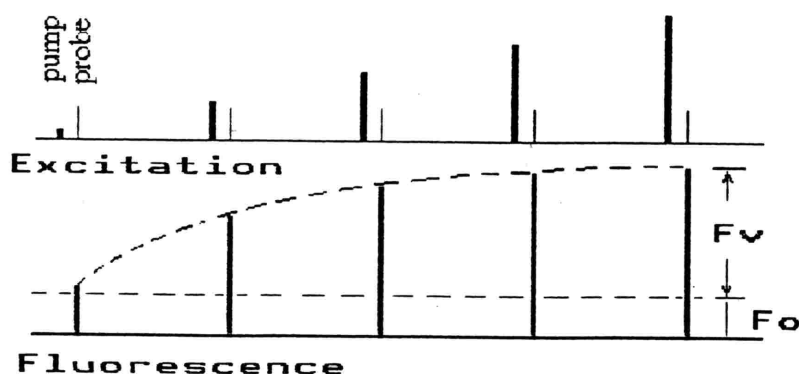


Fig. 8.1.-4: Misurazione di saturazione della fluorescenza variabile con la luce.

L'efficacia della ripartizione delle cariche del centro di reazione e' determinata come rapporto $(F_{\max} - F_0)/F_{\max} = F_v/F_{\max}$. Dal valore di F_0 , attraverso i coefficienti di calibrazione, viene determinata la concentrazione del fitoplancton.

Gli impulsi vengono generati da una lampada a xenon Ssh-20, i flash sono isolati dal campione attraverso filtri SZS-22 per la luce blu-grigia.

Nella tabella di seguito sono riportate le caratteristiche tecniche della sonda *Primprod 1.08*.

Tab. 8.1.-1: Caratteristiche tecniche della sonda *Primprod 1.08*.

Parametri	Range
Concentrazione di fitoplancton	0.03 - 50 mg Chl-a m ⁻³ (0.02 ± 10%)
Efficienza fotosintetica ($f\Phi_{RC}$)	0 - 1.0 rel. un. (0.05)
Irradianza subacquea (PAR)	0.03-1000 $\mu E\ m^{-2}\ s^{-1}$ (0.02 ± 10%)
Temperatura	0 - +30 °C (0.1 °C)
Profondità	0 - 200 m (0.5 m ± 10%)
Caratteristiche fluorimetro	Range
<i>Probe flash</i> (energia/durata)	0.01 J / 0.01 ms
<i>Flash</i> attinico saturante (energia/durata)	0.01 - 1 J / 0.01 ms
Intervallo di tempo tra i <i>flash saturante</i> e <i>probe</i>	0.05 - 1.0 ms
Campo spettrale dei flash saturante e probe	400 - 550 nm
Campo spettrale della fluorescenza registrata	> 680 nm

8.1.2. Analisi dei dati raccolti

L'acquisizione dei dati da parte della sonda *Primprod 1.08* avviene lungo la verticale della colonna d'acqua ad intervalli regolari di un secondo. Il sistema di filtraggio di media mobile del programma Ball 11 filtra per ogni calata il rumore di fondo dai valori di fluorescenza (F_{max} , F_0 , F_v), temperatura, e irradianza acquisiti.

I dati così filtrati sono stati poi sottoposti al processo di *smoothing* e di interpolazione lungo la profondità mediante il software MathCAD.

La funzione scelta per la filtrazione dei dati è stata la funzione di “Kernell” (ksmooth) che opera sulla base di una modale gaussiana applicata in ogni punto di misura. Prima di effettuare lo *smoothing* viene eliminato, attraverso la funzione di sostituzione, il rumore di fondo scala che si genera quando nella colonna d'acqua non vi è biomassa misurabile. I valori di F_0 e di F_{max} trovandosi entrambi a fondo scala, possono far risultare un F_v negativo che deve essere chiaramente eliminato dal calcolo.

Successivamente a questa operazione è stata effettuata una interpolazione polinomiale al fine di

assegnare a tutte le variabili campionate un intervallo regolare lungo l'asse z

Infine i profili di biomassa fitoplanctonica sono stati calcolati a partire dalla relazione lineare che lega la concentrazione di clorofilla-a al segnale di F_0 . Attraverso l'analisi spettrofotometrica effettuata su oltre 400 campioni di clorofilla, è stato possibile ricavata questa relazione per i dati a disposizione. (vedi par. 8.2.1.).

8.2. Analisi di laboratorio

Il metodo spettrofotometrico insieme a quello fluorimetrico rappresentano due metodi affidabili anche quando si hanno tempi limitati e si vogliono acquisire dati in continuo rispetto ad altre procedure analitiche come HPLC (Robinson, 1979) che invece prevedono tempi e costi molto più elevati. L'utilizzo del metodo del dosaggio dei pigmenti fotosintetici è inoltre essenziale dal momento in cui le misure della biomassa algale stanno venendo sempre più sostituite da misure automatiche (metodo fluorimetrico) o remote al fine di ricondurre tali misure nel *range* di valori reali. Questo metodo è stato utilizzato per calibrare le misure di fluorescenza acquisite con la sonda Primprod1.08 ed il fluorimetro del CTD.

In due campagne sono stati inoltre prelevati dei campioni sui quali misurare i parametri fotosintetici della curva PE tramite l'utilizzo del fluorimetro a fluorescenza variabile modulata WaterPAM, basato sempre sul metodo *pump-and-probe* utilizzato nelle condizioni controllate di laboratorio.

8.2.1. Estrazione e quantificazione dei pigmenti fotosintetici

Il numero di campioni d'acqua da prelevare vengono scelti durante la messa a punto del piano di campionamento e verificati durante l'acquisizione dei dati. Le quote alle quali prelevare il campione vengono infatti scelte sulla base del profilo di fluorescenza che viene acquisito mediante il fluorimetro. E' infatti essenziale prelevare i campioni ad un numero sufficiente di quote che siano rappresentative della distribuzione di biomassa lungo la colonna d'acqua. La quantità di acqua da

prelevare dipende dalle caratteristiche trofiche delle acque che si stanno studiando, in generale possono essere sufficienti 1-2L per analisi da effettuare in acque costiere mentre è necessario prelevare fino a 5L di campione in acque oligotrofiche di mare aperto. I campioni prelevati con la bottiglia Niskin devono essere prefiltrati tramite un retino di maglia di 250 μ m, per trattenere lo zooplancton ed frammenti di macroalghe (Strickland e Parson 1968; Lenz e Fritzsche, 1980) e conservati al fresco in bottiglie nere al fine di evitare che il processo fotosintetico vada avanti inficiando la misura di concentrazione di fitoplancton.

La fase successiva consiste del filtrare l'acqua attraverso un filtro in fibra di vetro Whatman GF/F apponendo una differenza di pressione ai due lati del filtro tramite l'utilizzo di una pompa da vuoto, al fine di velocizzare il processo. La depressione applicata deve comunque essere bassa in modo da non rovinare le cellule ne tanto meno lacerare il filtro. Una volta filtrata tutta l'acqua del campione, sul filtro sarà stato concentrato tutto il fitoplancton che vi era in sospensione. Il filtro, una volta prosciugato, viene conservato in 5mL di acetone ppa [(CH₃)₂CO] al 90% o al 100% a seconda che l'analisi sia effettuata immediatamente o che il filtro debba essere conservato.

Il processo di conservazione è molto delicato poiché si innescano con facilità processi di degradazione che potrebbero portare alla sottostima della concentrazione della biomassa (Rai e Marker, 1982), è quindi preferibile sempre effettuare le misure subito dopo il campionamento. Il filtro deve essere triturato ed omogeneizzato per un massimo di 2 minuti con un pestello di vetro aggiungendo 5mL di acetone all'80%, se il filtro è stato conservato in acetone puro al fine di ottenere una concentrazione finale di 90%. La provetta contenente il filtro triturato e l'acetone viene quindi mantenuta per 24h a 4°C per facilitare l'estrazione. Dopo le 24 ore le provette vengono centrifugate per 10 minuti a 4000 rpm (o 3500 per 12 minuti se non refrigerate). Dopo la centrifugazione viene recuperato il sovrantante con una pipetta e posto all'interno di una cuvetta da utilizzare per le misure con lo spettrofotometro.

Possono essere utilizzate diverse metodiche che tengono o meno conto, oltre che della clorofilla-a anche della clorofilla-b e clorofilla-c e dei feopigmenti. Per l'analisi dei campioni utilizzati in questo lavoro è stato utilizzato il metodo di Lorenzen (1967) che consente di determinare le concentrazioni di clorofilla-a e dei feopigmenti (feofitine, feoforbidi, clorofillidi)

assumendo che il rapporto tra i loro coefficienti di assorbimento specifico sia uguale a quello tra clorofilla-a e feofitina-a. Vengono selezionate le lunghezze d'onda di interesse alle quali viene misurato il valore di assorbanza. La procedura analitica prevede l'aggiunta di 50mm³ per ogni 5mL di estratto e la ripetizione delle misurazioni a 665 e 750nm dopo 30-60sec, per far in modo che tutta la clorofilla-a venga convertita in feofitina.

Viene quindi misurata l'assorbanza prima e dopo l'acidificazione secondo la seguente formula:

$$A(665\alpha) = [A(s, 665\alpha) - A(b, 665\alpha)] - [A(s, 750\alpha) - A(b, 750\alpha)]$$

(8.2.1.-1)

dove:

A(b,665) = densità ottica del bianco a 665nm;

A(b,750) = assorbanza del bianco a 750nm;

A(s,665α) = densità ottica del campione a 665nm prima (α=0) o dopo acidificazione (α=a);

A(s,750α) = densità ottica del campione a 750nm prima (α=0) o dopo acidificazione (α=a).

La concentrazione di clorofilla-a e di feopigmenti si calcolano applicando le seguenti formule:

$$Chl - a(mg / m^3) = 26.73 \cdot [A(665o) - A(665a)] \cdot v \cdot 10^3 / (co \cdot V)$$

(8.2.1.-2)

$$Feopigmenti(mg / m^3) = 26.73 \cdot [1.7 \cdot A(665a) - A(665o)] \cdot v \cdot 10^3 / (co \cdot V)$$

(8.2.1.-3)

dove:

A(665o)= densità ottica netta del campione a 665 nm prima dell'acidificazione;

A(665a)= densità ottica netta del campione a 665 nm dopo l'acidificazione;

co = cammino ottico della celletta (cm);

v = volume dell'estratto (mL);

V=volume di campione filtrato (mL).

8.2.2. Misura dei parametri fotosintetici

Le curve PE da cui estrarre i parametri fotosintetici sono state misurate *in situ* con il fluorimetro a fluorescenza variabile modulata WATER-PAM (Walz), questo fluorimetro è adatto a qualsiasi luce ambientale (Lazzara *et al.* 2010) ed è specifico per concentrazioni microalgali basse come tipico delle acque oligotrofiche (sensibilità fino a 0.1 mg Chl-a L⁻¹).



Fig.8.2.2.-1: Fluorimetro a fluorescenza variabile modulata WATER-PAM (Walz)

Il WATER-PAM, come anche la PrimProd1.08 è in grado di misurare la fluorescenza massima F_{max} , quando il plastochinone è ridotto in tutti i centri di reazione e minima F_0 quando è ossidata. Il campione viene adattato al buio o ad una radiazione nel rosso lontano, tutti i centri di reazione si aprono ed una luce di bassa intensità ($<1-2 \mu E m^{-2}s^{-1}$), anche se non innesca il processo fotosintetico (*measuring light*), determina l'emissione di fluorescenza minima F_0 . Successivamente viene inviato un impulso saturante con una luce molto intensa (0.6-0.8 sec) e recuperata la fluorescenza massima F_{max} . Al buio la luce attinica costante determina l'aumento repentino della fluorescenza (Kautsky *et al.* 1960) e quando i centri di reazione si sono chiusi, la fluorescenza diventa costante (F_t) per quel valore di luce attinica (Geider e Osborne, 1992). A questo punto quando parte dei centri di reazione vengono chiusi, e se la velocità di riduzione del plastochinone è superiore a quella di riossidazione,

può essere emessa fluorescenza. L'invio di un impulso saturante fa quindi aumentare la fluorescenza fino al valore massimo di F_{max}' per poi decadere fino a F_t . Le curve PE sono state misurate subito dopo il campionamento su ognuna delle quattro repliche effettuate sui campioni prelevati. Ogni campione è stato pre-acclimatato al buio per tre minuti e successivamente sottoposto ad una serie di nove PAR con intensità crescente compresa nell'intervallo di 0 e 1400 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ circa. Le quattro curve misurate per ciascun campione sono state successivamente interpolate secondo l'equazione di Platt *et al.* (1980) al fine di ottenere i parametri α , P_{max} , β ed E_k .

9 -Sviluppo ed integrazione del modulo fotoacclimatazione e dinamica della colonna d'acqua

9.1. Introduzione

La distribuzione spaziale degli organismi nell'oceano, da quelli planctonici più piccoli fino ai predatori, è determinata dalla loro interazione con le strutture e i processi fisici oceanografici (McManus e Woodson, 2011). La distribuzione del plancton nella colonna d'acqua è soggetta a variazioni di scala sia a livello spaziale che a livello temporale di cui è necessario tenere conto. Gli ambienti acquatici infatti sono eterogenei proprio a causa delle differenze spaziali delle principali variabili fisiche. Queste variazioni tuttavia sono continue, e ciò rende ancora più difficile individuare dei *range* di variazione significativi che determinano effetti su le altre caratteristiche della colonna d'acqua, nonché fare delle previsioni precise sui valori che assumeranno tali variabili. Spesso processi a piccola scala sono connessi a processi che avvengono a scale maggiori, l'interrelazione tra le scale è stata ampiamente discussa (Reynolds, 1999), ed è stato ipotizzato che gli effetti sono determinati dalla velocità di risposta del processo. Se le variazioni critiche avvengono più rapidamente rispetto al tempo di risposta del processo di interesse, questo può non realizzarsi. Quando invece le variazioni hanno una frequenza inferiore rispetto a quella del processo che influenzano possono avere effetti a lungo termine, ad esempio le fluttuazioni di temperatura annuali che sono decisamente più lente della divisione cellulare degli organismi fitoplanctonici, non saranno rilevanti per le popolazioni attuali, quanto piuttosto a scale temporali molto più lunghe (Reynolds, 1993) (Fig.9.1.-1).

Anche la distribuzione del fitoplancton nella colonna d'acqua può essere correttamente descritta solo se si considera la scala spaziale di riferimento, una distribuzione che appare in *patch* ad una piccola scala può essere considerata uniforme ad una scala superiore, l'omogeneità o l'eterogeneità in un sistema ecologico in definitiva dipende principalmente dalla scala spaziale e temporale in cui lo si osserva (Juhász-Nagy, 1992).

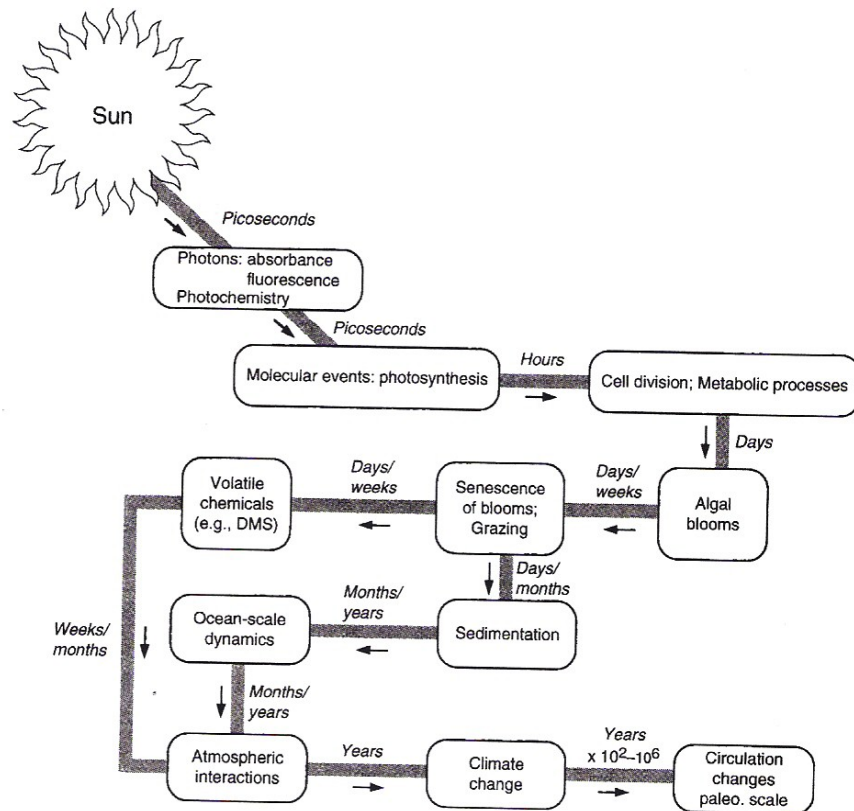


Fig. 9.1.-1: Scale temporali della dinamica dei pigmenti fotosintetici da livello molecolare a globale.

La distribuzione verticale del fitoplancton è conforme alla differenziazione verticale della colonna d'acqua in risposta alla attuale o quanto meno recente struttura cinetica. La struttura verticale comprendere uno strato convettivo mescolato dal vento che sovrasta uno strato tipicamente meno energetico in cui la turbolenza diminuisce con l'aumentare della profondità fino al *boundary layer* bentonico dove viene superata dall'attrito con la superficie solida.

La dimensione verticale è di fondamentale importanza per il fitoplancton dato che l'ambiente può rimanere stabile per periodi molto più lunghi del tempo di riproduzione, influenzando le condizioni di crescita alle varie profondità. Dato che i gradienti di attenuazione dell'irradianza, e di una serie di altri fattori ecologici importanti, sono molto rapidi in verticale, le popolazioni fitoplanctoniche possono trovarsi separate fra loro da piccole distanze per lunghi periodi in

condizioni diverse. La struttura di densità verticale della colonna d'acqua è quindi un fattore chiave anche nel processo fotosintetico, poiché determina le condizioni alle quali il popolamento viene o meno fotoacclimatato (vedi par. 3.1.3.).

Le condizioni di stratificazione o mescolamento della colonna d'acqua influenzano fortemente questi meccanismi, il termoclino può rappresentare una barriera per il trasporto degli organismi tra la zona superficiale con alti livelli di irradianza e quella più profonda scarsamente illuminata (Sharples *et al.* 2001). Quando la colonna d'acqua è mescolata, il fitoplancton si muove rapidamente tra le due condizioni (Moore *et al.* 2003), è quello che accade con il mescolamento tipico della stagione invernale, che avviene in tempi più rapidi rispetto a quelli necessari per la fotoacclimatazione, impedendo di fatto il processo. I parametri della curva PE in questo caso possono essere considerati omogenei lungo la colonna d'acqua (Cermeno *et al.* 2005; Moran *et al.* 2001). Quando invece la velocità di *mixing* risulta essere inferiore della velocità di fotoacclimatazione, cioè quando si è in una situazione di stratificazione, i parametri della curva PE variano lungo della colonna d'acqua, poiché organismi che si trovano confinati in zone diverse vengono sottoposti ad intensità luminose differenti (Moran e Estrada 2005). La fotoacclimatazione tra l'altro non è istantanea, come visto nel paragrafo 3.1.3., quindi il popolamento fitoplanctonico risulterà acclimatato alle condizioni luminose a cui è stato sottoposto per un periodo di durata sufficiente alla realizzazione del processo, in genere qualche giorno.

9.2. Sviluppo del modulo fotoacclimatazione e dinamica della colonna d'acqua

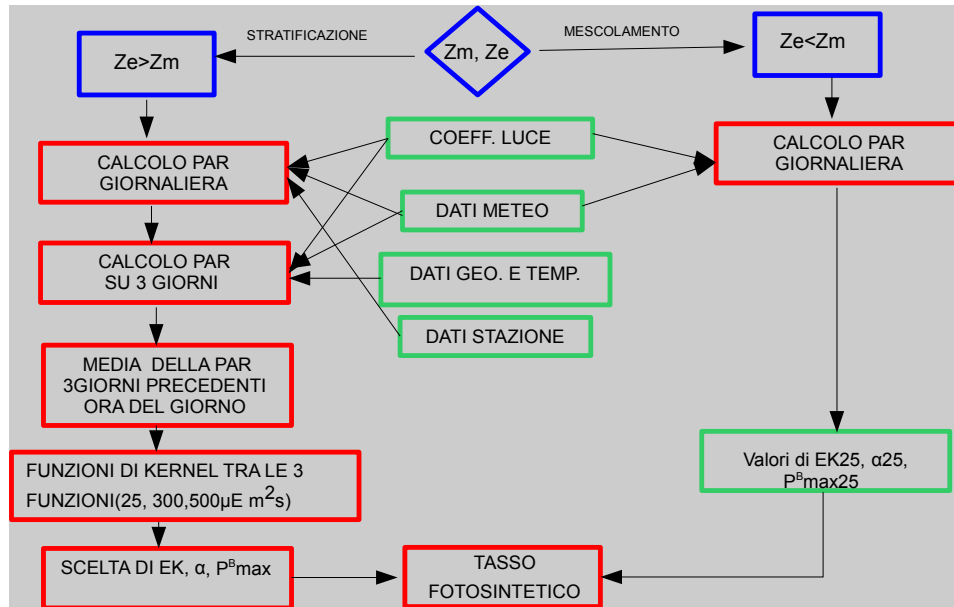


Fig.9.2.-1: Schema concettuale del modulo fotoacclimatazione e dinamica della colonna d'acqua. Estratto dallo schema generale del modello PhytoVFP riportato in figura 6-1. I blocchi verdi rappresentano i dati di *input* necessari per il modulo, in blu sono riportati i blocchi di scelta e in rosso i blocchi di calcolo.

Il primo modulo proposto per il miglioramento del modello PhytoVFP, ha l'obiettivo di simulare il processo di fotoacclimatazione del fitoplancton, relazionandolo con le condizioni di dinamica della colonna d'acqua che, come descritto nel paragrafo precedente, svolgono un ruolo chiave in tale processo.

Lo schema concettuale del modulo è riportato in figura 9.2.-1 e l'*output* finale è rappresentato dalla variazione del tasso fotosintetico con la profondità e il tempo.

Il nuovo modulo si inserisce concettualmente all'interno di quello di stima dalla PAR (par. 5.2.1), ed utilizza come *input*: 1) le condizioni meteo necessarie per la stima del profilo di PAR subacquea; 2) la variazione verticale di clorofilla-a, efficienza fotosintetica e temperatura; 3) il valore della profondità eufotica.

Il modulo di stima della PAR subacquea viene quindi calcolato utilizzando il criterio adottato da *Mignot et al.* (2011) basato sul rapporto tra la profondità dello strato eufotico (Z_e) e la profondità

dello strato mescolato (Z_m). Se la profondità dello strato mescolato è maggiore della profondità eufotica ($Z_e/Z_m < 1$), la colonna d'acqua è considerata mescolata, se invece la profondità dello strato mescolato non supera la profondità eufotica ($Z_e/Z_m > 1$), la colonna d'acqua può definirsi stratificata.

Il valore di Z_e viene calcolato mediante la formula (5.2.1.-9) e tiene conto della concentrazione di clorofilla-a e di feofitina lungo la colonna d'acqua.

La profondità dello strato mescolato, Z_m , invece, è calcolata come la profondità alla quale la temperatura diminuisce di 0.2°C rispetto alla temperatura rilevata a 10 metri di profondità, come suggerito da de Boyer-Montégut *et al.* (2004), e viene calcolato a partire dal profilo di temperatura.

Se la colonna d'acqua risulta mescolata, il popolamento fitoplanctonico non subirà il processo di fotoacclimatazione alle diverse intensità luminose ma assumerà un comportamento tipicamente sciafilo, omogeneo lungo la colonna d'acqua. Dato che la profondità dello strato mescolato supera quella eufotica, infatti, un organismo fitoplanctonico, tendenzialmente si troverà per più tempo in condizioni di bassa intensità luminosa. In questo caso il modello utilizzerà la PAR subacquea calcolata nel giorno fornito in *input* al modulo di stima della PAR. Nel caso di stratificazione invece, il processo di fotoacclimatazione deve essere simulato, quindi il modello PhytoVFP, calcola il profilo di PAR effettuando una media su 3 giorni (il giorno scelto per la simulazione e i due giorni precedenti) che rappresentano il periodo stimato necessario per la realizzazione del processo.

Per il calcolo del tasso fotosintetico attraverso la formula (5.2.3.-1), oltre al profilo di PAR sono necessari i parametri fisiologici. Nel caso di colonna d'acqua mescolata, sono stati scelti, e posti costanti, i valori misurati su colture di *Skeletonema costatum* sottoposte a bassa intensità luminosa ($25 \mu\text{E m}^2\text{s}$) e quindi assimilabili a quelli di un popolamento sciafilo ($\alpha=0.611$, $E_k=197$, $P_{\max}=120$) (Nardello, 2008).

Nel caso di stratificazione, sono stati utilizzati i parametri fotosintetici di tre diversi popolamenti fitoplanctonici fotoacclimatati ad intensità luminose differenti. Per calcolare i parametri fotosintetici in questo caso il modello effettua una media ponderata dei tre regimi luminosi funzione del tempo (25 , 300 o $500 \mu\text{E m}^2\text{s}$), con pesi determinati attraverso tre funzioni kernel (due sigmoidi ed una gaussiana - Fig.9.2.-2) in base al livello di PAR.

Le tre funzioni kernel sono state determinate in modo tale che ognuna raggiunga il picco a livello di un valore di PAR pari ad uno dei tre regimi luminosi, e che le funzioni siano a due a due

sovrapposte. Alla funzione che raggiunge il picco per quel determinato valore di PAR viene assegnato un peso del 95% mentre il restante 5% è il contributo dato dalla funzione sovrapposta.

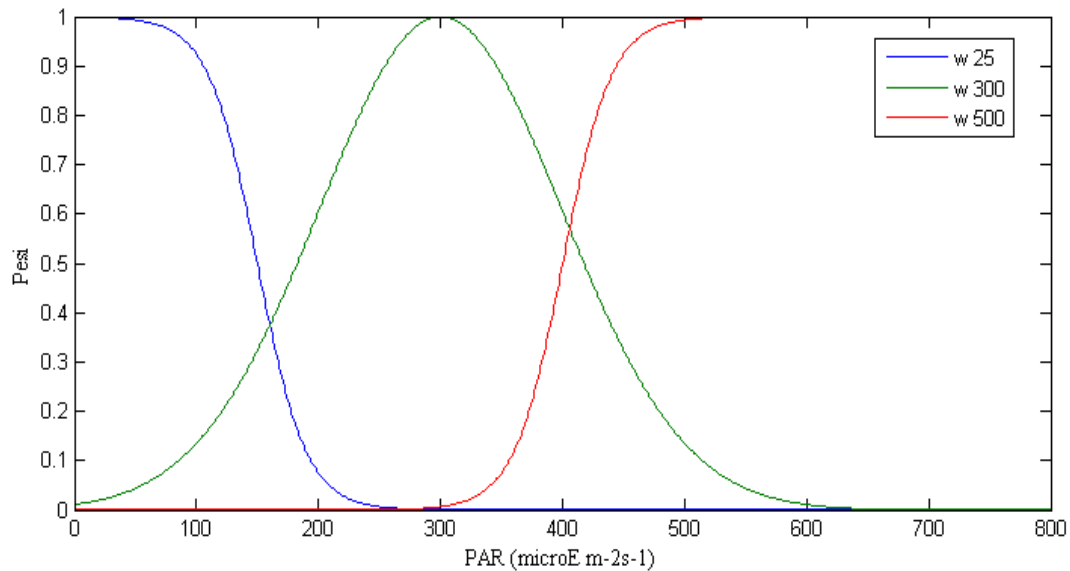


Fig.9.2.-2: Funzioni di Kernel per la media ponderata tra i tre regimi luminosi (25, 300 o 500 $\mu\text{E m}^2\text{s}^{-1}$).

Per ogni intensità luminosa, quindi per ogni profondità, vengono così estratti i valori dei parametri fotosintetici e la loro variazione circadiana misurata negli esperimenti su di *Skeletonema costatum* riportati nel paragrafo 5.2.2.

Il profilo di PAR e i parametri così selezionati vengono usati per il calcolo del profilo del tasso fotosintetico che confluirà quindi nel modulo di calcolo della produzione primaria puntuale ed integrata che viene calcolata infine attraverso la formula (5.2.4.-1).

9.3. Risultati

Il modello PhytoVFP, nella versione precedentemente descritta, è stato testato utilizzando i dati acquisiti durante le campagne di misura SAMCA3 e SAMCA4 appartenenti al *dataset* descritto nel capitolo 7. Nello specifico la produzione primaria è stata stimata in 14 stazioni delle due campagne, ovvero quelle in cui sono stati effettuati campionamenti per la misura della produzione primaria fitoplanctonica mediante il metodo ^{14}C (Steemann Nielsen, 1952). E' stato quindi possibile confrontare la PP calcolata dal modello con quella analizzata nel corso delle campagne SAMCA. Al fine di non inficiare la bontà del confronto, non sono stati utilizzati i valori di ^{14}C relativi ai campioni superficiali. Nei campioni prelevati in superficie infatti il metodo del ^{14}C tende a sovrastimare la PP a causa di fenomeni di fotoacclimatazione che si verificano durante l'incubazione (*enclosure effect*) (Gieskes and Kraay, 1984). Le stazioni e le quote alle quali sono stati effettuati i campionamenti sono riportate in tabella 9.3.-1.

Tab. 9.3.-1: Condizioni dinamiche della colonna d'acqua nelle stazioni delle campagne SAMCA- MLD: mixed layer depth (RIF), EZD: euphotic zone depth (RIF), DCMD: deep chlorophyll maximum depth, DCMC: deep chlorophyll maximum concentration, Ichla: Integrated total chla concentration, PP ¹⁴C primary production measured by ¹⁴C method

Stazioni	Campagna	MLD ⁽¹⁾	EZD ⁽²⁾	DCMD	DCMC	Ichla	Type	PP ¹⁴ C
24	SMC3	20.4	97.81	59.9	0.577	406.7990392	Stratified	(20 m) (50 m)
25	SMC3	19.2	92.81	58.7	0.796	354.461178	Stratified	(40 m) (60 m)
32	SMC3	16.1	90.1	55	0.6378	244.35564	Stratified	(50 m) (60 m)
33	SMC3	14.2	70.1	55.5	0.7466	246.58770	Stratified	(30 m) (50 m)
40	SMC3	25.1	25.1	14.3	0.928277	185.8122194	Mixed	(10 m) (20 m)
41	SMC3	10.8	18.5	14	0.9302	687.23.00	Stratified	(13 m)
42	SMC3	10.8	14.2	11.01	1.23	131.2577077	Stratified	(13 m)
43	SMC3	15.7	48	38.4	0.657249	190.33583	Stratified	(25 m) (35 m)
44	SMC3	26.2	26.2	24.3	0.62664	100.536918	Mixed	(20 m) (30 m)
2	SMC4	150.0	91.37	36.6	0.43021	442.536918	Mixed	(10 m) (25 m) (40 m)
25	SMC4	150.5	82.9	26.8	0.56035	610.3092515	Mixed	(15 m) (30 m) (60 m)
26	SMC4	150.4	108.98	9.7	0.38068	339.543467	Mixed	(10 m) (50 m)
52	SMC4	135.6	101.40	37.81	0.3139	395.5308779	Mixed	(10 m) (50 m)
76	SMC4	150.2	84.40	24.7	0.46081	1563.58	Mixed	(30 m)

Il modello PhytoVFP è stato messo a punto per la stima della produzione primaria in acque di caso I (Morel e Prieur, 1977), ovvero quelle in cui le proprietà ottiche sono determinate in massima

parte dagli organismi fitoplanctonici e da prodotti derivati dalla loro degradazione (es. feofitina). Poiché alcune delle stazioni campionate sono localizzate in prossimità della costa, dove è più probabile avere acque di caso II, si è proceduto a classificare tutte le stazioni secondo questo principio, al fine di valutare i risultati anche alla luce delle caratteristiche ottiche della colonna d'acqua. Questa distinzione è stata effettuata applicando il metodo basato sulla correlazione empirica tra la profondità dello strato eufotico (Z_e) della stazione e la concentrazione media di clorofilla-a presente nello stesso come proposto da Morel (1988).

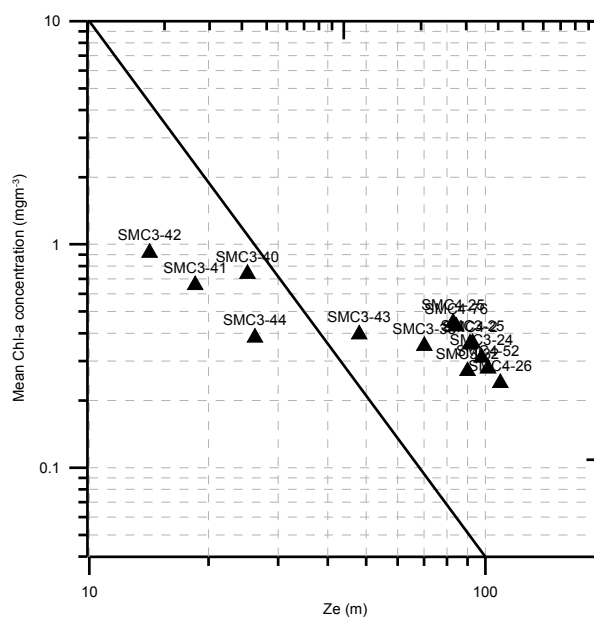


Fig.9.3.-1: Concentrazione media di Chl-a nello strato eufotico Vs profondità dello strato eufotico (Z_e) per le stazioni delle campagne SAMCA 3 e SAMCA4.

Quattro stazioni (40, 41, 42 e 44) tra quelle prese in esame, tutte della campagna SAMCA3, sono risultate appartenere alla categoria delle acque di caso II. Tutte le altre stazioni possono essere classificate come acque di caso I anche se ubicate in prossimità della costa. Questa affermazione è maggiormente avvalorata dall'evidenza che le zone in cui sono state effettuate le misure si trovano a sud del promontorio del Gargano (SAMCA 3), in questa zona non vi sono *input* continentali importanti come quelli riscontrabili invece nella parte settentrionale, quindi, l'apporto di nutrienti dipende fortemente dalle condizioni di mescolamento e/o stratificazione della colonna d'acqua (Vilicic *et al.* 1989), nonché dall'Acqua Intermedia Levantina (LIW) proveniente dal canale d'

Otranto (Zavatarelli *et al.* 1998). La stessa situazione è riscontrata nello stretto di Messina (SAMCA 4) dove l'aumento di biomassa dipende dalla variabilità delle condizioni fisico-chimiche dovute principalmente all'alternarsi di acque ricche di nutrienti, provenienti da mar Ionio (Vercelli and Picotti, 1926), alle acque superficiali povere di fosforo ed azoto provenienti dal mar Tirreno (Magazzù and Decembrini, 1995).

Le misure ^{14}C di PP, disponibili per queste stazioni, sono state utili per effettuare:

- analisi di sensibilità del modello alla variazione dei parametri β (indice di fotoinibizione) e Φ_e (efficienza di trasferimento elettronico);
- ottimizzazione e validazione con i risultati di ^{14}C ;
- confronto della vecchia versione con i risultati di ^{14}C ;
- confronto tra i risultati ottenuti dal nuovo modello e con il modello di Morel e stima dell'errore rispetto alle misure analitiche.

Nei successivi paragrafi sono riportati in dettaglio i risultati ottenuti.

9.3.1. Analisi di sensibilità

Al fine di interpretare correttamente i risultati del modello, è di fondamentale importanza, comprendere i tipi di incertezza connessi ai risultati che esso produce. L'analisi di sensibilità permette di valutare in che misura, l'incertezza che circonda una determinata variabile indipendente, possa influenzare il risultato finale.

L'impatto che tale incertezza ha sul risultato finale dipende sostanzialmente dall'intervallo di variazione di ciascuna variabile e dalla natura delle relazioni analitiche. L'incertezza connessa con la struttura del modello e con i parametri utilizzati può essere ridotta collezionando una maggiore quantità di dati, cosa che invece non è sufficiente per diminuire l'incertezza connessa alla stocasticità del modello (Cariboni *et al.*, 2007). Se sono presenti fonti di incertezze multiple si deve poter identificare il peso di ciascuna sull'incertezza di previsione totale (Wu e Tsang, 2004; Saltelli *et al.*, 2000 a, b, 2004). Il metodo più comunemente utilizzato per effettuare un'analisi di sensibilità consiste nel far variare una alla volta le fonti di incertezza mantenendo costanti tutte le altre

variabili.

Per la nuova versione del modello PhytoVFP questa analisi è stata effettuata su due parametri che portano al computo della produzione primaria, e che non sempre è possibile misurare, ovvero i parametri Φ_e e β (vedi par.3.3. e 3.1.2.) di cui si riportano i risultati.

9.3.1.1. Analisi di sensibilità per β

Il parametro β , come descritto nel paragrafo 3.1.2., rappresenta l'indice di fotoinibizione, ovvero il coefficiente angolare negativo della retta ad alta irradianza (Fig.3.1.1-1) espresso in $[\text{mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{h}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^2]$.

Dall'equazione di stima del tasso fotosintetico (3.1.1.-1) si evince che, il parametro β può assumere valori maggiori o uguali a zero, infatti derivando l'equazione rispetto all'irradianza si ottiene :

$$\delta P^B / \delta E = (\alpha + \beta) e^{-(\alpha + \beta)E/P_{\max}^B} - \beta e^{-\beta E/P_{\max}^B} \quad (9.3.1.1-1)$$

Per $E \rightarrow 0$, $\delta P / \delta E \rightarrow \alpha$ ovvero una costante che rappresenta l'inclinazione iniziale della porzione lineare della curva.

Ponendo $\delta P / \delta E = 0$ si identifica il punto E_m al quale la fotosintesi è massima calcolato come segue:

$$E_m = P_{\max}^B / \alpha \log_e \frac{(\alpha + \beta)}{\beta} \quad (9.3.1.1-2)$$

sostituendolo nell'equazione precedente si ottiene la produttività massima calcolata come

$$P(E_m) = P_m = P_{\max}^B \left(\frac{\alpha}{(\alpha + \beta)} \right) \left(\frac{\beta}{(\alpha + \beta)} \right)^{\frac{\beta}{\alpha}} \quad (9.3.1.1-3)$$

Quando $\beta \rightarrow 0$, $P_m \rightarrow P_{\max}^B$ siamo cioè nella condizione di assenza totale di fotoinibizione,

quando invece $\beta > 0$, $P_{\max}^B > P_m$ e quindi $P_{\max}^B$ rappresenta il tasso fotosintetico massimo in condizione di luce saturante ed in assenza di fotoinibizione.

Il parametro β quindi può potenzialmente variare tra zero ed infinito cioè tra l'assenza totale di fotoinibizione e valori per i quali il tasso fotosintetico diminuisce più o meno repentinamente all'aumentare dell'irradianza. Numerosi studi (Kok, 1956; Takahashi *et al.*, 1971; Harris and Lott, 1973; Harris and Piccinin, 1977) hanno dimostrato come il fenomeno della fotoinibizione sia dipendente dal tempo come anche gli altri parametri caratteristici della curva PE. Ma l'entità di questo fenomeno è inoltre differente da specie a specie ed ovviamente influenzato anche alla dinamica della colonna d'acqua, essendo questa in buona parte responsabile dei fenomeni di fotoacclimatazione.

Al fine di valutare l'effetto della variazione di questo parametro sui risultati del modello, sono stati utilizzati i valori misurati durante gli esperimenti condotti nelle campagne, MOMAR e Civitaporto. Durante queste campagne sono state misurate le curve PE con il fluorimetro a fluorescenza variabile modulata WATER-PAM (Walz). Questo strumento, come descritto nel paragrafo 8.2.2., è idoneo anche per sospensioni microalgali molto diluite, quindi adatto a campioni tipici di acque oligotrofiche, per il quale il modello PhytoVFP è stato concepito.

Di seguito sono riportati i valori medi ottenuti durante le due campagne.

Tab.9.3.1.1.-1: Valori medi misurati per il parametro β nelle campagne Civitaporto e MoMar.

	Civitaporto		MoMar		MoMar	
	media	+ -sdev	media	sun range	media	Shade range
Beta	0.11	0.04	0.154	0.082-0.167	0.218	0.04-0.53

Tra quelli acquisiti *in situ* (tab. 9.3.1.1.-1) e riportati in letteratura (Platt *et al.* 1980), sono stati selezionati 10 valori tra cui far variare il parametro β (Tab. 9.3.1.1.-2).

Tab.9.3.1.1.-2: Valori di β selezionati per l'analisi di sensibilità del modello.

Beta (β)	0.00038	0.0018	0.07	0.08	0.09	0.1	0.154	0.2	0.218
------------------	---------	--------	------	------	------	-----	-------	-----	-------

Sono state effettuate 9 simulazioni (una per ogni valore di β) in cui sono state utilizzate clorofilla-a, F_v/F_{max} e temperatura acquisite con la sonda PrimProd e in cui è stato assegnato a Φ_e il valore di 0.1.

Nella figura 9.3.1.1.-1 sono riportati i profili di produzione primaria ottenuti in una stazione mescolata ed una stratificata delle campagne SAMCA 3 e SAMCA 4.

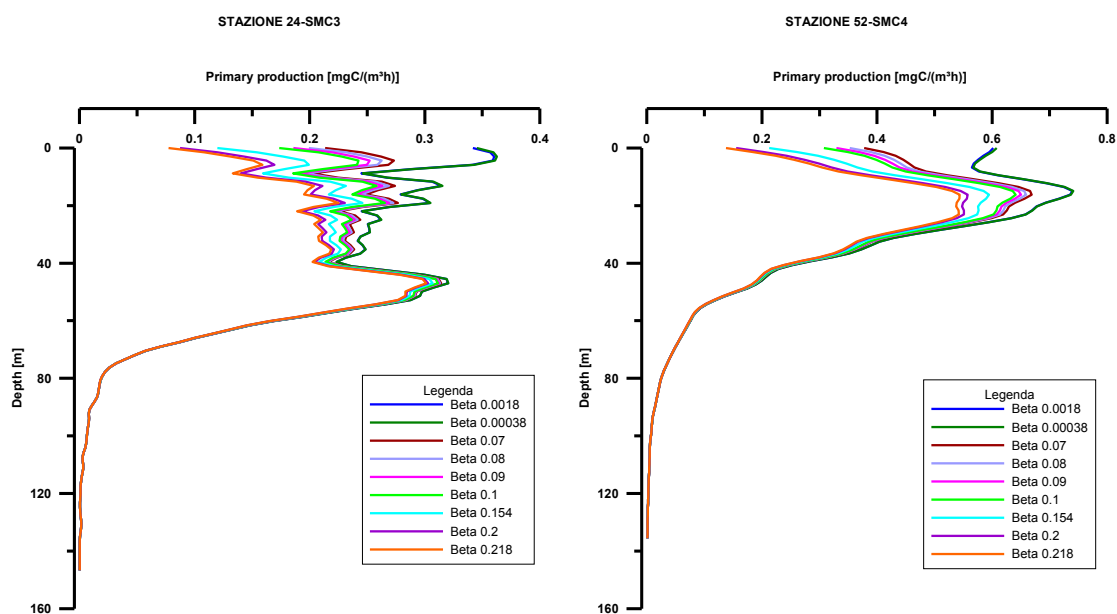


Fig.9.3.1.1.-1 : Variazione del profilo di PP al variare del valore di β in una stazione con colonna d'acqua stratificata (Stz.24- SAMCA3) ed in una stazione con colonna d'acqua mescolata (Stz.52- SAMCA4).

I valori assunti dal parametro β fanno variare sia quantitativamente che qualitativamente il profilo di produzione primaria con un effetto maggiore sugli strati più superficiali. L'effetto della fotoinibizione è tanto più forte quanto maggiore è il valore assegnato a β . Nel *range* dei valori assegnati, i risultati che si ottengono in superficie oscillano tra 0.1 e 0.6 mgC/(m³h), nella stazione 52-SMC4, e tra 0.05 e 0.35mgC/(m³h) nella stazione 24-SMC3, con una variazione media del

valore superficiale del 15%. La varianza tra le stime di produzione diventa zero oltre gli 80 metri di profondità, ma è pari a 10^{-5} già a 40 metri. I risultati ottenuti dalla variazione di β si distinguono in tre *range*, valori più bassi e tra loro comparabili di produzione primaria integrata si ottengono per valori di β compresi tra 0.154 e 0.218 [$\text{mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{h}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^2$], per β compresi tra 0.07 e 0.1 [$\text{mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{h}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^2$] i risultati di produzione primaria integrata variano tra loro mediamente dello 0.5%; mentre non si apprezzano differenze significative tra la produzione primaria stimata a partire da valori di β pari 0.0018 e 0.00038 [$\text{mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{h}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^2$] poiché già con $\beta=0.0018$ [$\text{mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{h}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^2$] la fotoinibizione è sostanzialmente assente.

9.3.1.2. Analisi di sensibilità per Φ_e

Il parametro Φ_e , come descritto nel paragrafo 3.3., rappresenta l'efficienza di trasferimento degli elettroni da H_2O a CO_2 . E' una porzione dell'efficienza fotosintetica che non viene adeguatamente tenuta in conto né nel rapporto $F_v/F_{\max}$ né tramite i parametri della curva PE. Per la scelta dei valori da assegnare al parametro Φ_e si è partiti dall'assunzione che debba essere inferiore a 0.25. Infatti anche se sono necessari 4 elettroni provenienti dall' H_2O per ridurre una molecola di CO_2 , una certa frazione del flusso elettronico (fino a 2/5) è consumato per nitrati e solfati durante il trasporto ciclico degli elettroni tra PSI e PSII (Slovacek *et al.*, 1980; Dubinsky *et al.*, 1986; Falkowski *et al.*, 1986; Myers, 1987; Laws, 1991). Di conseguenza è stato quindi selezionato un *range* di valori crescenti compreso tra 0.03 e 0.125 (Tab.9.3.1.1.-3).

Tab.9.3.1.2.-1: Valori di Φ_e selezionati per l'analisi di sensibilità del modello.

Phi (Φ_e)	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09	0.1	0.125
------------------	------	------	------	------	------	------	------	-----	-------

E' stata quindi stimata la produzione primaria nelle stazioni delle due campagne utilizzando i dati acquisiti *in situ* (clorofilla-a, $F_v/F_{\max}$ e temperatura), ponendo β pari a 0.1 e variando esclusivamente il valore di Φ_e .

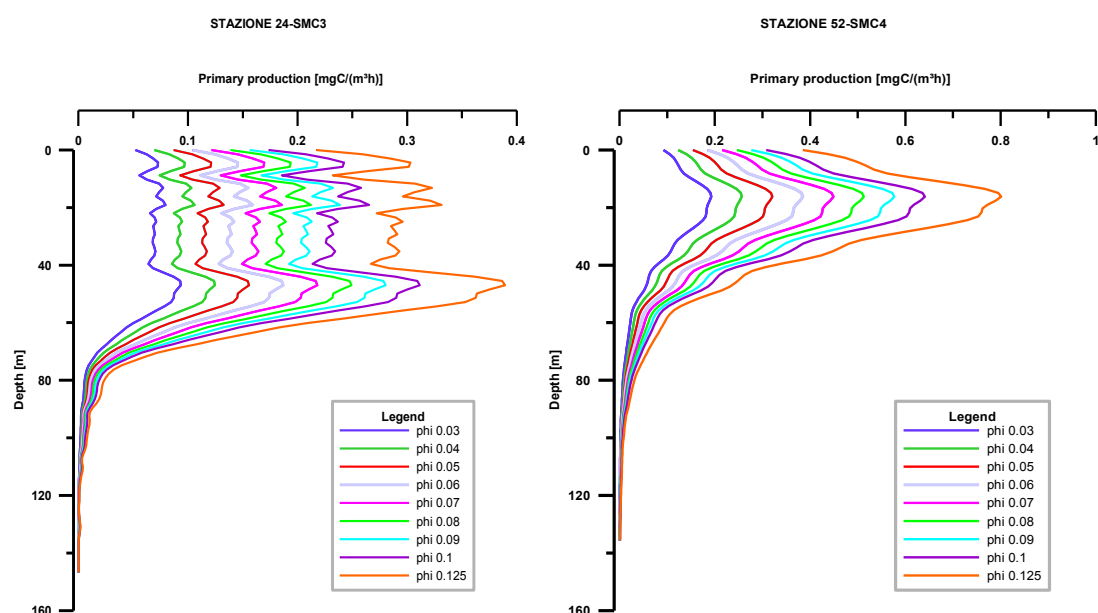


Fig.9.3.1.2.-1: Variazione del profilo di PP al variare del valore di Φ_e in una stazione con colonna d'acqua stratificata (Stz.24- SAMCA3) ed in una stazione con colonna d'acqua mescolata (Stz.52- SAMCA4).

In figura 9.3.1.2.-1 sono riportati i risultati dell'analisi di sensibilità del parametro Φ_e in due stazioni rappresentative.

Essendo Φ_e un parametro moltiplicativo nella formula di calcolo della produzione primaria, variazioni nel valore assegnatogli fa variare quantitativamente ma non qualitativamente la stima di produzione.

La produzione primaria aumenta all'aumentare del valore dell'efficienza di trasferimento elettronico, in modo significativo (fino a quattro volte) se si considerano i due estremi del *range* di valori considerati, quindi per l'individuazione del valore più idoneo da assegnare a tale parametro è essenziale un confronto con le misure analitiche di produzione primaria.

9.3.2. Ottimizzazione dei risultati del modello

I risultati delle simulazioni ottenuti al variare dei due parametri sono stati confrontati con i valori di produzione primaria misurati mediante il metodo del ^{14}C .

La scelta dei valori da assegnare a diversi parametri è stata fatta valutando l'evoluzione del coefficiente di determinazione e dell'errore valutando prima gli effetti della variazione di un singolo parametro e successivamente l'effetto combinato della variazione di entrambi i parametri.

La prima prova è stata effettuata ponendo il valore di β pari a $0.1[\text{mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{h}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^2]$ e variando esclusivamente Φ_e nel *range* di valori selezionati. I risultati stimati dal modello sono stati quindi confrontati con i valori di produzione primaria fitoplanctonica misurata con il metodo del ^{14}C applicato sui campioni di acqua prelevati in alcune stazioni delle campagne SAMCA3 e SAMCA4 (vedi Tab.9.3.1.-1).

Per ogni valore assegnato a Φ_e è stata effettuata la regressione tra i valori stimati dal modello e quelli misurati, prima per tutte le stazioni, poi considerando solo le stazioni classificate come acque di caso I (vedi Fig.9.3.-1). Successivamente è stato stimato, per ogni simulazione, il valore di *R-square* e *Residual Mean Square*, i risultati ottenuti sono riportati nei grafici seguenti.

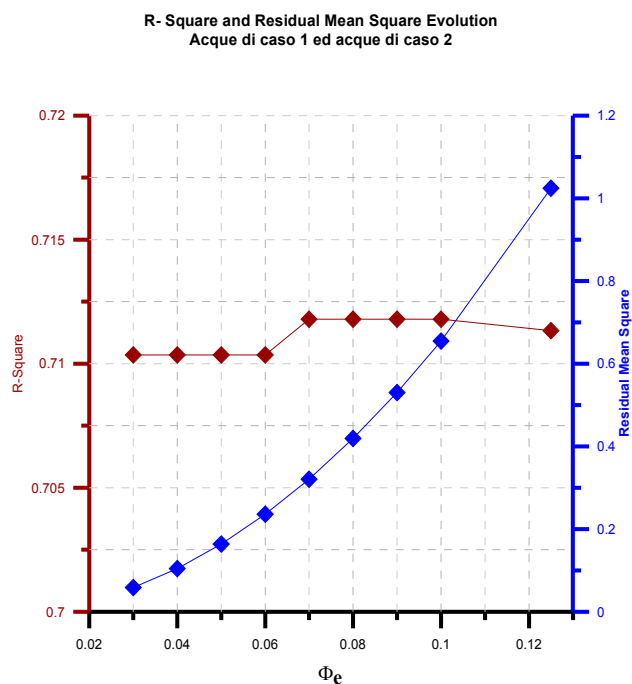


Fig. 9.3.2.-1 : Evoluzione del coefficiente di determinazione (*R-square*) e dell'errore (*Residual Mean Square*) al variare di Φ_e in tutte le stazioni.

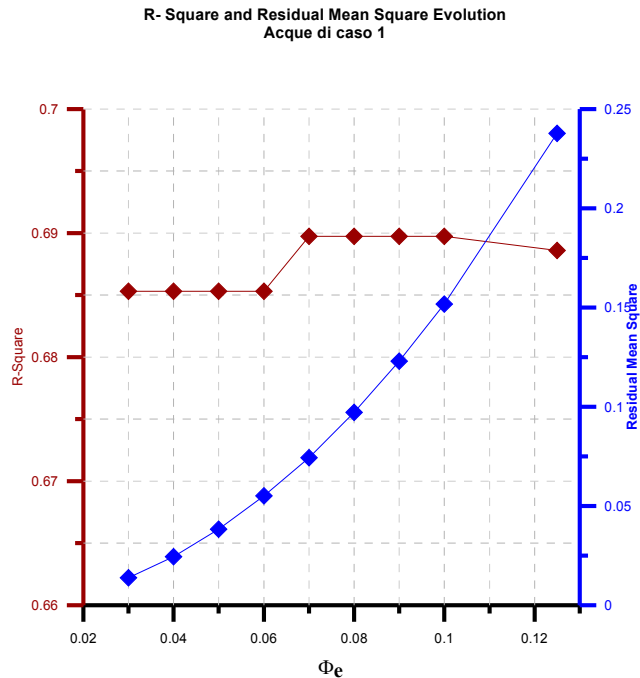


Fig. 9.3.2.-2 : Evoluzione del coefficiente di determinazione (*R-square*) e dell'errore (*Residual Mean Square*) al variare di Φ_e nelle stazioni considerate acque di caso I.

Come è visibile nei grafici precedenti, il coefficiente di correlazione varia poco al variare del valore di Φ_e sia considerando tutte le stazioni (Fig. 9.3.2.-1) che eliminando le stazioni classificate come acque di caso II (Fig. 9.3.2.-2). Il valore più elevato per il coefficiente di correlazione si ottiene per Φ_e nel range di valori compresi tra 0.07-0.1.

Il valore del *Residual Mean Square* invece aumenta progressivamente all'aumentare di Φ_e .

Considerando tutte le stazioni insieme, senza fare differenza tra acque di caso 1 ed acque di caso 2, si ottengono valori di *R-square* leggermente più elevati ($R^2=0.7110996 \pm 0.0007271$) rispetto a quelli che si ottengono eliminando le stazioni con acque di caso 2 ($R^2=0.6876427 \pm 0.0022546$). Tuttavia nel primo caso l'errore associato alla misura è decisamente più elevato ($RMS=0.3902778 \pm 0.3089499$) rispetto a quando la stima viene effettuata solo nelle acque di caso 1 ($RMS=0.0906433 \pm 0.0716165$).

Successivamente è stata effettuata la stessa prova variando esclusivamente il valore di β nel range selezionato e mantenendo $\Phi_e=0.1$. Anche in questo caso, per ogni valore assegnato a β è stata effettuata la regressione tra i valori stimati dal modello e quelli misurati, prima per tutte le stazioni, poi considerando solo le stazioni classificate come acque di caso I. Successivamente è stato quindi stimato, per ogni simulazione, i valori di *R-square* e *Residual Mean Square*, i risultati ottenuti sono riportati nei grafici seguenti.

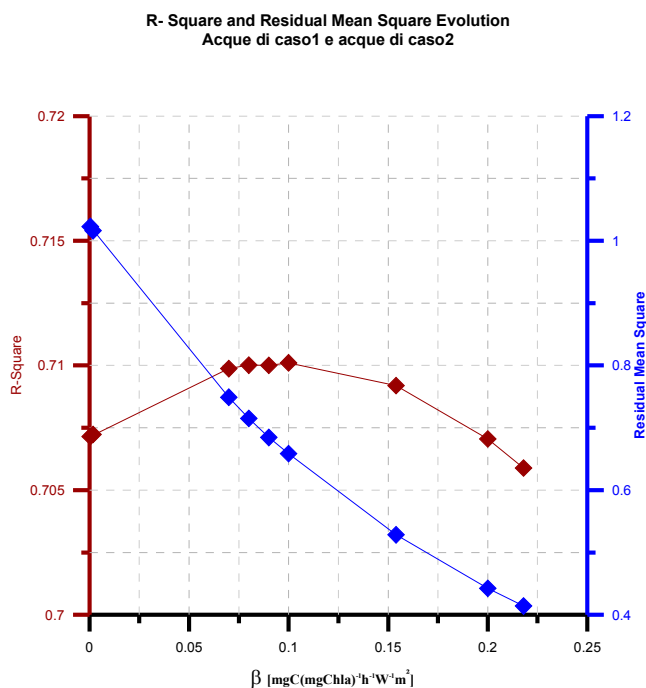


Fig. 9.3.2.-3 : Evoluzione del coefficiente di determinazione (*R-square*) e dell'errore (*Residual Mean Square*) al variare di β per tutte le stazioni sia acque di casoI che acque di casoII .

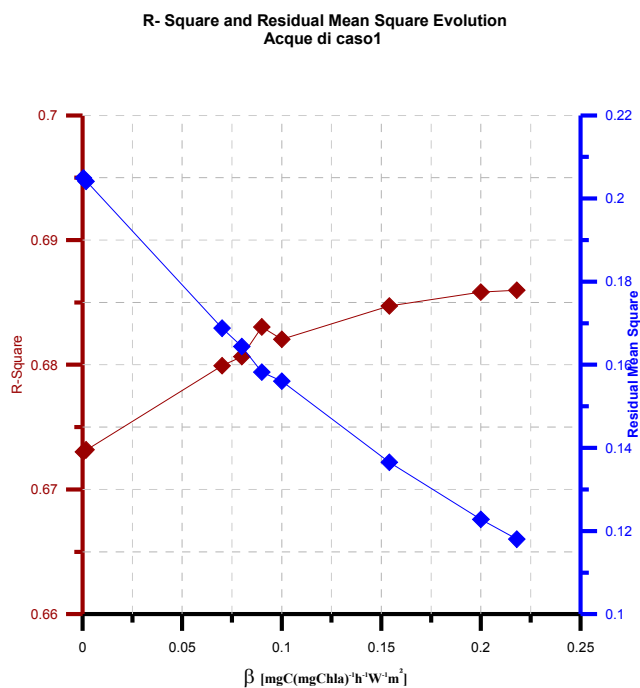


Fig. 9.3.2.-4 : Evoluzione del coefficiente di determinazione (*R-square*) e dell'errore (*Residual Mean Square*) al variare di β nelle stazioni considerate acque di casoI.

Dall'osservazione dei grafici precedenti, si può osservare una risposta del modello opposta a quella osservata per la variazione del parametro Φ_e , ovvero il valore del *RMS* diminuisce all'aumentare del valore assegnato a β sia quando sono considerate tutte le stazioni (Fig. 9.3.3.-3) sia quando sono prese in considerazione solo le stazioni classificate come acque di caso I (Fig. 9.3.3.-4). L'evoluzione del coefficiente di determinazione è invece differente se considero o meno tutte le stazioni. Nel primo caso *R-square* aumenta con l'aumentare di β , fino a raggiungere il valore massimo per valori di β compresi tra 0.08 e 0.1 mgC·(mgChla)⁻¹h⁻¹W⁻¹m² per poi tornare a diminuire; nelle acque di caso I invece, *R-square* aumenta con β , mostrando comunque valori elevati, anche se non massimi, per $\beta=0.09$ mgC·(mgChla)⁻¹h⁻¹W⁻¹m².

Anche in questo caso quando si considerano tutte le stazioni insieme, senza fare differenza tra acque di caso I ed acque di caso II, si ottengono valori di *R-square* leggermente più elevati ($R^2=0.7085030 \pm 0.0016513$) rispetto a quelli che si ottengono eliminando le stazioni considerate acque di caso II ($R^2=0.6809347 \pm 0.0049170$). Tuttavia nel primo caso l'errore associato alla misura è decisamente più elevato ($RMS=0.6923898 \pm 0.2195631$) rispetto a quando la stima viene effettuata solo nelle acque di caso I ($RMS=0.1593342 \pm 0.0311815$).

Data la diversa risposta ottenuta dall'analisi di sensibilità effettuata per i due parametri, al fine di ottimizzare i risultati ottenuti dal modello rispetto alla produzione stimata mediante il metodo del ¹⁴C, si è valutato l'effetto combinato della variazione sia del parametro Φ_e sia del parametro β . A questo scopo sono stati effettuati 81 *run* di simulazione del modello utilizzando i nove valori, di ciascun parametro, già selezionati per l'analisi di sensibilità (Tab.9.3.1.1.-2 e Tab.9.3.1.2.-1). I risultati di tutti i *run* del modello sono stati quindi confrontati con i valori di produzione primaria misurati mediante il metodo del ¹⁴C.

La scelta dell'indice statistico che descrive lo scostamento tra i valori osservati e quelli predetti non è ricaduta su *R-square* che, come visto in precedenza, non mostra oscillazioni significative, ma piuttosto sull'Errore Assoluto Medio (MAE).

La comparazione statistica tra le stime effettuate ed i valori osservati, abbinati a coppie, è il metodo più utilizzato per valutare le prestazioni di un modello nelle scienze ambientali e climatiche (Willmott and Matsuura, 2005). Gli errori singoli sono di solito definiti come la differenza tra le stime effettuate da modello ($P_i; i=1,2,...,n$) ed i valori reali misurati ($O_i; i=1,2,...,n$):

$$e_i = P_i - O_i$$

(9.3.2.-1)

La misura media di errore delle *performance* del modello è quindi basata sulla somma statistica dei singoli errori :

$$e_i (i = 1, 2, \dots, n)$$

(9.3.2.-2)

Il valore del MAE viene quindi calcolato nel modo seguente:

$$MAE = [n^{-1} \sum_{i=1}^n |e_i|]$$

(9.3.2.-3)

Secondo molti studi, infatti, il MAE è la misura più naturale di errore medio (Mielke 1985; Willmott *et al.* 1985, Willmott and Matsuura 1995, Mielke and Berry 2001, U.S. EPA 2003; Willmott and Matsuura, 2005), da preferire rispetto, ad esempio al *Root-Mean-Square Error* (RMSE) che tende a diventare molto più grande di MAE (ma non necessariamente in maniera monotona) ed ha una distribuzione di errore che diventa estremamente variabile.

E' stato quindi calcolato l'errore tra i risultati delle simulazioni ottenute variando i parametri β e Φ_e e le misure di ^{14}C , attraverso il valore del MAE sia per tutte le stazioni insieme, sia solo sulle stazioni considerate acque di caso I ed acque di caso II prese separatamente.

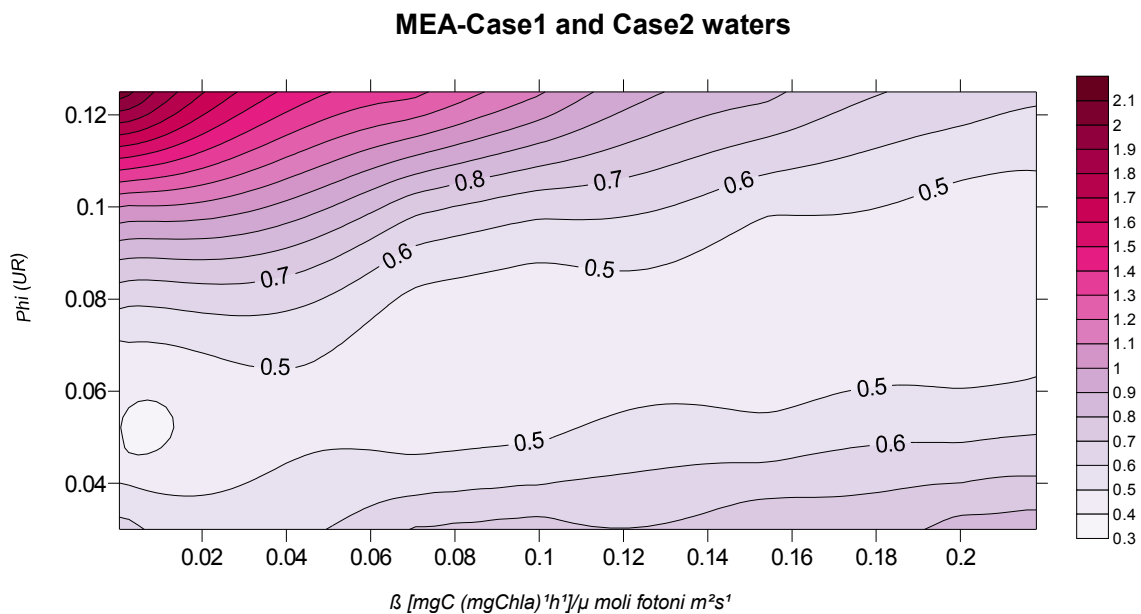


Fig. 9.3.2.-5: Distribuzione del valore del MAE al variare dei parametri β e Φ_e per le stime di produzione effettuate nelle 14 stazioni ¹⁴C.

Il valore del MAE aumenta all'aumentare di Φ_e con valori massimi per Φ_e maggiore di 0.1. L'errore non appare invece essere influenzato significativamente da β . Si nota infatti solo una leggera crescita del valore MAE all'aumento di β . Il valore minimo di MAE si ottiene per valori di $\beta=0.0018[\text{mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{h}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^2]$ e di $\Phi_e=0.05$.

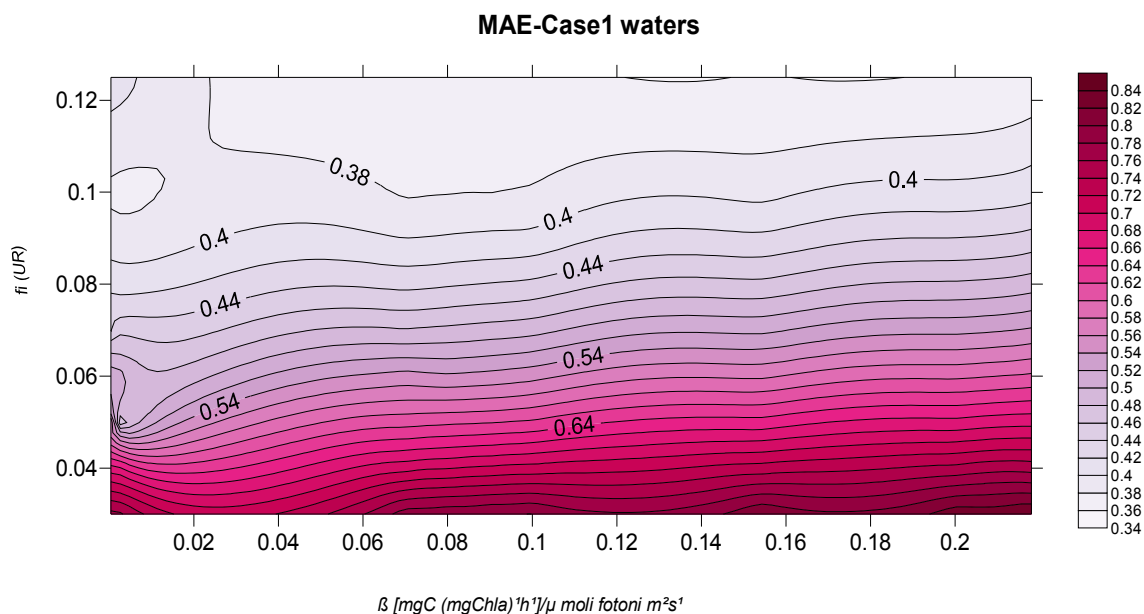


Fig. 9.3.3.-6: Distribuzione del valore del MAE al variare dei parametri β e Φ_e per le stime di produzione effettuate nelle 10 stazioni ¹⁴C considerate acque di caso I.

Il valore del MAE nelle 10 stazioni classificate acque di caso I è mediamente più basso rispetto a quello calcolato per tutte le stazioni insieme. L'errore aumenta all'aumentare del valore assegnato β anche se non in modo significativo, mentre diminuisce all'aumentare di Φ_e . Il valore minimo di MAE si ottiene per valori di $\beta=0.154$ [mgC·(mgChla)⁻¹h⁻¹W⁻¹m²] e di $\Phi_e=0.125$.

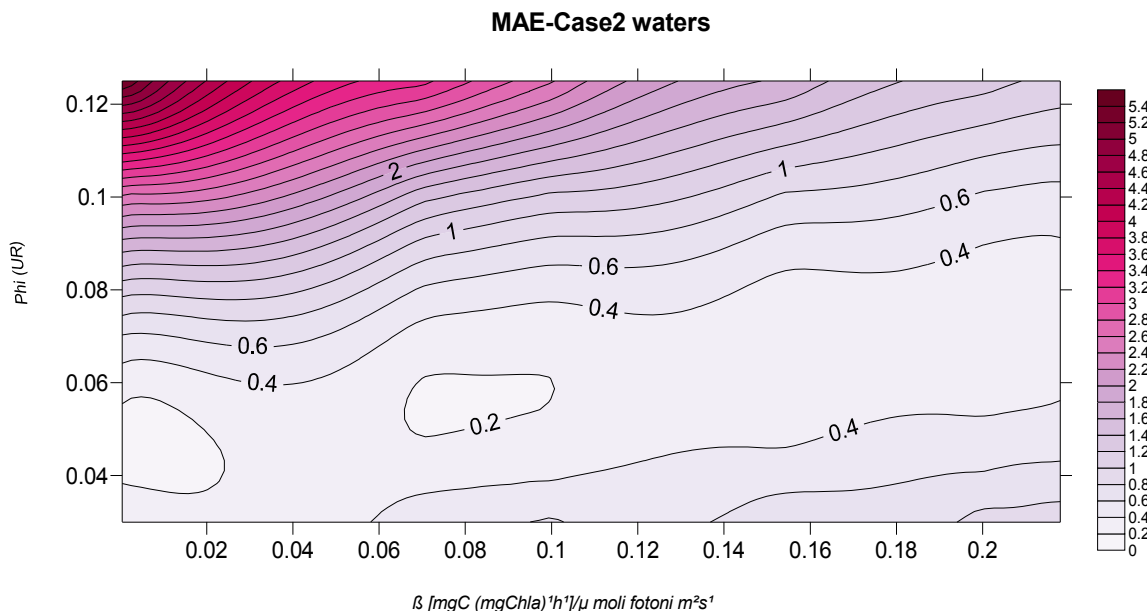


Fig. 9.3.2.-7: Distribuzione del valore del MAE al variare dei parametri β e Φ_e per le stime di produzione effettuate nelle 4 stazioni ¹⁴C considerate acque di caso II.

La distribuzione dell'errore nelle acque di caso II è simile a quella vista per tutte le stazioni insieme (Fig.9.3.2-5), con valore medio più elevato degli altri due casi e valore minimo ottenuto per valori di $\beta=0.0018[\text{mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{h}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^2]$ e $\Phi_e=0.05$.

Il modello mostra quindi un errore più basso quando la stima è effettuata su stazioni classificate come acque di caso I, tuttavia valori bassi di errore si ritrovano anche in acque di caso II, selezionando però dei valori per i parametri β e Φ_e più bassi rispetto a quelli idonei per le acque di caso I.

9.3.3. Validazione del modello

La produzione primaria calcolata con la nuova versione del modello PhytoVFP è stata validata utilizzando i risultati ottenuti con il metodo ^{14}C applicato sui 27 campioni prelevati durante le campagne SAMCA3 e SAMCA4 (Tab. 9.3.3.-1). La condizione di fotoacclimatazione del fitoplancton è stata simulata immettendo valori dei parametri della curva PE (α , β e E_k) differenti in funzione della dinamica della colonna d'acqua:

- se la colonna d'acqua è mescolata sono stati considerati valori validi per un popolamento sciafilo ($E_k=197\mu\text{E}/(\text{m}^2\text{s})$; $\alpha=0.611\text{mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{h}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^2$)
- se la colonna d'acqua è stratificata sono stati inseriti valori variabili con l'intensità di luce stimati dall'esperimento svolto su *Skeletonema costatum* come descritto nel paragrafo 9.2.

Dal momento che i periodi in cui sono state svolte le due campagne hanno mostrato condizioni dinamiche diverse della colonna d'acqua, il confronto ha permesso di valutare la capacità del modello di riprodurre la diversa fisiologia del fitoplancton in funzione delle condizioni di mescolamento e di stratificazione.

Dall'analisi di sensibilità del modello e dai risultati ottenuti dall'ottimizzazione, si è proceduto a selezionare i valori da assegnare ai parametri β e Φ_e scegliendo quelli che hanno dimostrato dare il minimo valore di MAE :

- Nelle 10 stazioni considerate acque di caso I, β e Φ_e sono stati posti pari rispettivamente a $0.154\text{mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{h}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^2$ e 0.125;

- nelle 4 stazioni considerate acque di caso 2, β e Φ_e sono stati posti pari rispettivamente a $0.0018 \text{ mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ W}^{-1} \text{ m}^2$ e 0.05.

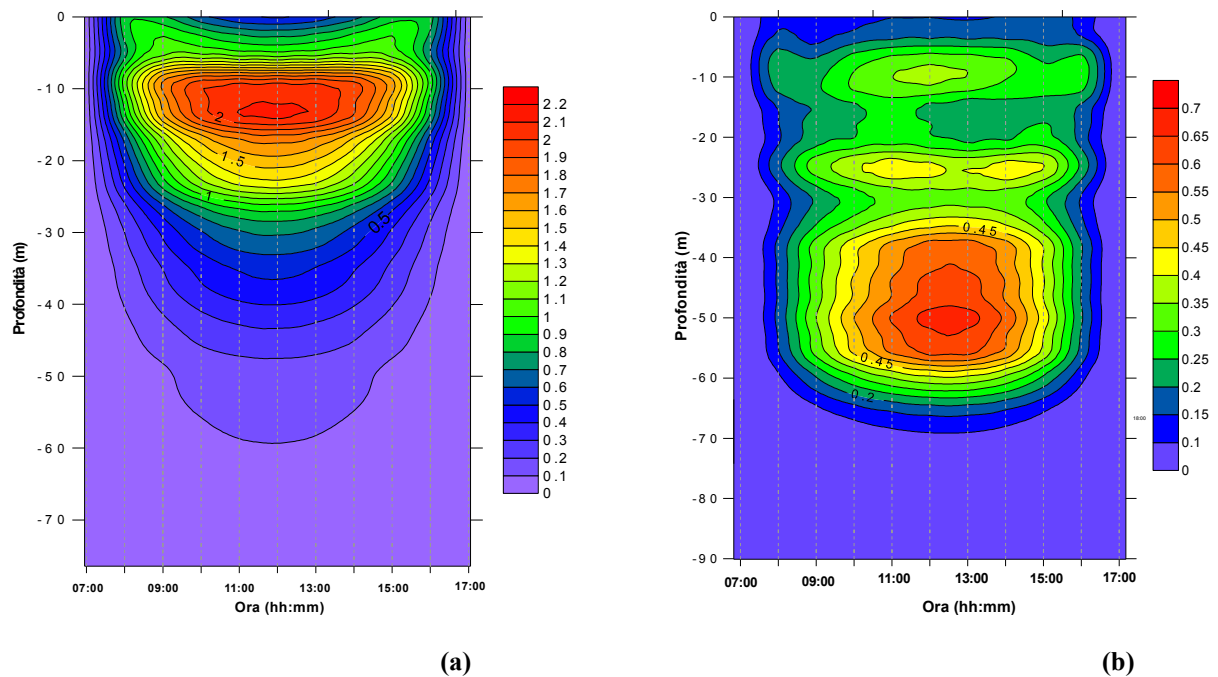


Fig. 9.3.3.-1: Distribuzione della produzione primaria durante il giorno in una stazione mescolata (a) ed una stratificata (b) delle campagne SAMCA3 e SAMCA 4.

In figura 9.3.3.-1 si può osservare come viene simulata in modo differente la distribuzione della produzione primaria nel tempo e nella colonna d'acqua in condizioni di mescolamento (a) e stratificazione (b). L'inibizione superficiale è più evidente nella stazione mescolata rispetto alla stratificata, dove si può inoltre notare che la produzione mostra il suo valore massimo sub-superficiale e diminuisce poi progressivamente. Nella stazione stratificata invece l'inibizione superficiale, c'è ma è meno netta e si notano lungo la profondità più *hotspot* di produzione.

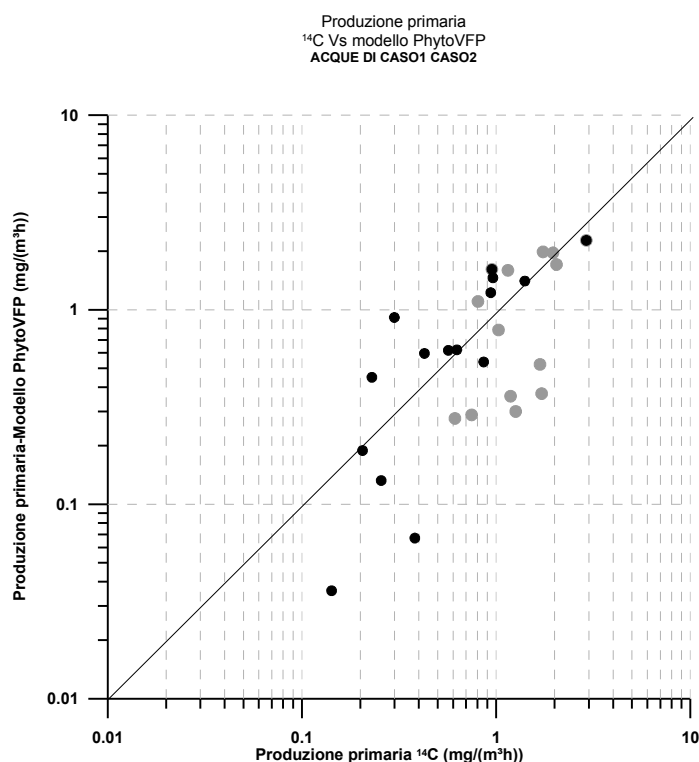


Fig. 9.3.3.-2: Scatter plots outputs del modello PhytoVFP Vs valori misurati con il metodo ^{14}C durante le campagne SAMCA3 e SAMCA 4 per le tutte le stazioni, mescolate (punti neri) e stratificate (punti grigi) .

Il confronto ha mostrato una buona correlazione tra i risultati del modello ed i valori misurati attraverso l'analisi di laboratorio. La retta di *fitting* è molto vicina alla bisettrice, mostra un $R^2 = 0.808923$ ed un $RMS=0.233131$.

9.3.4. Confronto tra le stime effettuate con la vecchia versione del modello PhytoVFP ed i valori di ^{14}C

Per valutare la performance dell'*upgrade* del nuovo modello PhytoVFP, è stato effettuato un confronto con la precedente versione del modello (Piermattei *et al.* 2006). Sono stati eseguiti due *run* del modello utilizzando in un caso i parametri sciafili, nell'altro quelli eliofili. Come specificato nel paragrafo 5.1., nella precedente versione del modello è necessario impostare i valori di E_k ed E_d che rappresentano rispettivamente il valore di PAR a livello del quale si passa dalla fase di limitazione a quella di fotosaturazione e dalla fase di foto-saturazione a quello di fotoinibizione.

Prima però è stato effettuato un confronto tra la vecchia versione del modello PhytoVFP, sia utilizzando un popolamento sciafilo che uno eliofilo, con le analisi di ^{14}C effettuate durante le campagne SAMCA.

Nella figura 9.3.4.-1 sono riportati gli *scatter plots* ottenuti utilizzando i parametri sciafili $E_k=197 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ed $E_d=300\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$.

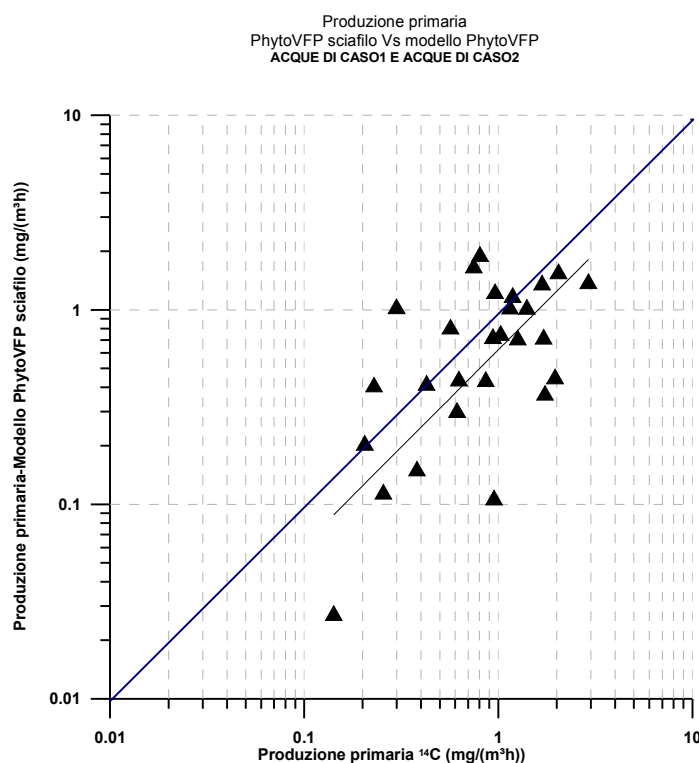


Fig. 9.3.4.-1: *Scatter plots* tra *outputs* della vecchia versione del modello PhytoVFP (parametri sciafili) VS valori misurati con il metodo ^{14}C durante le campagne SAMCA3 e SAMCA 4 per le tutte le stazioni .

La retta di *fitting* individuata nel caso di popolamento considerato sciafilo è più lontana dalla bisettrice di quanto non avviene con i dati ottenuti con la nuova versione del modello e la correlazione tra i dati è inferiore con un $R^2 = 0.689022$ ed un $RSM=0.262462$ rispetto a $R^2 = 0.808923$ e $RMS=0.233131$.

I risultati sono stati poi comparati anche settando il modello su un popolamento tipicamente eliofilo con i valori di E_k ed E_d posti pari rispettivamente a $300\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $600\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$, i risultati sono riportati in figura 9.3.4.-2.

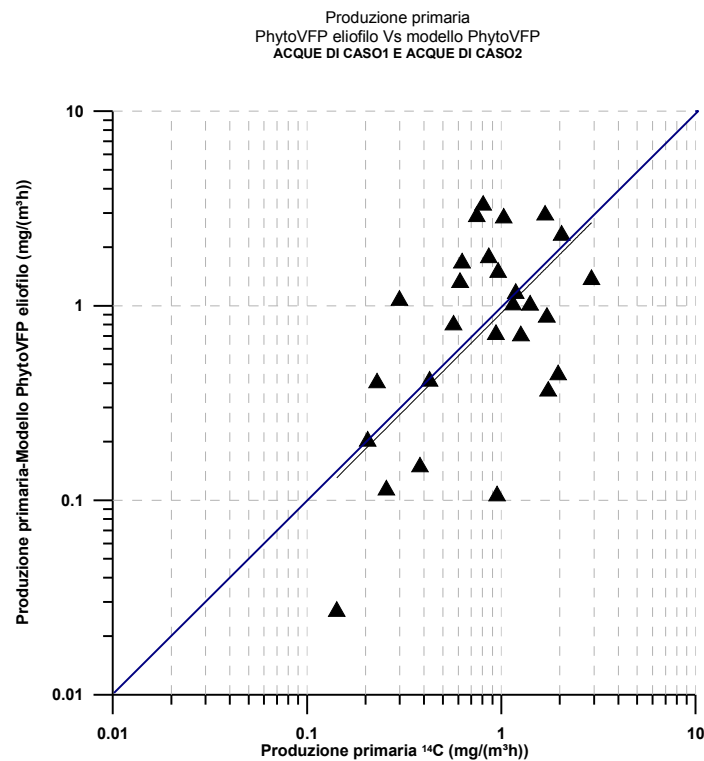


Fig. 9.3.4.-2: Scatter plots tra *outputs* della vecchia versione del modello PhytoVFP (parametri eliofilo) VS valori misurati con il metodo ^{14}C durante le campagne SAMCA3 e SAMCA 4 per le tutte le stazioni .

I risultati ottenuti mostrano una correlazione ancora più bassa rispetto, sia alla correlazione trovata con la nuova versione, sia con la vecchia versione impostando i parametri eliofilo, con un $R^2 = 0.54739$. Anche se la retta di *fitting* è vicina alla bisettrice i punti sono molto dispersi come confermato dal valore elevato di $RSM=1.04551$.

Lo stesso tipo di risultato di può osservare dall'analisi del *MAE* connesso alla stima di produzione primaria effettuata con le tre diverse versioni del modello (Fig. 9.3.4-3).

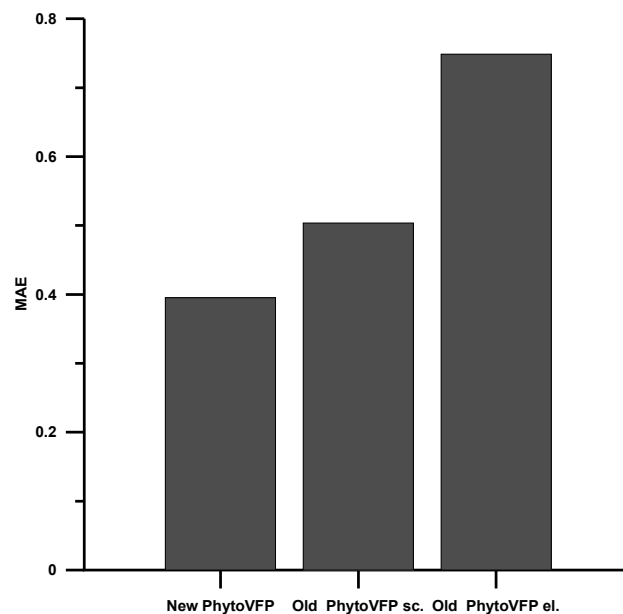


Fig. 9.3.4.-3: MAE associato alla stima della produzione primaria con il modello PhytoVFP nuova e vecchia versione (Old PhytoVFP sc. settato per popolamenti sciafili e Old PhytoVFP el. settato per popolamenti eliofili).

L'errore associato alla stima della produzione primaria mediante la nuova versione del modello PhytoVFP è inferiore rispetto a quello calcolato con la vecchia versione ($MAE = 0.395 \text{ mgC}/(\text{m}^3\text{h})$), nello specifico l'errore associato alla stima effettuata con il vecchio modello utilizzando i parametri tipicamente eliofili ($MAE = 0.503 \text{ mgC}/(\text{m}^3\text{h})$) è maggiore di quella effettuata settando i parametri su un popolamento sciafilo ($MAE = 0.748 \text{ mgC}/(\text{m}^3\text{h})$).

9.3.5. Confronto tra le stime effettuate tra il modello PhytoVFP e di Morel

Nel modello di Morel i parametri K_{PUR} , a^*_{max} e ϕ_{umax} sono stati impostati come riportato in Morel *et al.*, (1996) che sono tipici di aree oligotrofiche come quelle indagate durante le campagne SAMCA3 e SAMCA 4. Il modello PhytoVFP è stato impostato come descritto nel paragrafo 9.3.4. ed i risultati sono stati comparati con quelli ottenuti con il modello di Morel. E' stata quindi stimata la produzione primaria puntuale nelle stazioni e nei punti in cui sono state effettuate le misure con il metodo del ^{14}C (Fig. 9.3.5.-1 a).

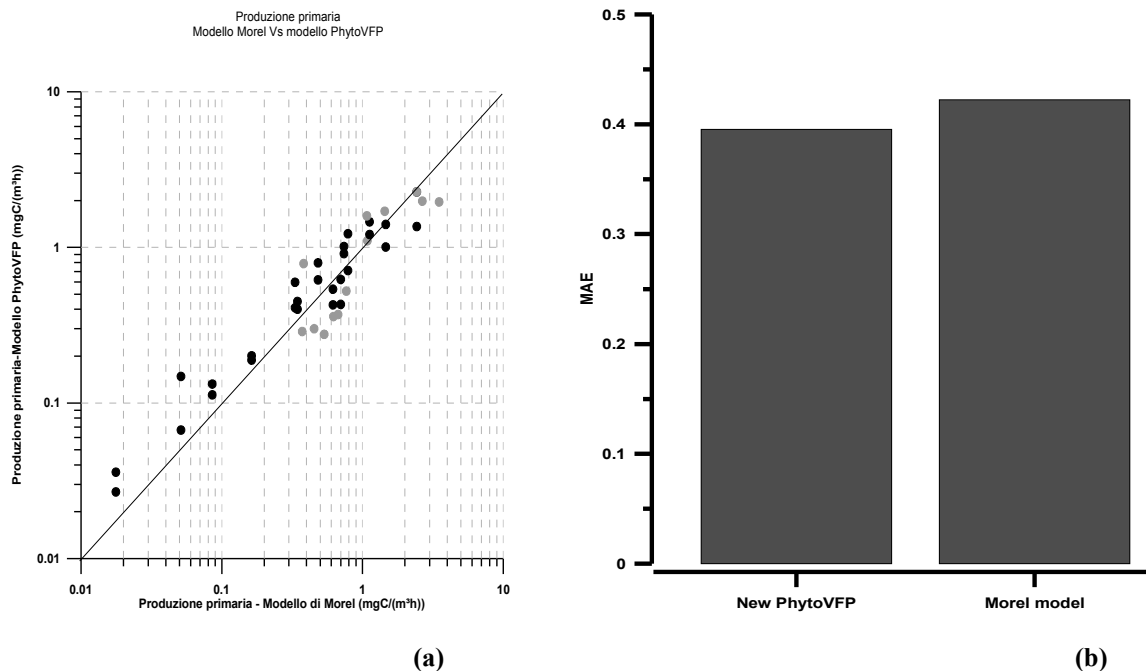


Fig. 9.3.5.-1: Scatter plots tra i valori di produzione primaria puntuale ($\text{mgCm}^{-3}\text{ora}^{-1}$) ottenuti con il modello di Morel e del modello PhytoVFP durante le campagne SAMCA3 e SAMCA 4 per le tutte le stazioni, mescolate (punti neri) e stratificate (punti grigi) (a). MAE associato alla stima della produzione primaria con il modello PhytoVFP e modello di Morel (b).

I risultati dei due modelli mostrano una correlazione elevata con un $R^2 = 0.895287$. Dal confronto è evidente inoltre che il modello di Morel tende a stimare valori più alti di PP in alcune stazioni mescolate rispetto al PhytoVFP. Questa buona correlazione è dimostrata anche dal fatto che i valori di MAE, rispetto ai valori ottenuti con il ^{14}C , dei due modelli sono simili tra loro e pari a $0.422\text{mgC}/(\text{m}^3\text{h})$ per il modello di Morel e $0.395\text{mgC}/(\text{m}^3\text{h})$ per il PhytoVFP (Fig.9.3.5.-1 b).

Al fine di apprezzare meglio le differenze tra le stime effettuate, sono stati confrontati i valori di produzione primaria integrata nella colonna d'acqua ottenuti con i due modelli (Fig. 9.3.5.-3). Anche in questo caso si evidenzia una buona correlazione ($R^2=0.9294$) tra i valori stimati dai due modelli ma si nota ancora meglio la tendenza, da parte del modello di Morel a sottostimare la produzione nelle stazioni mescolate (punti neri). Per quanto riguarda invece le stazioni stratificate, la differenza nelle stime sembra legata alla batimetria della stazione. Nelle stazioni poco profonde, il modello PhytoVFP stima dei valori di produzione primaria integrata più elevati rispetto a quanto non faccia il modello di Morel; il contrario si verifica nelle stazioni profonde.

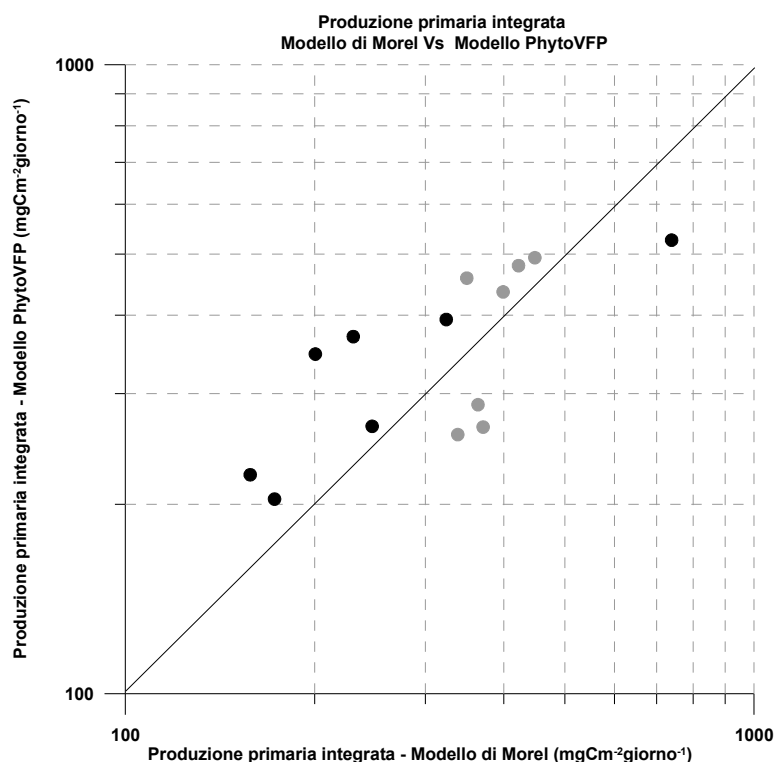


Fig. 9.3.5.-2: Scatter plots tra i valori di produzione primaria integrata ($\text{mgCm}^{-2}\text{giorno}^{-1}$) ottenuti con il modello di Morel e con il modello PhytoVFP durante le campagne SAMCA3 e SAMCA 4 per le tutte le stazioni, mescolate (punti neri) e stratificate (punti grigi) .

Queste differenze si possono riscontrare anche dall'osservazione della distribuzione di produzione primaria lungo la colonna d'acqua. Nei grafici seguenti si riporta un confronto tra profili stimati dai due modelli in condizioni di mescolamento (Fig. 9.3.5.-3) ed in condizioni di stratificazione in acque profonde (Fig. 9.3.5.-4) e in acque costiere (Fig. 9.3.5.-5).

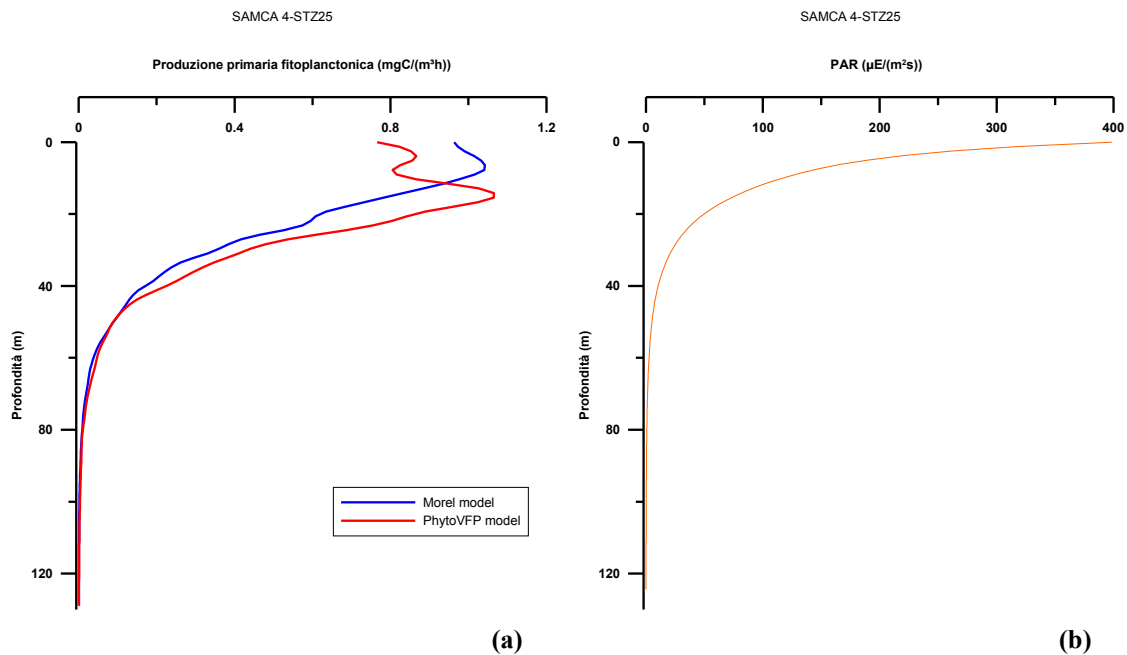


Fig. 9.3.5.-3: Confronto tra le stime effettuate con il modello di Morel (linea blu) ed il modello PhytoVFP (linea rossa) in una stazione mescolata della campagna SAMCA4 (a). Profilo di PAR stimata dal modello PhytoVFP in quella stazione (b).

In condizioni di mescolamento (Fig.9.35.-3), il modello PhytoVFP mostra una produzione primaria inferiore rispetto al modello di Morel nei primi metri, mentre diventa più elevata al di sotto dei 20 metri di profondità.

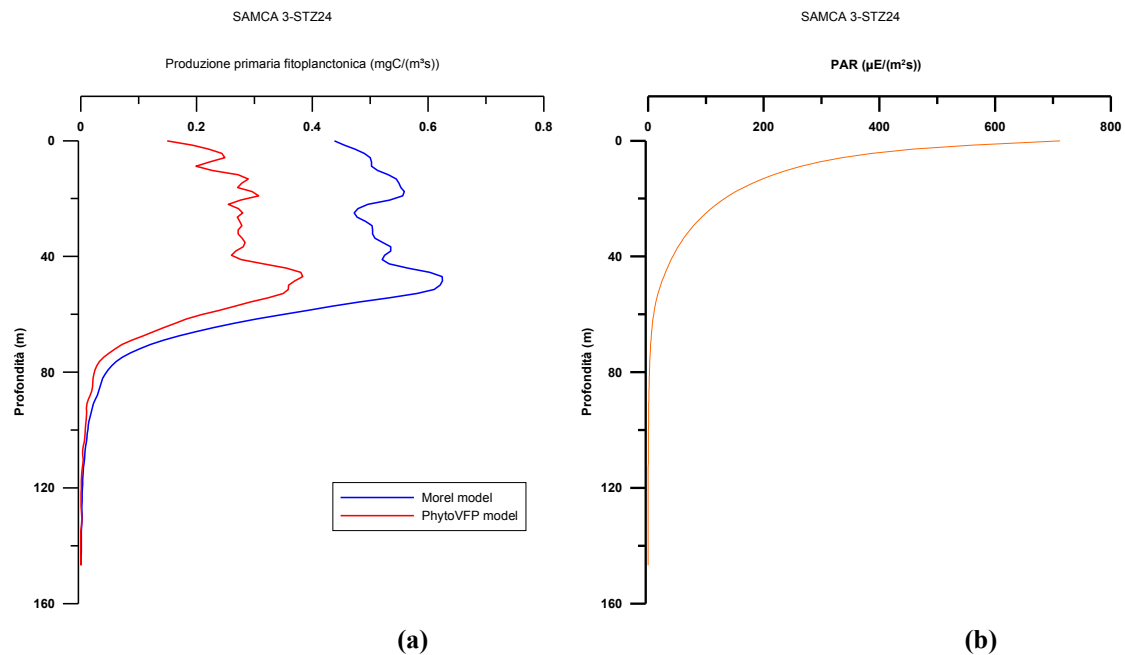


Fig. 9.3.5.-4: Confronto tra le stime effettuate con il modello di Morel (linea blu) ed il modello PhytoVFP (linea rossa) in una stazione stratificata profonda della campagna SAMCA3 (a). Profilo di PAR media dei tre giorni precedenti stimata dal modello PhytoVFP in quella stazione (b).

Nel caso di una stazione stratificata profonda (Fig. 9.3.5.-4), i valori di produzione stimati dal modello PhytoVFP si mantengono sempre inferiori a quelli del modello di Morel. Il profilo di PAR mediata sui tre giorni mostra valori massimi pari a circa $700 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$.

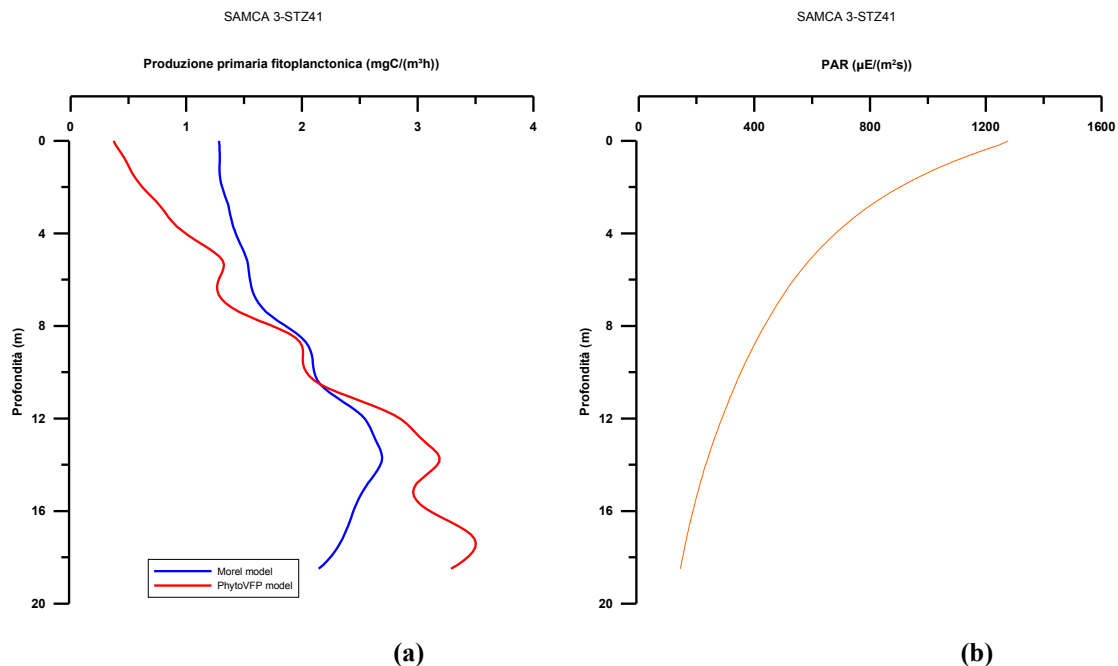


Fig. 9.3.5.-5: Confronto tra le stime effettuate con il modello di Morel (linea blu) ed il modello PhytoVFP (linea rossa) in una stazione stratificata poco profonda della campagna SAMCA3 (a). Profilo di PAR media dei tre giorni precedenti stimata dal modello PhytoVFP in quella stazione (b).

Nel caso di una stazione stratificata costiera (9.3.5.-5), i valori di produzione stimati dal modello PhytoVFP sono inferiori a quelli del modello di Morel solo in superficie, mentre diventano più elevati a partire da 10 metri di profondità. Il profilo di PAR mediata sui tre giorni è elevata e mostra valori massimi pari a circa $1300 \mu E m^{-2} s^{-1}$.

9.4. Discussione

L'introduzione del nuovo modulo permette al modello PhytoVFP di simulare adeguatamente il fenomeno della fotoacclimatazione in risposta alla dinamica della colonna d'acqua. I risultati ottenuti nelle simulazioni effettuate, hanno mostrato che la produzione, nelle stazioni mescolate, subisce in modo più netto il fenomeno della fotoinibizione, dato dall'effetto combinato di β e dei parametri fotosintetici scelti tipici per un popolamento sciafile. La produzione aumenta a livello sub-superficiale e poi diminuisce gradualmente subito dopo il picco massimo. Nelle stazioni stratificate, la riproduzione del fenomeno di fotoacclimatazione alle diverse intensità luminose, fa sì che in superficie l'effetto della fotoinibizione sia parzialmente smorzato dalla scelta di parametri

fotosintetici tipici di organismi fitoplanctonici eliofili. Inoltre lungo la colonna d'acqua, oltre al picco massimo mostrato nelle ore centrali della giornata, si possono notare altri *hotspot* di produzione dovuti alla scelta di parametri fotosintetici tali da simulare il comportamento di organismi acclimatati a quella determinata intensità luminosa determinando un'ottimizzazione del processo produttivo.

Il modello PhytoVFP è stato calibrato e validato sia con dati *in situ* (^{14}C) sia con i risultati ottenuti dal modello di Morel (1991), su due campagne caratterizzate da condizioni dinamiche differenti al fine di valutare l'efficacia delle modifiche apportate. In entrambi i casi è stata ottenuta una buona correlazione ($R^2 = 0.808923$ e $R^2 = 0.895287$ rispettivamente). I risultati ottenuti con il metodo del ^{14}C tendono a sovrastimare i valori di produzione primaria rispetto al modello PhytoVFP, nonostante non siano stati considerati i campioni superficiali, proprio perché questo metodo tende a non essere attendibile per stime di produzione primaria superficiali. I campioni di fitoplancton infatti vengono incubati per almeno 6 ore ad una PAR pari a quella misurata alla profondità di campionamento. A causa della dinamica della colonna d'acqua, un organismo fitoplanctonico raramente riesce a stazionare per così lungo tempo ad una stessa profondità e soprattutto non è sottoposto ad un valore di PAR costante. L'isolamento prolungato del fitoplancton necessario per la corretta esecuzione di questo metodo, quindi, crea numerosi artefatti (Eppley, 1980). Campioni di fitoplancton superficiali incubati per lungo tempo allo stesso livello di PAR, possono generare fenomeni di fotoacclimatazione mostrando elevati valori di produzione primaria (*enclosure effect*) (Gieskes e Kraay, 1984). Nell'ambiente naturale, al contrario non sempre gli organismi si trovano nelle condizioni che consentono la fotoacclimatazione (vedi par.9.1.) quindi possono mostrare valori di produzione più bassi rispetto a quelli misurati analiticamente. Il modello, mediante l'introduzione del nuovo modulo, riproduce più fedelmente questi meccanismi e mostra in alcune stazioni valori di produzione più bassi rispetto a quelli misurati con il metodo del ^{14}C . Valori più bassi di produzione sono stimati dal modello proprio nelle stazioni mescolate (Fig. 9.3.3.-1) dove la fotoacclimatazione ad elevate irradianze non si verifica.

Dall'analisi di sensibilità e di ottimizzazione del modello, effettuate sulla base del valore di MAE rispetto ai dati di ^{14}C , è emerso che il modello PhytoVFP, concepito per le acque di caso I,

può ridurre l'errore associato alle stime effettuate nelle acque di caso II, se si effettua una scelta idonea del valore da assegnare ai parametri β e Φ_e . Nello specifico il valore da assegnare a Φ_e è stato posto costante (Kiefer *et al.* 1989; Morel 1991) e pari a 0.125 in tutte le stazioni considerate acque di caso I e a 0.05 nelle acque di caso II. Il valore selezionato per le acque di caso I è risultato molto vicino quello riportato in letteratura per popolazioni fitoplanctoniche naturali (Bannister e Weidemann, 1984). Un valore di un ordine di grandezza inferiore è risultato idoneo per le stime in acque di caso II indicando una minore efficienza di trasporto elettronico da CO_2 ed H_2O nelle acque più costiere. Anche il valore di β adeguato per le acque di caso II ($0.0018 \text{ mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ W}^{-1} \text{ m}^2$) è risultato inferiore a quello per le acque di caso I ($0.154 \text{ mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ W}^{-1} \text{ m}^2$) suggerendo un effetto del fenomeno della fotoinibizione molto meno marcato, dovuto all'assorbimento della luce da parte delle altre componenti otticamente attive nella colonna d'acqua oltre al fitoplancton (CDOM e detrito)

Dal confronto effettuato con il modello di Morel è emerso che il modello PhytoVFP stima in superficie valori di produzione primaria sempre più bassi, proprio perché tiene conto della fotoinibizione in risposta alle proprietà ottiche della colonna d'acqua. Dal confronto tra la produzione primaria giornaliera integrata nella colonna d'acqua emerge un diverso comportamento dei due modelli nelle stazioni con colonna d'acqua mescolata e stratificata. In tutte (tranne una) le stazioni mescolate, le stime del modello PhytoVFP sono superiori a quelle del modello di Morel. Dall'osservazione del confronto tra i profili stimati dai due modelli in condizioni di mescolamento, si evince che lungo la colonna d'acqua i valori stimati dal PhytoVFP sono sempre maggiori tranne che in superficie. I valori più bassi in superficie sono dati dall'effetto combinato dell'indice di fotoinibizione β e dalla scelta di parametri fotosintetici tipici di un popolamento sciafilo. Quindi in superficie, dove la radiazione luminosa è elevata il massimo del tasso fotosintetico viene raggiunto rapidamente e la produzione non aumenta più di un certo valore. A profondità più elevate, invece, il popolamento sciafilo è in grado di produrre più di un popolamento eliofilo che mostra, per stessi valori da PAR, tasso fotosintetico inferiore. Questo comportamento è quindi simulato adeguatamente dal modello PhytoVFP mentre non è riprodotto dal modello di Morel. Quando la colonna d'acqua è stratificata, il comportamento invece non è univoco ma, nelle stazioni poco

profonde, il modello PhytoVFP stima una produzione più elevata mentre il contrario avviene nelle stazioni mescolate. Nelle stazioni profonde l'estinzione della luce con la profondità, fa sì che il modello simuli il comportamento lungo la verticale di tutti e tre i tipi di popolamento considerato. Nelle stazioni poco profonde invece la luce resta elevata fino alla massima profondità. In quest'ultimo caso il popolamento sarà considerato dal modello interamente eliofilo, mostrando valori elevati di produzione, più di quanto non faccia il modello di Morel che non simula la fotoacclimatazione.

Rispetto alla precedente versione del modello PhytoVFP, l'*upgrade* qui presentato rappresenta un buon passo avanti come dimostrato dalla maggiore correlazione tra i risultati stimati ed i valori misurati analiticamente rispetto alle precedenti versioni ($R^2 = 0.54739$ modello sciafilo e $R^2 = 0.689022$ modello eliofilo). Il modello permette di stimare la PAR e di svincolare la stima della produzione primaria dall'acquisizione di questa variabile, particolarmente suscettibile ad errori di misura e a disturbi esterni, *in situ*. Inoltre evita la necessità di conoscere la tipologia di popolamento, sciafilo o eliofilo, presente nella colonna d'acqua necessaria nella precedente, ma simula il comportamento in modo opportuno a seconda della dinamica della colonna d'acqua.

10- Sviluppo ed integrazione del modulo di stima del profilo di biomassa efficiente

10.1. Introduzione

Dall'introduzione del metodo dell'assimilazione del radiocarbonio (metodo del ^{14}C) nel 1952 (Steemann Nielsen, 1952), numerosissimi sono stati i protocolli messi a punto per stimare la produzione primaria fitoplanctonica nell'oceano. Tuttavia questa tipologia di analisi fornisce delle informazioni puntuali relative a piccole porzioni della superficie oceanica. Il campionamento *in situ* (vedi cap.3) e le analisi di laboratorio rappresentano sicuramente il metodo più preciso per la stima della produzione primaria ma hanno dei limiti importanti. Innanzitutto nonostante il metodo del ^{14}C sia stato proposto nel 1952, solo dal 1988 esistono dei protocolli standard internazionali (JGOFS, 1988) che hanno reso le misurazioni comparabili tra loro. La lacuna principale di questi metodi è però relativa all'impossibilità di avere un'analisi adeguata della variabilità spazio-temporale della produzione primaria.

La variabilità, in termini di abbondanza e di diversità delle popolazioni negli ecosistemi oceanici è controllata in larga parte dall'interazione tra processi biologici, chimici e fisici (Rothschild and Osborn, 1988). I processi biologici sono quindi fortemente influenzati dai processi fisici che a loro volta sono definiti da scale spaziali e temporali precise (Fig.10.1.-1).

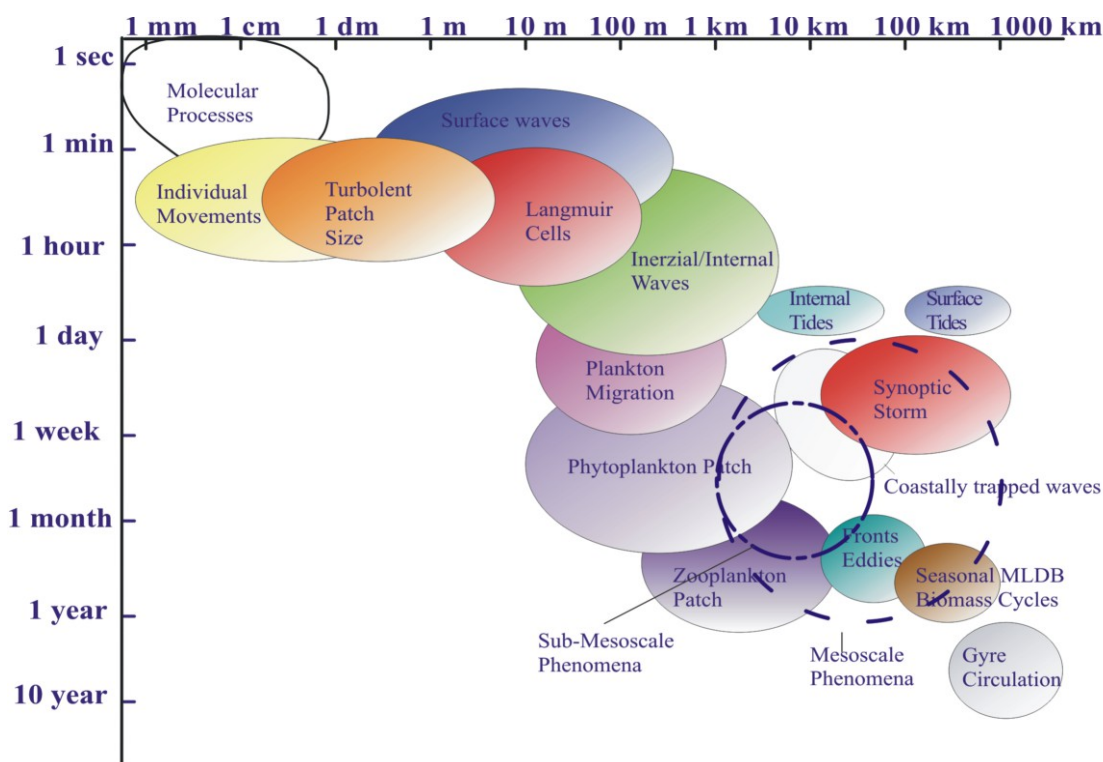


Fig.10.1.-1: Rappresentazione delle scale spaziali e temporali dei principali fenomeni fisici e di molti processi ecologici ad essi collegati negli oceani superiori (da Dickey 1991 modificato da Marcelli). Nel Mediterraneo spesso le scale sono compresse.

Lo studio della produzione primaria fitoplanctonica deve quindi, al pari di altri processi biologici, poter essere studiata su scale spaziali e temporali che permettano di cogliere e descrivere adeguatamente la sua variazione.

Per poter analizzare a scala globale stime di produzione primaria a partire da dati satellitari relativi alla concentrazione di clorofilla-a, si ha bisogno di modelli matematici che leghino quantitativamente le due variabili (Bidigare et al., 1992).

Esistono diversi modelli che stimano la produzione a partire da dati telerilevati, dai più semplici che legano direttamente la concentrazione di clorofilla-a superficiale alla produzione primaria, ai più complessi che tengono conto anche della distribuzione spettrale della luce e della fisiologia del fitoplancton.

La maggior parte di questi modelli ricadono nelle categorie fondamentali individuate da Behrenfeld and Falkowski (1997a) già descritti tra nel paragrafo 4.5. Uno dei più diffusi è il

modello *VGPM* (*Vertically Generalized Production Model*) (Behrenfeld e Falkowski, 1997b) per cui la produzione primaria netta è funzione della clorofilla, della luce disponibile e dell'efficienza fotosintetica temperatura-dipendente. I prodotti standard ottenuti da questo modello sono basati su dati MODIS per quanto riguarda la clorofilla-a e la temperatura superficiale, da dati SeaWIFS per quanto riguarda la PAR, mentre la stima della profondità eufotica è basata sul modello sviluppato da Morel and Berthon (1989) e sulla concentrazione di clorofilla-a e descritto nel paragrafo 4.5.1.

Esistono altre due versioni, ugualmente disponibili ma che permettono di utilizzare altre tipologie di dati satellitari, la “versione Eppley” del modello *VGPM* ed il modello *CbPM* (*Carbon-based Production Model*) (Behrenfeld *et al.* 2005, Westberry *et al.* 2008).

La differenza fondamentale che esiste tra la versione *VGPM standard* e quella *Eppley-VGPM* riguarda la dipendenza dalla temperatura dell'efficienza fotosintetica. Il modello *Eppley-VGPM* utilizza una funzione esponenziale proposta da Richard Eppley nel 1972. Eppley valutò le variazioni dei tassi di crescita di fitoplancton in un *range* di temperature per una grande varietà di specie. Egli notò che il tasso di crescita specifico massimo raggiunto era superiore a temperature elevate rispetto alle temperature più basse ed ha quindi adattato una curva esponenziale per la descrizione dei tassi di crescita di tutto il *range* di temperatura misurata. La funzione di "Eppley" che viene effettivamente applicata nel *VGPM* è basato sul modello di Morel (1991). Nell'articolo di Morel (1991), la curva originale di Eppley, viene normalizzata al fine di ottenere un'efficienza fotosintetica di 4.6 mgC fissati per milligrammo di clorofilla per ora ad una temperatura superficiale di 20°C. I risultati della stima della produzione primaria netta, a livello globale, con la versione *Eppley-VGPM* sono altamente confrontabili con i risultati del modello molto più sofisticato descritto da Antoine and Morel (1996) e basato sul lavoro originale di Morel (1991). La somiglianza tra questi modelli è descritto più ampiamente in un articolo di Elena-Carr *et al.* (2006), che riporta i risultati di una recente intercomparazione di algoritmi di produttività.

Un approccio differente è quello proposto dal modello *CbPM* che utilizza i coefficienti di scattering del particolato recuperati attraverso il telerilevamento per stimare la concentrazione di carbonio imputabile al fitoplancton, sostituendo così clorofilla come metrica di biomassa (Behrenfeld *et al.* 2005). Questo nuovo approccio è stato reso possibile da due sviluppi recenti: (1) l'osservazione che in totale la concentrazione di particelle di carbonio o della biomassa di

fitoplancton covariano con le proprietà di diffusione della luce (Loisel *et al.*, 2001; Stramski *et al.* 1999; DuRand and Olsen, 1996; Green *et al.* 2003; Green and Sosik, 2004, Behrenfeld and Boss, 2003; 2006) e (2) la costruzione ed applicazione di algoritmi di *matching* spettrali a dati satellitari per recuperare informazioni simultaneamente su coefficienti di *scattering* retrodiffusione del particolato, coefficienti di assorbimento di pigmento fitoplanctonici, e di assorbimento di carbonio organico disciolto (Garver and Siegel, 1997; Maritorena *et al.*, 2002; Siegel *et al.*, 2002). Il modello CbPM originale (Behrenfeld *et al.* 2005) utilizza i coefficienti di attenuazione a 490nm per la stima della profondità della zona eufotica. Anche se è stato verificato che le stime di produzione nella colonna d'acqua effettuato da questo modello sono meno accurate rispetto a quelle dei modelli prima descritti (Kahru *et al.* 2009), esso consente di utilizzare provenienti da un algoritmo di corrispondenza spettrale anziché prodotti di clorofilla standard (SeaWiFS e MODIS).

Il modello PhytoVFP si inserisce potenzialmente nella categoria dei modelli *VGP* poiché basa la stima della produzione primaria sulla concentrazione di clorofilla-a e sulla PAR, ma contiene anche aspetti innovativi e caratterizzanti, come il modulo di fisiologia del fitoplancton (vedi par. 5.2.2., 5.2.3. e cap. 9) e l'efficienza fotosintetica misurata mediante il metodo *pump-and-probe*. Gli aspetti caratterizzanti il modello PhytoVFP sono anche quelli che hanno generato dei limiti di applicabilità, essendo vincolati all'acquisizione di dati *in situ*. Lo scopo di questo *upgrade* è quindi quello di superare tale limite e di rendere il modello applicabile anche su grande scala, inserendo le osservazioni satellitari di clorofilla-a come *input* del modello.

10.2. Analisi dei dati *in situ*

Al fine di rendere applicabile a meso e macroscale il modello PhytoVFP nella sua nuova versione, è stato necessario renderlo quanto più possibile indipendente dall'acquisizione dei dati *in situ*.

La stima della produzione primaria fitoplanctonica viene calcolata dal modello PhytoVFP, attraverso il valore del tasso fotosintetico, il profilo di biomassa in termini di concentrazione di clorofilla-a e il profilo di efficienza fotosintetica ($f\Phi_{RC}$).

Il calcolo del tasso fotosintetico P^B , viene effettuato a partire dai valori di PAR nella colonna

d'acqua stimati sulla base delle informazioni sulla posizione (latitudine), giorno dell'anno, ora del giorno e condizioni meteo (ECMWF), e dei parametri fotosintetici che vengono individuati dai risultati degli esperimenti effettuati su *Skeletonema costatum* considerando la dinamica della colonna d'acqua (capitolo 9).

Mentre il tasso fotosintetico e la concentrazione di clorofilla-a possono essere calcolati a partire da dati satellitari (SeaWiFS) o da risultati di modelli globali (ECMWF, NEMO-OPA), l'efficienza fotosintetica, come intesa nel modello PhytoVFP, viene analizzata in laboratorio (Water PAM) o misurata *in situ* (PrimProd). Risulta quindi necessario trovare delle tecniche deterministiche o statistiche che siano in grado di calcolarla.

Come descritto nel paragrafo 3.3. l'efficienza fotosintetica totale (Φ) deve essere calcolata tenendo conto dell'efficienza di tutti gli *step* dell'intero processo fotosintetico, ma mentre la componente Φ_e può considerarsi costante lungo la colonna d'acqua e più che altro connessa alle sue caratteristiche ottiche (vedi par. 3.2. e par. 9.3.3.), la componente F_v/F_{max} è variabile ed è quindi necessario conoscerne il profilo. La funzione di produzione alla base del calcolo del tasso fotosintetico permette di simulare per un determinato set di condizioni (ora del giorno, dinamica della colonna d'acqua ed intensità luminosa) le potenzialità fotosintetiche degli organismi soggetti a tali condizioni. Tuttavia la stima della biomassa derivata dalla relazione esistente tra fluorescenza e concentrazione di clorofilla-a, non permette di escludere il contributo degli organismi senescenti o inefficienti che sono comunque in grado di fluorescere.

In definitiva conviene trattare i profili di clorofilla-a e di F_v/F_{max} , come un'unica variabile che esprime la stima della biomassa efficiente (Fig. 10.2.-1), ovvero della porzione di popolamento fitoplanctonico effettivamente attiva.

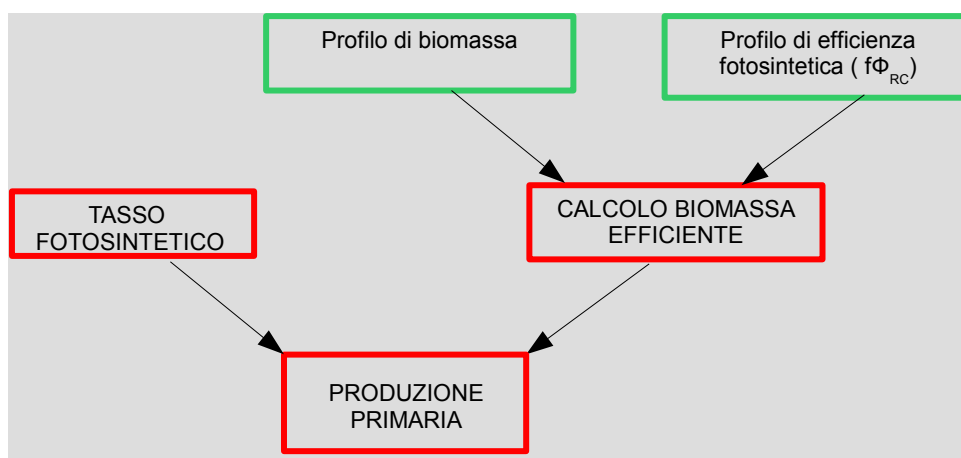


Fig.10.2.-1: Schema concettuale *upgrade* per la stima della produzione primaria fitoplanctonica a meso e macroscale estratta dalla figura 6.-1.

I profili di biomassa efficiente, utilizzati in questo lavoro, sono derivati dalle misure di concentrazione di clorofilla-a e di efficienza fotosintetica acquisite con la sonda *PrimProd 1.08*. Il *dataset* selezionato (par. 7), costituito da 250 profili totali di efficienza fotosintetica ed altrettanti di biomassa, è stato sottoposto ad un'analisi statistica al fine da conoscerne più nel dettaglio la composizione e la variabilità complessiva.

Secondo Morel e Berthon (1989) e Uitz *et al.* (2006) in mare aperto, la distribuzione verticale di Chl-a, o in modo equivalente della fluorescenza, può essere sostanzialmente di due tipi: uniforme e non uniforme. Le due categorie sono state inizialmente definite in base al valore assunto dal rapporto Z_e / Z_m . Quando la profondità eufotica è maggiore della profondità dello strato mescolato ($Z_e / Z_m > 1$) la distribuzione verticale della fluorescenza è non uniforme ed il *Deep Chlorophyll Maximum* (DCM) risulta ben pronunciato; questa tipologia di profilo si ritrova tipicamente quando la colonna d'acqua è stratificata (Fig.10.2.-2 a). Al contrario, quando il rapporto Z_e / Z_m è minore di 1, la distribuzione verticale della fluorescenza è uniforme fino alla profondità Z_m , dopodiché comincia a diminuire con la profondità; questo profilo verticale è tipico delle acque mescolate (Fig.10.2.-2 b).

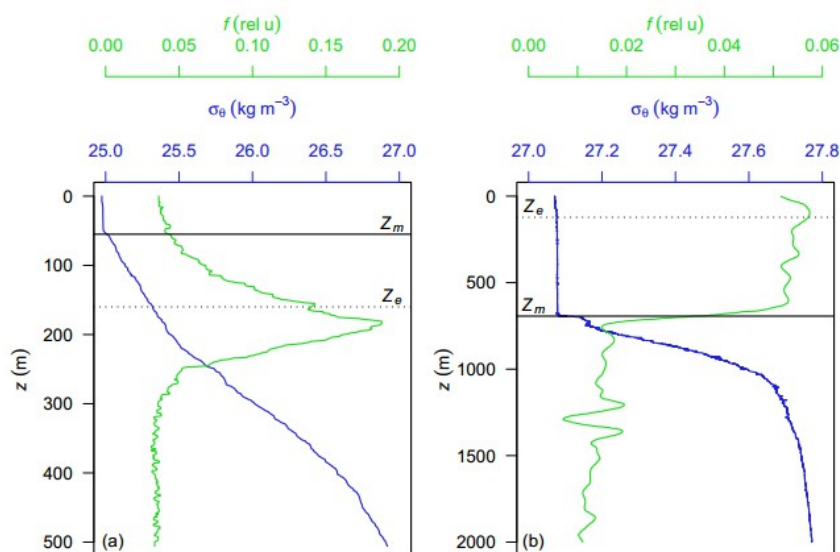


Fig.10.2.-2: Profilo tipico anomalia densità potenziale σ_θ (kg m⁻³) (linea blu) e profilo di fluorescenza (u. r.) (linea verde) per (a) acque stratificate e (b) acque mescolate. La profondità dello strato rimescolato Z_m e la profondità eufotica Z_e sono riportate con linea continua e linea tratteggiata rispettivamente. (da Mignot *et al.* 2011).

La distribuzione verticale di Chl-a non uniforme è stata modellata per la prima volta da Lewis *et al.* (1983) come una gaussiana, successivamente per tener conto del fatto che i valori superficiali superano sempre quelli in profondità, alla funzione gaussiana è stato sovrapposto un *background* costante (Platt *et al.*, 1988; Morel and Berthon, 1989; Hidalgo-Gonzalez and Alvarez-Borrego, 2001; Richardson *et al.*, 2003), linearmente decrescente con la profondità (Uitz *et al.*, 2006) o esponenzialmente decrescente con la profondità (Mignot *et al.*, 2011) (Fig.10.2.-3 a).

I profili che invece mostrano una distribuzione uniforme della concentrazione di Chl-a vengono di solito parametrizzati con un valore costante fino a Z_m (Uitz *et al.*, 2006) e che poi diminuisce fino ad azzerarsi dopo Z_m assumendo una forma tipicamente rappresentata da una funzione sigmoide (Fig.10.2.-3 b).

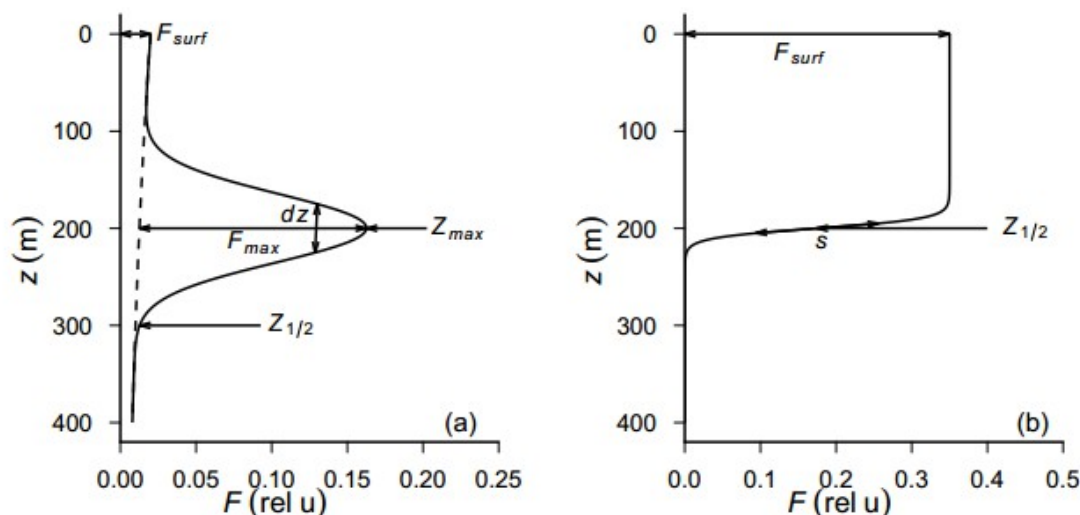


Fig.10.2.-3:Rappresentazione schematica della distribuzione verticale della fluorescenza con la profondità. (a) Profilo colonna d'acqua stratificata tipica forma con distribuzione gaussiana (linea continua) sovrapposta ad una esponenziale decrescente (linea tratteggiata). (b) Profilo colonna d'acqua mescolata tipica forma sigmoide (linea continua).(da Mignot *et al.* 2011).

Sulla base di quanto riportato in letteratura sono stati analizzati i profili di fluorescenza a disposizione del *dataset*, sia per quanto riguarda la stima della concentrazione di Chl-a sia dell'efficienza fotosintetica (F_v/F_{max}). Per valutare se anche i profili acquisiti mostrano le forme riportate in letteratura sono stati sottoposti ad un'analisi di *clustering* con il metodo di *K-means*.

L'algoritmo *K-Means* permette la suddivisione di gruppi di oggetti in un certo numero di partizioni a seconda dei loro attributi. L'assunzione di base è che gli attributi degli oggetti possono essere rappresentati mediante vettori che formano uno spazio vettoriale.

L'algoritmo minimizza la varianza (o la deviazione standard) totale *intra-cluster* ed ogni *cluster* viene identificato un centroide o punto medio. Dapprima vengono create K partizioni e successivamente assegnati ad ogni partizione i punti d'ingresso o casualmente o usando alcune informazioni euristiche. In ogni gruppo, viene quindi calcolato il centroide e costruita una nuova partizione, associando ogni punto d'ingresso al centroide ad esso più vicino. Per ogni nuovo cluster sono ricalcolati i centroidi finché l'algoritmo non converge.

K-Means Clustering of Profiles

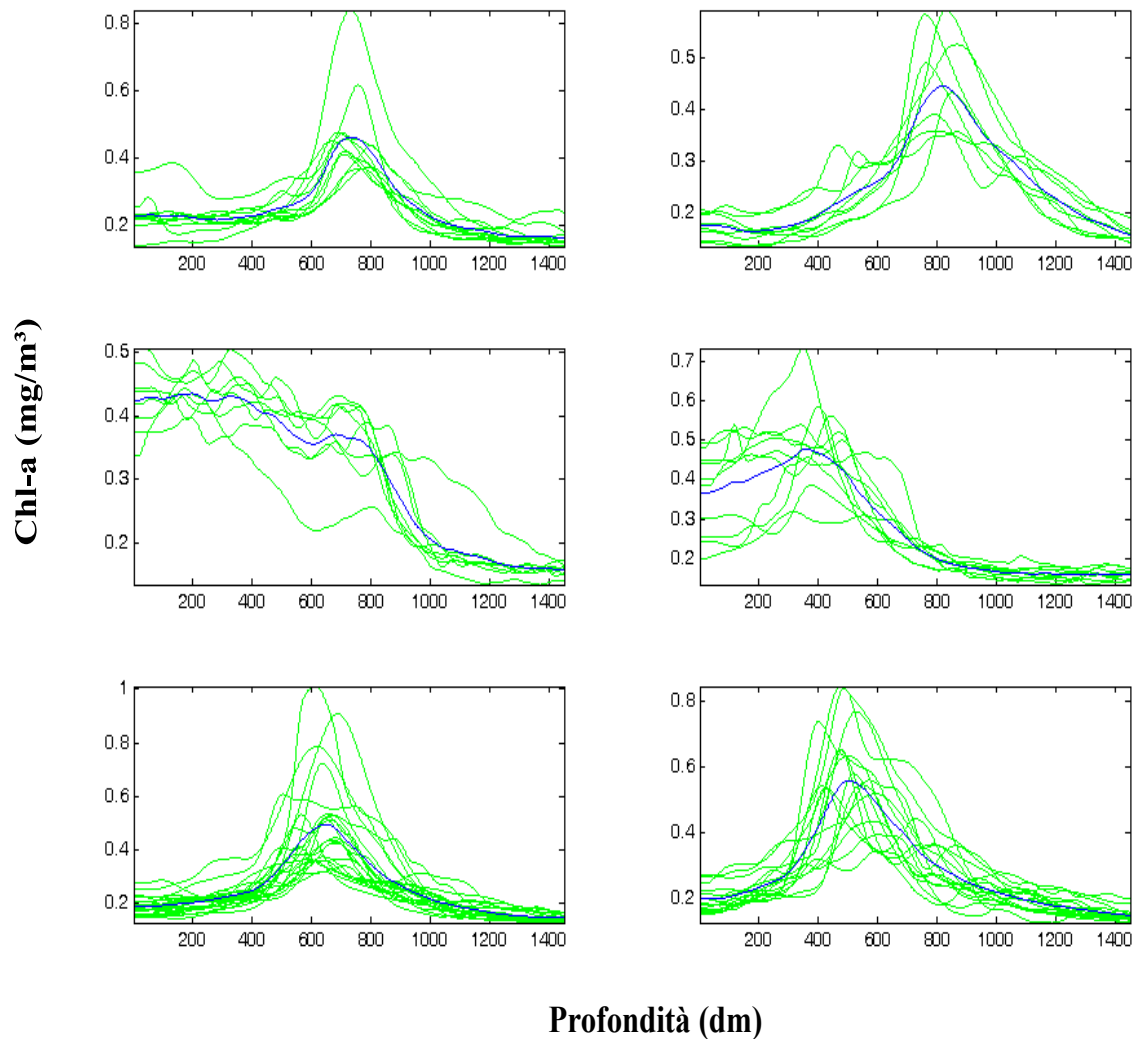


Fig.10.2.-4: Risultati del *K-Means clustering* sui profili di Chl-a del dataset.

I risultati ottenuti mostrano che i profili, raggruppati in sei categorie, assumono forme che possono essere assimilate a gaussiana e sigmoide. Nello specifico si ottengono 2/3 dei profili che mostrano una distribuzione gaussiana, 1/6 una distribuzione sigmoide ed una categoria di profili, rappresentante 1/6 del totale, che mostra una forma intermedia tra le due categorie. Quindi la forma

dei profili acquisiti tramite la sonda *Primprod 1.08* segue in parte quanto descritto in precedenza. Tuttavia a livello quantitativo i profili delle diverse categorie variano significativamente, nonché per alcune caratteristiche fondamentali come la profondità del DCM. Inoltre una quantità significativa di profili mostra una distribuzione della clorofilla-a intermedia rispetto agli estremi teorizzati in letteratura (Fig.10.2.-3).

In prima approssimazione i profili di efficienza fotosintetica, come visto per la clorofilla, sono stati considerati sostanzialmente di due tipi, a seconda delle condizioni di dinamica della colonna d'acqua. In ogni stazione del *dataset* sono stati calcolati i valori di Z_e e di Z_m come già descritto nel paragrafo 9.2. al fine di valutare il valore del rapporto Z_e / Z_m .

La forma dei profili di efficienza fotosintetica è stata studiata sulla base di *box-and-whisker plots* (Mosteller and Turkey, 1977). I *box-and-whisker plots* sono stati costruiti in due *step* principali:

1. I valori di F_v/F_{max} e per ciascun profilo sono stati interpolati linearmente al fine di ottenere un incremento di pressione regolare tra un dato acquisito e quello successivo (10 cm) (per una migliore visualizzazione dei risultati ottenuti sono stati scelti 35 intervalli di profondità).
2. Per ogni ciascun valore di pressione è stata calcolata la mediana, il quartile superiore ed il quartile inferiore. I quartili sono stati usati per chiudere ogni singolo *box* e la mediana è disegnata come una linea addizionale nel *box*. Sono stati calcolati gli *outlayer* e mostrati come punti. I *whiskers* che indicano i valori attesi sono rappresentati come linee che si estendono oltre il quartile superiore ed inferiore.

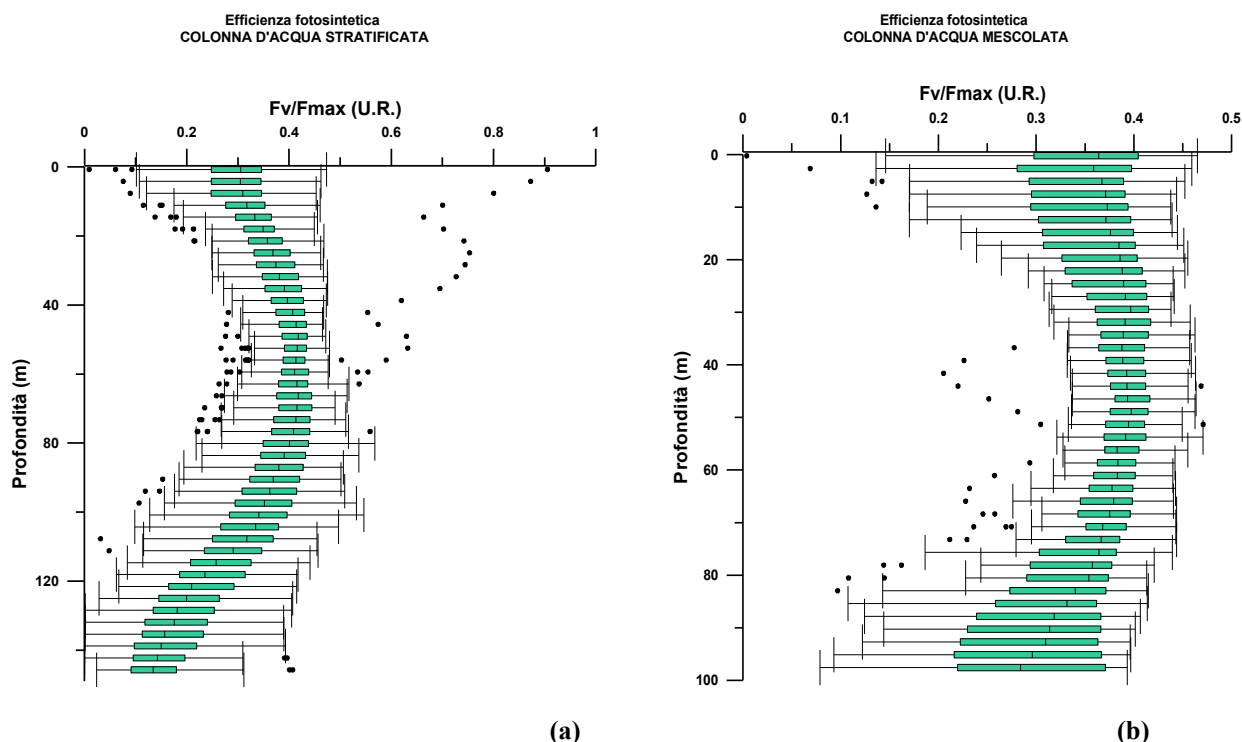


Fig.10.2.-5: *Box-and-whisker plots* dei profili di F_v/F_{max} in acque stratificate (a) e mescolate (b).

In figura 9.2.-5 a sinistra è riportato il *box-and-whisker plot* ottenuto tra tutti i profili acquisiti in acque stratificate. Il profilo mediano, rappresentato dall'unione di tutti i valori mediani di F_v/F_{max} calcolati per ogni intervallo di profondità, la distribuzione gaussiana attesa in acque stratificate (Fig.10.2.-3a) è appena accennata e non è presente un picco apprezzabile. La variabilità dei valori in ogni *step*, è elevata, anche se si escludono gli *outlayer*. La variabilità più bassa, si riscontra a livello dei valori di F_v/F_{max} più elevati, mentre è alta sia a livello dei valori più bassi che si registrano in superficie sia a profondità superiori a 50m.

Il profilo mediano, ottenuto tra tutti i profili acquisiti in acque mescolate (figura 9.2.-5 b), mostra una forma sigmoide poco pronunciata. Anche in questo caso infatti, la variabilità dei valori in ogni *step* è elevata, più bassa a livello dei valori di F_v/F_{max} acquisiti tra i 40 ed i 60m di profondità, più elevata a livello superficiali ed in profondità.

Poiché la distribuzione dell'efficienza fotosintetica lungo la colonna d'acqua non appare riproducibile tramite profili sigmoidi e gaussiani, è emersa l'esigenza di mettere a punto un metodo

che a partire da poche variabili di *input* sia in grado di riprodurre adeguatamente la biomassa efficiente cogliendone la variabilità.

10.3. Sviluppo del modulo di stima del profilo di biomassa efficiente

La stima dei profili di biomassa efficiente è stata effettuata partendo da una duplice esigenza ovvero da una parte quella di legare tale stima a dati sempre disponibili e di facile accesso, dall'altra quella di avere come riferimento e confronto la verità a mare costituita dal *dataset* di profili di clorofilla-a ed F_v/F_{max} descritto nel capito 7.

Il profilo di biomassa efficiente si ottiene dal prodotto tra la concentrazione di Chl-a ed il corrispondente valore di F_v/F_{max} per ogni profondità.

I fattori che influenzano la concentrazione di Chl-a e di F_v/F_{max} e la loro distribuzione nella colonna d'acqua sono numerosi poiché connessi non solo al processo fotosintetico ma anche alla dinamica della colonna d'acqua. Nello specifico i processi dinamici che coinvolgono la colonna d'acqua influenzano la forma dei profili ovvero la variazione verticale della biomassa fotosintetica e dell'efficienza, come descritto nel paragrafo 10.2.

A livello quantitativo esiste un legame potenziale tra la concentrazione superficiale di Chl-a e la profondità del DCM nella colonna d'acqua stratificata come evidenziato da Morel e Berthon (1989) e da Uitz *et al.* (2006). Osservazioni simili tra forma e concentrazione esistono anche dove la colonna d'acqua risulta essere mescolata, la concentrazione di Chl-a aumenta alla diminuzione della profondità dello strato mescolato (Ward e Waniek, 2007) .

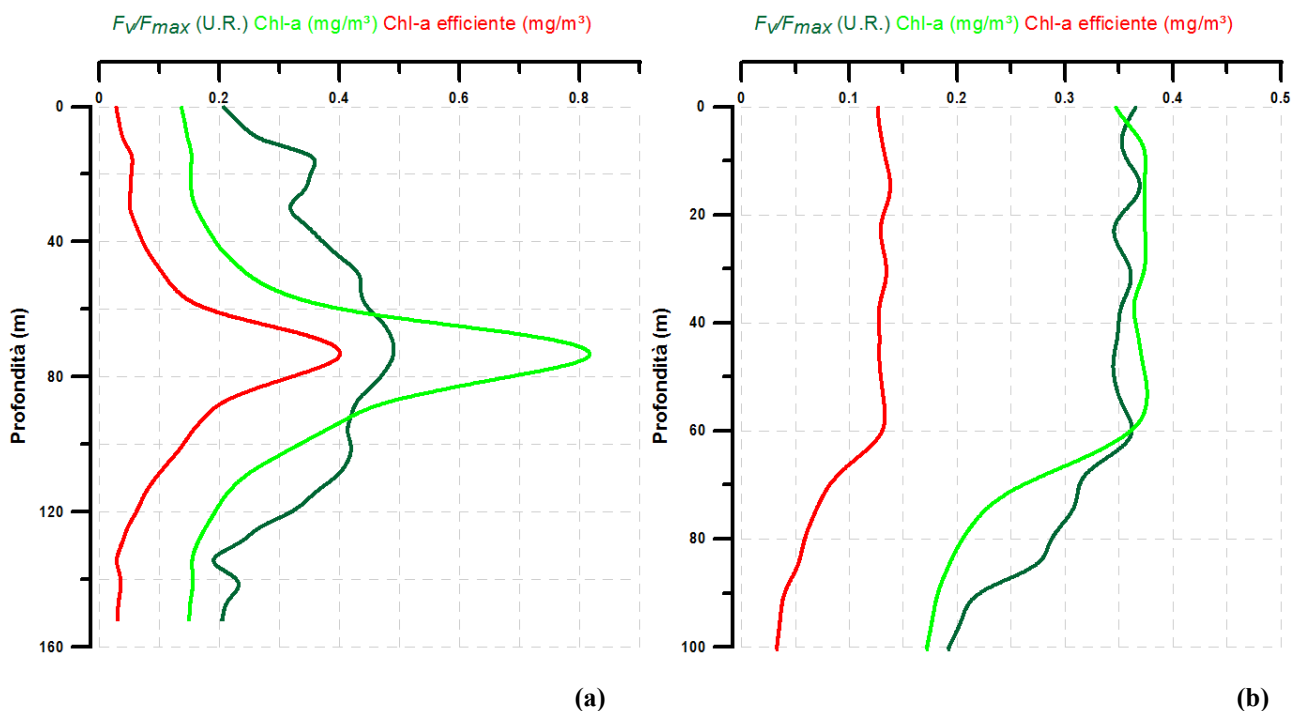


Fig.10.3.-1: Distribuzione di F_v/F_{max} , Chl-a ed Chl-a efficiente lungo la colonna d'acqua, in condizioni di stratificazione (ST 75-MedGOOS4) (a) e di mescolamento (b) (ST 67-MedGOOS7).

Sostanzialmente la biomassa efficiente segue l'andamento del profilo di Chl-a ma la concentrazione viene diminuita quantitativamente in modo proporzionale alla distribuzione di F_v/F_{max} (Fig.10.3.-1).

Gli aspetti che concorrono alla determinazione del profilo verticale di biomassa efficiente sono quindi numerosi, e le relazioni esistenti tra le diverse variabili che lo influenzano e la concentrazione e distribuzione della biomassa spesso non sono lineari. Al fine di comprendere e riprodurre tali relazioni è stato messo a punto un sistema basato sulla costruzione di reti neurali per la stima di tali profili.

Le reti neurali sono strumenti di calcolo molto potenti ma anche flessibili, possono essere addestrate a fornire un *output* qualitativo o quantitativo corretto a condizione che siano disponibili abbastanza esempi pertinenti.

Questi sistemi sono ispirati alle reti neurali biologiche sono infatti in grado di simulare diversi aspetti legati al comportamento e alle capacità del cervello umano come l'elaborazione delle informazioni, l'elevato livello di parallelismo, la facoltà di apprendere, generalizzare ed adattarsi

anche ad informazioni imprecise.

Ogni neurone artificiale presenta numerosi ingressi ed un'unica uscita ed ognuno degli ingressi ha associato un peso. L'attivazione del singolo neurone è funzione della sommatoria di tutti i suoi ingressi. Una caratteristica fondamentale è che, analogamente ai neuroni biologici, ogni unità diventa attiva se la quantità totale di segnale che riceve supera una certa soglia. Quando l'unità si attiva emette un segnale che viene trasmesso lungo i canali di comunicazione fino alle altre unità a cui esso è connessa. Ogni punto di connessione agisce come un filtro che trasforma il messaggio ricevuto in un segnale inibitorio o eccitatorio, aumentandone o diminuendone l'intensità (peso) a seconda delle proprie caratteristiche individuali.

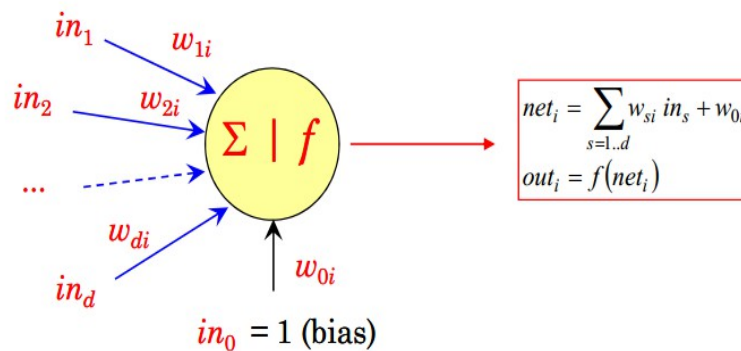


Fig.10.3.-2:Struttura di un neurone $in_1, in_2, \dots, in_d$ sono i d ingressi che il neurone i -esimo riceve da assoni di neuroni afferenti; $w_{1i}, w_{2i}, \dots, w_{di}$ sono i pesi (*weight*) che determinano l'efficacia delle connessioni sinaptiche dei dendriti; w_{0i} (detto *bias*) è un ulteriore peso che si considera collegato a un *input* fittizio con valore sempre 1 usato per tarare il punto di lavoro ottimale del neurone; net_i è il livello di eccitazione globale del neurone; f è una funzione di attivazione. (da Wiley, 2001).

In generale, il sistema è costituito da nodi (neuroni) di *input* e nodi dello strato nascosto, ogni nodo rappresenta una funzione di attivazione ed accetta come argomento la somma degli *input* del nodo e ne restituisce l'*output*. Gli *output* dei nodi dello strato nascosto tramite connessioni sinaptiche, a cui è associato un determinato peso sinaptico, convergono al neurone (nodo) di *output*.

Inoltre vi sono i così detti neuroni di *bias* a livello sia dello strato nascosto, sia del nodo di *output* con valore costante, normalmente pari ad 1, che permettono di traslare l'origine

dell'iperspazio costituito dai valori degli *input*.

Esistono diversi tipi di funzioni di attivazione associate ai nodi, le più comuni sono quelle lineari e sigmoidi. La funzione sigmoide è molto utilizzata nella costruzione di reti neurali artificiali poiché stabilisce un legame tra un comportamento lineare e non lineare.

$$\varphi(v) = \frac{1}{1 + e^{-a \cdot v}}$$

(10.3.-1)

Dove a è parametro che indica la pendenza.

In questo studio la rete neurale utilizzata è la *feed-forward*, ossia una rete stratificata in cui i neuroni sono disposti in strati in modo tale che ciascun neurone sia connesso con tutti i neuroni dello strato successivo ma non siano presenti connessioni tra neuroni appartenenti allo stesso strato o tra neuroni che appartengono a strati non adiacenti e che il segnale viaggi in una sola direzione ovvero dall'ingresso all'uscita (Fig.10.3.-3).

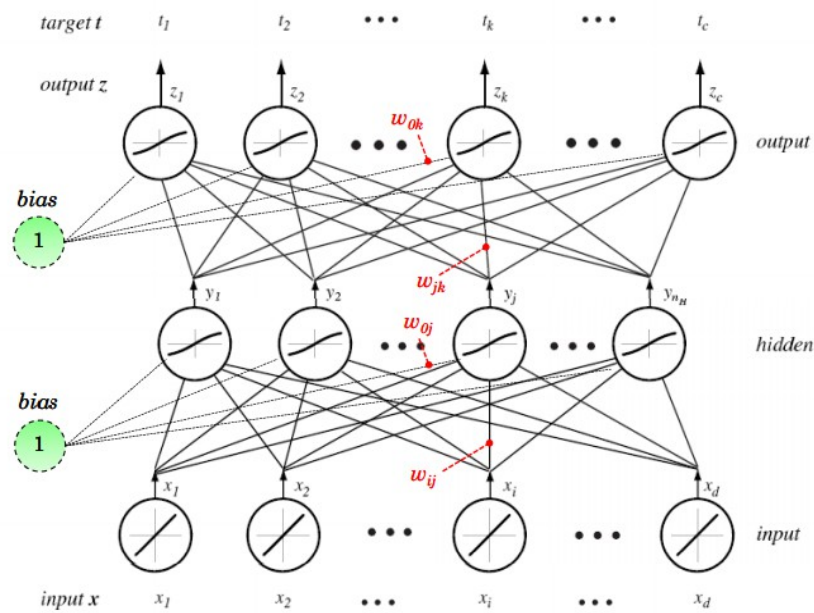


Fig.10.3.-3: Schema di funzionamento di una rete *Feedforward* dove tutti i neuroni di un livello sono collegati con tutti i neuroni del livello successivo. Rete a 3 livelli (d:n_H:c): *input* d neuroni, livello nascosto (hidden) n_H neuroni, *output* c neuroni. (da Wiley, 2001).

Una rete neurale artificiale simulando il comportamento del sistema nervoso umano è in grado di apprendere, ma per far ciò necessita di avere un numero adeguato di esempi per comprendere il *mapping* che lega gli *input* agli *output*. Il *mapping* desiderato viene ottenuto determinando il valore dei pesi w . Le prime teorizzazioni sulle reti sono state fatte già negli anni '40 (McCulloch and Pitts, 1943) tuttavia solo successivamente si sono avuti i primi algoritmi di *learning* efficaci. Un algoritmo molto utilizzato è quello di *backpropagation* che è un'applicazione della regola di derivazione “a catena”.

L'addestramento consiste nel presentare una serie di esempi alla rete e nel propagare gli *input* verso gli *output*; la differenza tra l'*output* fornito dalla rete e quello desiderato rappresenta l'errore della rete. L'algoritmo di apprendimento funziona quindi modificando i pesi w al fine di minimizzare l'errore medio sui *pattern* del *set* di dati di *training*. I pesi sono inizializzati con valori *random* sia nel livello di *input* che nello strato nascosto.

L'algoritmo *error backpropagation* Levenberg - Marquardt (*trainlm*, usato in questo lavoro), è descritto nella sua versione originale in Marquardt (1963), mentre l'applicazione alla fase di *training* delle reti neurali è fornita da Hagan e Menhaj (1994) e da Hagan *et al.*(1996). La tecnica di ottimizzazione Levenberg - Marquardt (*trainlm*) è molto più potente rispetto alle tecniche di riduzione del gradiente tradizionali (Hagan e Menhaj, 1994; El-Bakyr,2003).

L'algoritmo di *error back-propagation* si articola in quattro fasi principali:

1. La rete neurale viene inizializzata assegnando dei valori casuali ai pesi sinaptici;
2. viene sottoposto alla rete un *training pattern* che è costituito da un vettore di dati di *input* a cui vengono associati degli *output* noti, al fine di ottenere un valore per ogni nodo di *output*;
3. i valori di *output* ottenuti vengono comparati con quelli noti e viene valutato lo scarto esistente;
4. la struttura della rete viene percorsa al contrario variando i pesi sinaptici sulla base dello scarto che è stato calcolato tra *output* calcolato nella fase 2 ed *output* noto.

Le fasi 2 e 4 vengono iterate per ogni pattern del *set* di *training*, il funzionamento della rete viene quindi valutato su un *set* indipendente di dati di validazione cioè non utilizzati durante la fase di *training*. Solo se il risultato di tale validazione è soddisfacente si interrompe la procedura

altrimenti vengono ripetute le varie fasi a partire dalla fase 2, fino ad ottenere il risultato desiderato.

Fondamentale per il buon funzionamento della rete neurale è definire con certezza il momento di arresto; la rete deve infatti avere la capacità di generalizzare ovvero di fornire risposte corrette anche quando gli *input* sono leggermente differenti rispetto agli esempi usati durante la fase di *training*, quando infatti la rete viene sovraddestrata con troppi esempi perde la sua capacità di generalizzazione poiché arriva a memorizzare il *training set* dando luogo al fenomeno di *overtraining*.

10.3.1. Impostazione della rete

Al fine di ricostruire i profili di biomassa efficiente è stata messa a punto una rete *feed-forward* a due strati, con un solo strato nascosto, utilizzando il *software Matlab*. L'obiettivo è stato quello di riprodurre tali profili mediante la stima di 20 valori di concentrazione in un intervallo di profondità compreso tra 0.5 e 200m. La flessibilità tipica delle reti neurali è stata garantita utilizzando un numero di neuroni nello strato nascosto (30 neuroni), superiore al numero di *output*, tali da riprodurre la combinazione di funzioni di trasferimento lineari e non-lineari.

Sono stati selezionati una serie di *input* il cui dettaglio è riportato nel paragrafo 10.3.2.

Il *dataset* a disposizione è stato quindi porzionato in tre gruppi:

1. *Training set*: costituito da profili di biomassa efficiente rappresentativi della loro variabilità utilizzati durante la fase di addestramento per modificare i pesi della rete.
2. *Validation set*: insieme di profili usati per testare la *performance* della rete su dati sconosciuti e modificare in base ai risultati ottenuti la topologia della rete (es. numero nodi).
3. *Test set*: profili di biomassa efficiente somministrati alla rete dopo aver individuato la configurazione ottimale a seguito della fase di *training* e quindi valutare la sua *performance* su dati sconosciuti.

La topologia della rete è stata scelta sulla base dei risultati ottenuti dal confronto tra valori reali e valori stimati nel *validation set*. Nello specifico in questo modo sono stati scelti, il numero adeguato di *input* testando quattro diverse topologie della rete (10-30-20, 9-30-20, 8-30-20 e 7-30-20) e la funzione di trasferimento dallo strato nascosto agli *output* più idonea tra lineare e sigmoide; i

risultati ottenuti sono riportati nel paragrafo 10.4.

La funzione di trasferimento scelta dagli *input* allo strato nascosto, invece, è stata una funzione sigmoide (10.3.-1) che è una delle più comuni in questo tipo reti neurale poiché facilita la fase di apprendimento.

La rete è stata addestrata con l'algoritmo *backpropagation Levenberg-Marquardt*.

L'intero processo è ripetuto 20 volte per ogni *set* di parametri di *input* ed il risultato finale è dato dalla media di tutte le misurazioni effettuate.

10.3.2. Costruzione della matrice di *input*

La matrice dei parametri da fornire come *input* è costruita selezionando delle variabili che hanno una relazione, lineare o non lineare, con la distribuzione della biomassa efficiente nella colonna d'acqua (par.10.3.2.1). Inoltre ai fini dell'applicazione del modello PhytoVFP su grande scala anche essere sempre facilmente reperibili e quindi non necessariamente legati a dati acquisiti *in situ*. La matrice di *input* è costituita dai parametri elencati in tabella 10.3.2.-1.

Tab.10.3.2.-1: Variabili per la costruzione della matrice di *input*.

<i>Input</i>	u.m.
Variabili disponibili ed acquisite	
<i>Data(1)</i>	-
<i>Data(2)</i>	-
<i>Ora</i>	-
<i>Latitudine</i>	degrees
<i>Longitudine</i>	degrees
<i>Temperatura superficiale</i>	°C
<i>Clorofilla-a superficiale</i>	mg/m ³
Variabili calcolate	
<i>PAR superficiale</i>	μEm ⁻² s ⁻¹
<i>Ze</i>	m
<i>Zm</i>	m

Le dieci variabili scelte possono essere ottenute sia da misure dirette sia tramite dati ottenibili da satellite o modelli. Tra gli *input* selezionati la clorofilla-a e la temperatura superficiale sono estratti da dati satellitari (SeaWifs, MODIS) o dai risultati dei modelli a grande scala (es. NEMO-OPA); altri *input* come PAR, Z_e e Z_m vengono compute mediante appositi moduli di calcolo del modello PhytoVFP (Fig.10.3.2.-1).

Nello schema di figura 10.3.2.-1 sono riportati i dati di *input* della rete neurale e il modo in cui possono essere ottenuti. Nel riquadro 1 sono riportate le informazioni che possono essere ricavate semplicemente conoscendo la data e la posizione geografica, nel secondo riquadro sono riportati gli eventuali moduli di calcolo applicati per la stima del valore del parametro che costituirà l'*input* che è poi è riportato nell'ultimo riquadro grigio scuro.

Ad esempio per avere la clorofilla-a superficiale sono necessarie le coordinate di un punto per estrarre il valore di biomassa dalle osservazioni satellitari (riquadro1); mentre per ottenere la profondità dello strato mescolato (Z_m) bisogna estrarre il profilo dal modello NEMO-OPA e successivamente applicare il calcolo di Morel e Berthon (1989), mediante un passaggio aggiuntivo.

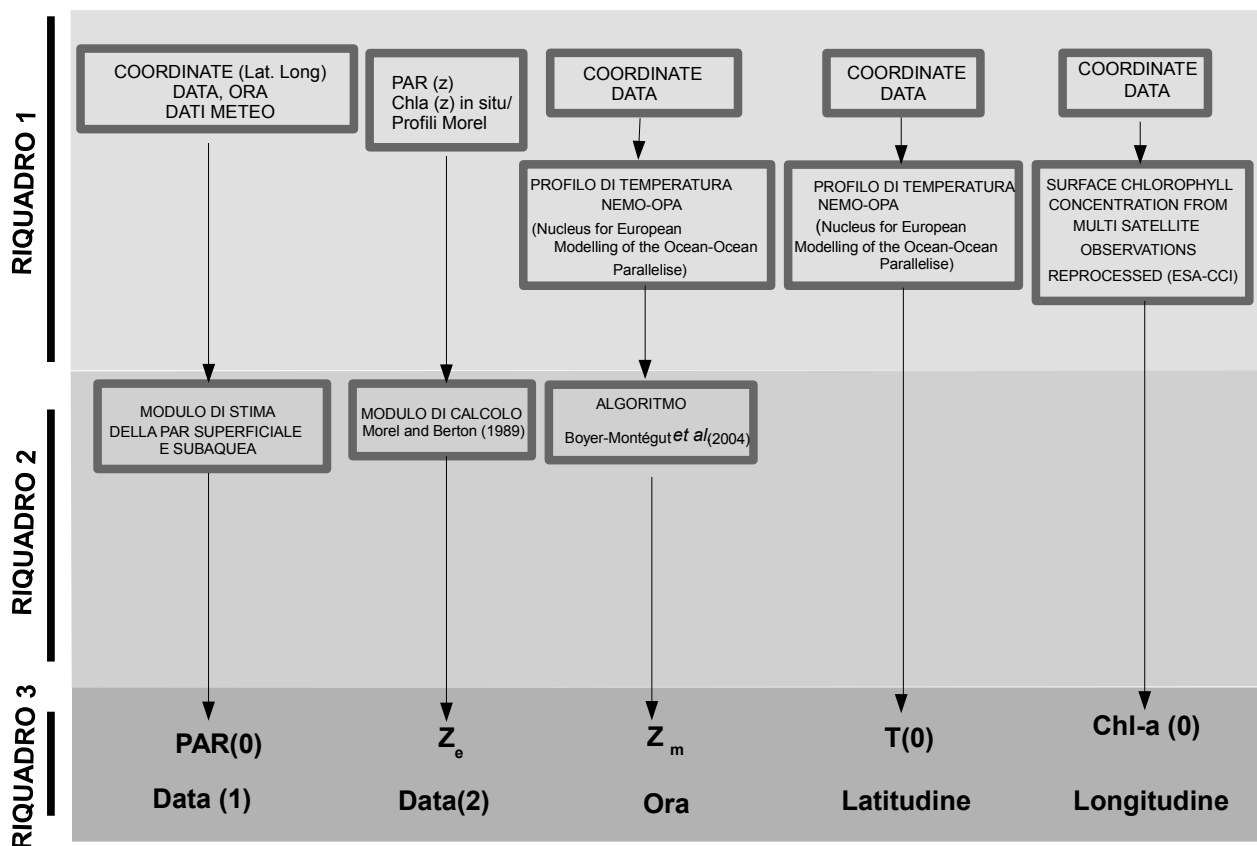


Fig.:10.3.2.-1: Estrazione dei di *input*. (Riquadro1 dati disponibili, riquadro2 moduli di calcolo, riquadro3 variabili di *input*).

La data, l'ora, la latitudine e la longitudine sono state invece inserite nella rete dopo una serie di calcoli che saranno specificati di seguito. La data viene convertita dal formato yyyy/mm/dd in numero seriale del giorno attraverso le seguenti formule.

$$Data(1) = \left[\frac{1}{2} \cos\left(\frac{2\pi \cdot day}{365}\right) + 1 \right] \quad (10.3.2-1)$$

$$Data(2) = \left[\frac{1}{2} \sin\left(\frac{2\pi \cdot day}{365}\right) + 1 \right] \quad (10.3.2-2)$$

Il formato hh:mm dell'ora del giorno viene poi trasformato tramite la funzione (10.3.2-3a,b) :

$$Ora(x) = 1 - \cos\left(\frac{\pi}{24} \cdot x\right)^2$$

(10.3.2-3a)

dove

$$x = \frac{(hh + mm)}{60}$$

(10.3.2-3b)

Latitudine e longitudine sono espresse in decimi di grado.

I valori di temperatura superficiale (T(0)) e di clorofilla-a superficiale (Chl-a (0)) possono essere sia ricavati da misure *in situ* sia da misure satellitari sia risultati di modelli matematici. In questo lavoro sono stati utilizzati, sia misure dirette ricavate dai dati di temperatura e clorofilla-a acquisiti mediante la sonda Primprod 1.08 ed analizzati come descritto nel capitolo 8, sia valori ottenuti da prodotti *MyOcean* disponibili in rete (<http://www.myocean.eu/>) per verificare l'applicabilità del modello anche a partire da dati satellitari e modellati.

Il progetto *MyOcean* è stato redatto da un consorzio di enti di ricerca europei nell'ambito del VII Programma Quadro. Ha previsto lo sviluppo e il miglioramento dei servizi legati al programma europeo GMES (*Global Monitoring for Environment and Security*) per il monitoraggio globale dell'ambiente. Lo scopo di *MyOcean* è di rendere disponibili le variabili di stato oceanografiche ottenute da osservazioni o da strumenti di modellistica, per tutti gli operatori tecnici e politici nell'ambito della salvaguardia ambientale e della sicurezza.

MyOcean fornisce quindi una serie di prodotti che derivano da osservazioni *in situ*, modelli e dati satellitari. In questo lavoro sono stati usati nello specifico i dati di clorofilla-a ottenuti dai satelliti SeaWiFS, MODIS e MERIS a 4km di risoluzione spaziale e i dati di temperatura calcolati con il modello NEMO-OPA.

La clorofilla superficiale per il Mediterraneo proveniente dai dati satellitari calcolata utilizzando l'algoritmo regionale di ocean color (MedOC4, Volpe *et al.*, 2007).

Questo algoritmo è stato sviluppato dal Gruppo di Oceanografia Satellitare (GOS-ISAC) del Consiglio Nazionale delle Ricerche italiano (CNR). Informazioni aggiuntive sono riportate in tabella 10.3.1.-2.

Tab.10.3.2.-2: Caratteristiche dei dati del prodotto Myocean utilizzato per l'estrazione della clorofilla-a superficiale.

Variabili	Concentrazione di clorofilla-a
Copertura geografica	mar Mediterraneo
Risoluzione spaziale	4km
Copertura verticale	Da 0m a 0m
Risoluzione temporale	Media giornaliera
Copertura temporale	Dal 15-09-1997 al 31-07- 2012
Frequenza di <i>update</i>	Come necessario

Il modello NEMO-OPA fa parte del progetto MFS (*Mediterranean Forecasting System*) e calcola le componenti della velocità dell'acqua di mare, l'altezza rispetto alla superficie media del mare, la salinità e la temperatura. Tali variabili si distribuiscono nel tempo e nello spazio sia in orizzontale (con una risoluzione spaziale di circa 7cm e verticale di 70 layers) (Ta10.3.2.-3).

Tab.10.3.2.-3: Caratteristiche dei dati del prodotto Myocean utilizzato per l'estrazione dei profili di temperatura.

Variabili	Velocità dell'acqua di mare verso est
	Velocità dell'acqua di mare verso nord
	Altezza della superficie del mare sopra il livello del mare
	Temperatura potenziale dell'acqua di mare
	Salinità dell'acqua di mare
Copertura geografica	mar Mediterraneo
Risoluzione spaziale	0.0625 gradi
Copertura verticale	da -5500m a 0m
Risoluzione temporale	Media mensile; media giornaliera
Copertura temporale	Dal 01-01-1987 al 31-12-2012
Frequenza di <i>update</i>	Come necessario

Per gli scopi di questo lavoro, da questo prodotto viene ricavato sia il valore di $T(0)$, che il profilo di temperatura nella colonna d'acqua. Da quest'ultimo infatti viene stimato il valore di Z_m utilizzando l'algoritmo proposto da de Boyer-Montégut *et al.* (2004) e già descritto nel paragrafo 9.2.

Le variabili PAR e Z_e vengono stimate, a partire dalle coordinate, data, ora del giorno e condizioni meteo (nuvolosità ECMWF), mediante il modulo di stima della PAR. Questo modulo utilizza per la determinazione della profondità eufotica la PAR superficiale, il profilo tipo di clorofilla-*a* come proposto da Morel e Berton (1989) e l'assorbimento della luce dovuto alla feofitina come in D'Ortenzio *et al.* (2002). (vedi par. 5.2.1.).

Tramite questo sistema sono state costruite quattro differenti matrici di *input* (10xm; 9xm; 8xm; 7xm con m:numero di profili di biomassa efficiente acquisiti *in situ* validi), una con tutte le

variabili descritte, e le altre tre eliminando una alla volta quelle ottenute da calcolo (vedi Tab. 10.3.2.-1). I risultati ottenuti per le diverse topologie assegnate alla rete sono riportate nel paragrafo 10.4. In ogni caso i parametri sono stati ricavati preferenzialmente dalla piattaforma *MyOcean* solo quando il dato non è risultato disponibile, per il giorno e l'ora in cui è stato acquisito il profilo di biomassa efficiente, è stato inserito il corrispondente valore dei dati acquisiti *in situ*.

10.3.2.1. Relazione tra *input* ed *output*

La scelta delle variabili da utilizzare in *input* nella rete neurale non è semplice, in quanto le relazioni tra le variabili sono solo in parte conosciute, e spesso sono studiate analizzando l'esistenza di correlazioni, piuttosto che essere descritte da una relazione causale fortemente deterministica (Scardi, 2001). Le relazioni esistenti, tra le variabili scelte come *input* per la rete ed il profilo di biomassa efficiente che ne rappresenta l'*output*, possono essere discusse dall'osservazione della variazione del profilo nel tempo. Nello specifico sono riportati i valori acquisiti nelle 24 ore durante le campagne MedGOOS 4-5-6-7 (par.7.1.).

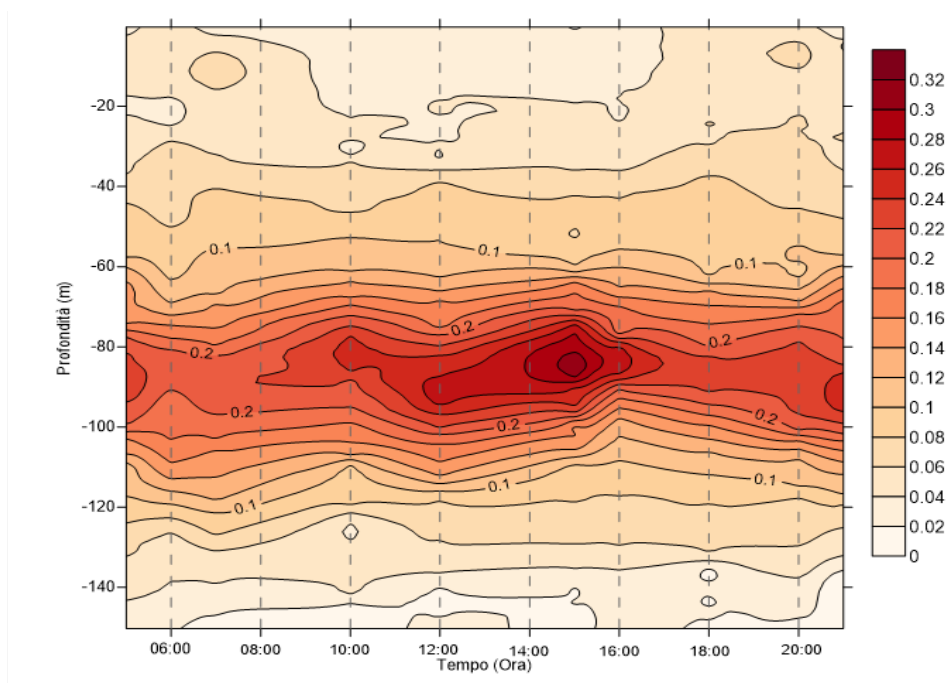


Fig.10.3.2.1.-1:Variazione del valore di biomassa efficiente nel tempo durante la campagna MedGOOS4

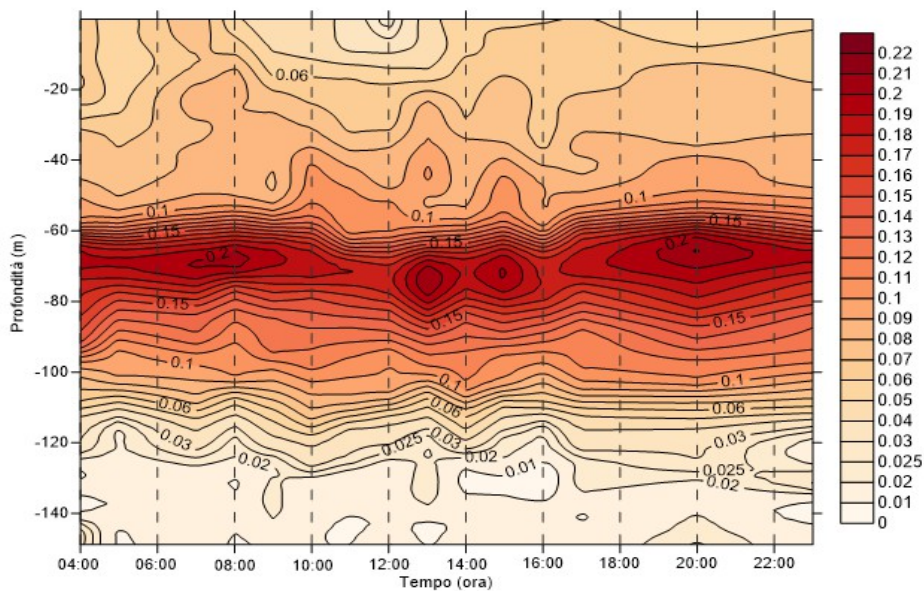


Fig.10.3.2.1.-2:Variazione del valore di biomassa efficiente nel tempo durante la campagna MedGOOS5.

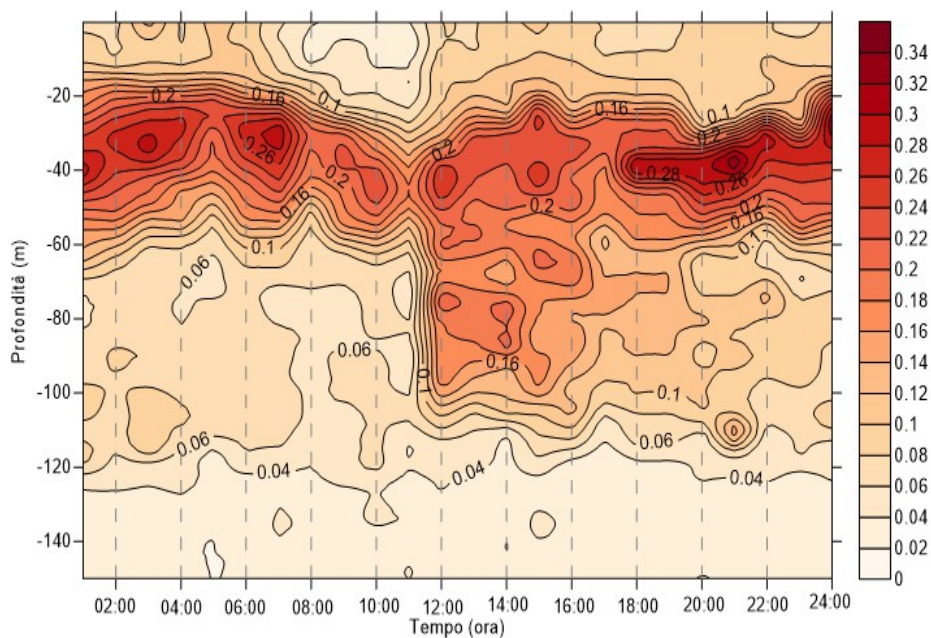


Fig.10.3.2.1.-3:Variazione del valore di biomassa efficiente nel tempo durante la campagna MedGOOS6.

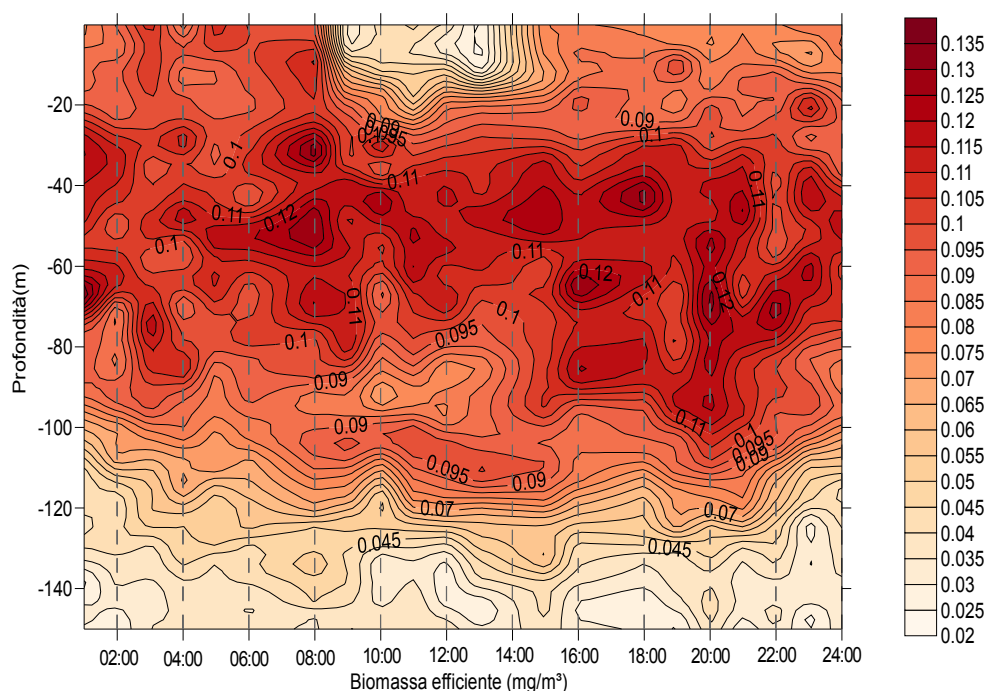


Fig.10.3.2.1.-4:Variazione del valore di biomassa efficiente nel tempo durante la campagna MedGOOS7.

La relazione esistente tra PAR superficiale, biomassa ed efficienza fotosintetica è stata lungamente discussa nella parte I di questo lavoro; sono stati analizzati i meccanismi fotoacclimatazione, fotoadattamento e quelli di trasferimento elettronico tra i due fotosistemi, che hanno un effetto a cascata sulla distribuzione del fitoplancton lungo la colonna d'acqua e sull'efficienza del processo fotosintetico. Anche la concentrazione superficiale di clorofilla-a ha una relazione quali-quantitativa con la biomassa, come descritto in numerosi lavori (Morel e Berthon 1989; Uitz *et al.*, 2006; Ward and Waniek, 2007), ed anche con la biomassa efficiente, come emerso dall'analisi condotta sui dati *in situ* riportata nel paragrafo 10.2.

Dall'osservazione della distribuzione spaziale della biomassa efficiente e della sua variazione nel tempo, si nota come anche l'ora del giorno svolga un ruolo fondamentale. I valori di concentrazione più alti si osservano mediamente tra i 60 ed i 100 metri di profondità. Questo picco si approfondisce però nelle ore centrali della giornata, a causa dei fenomeni di fotoinibizione che inducono la chiusura dei fotosistemi con conseguente diminuzione dell'efficienza fotosintetica e quindi del valore di biomassa efficiente. Queste variazioni non sono solo dovute ai valori di PAR

più elevati in queste ore, ma anche a meccanismi circadiani intrinseci degli organismi fitoplanctonici che, anche in assenza di irradianza saturante, assumono ciclicamente il medesimo comportamento (vedi par.5.2.2). E' interessante notare che, a differenza della distribuzione mostrata dalla biomassa efficiente durante le 24 ore effettuate nelle campagne MedGOOS4-5-6 (Fig.10.3.2.1-1-2-3), durante la campagna MedGOOS7, condotta in inverno, in condizioni di colonna d'acqua mescolata, non si notano particolari variazioni nel tempo, tranne per quanto riguarda una diminuzione della concentrazione superficiale nelle ore centrali della giornata. Questo rispecchia la descrizione fatta della relazione esistente tra dinamica della colonna d'acqua e distribuzione di biomassa efficiente, proprio per tale motivo sono stati inseriti tra gli *input* i valori di Z_e , Z_m e $T(0)$ che concorrono alla descrizione della forma dei profili (vedi par.10.2).

Le coordinate geografiche, inserite anch'esse come parametri di *input*, influenzano indirettamente la biomassa efficiente, avendo di fatto un legame con la quantità di luce disponibile sulla superficie del mare. I profili di biomassa variano anche a seconda della latitudine in risposta alla presenza o meno di variazioni stagionali di altre variabili correlate, come ad esempio la temperatura, mostrando, alle alte, medie e basse latitudini variazioni stagionali tipiche (Herbland and Voituriez, 1979; Banse, 1987; Williams, 1988; Strass and Woods, 1991; Michaels *et al.*, 1994; Taylor *et al.*, 1997).

10.3.3. Addestramento della rete neurale

L'apprendimento della rete neurale messa a punto è di tipo supervisionato, durante la fase di *training* sono stati quindi forniti gli esempi da associare agli *input*.

A tal fine è stata costruita la matrice detta di *target*, costituita dall'insieme di tutti i profili di biomassa efficiente acquisiti *in situ* come prodotto tra F_v/F_{max} ed Chl-a, mediante la sonda Primprod 1.08. I profili utilizzati sono costituiti da 20 punti, acquisiti nell'intervallo di profondità compreso tra 0.5 e 200m. E' stata quindi ottenuta una matrice di dimensioni 20x250.

Dalla matrice di *target* sono stati quindi estratti i tre *set* di dati necessari :*training set*, *validation set* e *test set* (vedi par.10.3.1).

Nel *training set* tutte le classi della variabilità devono essere sufficientemente rappresentate per

rendere produttiva la fase di addestramento. Per raggiungere tale scopo possono essere utilizzati diversi accorgimenti come ad esempio eliminare alcuni esempi relativi alle classi *over-represented*; aggiungere esempi relativi alle classi *under-represented*; duplicare gli esempi relativi alle classi *under-represented*; inserire del rumore (modificando gli *input* e mantenendo invariato l'*output* degli esempi). Questo aspetto è stato tenuto in considerazione già nella scelta del *dataset* da utilizzare. Le campagne scelte sono state svolte (vedi cap.7), infatti, in periodi diversi dell'anno in modo da ottenere dei profili rappresentativi di tutte le possibili forme assunte, da quelli gaussiani tipici di colonna d'acqua stratificata a quelli sigmoidi rappresentativi delle condizioni di mescolamento.

A causa delle condizioni meteo, non tutti i dati necessari per la costruzione della matrice di *input* erano disponibili da satellite. In questi casi sono stati quindi inseriti i corrispettivi valori acquisiti *in situ*. Al fine di valutare l'efficacia della rete a riprodurre profili di biomassa efficiente a partire da dati satellitari e modellati, il *set* di test è stato formato utilizzando solo profili per cui erano presenti questi dati. La ripartizione nei tre gruppi è stata comunque effettuata in modo da evitare il fenomeno dell'*overtraining* (Looney, 1996), per un totale di 62 profili utilizzati come *test set*.

10.4. Risultati

Successivamente alla fase di *training*, è stato effettuato un confronto tra i valori stimati tramite la rete neurale e quelli acquisiti *in situ* tramite la sonda Primprod 1.08, utilizzando il *set* di validazione, al fine di individuare la topologia ottimale per la rete. Questo confronto è stato effettuato prima modificando il numero di parametri nella matrice di *input* (vedi par.10.3.1 e 10.3.2) e successivamente il tipo di funzioni di attivazione da utilizzare tra strato nascosto ed *output*.

A tal fine è stato valutato l'errore assoluto medio associato alla stima della biomassa efficiente alle 20 diverse profondità prese in esame, in tutti i profili del *set* di validazione. Al fine di valutare il ruolo dei diversi *input* al miglioramento della stima della concentrazione di biomassa efficiente, il *training* è stato effettuato oltre che con la struttura già descritta di 10-30-20 anche nelle configurazioni 9-30-20, 8-30-20 e 7-30-20 (Tab.10.4-1). Queste diverse topografie della rete sono state ottenute eliminando uno alla volta i parametri che non sono acquisibili direttamente, ma si

ottengono tramite calcoli preliminari (Fig.10.4.-1).

Tab.10.4-1: *Input* utilizzati nelle quattro diverse topografie testate.

7-30-20	8-30-20	9-30-20	10-30-20
Data(1)	Data(1)	Data(1)	Data(1)
Data(2)	Data(2)	Data(2)	Data(2)
Ora	Ora	Ora	Ora
Latitudine	Latitudine	Latitudine	Latitudine
Longitudine	Longitudine	Longitudine	Longitudine
Temperatura (0)	Temperatura (0)	Temperatura (0)	Temperatura (0)
Clorofilla-a (0)	Clorofilla-a (0)	Clorofilla-a (0)	Clorofilla-a (0)
	PAR (0)	PAR (0)	PAR (0)
		Zm	Zm
			Ze

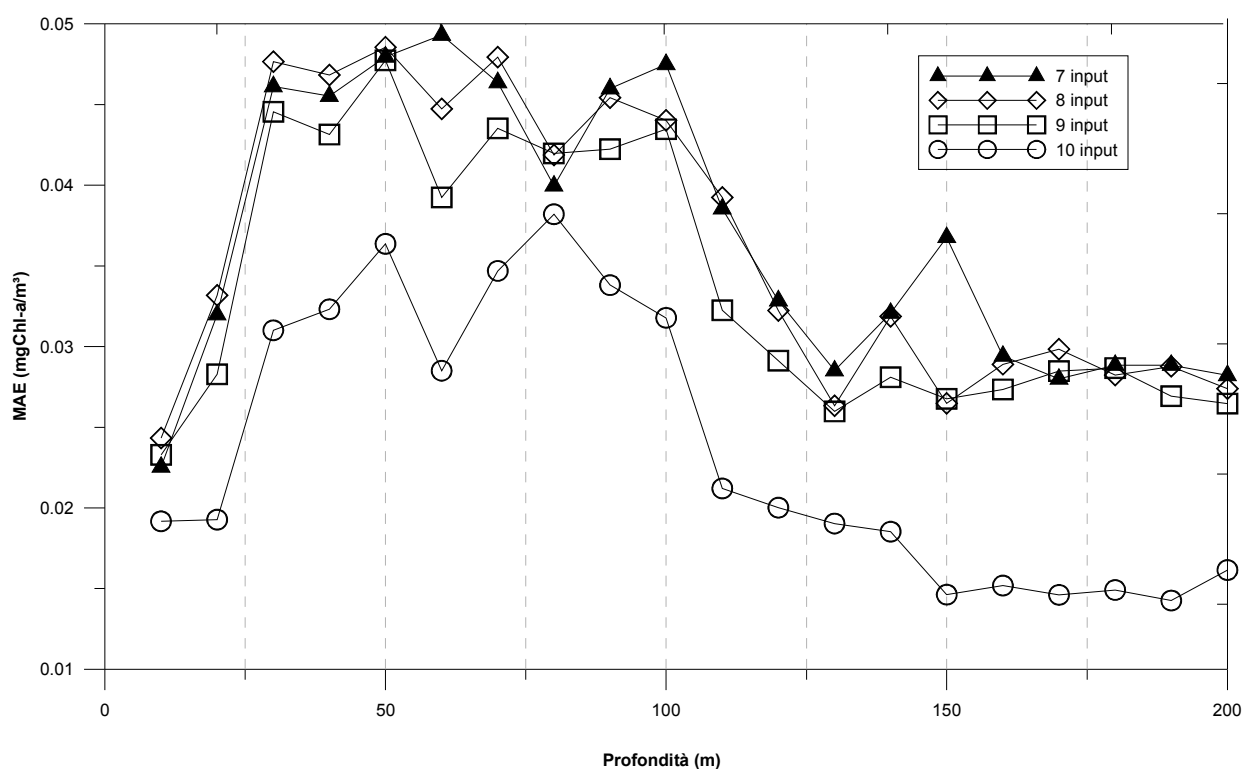
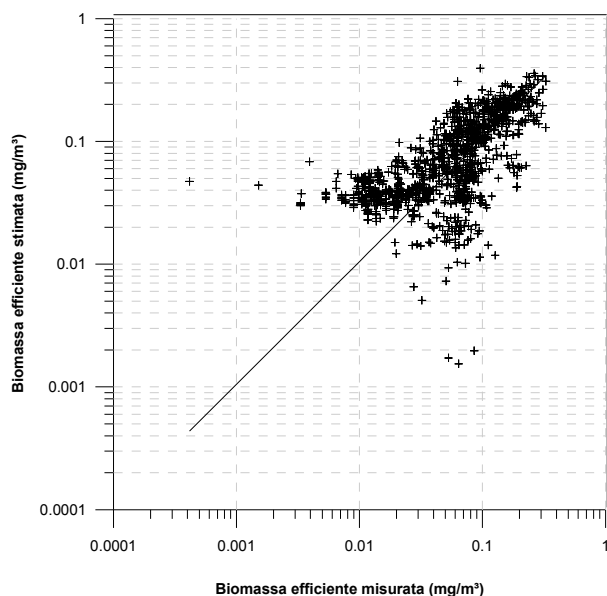


Fig.10.4.-1: Andamento dell'errore assoluto medio con la profondità per quattro possibili topografie della rete neurale : 10-30-20, 9-30-20, 8-30-20 e 7-30-20.

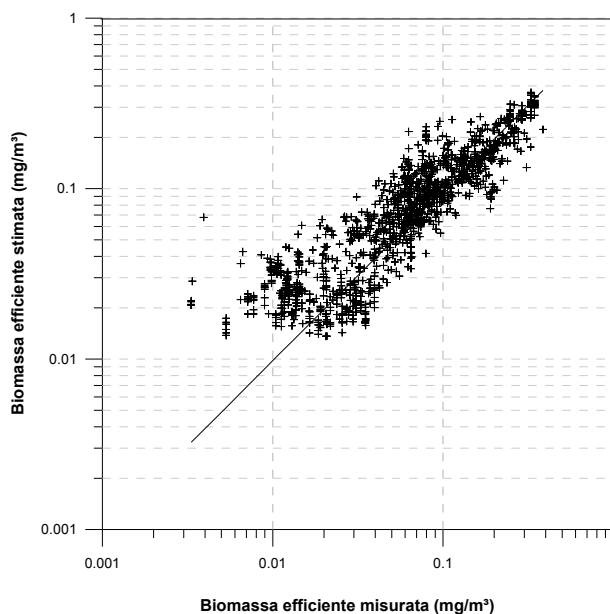
L'andamento dell'errore con la profondità è simile per tutte e quattro le topografie proposte. In superficie e a profondità superiori a 100m si osservano i valori di errore più bassi inferiori a 0.04 (mg/m^3), mentre tra i venti ed i 100m si hanno i valori di errore più elevato. In ogni caso l'errore associato alla stima è risultato all'interno dell'intervallo di misura. Questa distribuzione rispecchia chiaramente la diversa concentrazione di biomassa efficiente lungo la colonna d'acqua che vi è a livello del DCM. In generale la struttura 7-30-20 mostra gli errori mediamente più alti lungo tutta la colonna d'acqua anche se non vi sono differenze significative con l'errore associato alla misura quando si utilizzano 8 e 9 input. L'errore più basso (sempre al di sotto di $0.04 \text{ mg}/\text{m}^3$) con la configurazione a 10 input, la distribuzione dell'errore si discosta significativamente dalle altre mostrando l'importanza del parametro Z_e per la ricostruzione del profilo di biomassa efficiente.

Si è quindi scelto di utilizzare per le successive valutazioni le topologia 10-30-20.

In figura 10.4.-2 sono riportati gli *scatter plots* tra i valori di biomassa efficiente misurati e valori stimati tramite la rete neurale con struttura 10-30-20. Nello specifico in figura 10.4.-2 (a), sono riportati i valori biomassa efficiente stimati utilizzando una funzione di attivazione sigmoide tra l'*input* e lo strato nascosto e lineare tra lo strato nascosto e l'*output*; in figura 10.4.-1 (b) invece i valori sono stati stimati usando una funzione di tipo sigmoide in entrambi i casi.



(a)



(b)

Fig.10.4-2: Scatter-plot tra i valori di biomassa efficiente puntuali misurata e stimata del set di validazione, con funzioni di attivazione sigmoide-lineare $R^2=0.811963$ (a); e con funzioni di attivazione sigmoide-sigmoide $R^2=0.916097$ (b) .

Il confronto tra biomassa efficiente misurata e quella stimata mostra una correlazione più stretta ($R^2=0.916097$) se entrambe le funzioni di attivazione utilizzate sono di tipo sigmoide.

Infine scelta la topologia e la funzione di attivazione la rete così addestrata è stata applicata utilizzando il *test set* in cui tutti gli *input* provengono da dati satellitari o modellati ed i profili stimati confrontati con i 62 acquisiti *in situ*.

La rete neurale così impostata mostra inoltre una buona capacità di generalizzazione. I risultati ottenuti nel *test set* mostrano infatti una correlazione tra dati misurati e stimati molto vicina a quella ottenuta nel *set* di *training*, $R^2=0.900128$ e $R^2=0.922998$ rispettivamente (Fig.10.4-3).

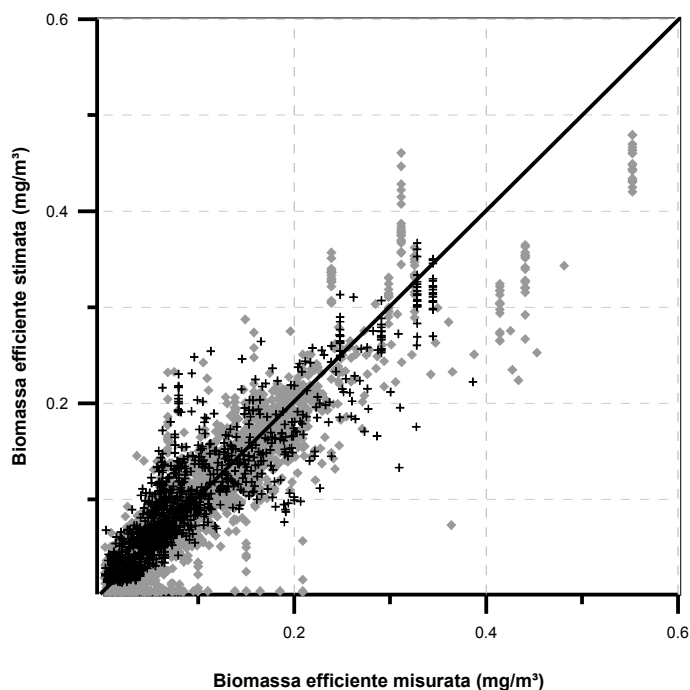


Fig.10.4-3: Scatter-plot tra i valori di biomassa efficiente puntuale misurata e stimata nel *set* di *test* (croci nere) e nel *set* di *training* (rombi grigi).

La correlazione tra i dati aumenta, nel *test set* di validazione, aumenta quando si confrontano i valori di biomassa efficiente integrata ($R^2=0.97328$). Anche l'errore associata alla misura risulta essere basso ($MAE=0.241\text{mg/m}^2$) (Fig.10.4.-3).

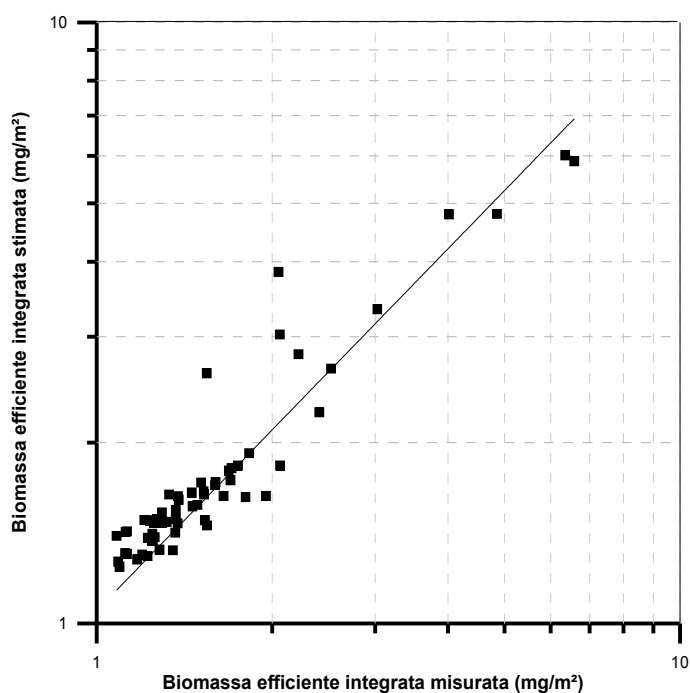


Fig.10.4-4: Scatter-plot tra i valori di biomassa efficiente integrata misurata e stimata del set di test, $R^2=0.97328$ MAE=0.241.

La rete in questa conformazione è in grado di riprodurre adeguatamente le diverse forme assunte dal profilo di biomassa efficiente lungo la colonna d'acqua, fino alle tipiche forme gaussiana e sigmoide assunte in stazioni completamente stratificate e mescolate. In figura.10.4-4. (a) e (b) è mostrato il confronto tra i profili misurati e stimati in due stazioni appartenenti al *test set*.

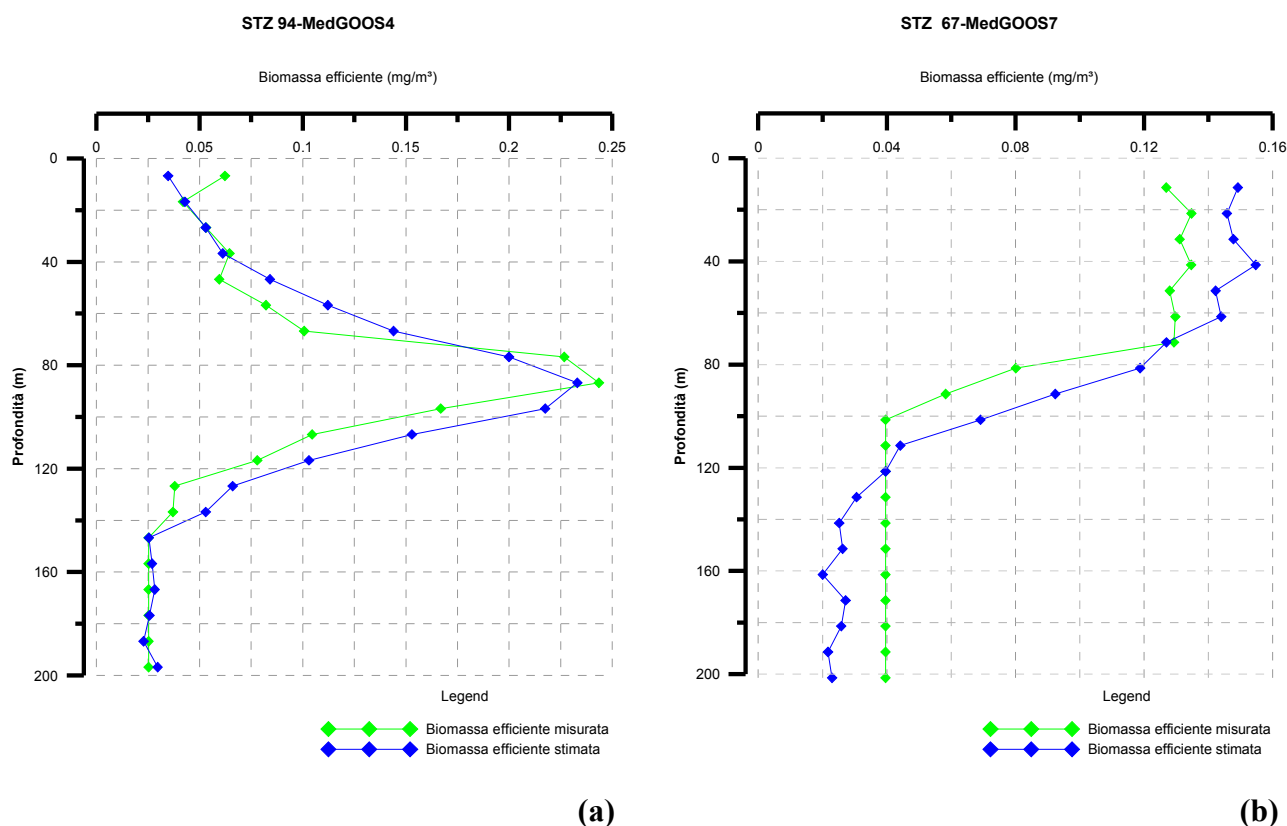


Fig.10.4.-5: Profilo di distribuzione di biomassa efficiente lungo la colonna d'acqua misurata tramite sonda Primprod (linea verde) e stimata tramite la rete neurale 10-30-20 (linea verde) per una stazione con colonna d'acqua stratificata (a) e mescolata (b).

10.5. Discussione

La rete neurale messa a punto si è dimostrata in grado di fornire una stima accurata del profilo di biomassa efficiente. I parametri selezionati in *input* sono adeguati agli obiettivi prefissati, sia perché hanno permesso di riprodurre la variabilità dei profili di biomassa efficiente, sia perché sono facili da reperire ed hanno permesso di rendere applicabile il modello a scala globale.

Sono state effettuati vari esperimenti sul *set* di validazione al fine di ottenere la struttura ottimale per la rete. Nello specifico la topografia che ha mostrato l'errore più basso è stata la 10-30-20, ed il parametro Z_e si è dimostrato particolarmente utile nel migliorare la stima del profilo. Il valore della profondità eufotica è infatti, come descritto, fondamentale nella caratterizzazione della colonna d'acqua e della forma del profilo di biomassa (Morel e Berthon, 1989; Uitz *et al.*, 2006; Mignot *et*

al. 2011).

La funzione di tipo sigmoide sembra essere migliore rispetto a quella lineare, come funzione di attivazione tra lo strato nascosto e l'*output*, poiché permette di mantenere i risultati in un *range* di valori conforme a quelli della variabile da stimare. Le stime effettuate con la rete che utilizza la funzione sigmoide hanno infatti mostrato una maggiore correlazione dei risultati con i valori reali ($R^2=0.916097$) rispetto a quanto avviene con la funzione lineare ($R^2=0.811963$).

La rete così configurata applicata al *test set* costituito da soli input provenienti da dati satellitari ha mostrato una buona capacità di generalizzazione dimostrata dalla correlazione, tra valori stimati e misurati ($R^2=0.900128$) molto vicina al risultato ottenuto dal *training set* ($R^2=0.922998$). Questo è dovuto alla scelta di utilizzare profili acquisiti in condizioni stagionali, trofiche e dinamiche differenti che ha permesso di fornire alla rete un'ampia varietà di esempi di profili di biomassa efficiente. Tuttavia ulteriori miglioramenti sono ancora possibili proprio attraverso l'ampliamento del *dataset*.

Le reti neurali si sono rivelate uno strumento molto utile nel trattamento dei dati telerilevati e di quelli calcolati da modelli a grande scala e inoltre per la riproduzione di variabili e processi ecologici non lineari (Lek *et al.*, 1996; Scardi, 1996). Nello specifico di questo lavoro, hanno permesso di svincolare il modello PhytoVFP dall'acquisizione di dati *in situ* per la stima della produzione primaria, e di renderlo quindi applicabile per lo studio dei processi a meso e macroscale, come si potrà apprezzare nel capitolo successivo.

PARTE III

APPLICAZIONE DELLA NUOVA VERSIONE DEL MODELLO PhytoVFP

11- Nuova struttura del modello PhytoVFP

La nuova versione del modello PhytoVFP, come mostrato nei capitoli 9 e 10, può essere utilizzata in due differenti configurazioni; la configurazione 1, in cui vengono utilizzati in *input* dati telerilevati e modellati, e la configurazione 2, in cui i dati in *input* sono quelli acquisiti *in situ*. A seconda della scala spaziale e temporale del fenomeno ecologico indagato, la produzione primaria fitoplanctonica può essere calcolata alternativamente mediante una delle due configurazioni possibili.

Nella configurazione 1, il cui schema funzionale è riportato in figura 11.-1, sono stati integrati i moduli di “fotoacclimatazione e dinamica della colonna d'acqua” e “stima del profilo di biomassa efficiente”.

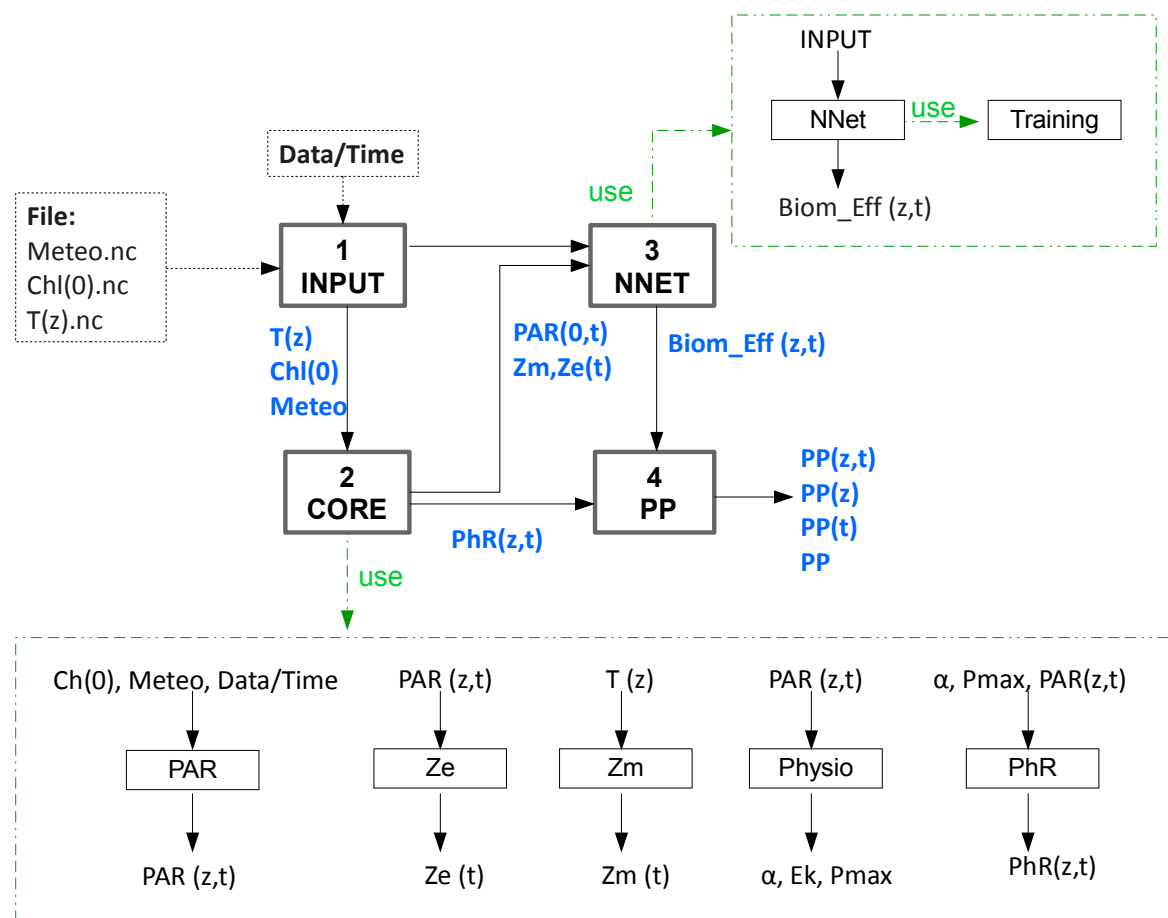


Fig. 11.-1: Nuova struttura del modello PhytoVFP per l'utilizzo di dati satellitari e modellati. Configurazione 1. I riquadri verdi racchiudono i moduli di calcolo usati da ciascun blocco; il blu sono riportati gli *output* di ciascun blocco.

Il modello, in configurazione 1, è strutturato in quattro blocchi principali:

1. *Input*- nel primo blocco vengono inseriti e letti i file ed i parametri di *input* necessari per i calcoli dei tre successivi blocchi. Nello specifico viene inserita la data del giorno di interesse (o il periodo, per simulazioni superiori al giorno), i valori dei parametri fisiologici (β e Φ_e), le condizioni meteo, la concentrazione di clorofilla superficiale e temperatura nella colonna d'acqua.

I dati vengono quindi interpolati sulla griglia che tra i tre file risulta avere una risoluzione più elevata. I risultati finali saranno quindi relativi alle coordinate geografiche di tale griglia. A livello di questo blocco è possibile estrarre delle sotto aree inserendo le coordinate geografiche che delimitano l'area da indagare.

2. *Core*- Questo blocco include i moduli di calcolo della PAR (par.5.2.1.) e di foto-acclimatazione e dinamica della colonna d'acqua (cap. 9). A partire dai dati meteo, e di clorofilla superficiale, il modulo di stima della PAR (z, t) fornisce il profilo di luce lungo la colonna d'acqua,

per le diverse ore del giorno. Dallo stesso modulo viene calcolato il valore di $Z_e(t)$ fornito come *input* al modulo di foto-acclimatazione e dinamica della colonna d'acqua e confrontato con il valore di $Z_m(t)$ stimato dal profilo di temperatura. In ogni punto, la colonna d'acqua viene quindi classificata come mescolata o stratificata al fine di scegliere i parametri fisiologici idonei come ampiamente descritto nel capitolo 9. Dal valore di PAR lungo la colonna d'acqua e dai parametri fisiologici scelti, il blocco 2, calcola il valore del tasso fotosintetico, $PhR(z, t)$, lungo la colonna d'acqua e nel tempo.

L'*output* finale di questo blocco, $PhR(z, t)$, confluirà direttamente al blocco 4 per la stima della produzione primaria, mentre gli *output* intermedi, $PAR(0,t)$, $Z_e(t)$ e $Z_m(t)$ vanno a costruire, insieme agli altri sette parametri, la matrice di *input* del blocco 3 (par.10.3.2.).

3. *NNet*- Il terzo blocco stima la biomassa efficiente, $Biom_Eff(z,t)$, tramite l'ausilio della rete neurale artificiale messa a punto e validata nel capitolo 10. La matrice di *input* viene costruita utilizzando i valori provenienti dai file e parametri di *input*, ($Chl(0)$, $T(0)$, data, ora e coordinate), dagli *output* intermedi del blocco 3, ($PAR(0,t)$, $Z_e(t)$ e $Z_m(t)$). La rete utilizza i pesi sinaptici stimati nella fase di *training* (par. 10.3.3) e fornisce, come *output*, per ciascun punto i profili di $Biom_Eff(z,t)$ per tutta la giornata.

4. *PP*- In questo blocco vengono utilizzati profili di $PhR(z,t)$ e $Biom_Eff(z,t)$ ed il valore di Φ_e per stimare: a) produzione primaria puntuale, $PP(z,t)$; b) produzione primaria integrata nel tempo, $PP(z)$; c) produzione primaria integrata nella colonna d'acqua, $PP(t)$; d) produzione primaria integrata nel tempo e nella colonna d'acqua, PP .

Qualora si volesse indagare la variazione della produzione primaria lungo la colonna d'acqua può essere applicato il modello in configurazione 2 che utilizza i dati raccolti *in situ* dalla sonda Primprod. Lo schema del funzionamento è riportato in figura 11.-2.

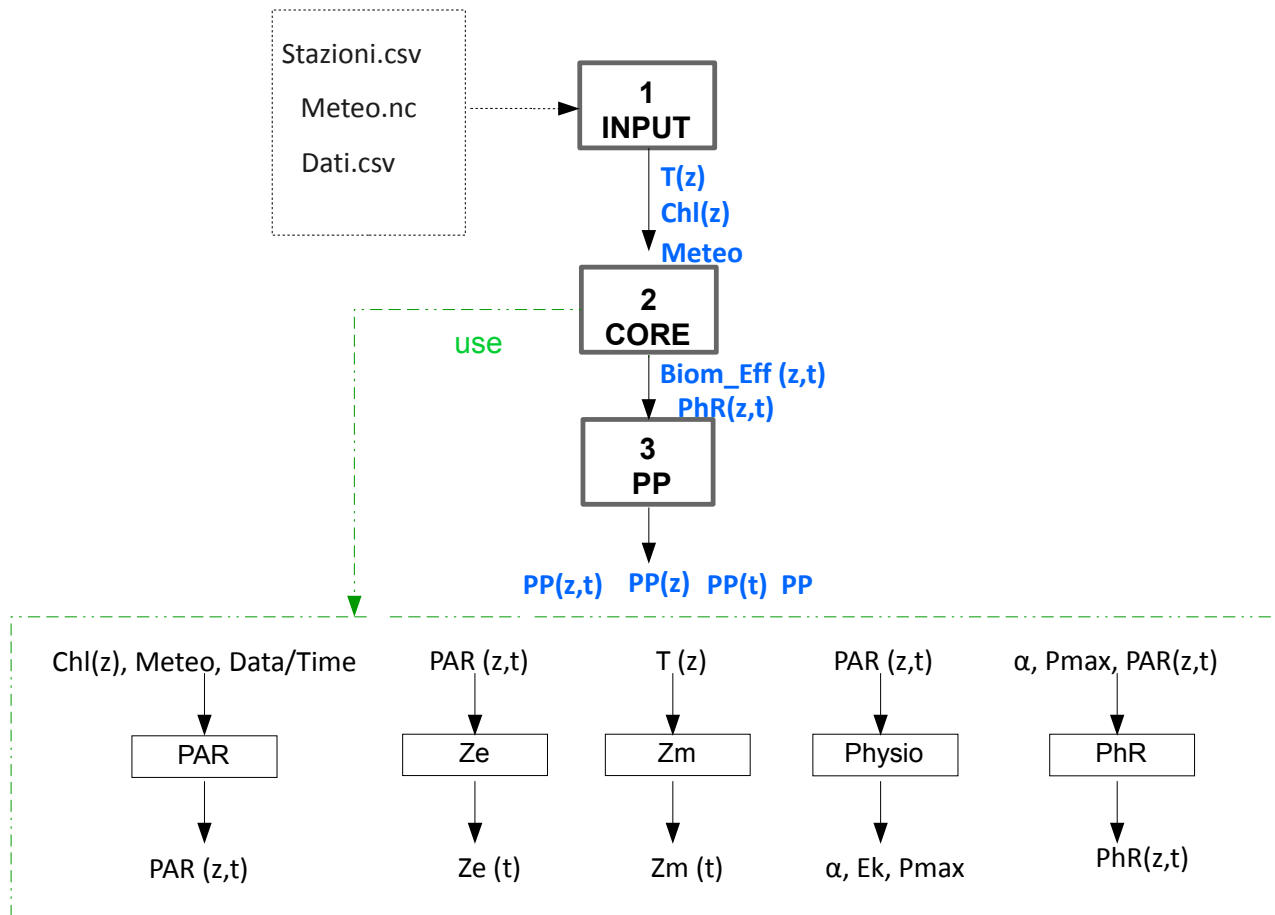


Fig. 11.-2: Nuova struttura del modello PhytoVFP per l'utilizzo di dati *in situ* – Configurazione 2. I riquadri verdi racchiudono i moduli di calcolo usati da ciascun blocco; il blu sono riportati gli *output* di ciascun blocco.

Le principali differenze, tra questa configurazione e quella descritta precedentemente, sono rappresentate dalla diversa tipologia di dati in *input* nel blocco 1 e dall'assenza del blocco NNet.

1. *Input*- nel blocco 1, oltre alle condizioni meteo ed al valore dei parametri, fotosintetici, devono essere inserite le coordinate geografiche, la data e l'orario di acquisizione relativi a ciascun profilo in cui si vuole calcolare la PP, nonché i valori di clorofilla-a (z), F_v/F_{max} (z) e Temperatura (z) acquisiti dalla sonda Primprod.

2. *Core*- Il blocco 2 ha funzionamento analogo a quello descritto per la configurazione 1 e fornisce, in *output*, il valore di PhR (z,t) lungo la colonna d'acqua. L'unica differenza è che per il calcolo del valore di PAR lungo la colonna d'acqua è utilizzato il profilo di clorofilla-a acquisito *in situ*, così come quello della temperatura che viene utilizzato per la stima di Z_m .

3. *PP*- In quest'ultimo blocco viene calcolato il valore di Biom_Eff (z,t) dal prodotto del valore di clorofilla-a e F_v/F_{max} .

A partire dai profili di PhR ed Biom_Eff viene quindi calcolata la produzione primaria. In questa configurazione il profilo PP (z,t) è quello relativo all'orario di acquisizione dei dati in quella stazione, così come il valore di PP (t). PP(z) e PP derivano invece come descritto precedentemente dall'integrazione dei valori nell'intervallo temporale di un'intera giornata.

Dai risultati ottenibili dalle due configurazioni del modello PhytoVFP, può essere calcolata la variazione della produzione primaria lungo la colonna d'acqua e in diversi orari del giorno oppure la distribuzione della PP nel tempo e nello spazio. In quest'ultimo caso, come specificato nella configurazione 1, è possibile, a partire da dati di clorofilla-a superficiale acquisiti da satellite, ottenere una rappresentazione sinottica della produzione primaria a meso e a macro scala che permette di comprendere meglio le relazioni esistenti tra fenomeni fisici e processi biologici.

12- Applicazione del modello per lo studio di fenomeni a mesoscala

Il modello PhytoVFP, nella sua configurazione 1, è stato applicato nella parte occidentale del mar Mediterraneo, zona caratterizzata da intensi fenomeni a mesoscala, per testare la capacità del modello di descrivere gli effetti che tali fenomeni fisici hanno sui processi biologici.

I fenomeni a mesoscala svolgono un ruolo cruciale nella circolazione e nella distribuzione delle masse d'acqua in tutto il bacino del Mediterraneo. In particolare rivestono un ruolo fondamentale nel Bacino Algero-Provenzale (APB) dove la distribuzione della clorofilla-a al centro del bacino è fortemente influenzata da quello che succede nella parte a nord e in quella a sud. Il APB è infatti diviso in una parte settentrionale ed una meridionale dal Fronte Nord Balearico (NBF) che separa masse d'acqua più fredde e salate a nord da quelle più dolci, di origine atlantica nella parte meridionale. La parte meridionale, ovvero il bacino algerino (AB), è caratterizzato nello strato superficiale dalla *Atlantic Water* (AW) che arriva nel Mediterraneo attraverso lo Stretto di Gibilterra (Taupier-Letage *et al.* 2003), e scorrendo lungo la costa algerina forma la Corrente Algerina (AC). Questa corrente è fortemente instabile e genera strutture a mesoscala come meandri e vortici anticiclonici (Algerian Eddies, AE) che generalmente rimangono più o meno inclusi nel flusso principale AC. Questi vortici possono, una volta raggiunto il Canale di Sardegna, collassare o modificarsi e stazionare lì per diversi mesi. In alcuni casi possono staccarsi dalla AC, muoversi verso est e verso nord divenendo vortici di mare aperto. Le dinamiche di queste strutture e i rapporti

che si generano sono tuttavia complessi (Taupier-létage *et al.*, 2003).

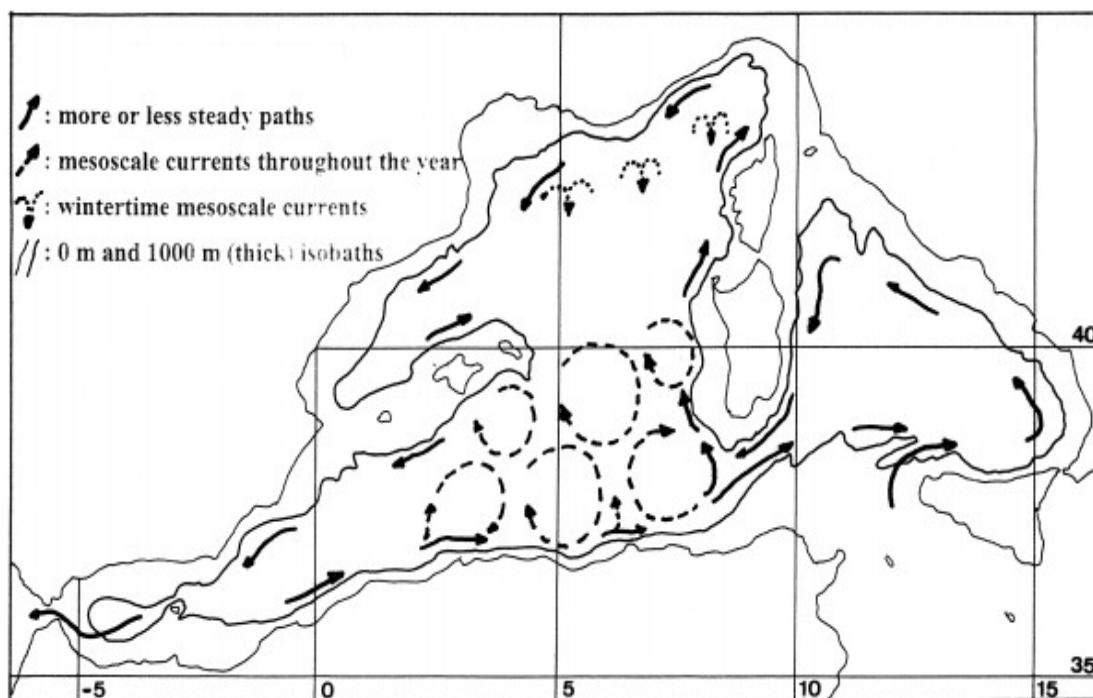


Fig.12.1-1: Circolazione generale dell'Atlantic Water nel Mediterraneo occidentale [modificata da Millot, (1999)].

Anche la parte settentrionale del bacino (bacino provenzale, PB) è altamente dinamica, con forte attività di mesoscala, studiata in particolare come luogo di formazione di acque profonde. Questa zona, denominata MEDOC, è sottoposta a forti raffiche di vento sia in inverno che in primavera (Maestrone e Tramontana) determinano un intenso raffreddamento. Durante l'inverno, si forma, una *patch*, di acqua densa e fredda (Killworth, 1976) la colonna d'acqua si rimescola per tutta la profondità (Medoc group, 1970; Leaman e Schott, 1987) e quindi si assiste ad una ridistribuzione di nutrienti (Coste *et al.*, 1972).

Questa dinamica a mesoscala che coinvolge l'intero bacino modula l'attività biologica, come dimostrato dalla stretta correlazione tra le firme spettrali di temperatura e colore dell'oceano (Taupier-Letage, 1988; Arnone e La Violette, 1986; Arnone *et al.*, 1990). L'attività biologica è quindi influenzata dalla grande variabilità spaziale e temporale di questi fenomeni (Robinson, 1983; Morel e André, 1991).

Nelle zone in cui, i vortici interagiscono tra loro, si verificano infatti, fenomeni di frontogenesi e frontolisi che inducono moti verticali e quindi fenomeni di *upwelling* e di *downwelling*. Nello specifico, ad essere influenzati dai fenomeni fisici a mesoscala descritti, sono la distribuzione della

biomassa fitoplanctonica e di conseguenza il processo di produzione primaria.

La produzione primaria fitoplanctonica in particolare, può essere influenzata, per esempio a seguito dello spostamento delle cellule di fitoplancton lungo la colonna d'acqua che ha un effetto diretto, mediante il fenomeno di fotoacclimatazione, sul processo fotosintetico (cap. 9), o in risposta al flusso verticale dei nutrienti (Lewis, 2002). Nell'area MEDOC, la risalita di acque profonde ricche di nutrienti è strettamente connessa con le fioriture algali primaverili come descritto da Jacques *et al.* (1973).

12.1. Individuazione delle strutture a mesoscala da analizzare

La presenza di fenomeni fisici a mesoscala viene generalmente indagata da satellite utilizzando le variazioni rispetto al livello medio del mare e dalla distribuzione della temperatura superficiale.

I vortici anticiclonici risultano si distinguono in quanto hanno generalmente nella parte centrale acqua più calda e un'elevata altezza rispetto al livello medio del mare. La rotazione oraria che avviene in queste strutture richiama, nell'emisfero boreale, acqua superficiale che in genere è calda verso il centro provocando al tempo stesso un innalzamento della superficie del mare. Al contrario i vortici ciclonici hanno una massa d'acqua più fredda nella zona centrale che risale dagli strati profondi e un'altezza della superficie del mare più bassa rispetto al livello di riferimento.

Al fine di individuare l'area in cui applicare il modello, è stata verificata la presenza di fenomeni fisici a mesoscala attraverso l'osservazione di dati altimetrici e di temperatura superficiale. Nello specifico, sono state analizzate le mappe di MADT (*Mediterranean Absolute Dynamic Topography*) e di temperatura superficiale (SST), nei giorni in cui è stata effettuata la campagna MedGOOS 6.

Questa scelta è stata dettata sia dal fatto che in lavori precedenti in quei giorni è stata verificata la presenza di questi fenomeni (Bonamano, 2013; Bonamano *et al.* 2013), sia dalla possibilità di confrontare tra loro le due configurazioni del nuovo modello.

I dati altimetrici sono dei prodotti Ssalto/DUACS distribuiti da AVISO (*Archiving Validation and Interpretation of Satellite Oceanographic Data*) con il supporto di CNES (*Centre National d'Etudes Spatiales*). I valori di MADT sono il risultato dell'anomalia del livello del mare (SLA) a cui è stata aggiunta la topografia dinamica media (MDT), in modo da ottenere lungo la verticale un'accuratezza dell'ordine di 3 cm (Rio *et al.*, 2007).

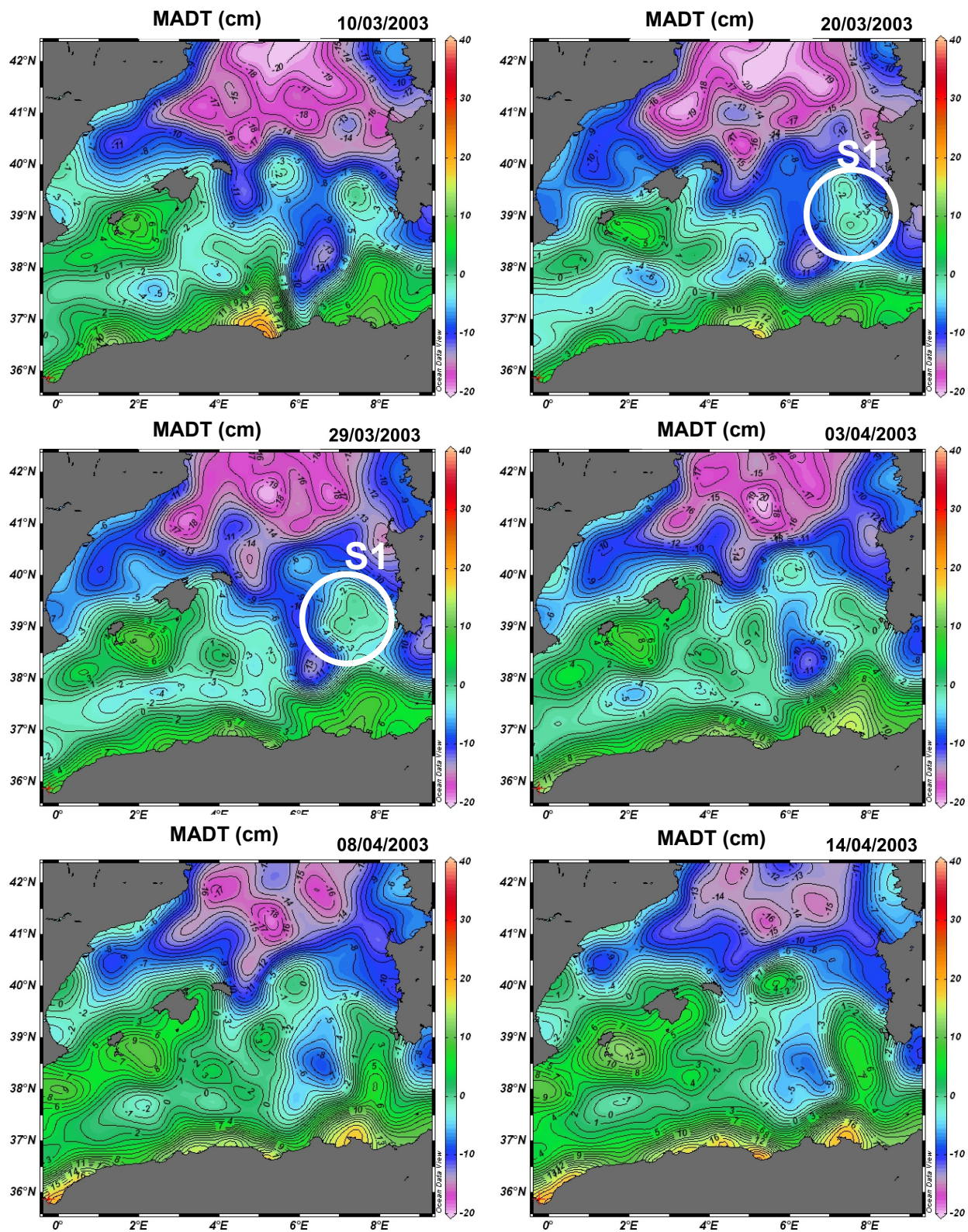


Fig.12.1.-1: Mappe giornaliere di MADT durante la campagna MedGOOS6 nel bacino Algero-Provenzale.

Dall'osservazione delle mappe di MADT si nota la presenza di una depressione localizzata a circa 38°N probabilmente causata dall'instabilità del NBF ed una zona di convergenza (S1) a 39°N che si sposta verso la zona più centrale del bacino tra il 20/03 ed il 29/03/03. Successivamente si nota la formazione di un AE tra 7 e 8°E che si stacca dalle coste algerine e si porta rapidamente a largo verso il mar di Sardegna.

Successivamente, sono stati selezionati i giorni 21/03/03 e 26/03/2003, sulla base della disponibilità di dati satellitari necessari come *input* per il modello (vedi cap . 11).

Le mappe di MADT non sono tuttavia sufficienti per identificare la presenza di AEs costieri, proprio perché il segnale è influenzato dalla vicinanza alla costa algerina. A tale scopo sono state quindi osservate le mappe di distribuzione della temperatura superficiale (SST).

Le mappe di SST sono state ottenute elaborando i dati relativi ai sensori presenti su MODIS (*Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer*), strumento montato sui satelliti Terra e Aqua. I valori di temperatura acquisiti da MODIS sono stati scaricati dal sito FTP (<ftp://g0dps01u.ecs.nasa.gov/> o <ftp://oceans.gsfc.nasa.gov/>) della NASA a livello L2 e processati attraverso il software SeaDAS 6.3, ottenendo una distribuzione del parametro nell'area di studio con risoluzione spaziale di 1 km. Nello specifico sono stati utilizzati i dati acquisiti dal satellite durante la notte al fine di evitare che la distribuzione sia influenzata dal riscaldamento diurno della superficie del mare.

I dati di temperatura superficiale sono utili, non solo ad evidenziare la presenza di anticicloni costieri, ma anche per delimitare il NBF. Di seguito vengono riportate le mappe di temperatura superficiale nei due giorni selezionati.

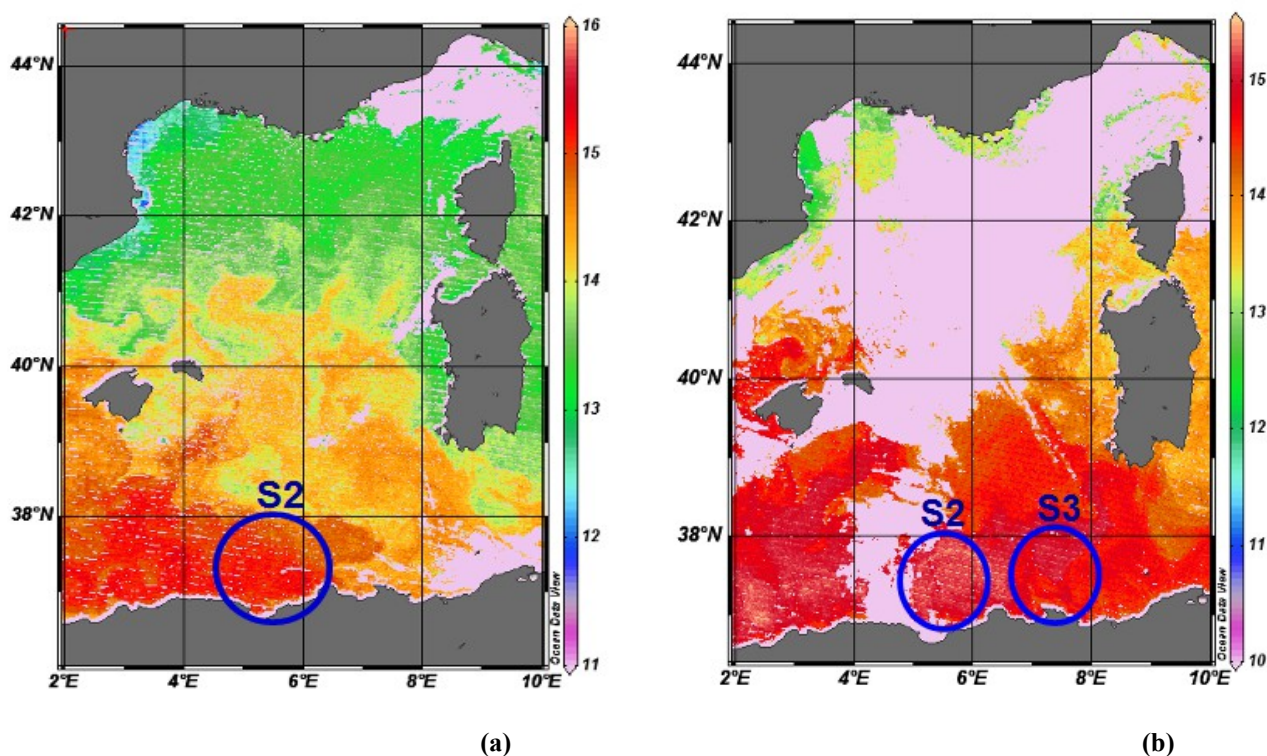


Fig.12.1.-2: Mappe di temperatura superficiale (SST) del Mediterraneo Occidentale nei giorni 21/03/2003 (a) e 26/03/06 (b) .

Nelle mappe in figura 12.1.-2 viene messa in risalto l'andamento della corrente algerina rappresentata da un flusso con una temperatura elevata che in corrispondenza di 7 °E si sposta verso il largo.

Dall'analisi delle mappe di SST emerge la presenza di una striscia con temperatura superficiale elevata a partire da 2°E fino a 8°E, che segue l'andamento della corrente algerina in particolare nell'area di interesse, si identificano due zone tra 5° e 6°E (S2) e tra 7° e 8°E (S3) dove è possibile ipotizzare la presenza di AEs costieri.

In definitiva è stata individuata la presenza di tre strutture anticicloniche, S1, S2 ed S3 in corrispondenza delle quali sarà osservata la distribuzione della produzione primaria come stimato dal nuovo modello PhytoVFP.

12.2. Setup del modello

Per effettuare le stime di produzione primaria il modello è stato applicato nella configurazione 1, nell'area in figura 12.3-1 (4.6° - 8.6°E e 36.6° - 41°N), utilizzando come dati di *input* quelli riportati in tabella 12.2-1.

Tab.12.2-1:Caratteristiche e sorgenti dei file e dei parametri di *input*

Input	Sorgente
Clorofilla-a superficiale con risoluzione spaziale di 1Km	Dati SeaWiFS
Profili di temperatura con risoluzione spaziale di 4 km	Modello NEMO-OPA
Condizioni meteo (Direzione, velocità del vento e copertura nuvolosa)	ERA-INTERIM ECMWF
Φ_e (efficienza di trasferimento elettronico) = 0.125 β (indice di fotoinibizione) = 0.154	Analisi di sensibilità (capitolo 9)

12.3. Risultati

I risultati del modello in configurazione 1 sono stati utilizzati per analizzare la distribuzione della produzione primaria durante le giornate del 21 e del 26/03/03.

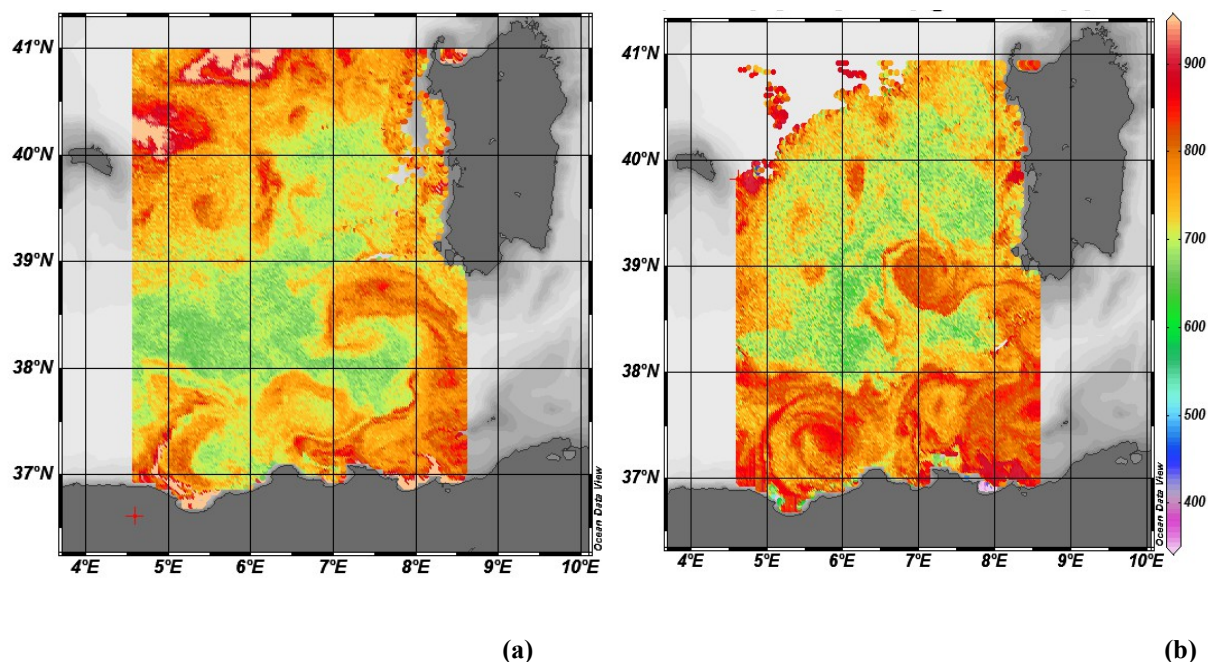


Fig.12.3-1: Mappe di distribuzione della produzione primaria ($\text{mgCm}^{-2}\text{giorno}^{-1}$) calcolata con il nuovo modello in configurazione 1 per i giorni 21/03/03 (a) e 26/03/03 (b).

La produzione primaria stimata ha mostrato valori compresi tra 211.42 e 957.96 $\text{mgCm}^{-2}\text{giorno}^{-1}$ durante il 21/03 e tra 257.55 e 945.56 $\text{mgCm}^{-2}\text{giorno}^{-1}$ durante la giornata del 26/03.

La distribuzione della produzione non è omogenea in tutta l'area, i valori più alti in entrambi i casi sono stati ottenuti al di sotto di 38°N . Ma valori elevati si sono riscontrati anche nella parte nord occidentale come visibile particolarmente in figura 12.3-1 (a). Nel mar di Sardegna, area in cui sono stati stimati i valori mediamente più bassi, si evidenzia la presenza di una zona ad alta produzione con valori comparabili a quelli stimati lungo le coste algerine. In generale i valori più elevati si riscontrano comunque in corrispondenza delle aree in cui è stata ipotizzata la presenza delle strutture a mesoscala S1, S2 e S3.

Nelle figure 12.3-2 e 12.3-3 si evidenzia in dettaglio la distribuzione della produzione primaria in corrispondenza delle tre strutture.

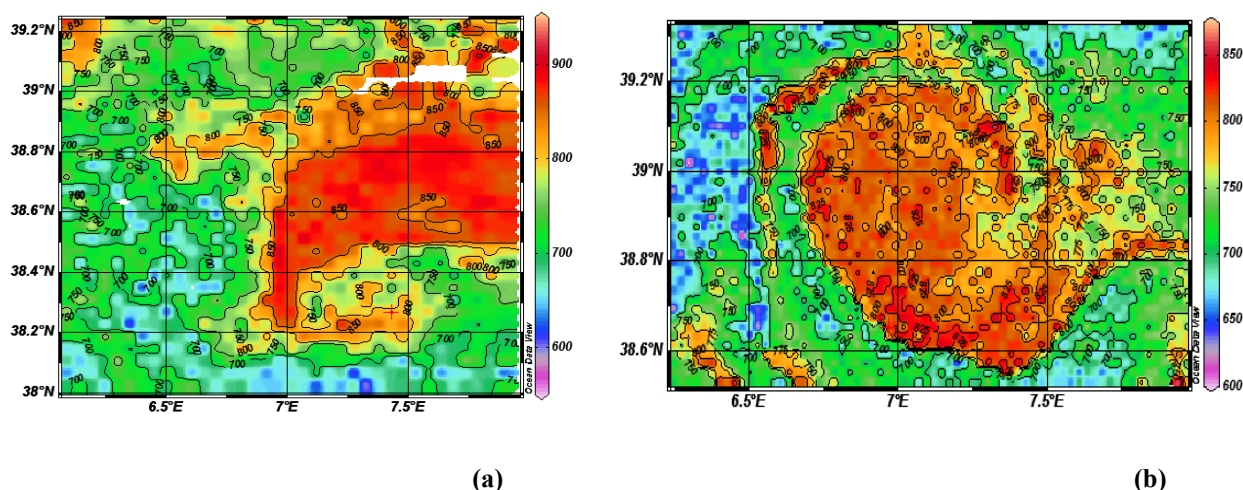


Fig.12.3-2: Mappe di distribuzione della produzione primaria ($\text{mgCm}^{-2}\text{giorno}^{-1}$) calcolata con il nuovo modello in configurazione 1 in corrispondenza della zona di convergenza S1 il 21/03/03 (a) ed il 26/03/03 (b).

In corrispondenza della zona di convergenza S1 descritta nelle mappe di MADT (fig.12.1-1), si notano valori di produzione primaria più alti ($\sim 800 \text{ mgCm}^{-2}\text{giorno}^{-1}$) rispetto a quelli stimati nell'area circostante ($\sim 700 \text{ mgCm}^{-2}\text{giorno}^{-1}$).

Durante il 21/03 (Fig.12.3-2 a) vengono stimati valori più elevati di produzione primaria rispetto a quelli del 26/03 (Fig.12.3-2 b), con picchi superiori a $850 \text{ mgCm}^{-2}\text{giorno}^{-1}$.

Il 26/03, i valori di produzione primaria sono alti soprattutto lungo il bordo che delimita la struttura, anche se valori elevati di produzione si riscontrano in alcune zone della parte occidentale del *core*. Inoltre è da notare, che dei filamenti, con alte concentrazioni di PP ($800 \text{ mgCm}^{-2}\text{giorno}^{-1}$)

tendono a spostarsi nella parte esterna della struttura.

Valori alti di produzione primaria sono stati stimati anche a livello degli AEs costieri S2 ed S3.

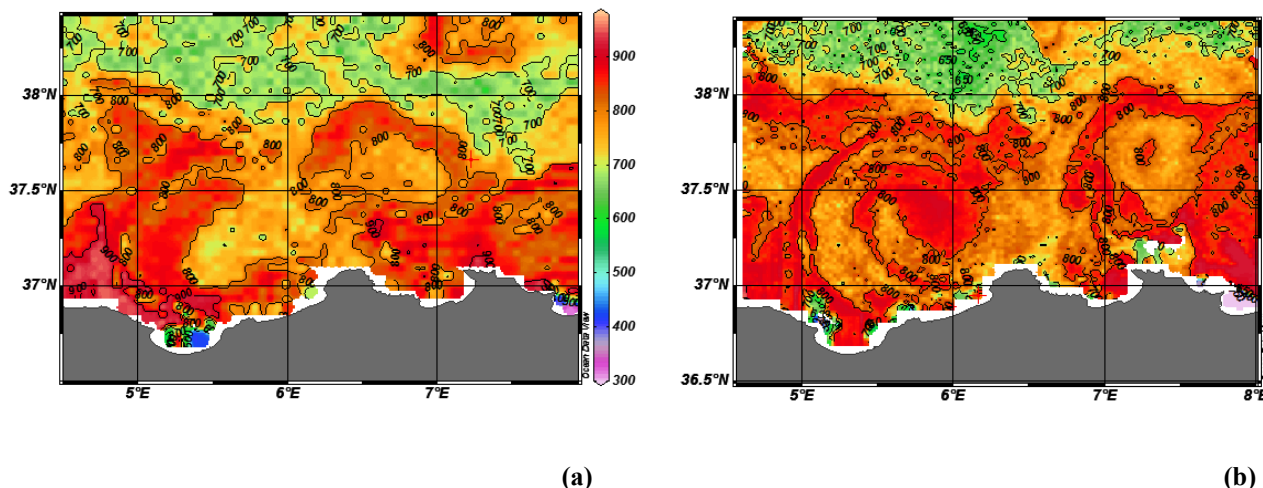


Fig.12.3-3: Mappe di distribuzione della produzione primaria ($\text{mgCm}^{-2}\text{giorno}^{-1}$) calcolata con il nuovo modello in configurazione 1 in corrispondenza degli AEs costieri S2 ed S3 il 21/03/03 (a) e il 26/03/03 (b).

In figura 12.3.-3 si nota come la concentrazione di produzione primaria sia elevata sui bordi delle due strutture anticicloniche dove le masse d'acqua presentano una temperatura più bassa. Picchi di $900 \text{ mgCm}^{-2}\text{giorno}^{-1}$ sono raggiunti il 21/03/03 mentre il 26/03/03 non vengono superati gli $800 \text{ mgCm}^{-2}\text{giorno}^{-1}$. La struttura S2, formatesi tra 5° e 6°E appare delimitata da due masse d'acqua più produttive.

Il vortice S3 invece si sposta verso est e mostra un *hotspot* di produzione al centro della struttura.

12.3.1. Distribuzione delle variabili che influenzano la produzione primaria

Per comprendere i risultati ottenuti è stato analizzato il comportamento delle variabili che contribuiscono alla stima della produzione primaria: la biomassa efficiente ed il tasso fotosintetico.

In figura 12.3.1-1 è riportata la distribuzione della biomassa efficiente stimata dal modello in corrispondenza della struttura S1.

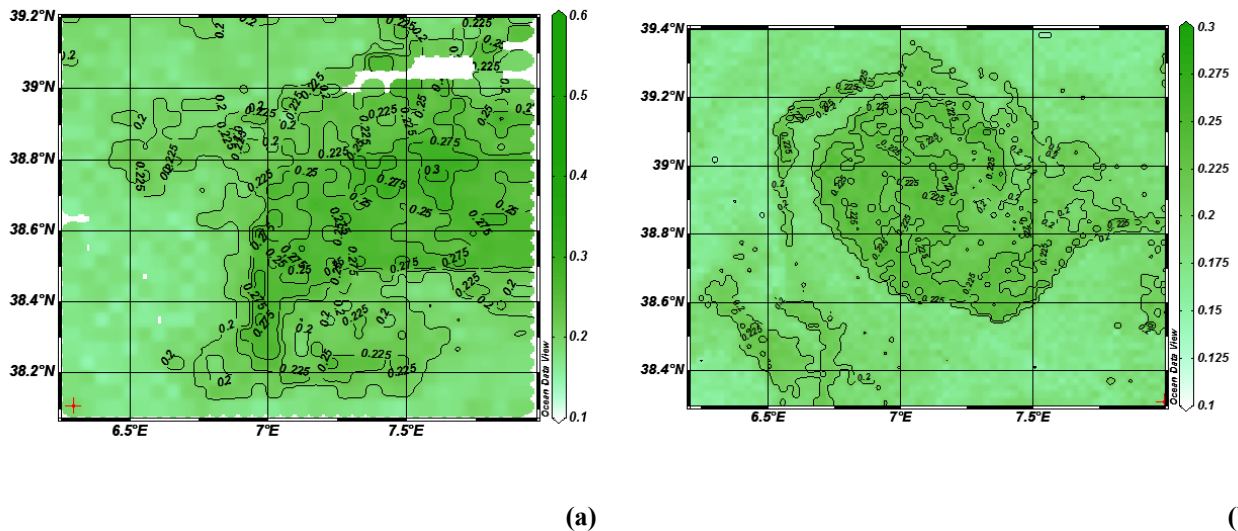


Fig.12.3.1-1: Mappe di distribuzione della biomassa efficiente media nella colonna d'acqua (mg m^{-3}) stimata dal modello in corrispondenza della zona di convergenza S1 il 21/03/03 (a) ed il 26/03/03 (b).

Dal confronto tra le mappe (a) e (b) della figura 12.3.1-1 emerge una diminuzione della biomassa efficiente dal 21/03 al 26/03 che è maggiormente evidente rispetto a quella della produzione primaria (figura 12.3.1-2 a).

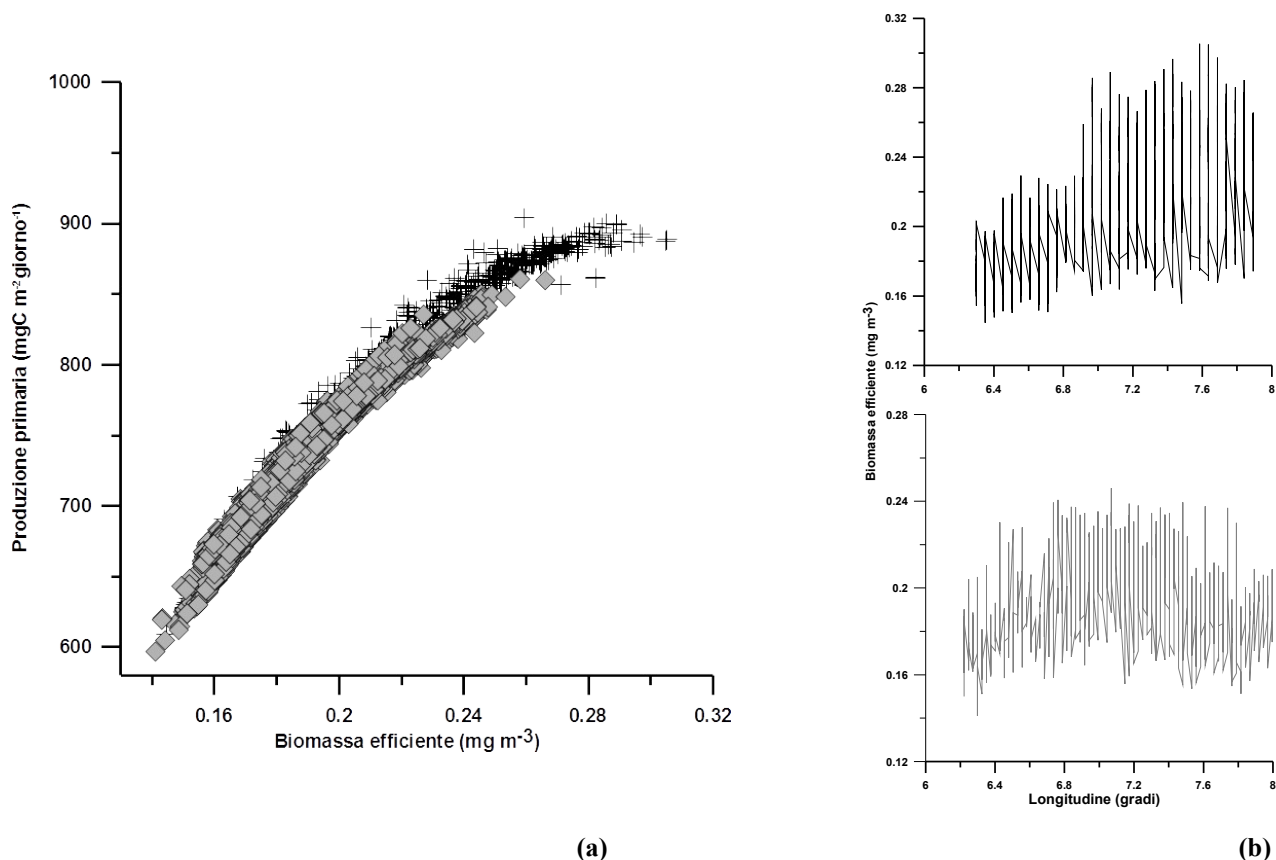


Fig.12.3.1-2: *Scatter-plot* tra la biomassa efficiente media nella colonna d'acqua (mg m⁻³) e la produzione primaria (mgC m⁻²giorno⁻¹) per il 21/03/03 (croci nere) ed il 26/03/03 (rombi grigi) (a); andamento della biomassa efficiente media (mg m⁻³) con la longitudine il 21/03/03 (linea nera) ed il 26/03/03 (linea grigia) (b) in corrispondenza della zona di convergenza S1.

La produzione primaria aumenta all'aumentare della biomassa efficiente ma non in modo lineare, infatti oltre la concentrazione media di 0.25 mg m⁻³ la relazione che lega le due variabili si appiattisce.

E' stata osservata anche la variazione della concentrazione di biomassa efficiente all'interno di una sezione longitudinale che intercetta la struttura (figura 12.3.1-2 (b)) nei due giorni d'indagine. Dal confronto tra il 21/03 e il 26/03 emerge che i valori di biomassa efficiente sono comparabili fino a circa 7°E. Procedendo verso est si osserva invece che durante il 21/03 la concentrazione di biomassa efficiente aumenta mentre il 26/03 diminuisce.

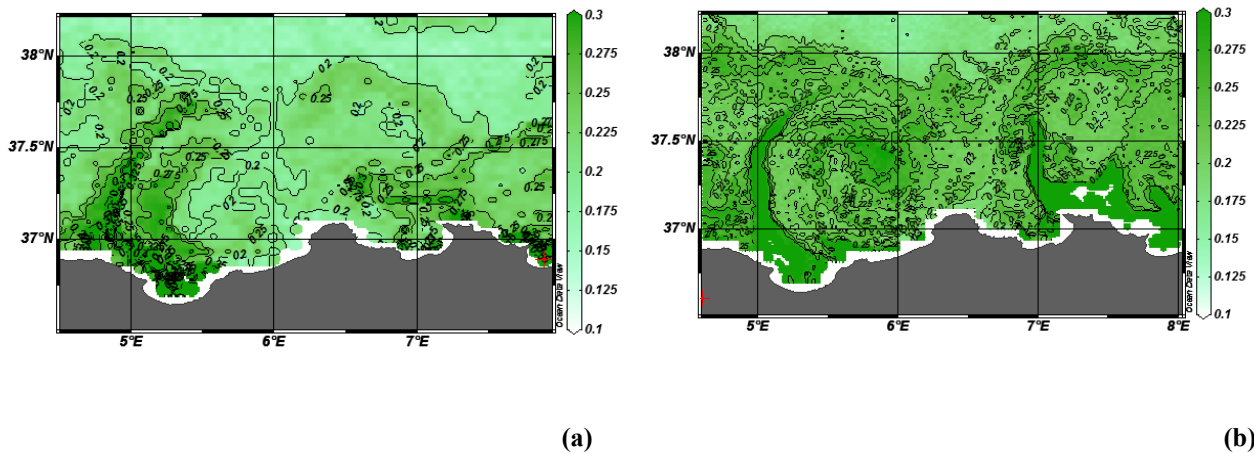


Fig.12.3.1-3: Mappe di distribuzione della biomassa efficiente media nella colonna d'acqua (mgm^{-3}) dal modello in corrispondenza degli AEs costieri S2 ed S3 il 21/03/03 (a) ed il 26/03/03 (b).

Il confronto tra le concentrazioni di biomassa efficiente in corrispondenza degli AEs costieri (S2 e S3) non mostra grandi differenze quantitative tra il 21/03 ed il 26/03, mentre cambia la distribuzione .

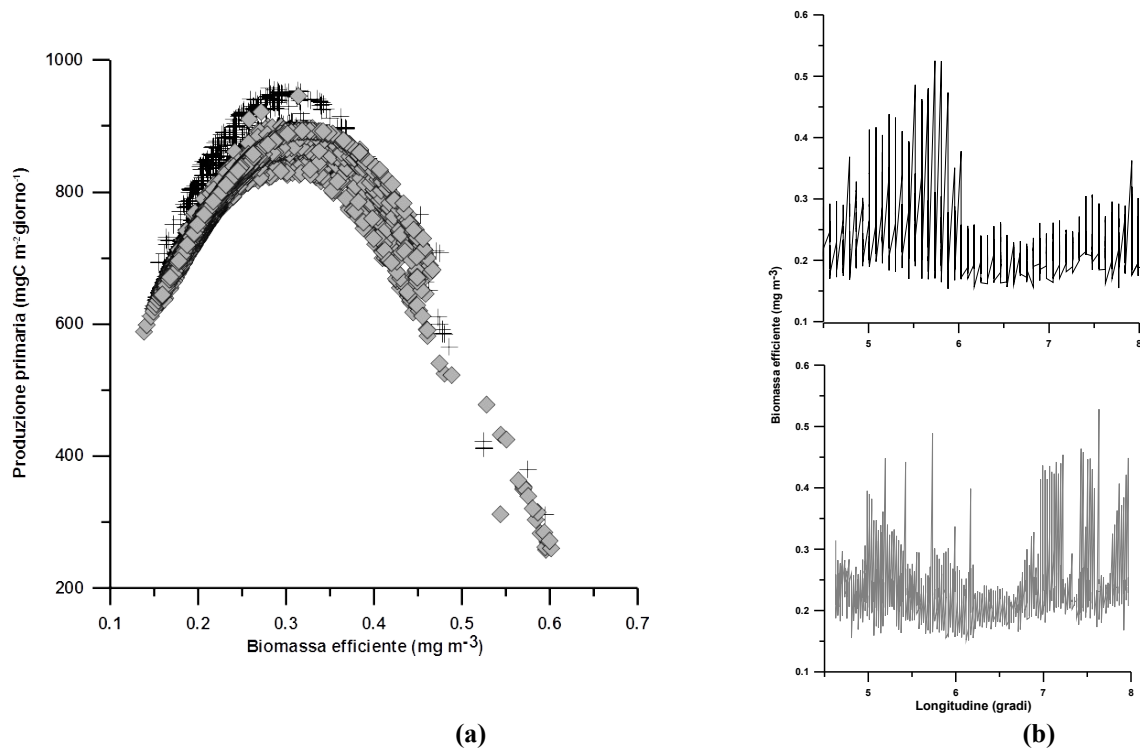


Fig.12.3.1-4: Scatter-plot tra la biomassa efficiente media (mgm^{-3}) e la produzione primaria ($\text{mgC m}^{-2}\text{giorno}^{-1}$) per il 21/03/03 (croci nere) ed il 26/03/03 (rombi grigi) (a); andamento della biomassa efficiente media (mg m^{-3}) con la longitudine il 21/03/03 (linea nera) ed il 26/03/03 (linea grigia) (b) a livello degli AEs costieri S2 ed S3.

La produzione primaria aumenta all'aumentare della biomassa efficiente (grafico a Fig.12.3.1-4)

solo nel primo tratto, raggiunto un valore massimo, infatti, comincia a diminuire a causa dell'assorbimento della PAR da parte della clorofilla-a e della feofitina. Non emerge una differenza nella concentrazione di biomassa efficiente tra i due giorni analizzati; al contrario si riscontra una variazione con la latitudine che mostra durante il 26/03 un segnale netto di aumento di biomassa intorno ai due AEs. Il 21/03 invece è evidenziato un solo picco in corrispondenza del confine occidentale di S2. Infatti dopo i 6°E il segnale di concentrazioni di biomassa efficiente diminuisce e non mostra l'aumento che invece è visibile il 26/03.

I risultati di biomassa efficiente ottenuti dalle simulazioni del modello sono molto vicini quantitativamente a quelli acquisiti *in situ* durante la campagna MedGOOS 6, come è possibile osservare dalla figura 12.3.1-5

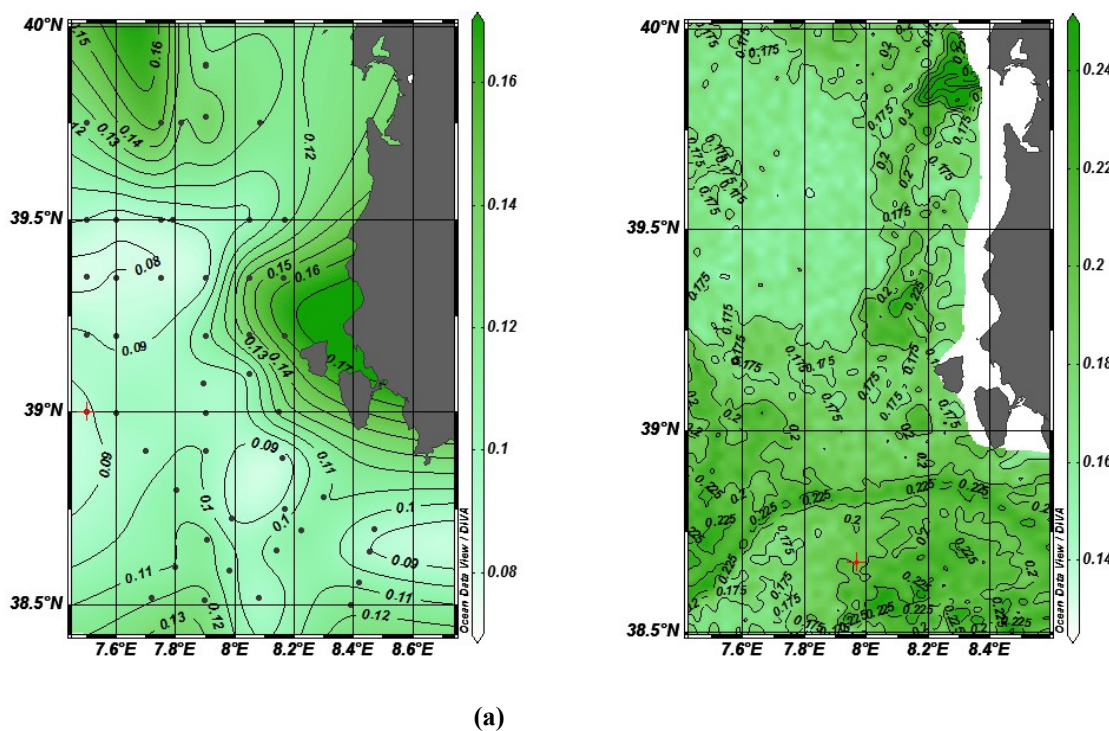


Fig.12.3.1-5: Mappe di la biomassa efficiente media (mg m^{-3}) acquisite con la sonda PrimProd1.08 durante la campagna MedGOOS 6 (i punti neri rappresentano le stazioni i campionamento) (a) e stimata dal modello durante il 26/03/03 (b).

La mappa riportata in figura 12.3.1-5 (a) è stata costruita utilizzando i profili acquisiti durante tutto l'arco della campagna, mentre quella in figura 12.3.1-5 (b) è stata simulata, dal blocco 3 del modello in configurazione 1, utilizzando tutti i dati di *input* relativi al giorno di interesse.

Al di la degli alti valori riscontrati in entrambe le mappe subito a sud di 39.5°N a ridosso della

zona costiera, e della vicinanza in termini quantitativi assoluti tra stime e misure, le distribuzioni di biomassa efficiente misurata e stimata non sono in accordo.

In generale quindi la stima della produzione primaria attraverso il modello PhytoVFP, come descritto dai paragrafi precedenti e visto nelle figure 12.3.1-3 e 12.3.1-4, non è direttamente correlata con la biomassa efficiente ma è anche influenzata dal tasso fotosintetico.

Poiché il modello calcola il profilo di PAR tenendo conto della concentrazione di clorofilla -a (Morel, 1991) e della feofitina (D'Ortenzio *et al.*, 2002), all'aumentare della concentrazione di biomassa efficiente, il tasso fotosintetico, diminuisce, poiché si riduce la PAR disponibile per la fotosintesi.

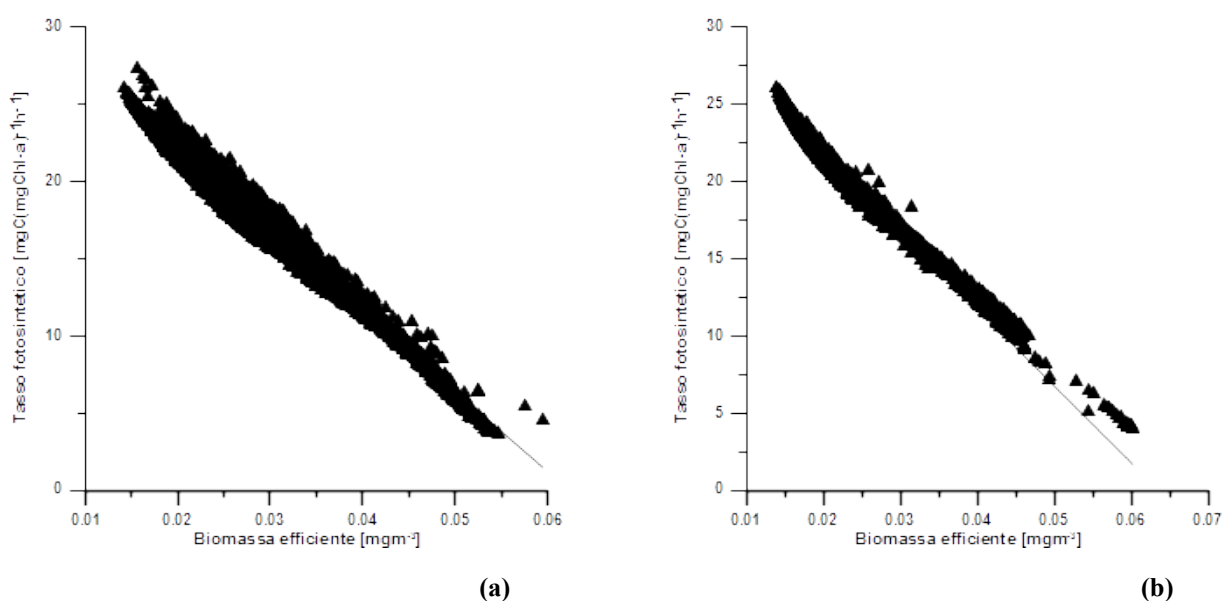


Fig.12.3.1-6: Scatter plots tra i valori di biomassa efficiente media (mgm^{-3}) ed il tasso fotosintetico medio ($\text{mgC}(\text{mgChl-a})^{-1}\text{h}^{-1}$) nei giorni 21/03/03 (a) e 26/03/03 (b).

Il valore del tasso fotosintetico a sua volta è influenzato dalle condizioni di mescolamento e stratificazione della colonna d'acqua come descritto nel capitolo 9. A parità di concentrazione di biomassa efficiente, infatti, il valore del tasso fotosintetico dipende dalla scelta dei parametri fisiologici, ovvero dalla presenza o meno delle condizioni che consentono la fotoacclimatazione degli organismi fitoplanctonici (capitolo 9). In figura 12.3.1-6 è mostrata la localizzazione delle aree dove la colonna d'acqua è stata classificata mescolata e dove stratificata durante le giornate prese in esame.

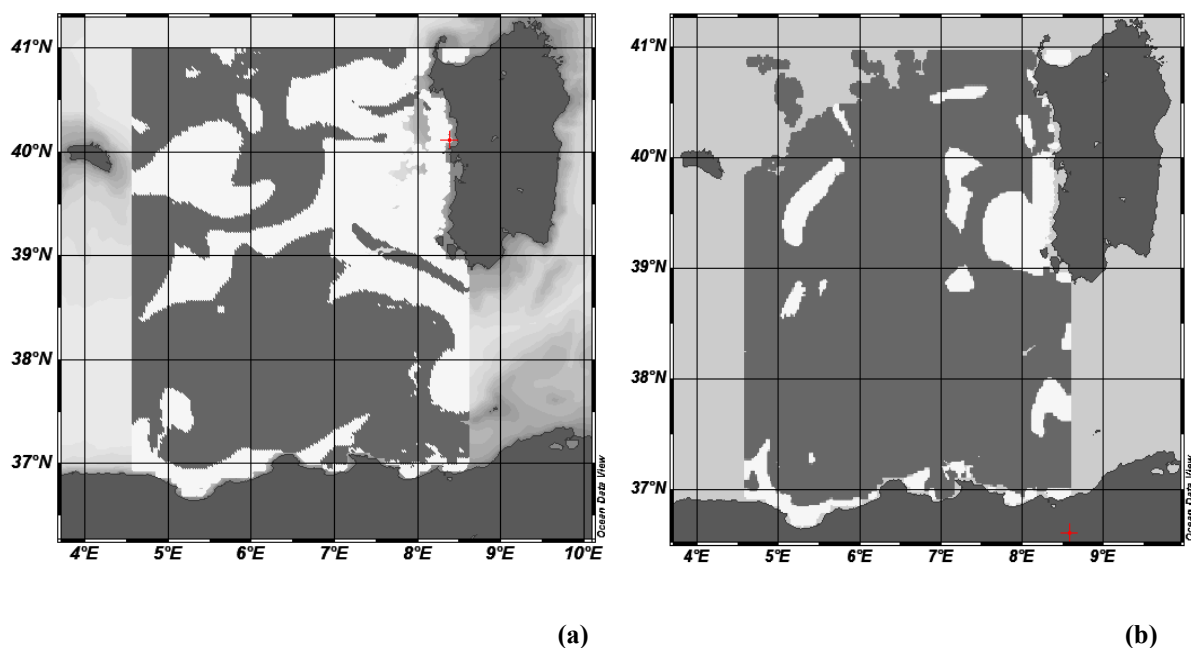


Fig.12.3.1-6: Localizzazione delle aree con colonna d'acqua mescolata (aree bianche) e stratificata (aree grigie) durante il 21/03(a) e il 26/03 (b).

In figura 12.3.1-6 (a) si osserva la presenza di ampie zone in cui la colonna d'acqua risulta essere mescolata, anche a ridosso delle tre strutture fisiche prese in esame. Durante il 26/03 (fig. 12.3.1-6 b) invece le zone considerate stratificate sono decisamente superiori. Queste differenze nella stratificazione della colonna d'acqua tra i due giorni, ha un'influenza diretta sulla stima della produzione primaria poiché modula la simulazione del comportamento fisiologico degli organismi fitoplanctonici da parte del modello.

12.4. Discussione

Dalle simulazioni effettuate nei giorni 21/03/03 e 26/03/03, con il modello in configurazione 1, sono stati ottenuti valori di produzione primaria confrontabili con quelli misurati da Estrada *et al.* (1993) (medie annuali) e Diaz *et al.* (2000) (medie mensili) tramite il metodo del ^{14}C nella parte nord. Anche nella parte sud i valori calcolati dal modello sono molto vicini a quelli misurati *in situ* da Moutin e Raimbault (2002) durante i mesi di maggio e giugno. I dati mostrano la medesima distribuzione con valori elevati a sud ($\sim 900 \text{ mgCm}^{-2}\text{giorno}^{-1}$) e valori più bassi nella zona centrale. Questi valori fanno riferimento a medie mensili ed annuali mentre le simulazioni effettuate, sono specifiche per giorni scelti appositamente per la presenza di strutture che modulano il processo di

produzione, determinando localmente ed episodicamente valori elevati di produzione primaria per il Mediterraneo (Lohrenz *et al.*, 1988a, 1988b; Arnone *et al.*, 1990; Martinez *et al.*, 1990; Raimbault *et al.*, 1993).

Durante i giorni presi in esame nelle simulazioni, 21/03 e 26/03/03, sono state individuate, dalla distribuzione di MADT e della temperatura superficiale, tre strutture anticicloniche, denominate S1 S2 ed S3. In corrispondenza di queste strutture è stata analizzata nel dettaglio la distribuzione della produzione primaria. La struttura S1, un AE di mare aperto, individuato nel mar di Sardegna a circa 39°N, si sposta verso ovest dal 21/03 al 26/03 e rappresenta la zona più produttiva dell'area con valori medi di ($\sim 800 \text{ mgCm}^{-2}\text{giorno}^{-1}$). La produzione mediamente diminuisce dal 21/03 al 26/03 cambiando la sua distribuzione spaziale. Durante 26/03, a differenza del 21/03, i valori più elevati sono stati stimati in corrispondenza del bordo della struttura e in parte, nella zona occidentale del *core*. Questa distribuzione può essere spiegata considerando che in corrispondenza del *core* delle zone di convergenza, si ha una discesa di acqua superficiale in profondità ed un approfondimento del termoclino. Di conseguenza, sui bordi dell'anticiclone si avrà una risalita di acque profonde ed un termoclino più superficiale rispetto a quello della zona centrale. Questo determina da una parte un aumento della concentrazione di nutrienti nella colonna produttiva dei bordi dell'anticiclone, dovuto alla risalita delle acque profonde. In questo periodo dell'anno la profondità dello strato mescolato, determinato da un termoclino più superficiale, risulta inferiore rispetto a quella del centro del *core* e soprattutto inferiore alla profondità critica, ovvero la profondità alla quale la produzione primaria totale giornaliera, integrata per l'intera colonna d'acqua, equivale ai costi respiratori giornalieri della comunità (Sverdrup, 1953). In queste condizioni il fitoplancton può sostenere una produzione primaria netta fintantoché i nutrienti sono disponibili (Falkowski e Raven 1997), con valori più elevati di produzione sui bordi rispetto alla zona centrale soprattutto in condizioni di stratificazione (Taupier-Letage *et al.* 2003).

I risultati delle simulazioni hanno tuttavia mostrato alti valori di produzione anche nella parte occidentale del *core*. Dall'osservazione dell'evoluzione della struttura dal 21/03 al 26/03, si è però potuto notare che la concentrazione biomassa efficiente era diminuita soprattutto nella zona centrale (Fig.12.3.1-1). Il 21/03 quindi, la produzione primaria ha cominciato ad aumentare e la biomassa prodotta a distribuirsi lungo i bordi della struttura fisica. Tra il 21 e il 26/03 la biomassa prodotta si è spostata verso il centro della struttura, aumentando la sua concentrazione, allontanandosi dalla zona più produttiva. Si può quindi ipotizzare che la produzione, a livello del *core*, sia operata da

organismi fitoplanctonici derivanti dal processo produttivo che in precedenza si è riscontrato lungo i bordi. E' plausibile che questi organismi siano in parte senescenti, come confermato dalla diminuzione di biomassa efficiente, e di conseguenza, la produzione primaria nel *core* è destinata a diminuire. Nuova produzione avviene invece a livello dei filamenti dove la biomassa efficiente mostra valori più elevati.

Le altre due strutture, S2 ed S3, sono degli AEs costieri individuati in corrispondenza della AC dove interagiscono con le coste, inducono segnali biologici e determinano una striscia altamente produttiva lungo la costa algerina. Questa striscia, che comincia in prossimità di 0° e termina a 9°E, è stata individuata e simulata adeguatamente dal modello PhytoVFP, che ha mostrato valori in linea con le medie annuali di produzione primaria ottenute da CZCS (*Coastal Zone Color Scanner Experiment*) (Antoine *et al.*, 1995). In corrispondenza di S2 ed S3 durante il 21/03, si possono osservare due bracci produttivi tra 5° e 6°E con una concentrazione di biomassa efficiente elevata. Questi ultimi, si estendono intorno a tutta la struttura il 26/03. In questo caso si tratta di nuova produzione, come confermato dalla biomassa efficiente che non diminuisce, ma aumenta insieme alla produzione primaria sui bordi delle strutture dal 21/03 al 26/03 (Fig. 12.3.1-3 e 12.3.1.-4). Oltre 7°E, il 26/03 si ha inoltre un aumento di produzione primaria intorno ad un AE il cui effetto non era ancora visibile il 21/03/03.

Il modello PhytoVFP nella sua nuova versione si è dimostrato in grado di descrivere le interazioni fisico-biologiche che avvengono nel mar Mediterraneo occidentale, integrando informazioni sulla fisiologia del fitoplancton, alle caratteristiche della colonna d'acqua che contribuiscono a determinarle.

La configurazione 1 del modello rappresenta un notevole passo avanti permettendo di ottenere una visione sinottica della distribuzione della produzione primaria.

La distribuzione della produzione primaria è influenzata dalla relazione tra biomassa efficiente e tasso fotosintetico. Questa è inversa a causa della riproduzione dell'effetto dell'assorbimento della luce da parte di clorofilla-a e feofitina sul profilo di PAR (*self-shading*) (Fig. 12.3.1.6). Il *self-shading* rappresenta un limite alla crescita massima di biomassa che può essere raggiunta nella colonna d'acqua (Steemann-Nielsen, 1962; Lorenzen, 1972; Talling *et al.*, 1973) ed in questo lavoro è stato tenuto in conto introducendo la formulazione di Morel (1991) e la relazione empirica proposta da D'Ortenzio *et al.* (2002). La relazione che lega il coefficiente di attenuazione dell'irradianza alla concentrazione di clorofilla-a è ottenuta mediante l'utilizzo di valori tabellati

calcolati da Morel (1988). Questa è ritenuta tutt'ora valida poiché derivata da un gran numero di campionamenti *in situ*. Tuttavia la stima di coefficiente di attenuazione idoneo alle caratteristiche ottiche della colonna d'acqua in cui viene calcolata la produzione permetterebbe di ottenere stime di produzione primaria ancora più attendibili, soprattutto quando si vuole fare un'indagine a livello di processo.

PARTE IV

CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI

13 - Conclusioni e sviluppi futuri

In questo lavoro è stato messa a punto una nuova versione del modello PhytoVFP mediante l'introduzione di due moduli di calcolo: “fotoacclimatazione e dinamica della colonna d'acqua” e “stima del profilo di biomassa efficiente”. Il nuovo modello può essere utilizzato in due configurazioni, la configurazione 1, che utilizza in *input* dati telerilevati ed ottenuti da modelli globali e la configurazione 2 che utilizza dati *in situ*.

L'introduzione del modulo “fotoacclimatazione e dinamica della colonna d'acqua” ha permesso di tener conto, nel calcolo della produzione primaria, del processo di fotoacclimatazione, fondamentale nella fisiologia del fitoplancton, ma non adeguatamente riprodotto dagli altri modelli (Bruyant *et al.*, 2005; Geider *et al.*, 1998; Zonneveld, 1997). Nello specifico il processo è stato simulato calcolando il valore dei parametri fotosintetici, descrittori della curva PE, a seconda delle condizioni dinamiche della colonna d'acqua (stratificazione o mescolamento), dell'intensità della PAR e della loro variazione circadiana, a partire dai risultati di esperimenti condotti su *Skeletonema costatum*. Il modello integrato da questo modulo è stato sottoposto ad analisi di sensibilità, ottimizzazione e validazione dei risultati con valori misurati (metodo ^{14}C) ed ottenuti dal modello di Morel (1991). Queste analisi sono state condotte utilizzando i dati acquisti in due campagne oceanografiche SAMCA3 e SAMCA 4 durante le quali la produzione primaria è stata misurata analiticamente utilizzando il metodo di assimilazione di ^{14}C (Steemann e Nielsen, 1952). L'analisi di sensibilità è stata condotta sui parametri β , che rappresenta l'indice di fotoinibizione della curva PE, e Φ_e , ovvero l'efficienza di trasferimento elettronico da H_2O a CO_2 . L'ottimizzazione dei risultati del modello è stata effettuata valutando l'Errore Assoluto Medio (MAE) rispetto alle misure di ^{14}C al variare dei due parametri. Dai risultati ottenuti è emerso che i valori ottimali da assegnare ai due parametri nelle acque di caso I è pari a $0.154\text{mgC}\cdot(\text{mgChla})^{-1}\text{h}^{-1}\text{W}^{-1}\text{m}^2$ per β e 0.125 per Φ_e , valore molto vicino a quelli misurati in popolazioni naturali (Bannister e Weidemann, 1984). Inoltre l'errore associato alla stima viene ridotto, pur rimanendo sempre superiore a quello per le acque di caso I,

anche nelle acque di caso II, se viene scelto in modo opportuno il valore da assegnare a tali parametri. I valori ottimali in questo caso sono risultati essere $0.0018 \text{ mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ W}^{-1} \text{ m}^2$ per β e 0.05 per Φ_e suggerendo un effetto del fenomeno della fotoinibizione molto meno marcato, rispetto alle acque di caso II, dovuto all'assorbimento della luce da parte delle altre componenti otticamente attive nella colonna d'acqua oltre al fitoplancton (CDOM e detrito).

La validazione, effettuata settando i parametri del modello come ottenuto dall'ottimizzazione, ha mostrato una buona correlazione tra i dati stimati e quelli misurati ($R^2 = 0.808923$). Le differenze maggiori sono emerse nelle stime effettuate nelle stazioni mescolate, in cui i valori stimati dal modello risultano essere inferiori a quelli misurati con il ^{14}C . Questa discrepanza può essere spiegata considerando che le misure effettuate con il metodo del ^{14}C possono mostrare un errore dovuto al fenomeno di fotoacclimatazione. Durante l'analisi il popolamento può fotoacclimatarsi a alla luce di incubazione (*enclosure effect*) (Gieskes and Kraay, 1984), mostrando dei valori di produzione, soprattutto quando la velocità di *mixing* è superiore a quella di fotoacclimatazione (Cermeno *et al.* 2005; Moran *et al.* 2001; Moran e Estrada 2005), superiori a quelli che si otterrebbero in condizioni naturali.

Le modifiche apportate hanno permesso di migliorare le *performace* del modello, come dimostrato dalla minore correlazione esistente tra le stime effettuate dalla vecchia versione del modello e le misure di ^{14}C ($R^2 = 0.54739$ modello eliofilo e $R^2 = 0.689022$ modello sciafilo), rispetto a quelle ottenute con la nuova versione.

I risultati del modello sono stati anche confrontati con quelli di uno dei modelli bio-ottici più utilizzati (Morel, 1991), mostrando una stretta correlazione sia tra i valori di produzione primaria puntuali ($R^2 = 0.895287$) che tra quelli integrati nella colonna d'acqua ($R^2=0.9294$). Le differenze emergono quando si confrontano i profili lungo la colonna d'acqua, in condizioni di mescolamento, i valori stimati dal PhytoVFP sono sempre maggiori tranne che in superficie rispetto a quelli stimati dal modello di Morel. I valori più bassi in superficie sono dati dall'effetto combinato dell'indice di fotoinibizione β e dalla scelta di parametri fotosintetici tipici di un popolamento sciafilo. A profondità più elevate, invece, il popolamento sciafilo è in grado di produrre più di un popolamento eliofilo che mostra, per stessi valori di PAR, tasso fotosintetico inferiore. Questo comportamento è quindi simulato adeguatamente dal modello PhytoVFP mentre non è riprodotto dal modello di Morel. Quando la colonna d'acqua è stratificata, il comportamento invece non è univoco ma, nelle stazioni poco profonde, il modello PhytoVFP stima una produzione più elevata mentre il contrario

avviene nelle stazioni profonde. Nelle stazioni profonde l'estinzione della luce con la profondità, fa sì che il modello simuli lungo la verticale la fotoacclimatazione in condizioni di illuminazione differente. Nelle stazioni poco profonde invece, la luce resta elevata fino alla massima profondità. In quest'ultimo caso il popolamento sarà considerato dal modello interamente eliofilo, mostrando valori elevati di produzione, più di quanto non faccia il modello di Morel che non simula la fotoacclimatazione.

Il secondo modulo integrato nel modello permette di stimare la biomassa efficiente a partire da dati telerilevati e provenienti da modelli globali. L'utilizzo, nel computo della produzione primaria, della biomassa efficiente consente di considerare la porzione di popolamento effettivamente produttiva poiché, oltre alla concentrazione di clorofilla-a considera il rapporto di fluorescenza variabile F_v/F_{max} , che rappresenta una misura dell'efficienza di conversione fotochimica della luce nei centri di reazione aperti e della frazione di centri di reazione del PSII funzionanti (Kolber *et al.*, 1988, 1990). Per la stima del profilo di biomassa efficiente è stata messa a punto una rete neurale artificiale. Questo tipo di approccio, già risultato ottimale nella modellizzazione di processi ecologici (Scardi, 1996; Lek *et al.*, 1996), si è dimostrato in grado anche di riprodurre i profili di biomassa in modo accurato. E' stata messa a punto una rete di tipo *feed-forward* con una topografia 10-30-20. L'addestramento è stato effettuato utilizzando 250 profili di biomassa efficiente acquisiti durante 8 campagne condotte dal 2002 al 2006 dal Laboratorio di Oceanologia sperimentale ed Ecologia Marina dell'Università della Tuscia. Il *dataset* è stato suddiviso in tre gruppi: *training set*, *validation set* e *test set*. Il numero di *input* e la tipologia di funzioni di attivazione da utilizzare sono stati scelti sulla base dei confronti effettuati tra profili stimati e profili reali appartenenti al *set di validazione*. La rete ha una buona capacità di generalizzazione dimostrata dalla buona correlazione, nel *test set*, in cui sono stati utilizzati come *input* solo dati telerilevati e modellati, tra valori stimati e misurati ($R^2=0.900128$), molto simile a quella ottenuta nel *training set* ($R^2=0.922998$).

L'integrazione di questo modulo ha permesso al modello PhytoVFP di compiere un notevole passo avanti poiché, in questo modo è stato reso applicabile anche allo studio del processo di produzione primaria a meso e macro scala.

La configurazione 1, che integra entrambi i moduli, è stata infine testata effettuando un'applicazione per lo studio delle interazioni fisico-biologiche nel bacino algero-provenzale. Questa zona è caratterizzata da fenomeni fisici a mesoscala che hanno un effetto diretto sulla componente biologica prima fra tutti sulla produzione primaria fitoplanctonica (Robinson, 1983;

Taupier-Letage, 1988; Arnone e La Violette, 1986; Arnone *et al.*, 1990; Morel e André, 1991; Taupier-létage *et al.*, 2003). A livello delle strutture fisiche individuate nei giorni in cui sono state effettuate le simulazioni, il modello ha stimato dei valori in linea con misure di ^{14}C condotte nella stessa zona (Estrada *et al.*, 1993; Diaz *et al.* 2000; Moutin e Raimbault, 2002). Il modello PhytoVFP, nella sua nuova versione, si è dimostrato in grado di descrivere le interazioni fisico-biologiche che avvengono nel mar Mediterraneo occidentale, integrando le informazioni sulla fisiologia del fitoplancton, alle caratteristiche della colonna d'acqua che contribuiscono a determinarle.

La struttura a blocchi delle due configurazioni finali del modello permette di comprendere facilmente dove si può agire per migliorare la stima della produzione, poiché tutte le relazioni tra le diverse componenti sono chiare. Le stime di produzione primaria del nuovo modello possono essere ancora migliorate agendo su diversi punti del modello.

Innanzitutto possono essere introdotte altre misure dei parametri fotosintetici oltre quelle effettuate su *Skeletonema costatum*. Questo organismo è una specie cosmopolita di fitoplancton, e una componente rilevante dei sistemi marini, tra cui il Mediterraneo, dove può dare fioriture quasi monospecifiche, in primavera (Hulburt e Guillard, 1968; Grillini e Lazzara, 1980). Questa specie è quindi un modello ideale, tuttavia per una quantificazione sempre più accurata della produzione primaria sarebbe opportuna una scelta dei parametri fotosintetici in risposta alla composizione della comunità fitoplanctonica, in termini tassonomici e/o in classi di taglia. Il parametro β inoltre potrebbe essere posto variabile in dipendenza della dinamica della colonna d'acqua così come gli altri parametri della curva PE, poiché in condizioni di mescolamento, dove il modello simula una maggiore fotoinibizione a causa dell'effetto combinato tra β e parametri sciafili, in realtà la fotoinibizione non sempre si verifica. Infatti se le cellule sono spostate dalla zona superficiale ad alta irradianza abbastanza rapidamente il processo di fotoinibizione può non verificarsi (Jewson e Wood, 1975; Marra, 1978; Han *et al.*, 2000).

Un altro punto su cui agire sarebbe a livello del blocco di stima del profilo di biomassa efficiente, aumentando il *dataset* a disposizione per il *training* della rete neurale al fine di renderla quanto più possibile generalista ed applicabile a condizioni geografiche e trofiche differenti.

Dall'applicazione del modello per lo studio delle interazioni fisico-biologiche a mesoscala è emerso che una stima di coefficiente di attenuazione idoneo alle caratteristiche ottiche della colonna d'acqua, in cui viene calcolata la produzione, permetterebbe di modulare al meglio la relazione tra tasso fotosintetico e biomassa efficiente e di ottenere stime di produzione primaria più precise,

soprattutto quando si vuole condurre un'indagine a livello di processo.

Per effettuare queste misure supplementari, sarebbe opportuno mettere a punto degli esperimenti in ambiente naturale per verificarne l'evoluzione nel tempo, anche mediante l'utilizzo di mesocosmi che consentano di limitare la dinamica, al mescolamento verticale, e di isolare il comportamento di una precisa *patch* fitoplanctonica.

I risultati ottenuti da questo studio hanno dimostrato quanto sia fondamentale la ricostruzione delle relazioni tra le diverse scale dei meccanismi che agiscono su un determinato processo, quando si ha l'obiettivo di simularlo. E' inoltre emersa la necessità di ampliare gli studi per la comprensione delle relazioni tra fenomeni fisici e biologici che come si è visto sono alla base delle fluttuazioni delle stime di produzione primaria nel tempo e nello spazio.

BIBLIOGRAFIA

- Alados I., Olmo F.J., Foyo-Moreno I., Alados-Arboledas L. (2000).** Estimation of photosynthetically active radiation under cloudy conditions. *Agricultural and Forest Meteorology*, 102, 39 -50.
- André J.-M. (1992).** Ocean color remotesensing and the subsurface vertical structure of phytoplankton pigments. *Deep-Sea Res. I* 39, 763-779.
- Antal T. K., Venediktov P. S., Konev Yu. N., Matorin D. N., Hapter R., Rubin A. B. (1999).** Assessment of vertical profiles of photosynthesis of phytoplankton by fluorescent method. *Oceanologia (Russia)*, 39(2), 314-320.
- Antal T.K., Venediktov P.S., Matorin D.N., Ostrowska M., Wozniak B., Rubin A.B. (2001).** Measurement of phytoplankton photosynthesis rate using a pump-and-probe fluorometer. *Oceanologia (Poland)*, 43(3), 291-313.
- Antoine, D., A. Morel, and J. M. André (1995).** Algal pigment distribution and primary production in the eastern Mediterranean as derived from Coastal Zone Color Scanner observations, *J. Geophys. Res.*, 100, 16,193 – 16,209.
- Antoine, D., and Morel, A. (1996).** Oceanic primary production: 1. Adaptation of a spectral light-photosynthesis model in view of application to satellite chlorophyll observations. *Global biogeochemical cycles*, 10(1), 43-55.
- Arnone, R. A., and La Violette (1986).** Satellite definition of the bio-optical and thermal variation of coastal eddies associated with the African Current, *J. Geophys. Res.*, 91, 2351 – 2364.
- Arnone, R. A., D. A. Wisenburg, and K. D. Saunders (1990).** The origin and characteristics of the Algerian Current, *J. Geophys. Res.*, 95, 1587 – 1598.
- Artegiani, A. Bregant, D. Paschini, E., Pinardi, N., Raichic, F., Russo, A. (1997).** The Adriatic Sea General Circulation. Part II: Baroclinic Circulation Structure. *Journal of Physical Oceanography*, 27:1492-1514.
- Bannister, T. T., and Weidemann, A. D. (1984).** The maximum quantum yield of phytoplankton photosynthesis in situ. *Journal of plankton research*, 6(2), 275-294.
- Banase K. (1987).** Clouds, deep chlorophyll maxima and the nutrient supply to the mixed layer of stratified water bodies. *J Plankton Res* 9:1031-1036.

- Beaugrand, G. (2014).** Pelagic Ecosystems and Climate Change. In *Global Environmental Change* (pp. 141-150). Springer Netherlands.
- Behrenfeld, M. J., and Falkowski P.G. (1997a).** A consumer's guide to phytoplankton primary productivity models. *Limnol Oceanogr*, 42(7), 1479-1491.
- Behrenfeld, M. J., and Falkowski, P. G. (1997b).** Photosynthetic rates derived from satellite-based chlorophyll concentration. *Limnology and oceanography*, 42(1), 1-20.
- Behrenfeld MJ, and Kolber ZS (1999).** Widespread iron limitation of phytoplankton in the south Pacific Ocean. *Science* 283:840–843.
- Behrenfeld, M. J., and Boss, E. (2003).** The beam attenuation to chlorophyll ratio: an optical index of phytoplankton physiology in the surface ocean?. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 50(12), 1537-1549.
- Behrenfeld, M. J., and Boss, E. (2006).** Beam attenuation and chlorophyll concentration as alternative optical indices of phytoplankton biomass. *Journal of Marine Research*, 64(3), 431-451.
- Behrenfeld, M. J., Prasil, O., Babin, M., & Bruyant, F. (2004).** In search of a physiological basis for covariations in light-limited and light-saturated photosynthesis1. *Journal of Phycology*, 40(1), 4-25.
- Behrenfeld, M. J., Boss, E., Siegel, D. A., and Shea, D. M. (2005).** Carbon-based ocean productivity and phytoplankton physiology from space. *Global biogeochemical cycles*, 19(1).
- Berger, A., Loutre, M. F., and Dehant, V. (1989)** Pre-Quaternary Milankovitch frequencies, *Nature*, 342, p. 133, 1989.
- Berrisford, P., Dee, D.P., Fielding, K., Fuentes, M., Kallberg, P., Kobayashi, S., Uppala S.M. (2009).** The ERA-Interim Archive. ERA Report Series, No.1. ECMWF: Reading, UK.
- Bidigare, R. R., Prèzelin, B.B. and Smith, R. C., (1992).** Bio-optical models and the problems of scaling, p. 175-212. In P.G. Falkowski [ed.], *Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea*. Plenum.
- Bonamano S. (2013).** Influenza dei processi dinamici marini sulla distribuzione della produzione primaria fitoplanctonica nel mar di Sardegna. Corso di dottorato di ricerca in “Ecologia e Gestione delle Risorse Biologiche”- XIX CICLO.
- Bonamano S., Stefani C. and Marcelli M. (2013).** Mesoscale biological-physical

interactions in the Sardinian Sea. SISC Climate change and its implications on ecosystem and society. Proceedings ISBN 978-88-97666-08-0. 1: 361-381.

- Boyd P.W., Aiken J., Kolber Z. (1997).** Comparison of radiocarbon and fluorescence based (*pump and probe*) measurements of phytoplankton photosynthetic characteristics in the Northeast Atlantic Ocean. *Mar Ecol Prog Ser* 149:215–226.
- Bosc E., Bricaud A., and Antoine D. (2004).** Seasonal and interannual variability in algal biomass and primary production in the Mediterranean Sea, as derived from 4 years of SeaWiFS observations, *Global Biogeochemical Cycle* (18), GB1005.
- Broecker, W.S., (1982).** Glacial to interglacial changes in ocean chemistry. *Prog. Oceanogr.* 11, 151-197.
- Broecker W.S. and Peng T.H. (1982)** *Traces in the Seas*. Eldigio Press, Lamont-Doherty Geological Observatory.
- Bruyant F., Babin M., Genty B., Prasil O., Behrenfeld M.J., Claustre H., Bricaud A., Holtendorff J., Koblizek M., Dousova H., Partensky F., (2005).** Diel variations in the photosynthetic parameters of *Prochlorococcus* strain PCC9511 : combined effect of light and cell cycle. *Limnol. Oceanogr.*, 50(3), 850-863.
- Campbell, J., D. Antoine, R. Armstrong, K. Arrigo, W. Balch, R. Barber, M. Behrenfeld, R. Bidigare, J. Bishop, M.-E. Carr, W. Esias, P. Falkowski, N. Hoepffner, R. Iverson, D. Kiefer, S. Lohrenz, J. Marra, A. Morel, J. Ryan, V. Vedernikov, K. Waters, C. Yentsch, and J. Yoder, (2002).** Comparison of algorithms for estimating ocean primary production from surface chlorophyll, temperature, and irradiance. *Global Biogeochemical Cycles*, 16, 10.1029/2001GB001444.
- Cariboni, J., Gatelli, D., Liska, R., & Saltelli, A. (2007).** The role of sensitivity analysis in ecological modelling. *ecological modelling*, 203, 167-182.
- Carr, M. E., Friedrichs, M. A., Schmeltz, M., Noguchi Aita, M., Antoine, D., Arrigo, K. R., ... & Yamanaka, Y. (2006).** A comparison of global estimates of marine primary production from ocean color. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 53(5), 741-770.
- Cermeno P., Estevez-Blanco P., Maranon E., Fernandez E., (2005).** Maximum photosynthetic efficiency of size-fractionated phytoplankton assessed by ¹⁴C uptake and fast repetition rate fluorometry. *Limnology and Oceanography*, 50(5): 1438-1446.
- Charlson, R. J., Lovelock, J. E., Andreae, M. O., & Warren, S. G. (1987).** Oceanic phytoplankton, atmospheric sulphur, cloud albedo and climate. *Nature*, 326(6114), 655-661.
- Chavez, F. P., and Barber, R. T. (1987).** An estimate of new production in the equatorial Pacific. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 34(7), 1229- 1243.

- Corno G, Letelier RM, Abbott MR, Karl DM (2006).** Assessing primary production variability in the North Pacific Subtropical Gyre: a comparison of fast repetition rate fluorometry and ^{14}C measurements. *J Phycol* 42:51–60.
- Coste, B., Gostan, J., Minas, H.J., (1972).** Influence des conditions hivernales sur les productions phyto et zooplanctoniques en Méditerranée Nord-Occidentale. I: Structures hydrologiques et distribution de sels nutritifs. *Marine Biology* 18, 320-348.
- Crofts, A. R., and Wraight, C. A. (1983).** The electrochemical domain of photosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Bioenergetics*, 726(3), 149-185.
- Cullen, J.J. (1982).** The deep chlorophyll maximum: comparing profiles of chlorophyll *a*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39: 791-803.
- Cullen, J. J., and Macintyre J. G. (1998).** Behaviour, physiology and the niche of depth-regulating phytoplankton, p. 559–580. In D. M. Anderson, A. D. Cembella, and G. M. Hallegraeff [eds.], *Physiological ecology of harmful algal blooms*. Springer-Verlag.
- de Boyer Montegut, C., Madec, G., Fischer, A. S., Lazar, A., and Iudicone, D. (2004).** Mixed layer depth over the global ocean: An examination of profile data and a profile-based climatology. *Journal of Geophysical Research: Oceans* (1978–2012), 109(C12).
- Denman, K.L. and Marra, J. (1986).** Modelling the time dependent photoadaptation of phytoplankton to fluctuating light. In: *Marine Interfaces Ecohydrodynamics* (ed. J.C. Nihoul). Elsevier, Amsterdam, 341-360.
- Diaz, F., P. Raimbault, P. Conan, (2000).** Small-scale study of primary productivity during spring in a Mediterranean coastal area (Gulf of Lions). *Continental Shelf Research*, 20, 975-996.
- Dickey, T. D. (1991).** The emergence of concurrent high-resolution physical and bio-optical measurements in the upper ocean and their applications. *Reviews of Geophysics*, 29(3), 383-413.
- D'Ortenzio F., Marullo S., Ragni M., Ribera d'Alcalà, Santoleri R. (2002).** Validation of empirical SeaWiFS algorithms for chlorophyll-*a* retrieval in the Mediterranean Sea A case study for oligotrophic seas. *Remote Sensing of Environment* 82: 79–94.
- Dubinsky Z., Falkowski P.G. and Wyman K. (1986).** Light harvesting and utilization by phytoplankton. *Plant. Cell Physiol.* 27: 1335-1349.
- Durand, M. D., and Olson, R. J. (1996).** Contributions of phytoplankton light scattering and cell concentration changes to diel variations in beam attenuation in the equatorial Pacific from flow cytometric measurements of pico-, ultra- and nanoplankton. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 43(4), 891-906.

- Duysens, L.N.M. and Sweers, H.E. (1963).** Mechanism of two photochemical reactions in algae as studied by means of fluorescence. Studies on microalgae and photosynthetic bacteria(ed. H. Tamiya), pp. 353-372.Tokyo Press.
- Eppley, R. W. (1972).** Temperature and phytoplankton growth in the sea. Fish. Bull, 70(4), 1063-1085.
- Eppley R.W. (1980).** Estimating phytoplankton growth rates in the central oligotrophic oceans, [in:]Primary productivity in the sea. P.G.Falkowski(ed.), Plenum Press., New York–London, 231–242.
- Eppley R. W. (1981).** Relations between nutrient assimilation and growth in phytoplankton with a brief review of estimates of growth rate in the ocean. Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences, 210, 251-263.
- El-Bakyr, M.Y. (2003).** Chaos, Solitons & Fractals. 18(5) (2003) 995-1000.
- Estrada, M., C. Marrase, M. Latasa, E. Berdalet, M. Delgado, T. Riera, (1993).** Variability of deep chlorophyll maximum characteristics in the North Western Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series*, 92, 289-300.
- Ewart, A.J. (1895-1897).** On assimilatory inhibition in plant. J. Linn. Soc Bot. 31: 364- 461.
- Falkowski P. G.(1983).** Light-shade adaptation and vertical mixing of marine phytoplankton: A comparative field study. J. Mar. Res. 41:215-237.
- Falkowski PG (1992).** Molecular ecology of phytoplankton photosynthesis. In: Falkowski PG and Woodhead AD (eds) Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea, pp 47-67. Plenum Press, New York
- Falkowski, PG. (2002).**The Ocean's Invisible Forest. Scientific American 287:38-45.
- Falkowski, PG. and Owens, T. (1980).** Light shade adaptation: two strategies in marine phytoplankton. Plant Physiol.66, 632-635.
- Falkowski, PG. and Wirick, C.D. (1981).** A simulation model of the effects of vertical mixing on primary productivity. Mar. Biol. 65:69-75.
- Falkowski, P., and Kiefer, D. A. (1985).** Chlorophyll a fluorescence in phytoplankton: relationship to photosynthesis and biomass. Journal of Plankton Research, 7(5), 715-731.
- Falkowski PG, Wyman KD, Ley AC, Mauzerall DC (1986a).** Relationship of steady state photosynthesis to fluorescence in eukaryotic algae. Biochim Biophys Acta 849:183–192.
- Falkowski P. G., Fujita Y., Ley A., Mauzerall D.C. (1986).** Evidence for cyclic electron flow around Photosystem II in *Chlorella pyrenoidosa*, Plant Physiol. 81, 310-312.

- Falkowski, P. G. and Laroche, J. (1991).** Acclimation to spectral irradiance in algae. *J. Phycol.* 27: 8–14.
- Falkowski, P. G., Greene, R. and Geider, R. (1992).** Physiological limitation of phytoplankton productivity in the ocean. *Oceanography* 5:84-91.
- Falkowski P.G. and Woodhead A.D. (1992).** Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea. Plenum Press, New York, 550 pp.
- Falkowski, P.G. And Raven J.A. (1997).** Aquatic Photosynthesis. Blackwell Science, Malden , MA.
- Falkowski, P. G., Barber, R. T., & Smetacek, V. (1998).** Biogeochemical controls and feedbacks on ocean primary production. *Science*, 281(5374), 200-206.
- Falkowski, P. G., Laws, E. A., Barber, R. T., & Murray, J. W. (2003).** Phytoplankton and their role in primary, new, and export production. In *Ocean biogeochemistry* (pp. 99-121). Springer Berlin Heidelberg.
- Field C. B., Behrenfeld M. J., Randerson J. T., Falkowski P. (1998).** Primary Production of the Biosphere: Integrating Terrestrial and Oceanic Components, *Science* (281) 237.
- Fizwater S. E., Knauer, G. A. and. Martin, J. H. (1982).** Metal contamination and its effect on primary production measurements. *Limnology and Oceanography*, 27, 544—551.
- Fujiki T, Hosaka T, Kimoto H, Ishimaru T, Saino T (2008)** In situ observation of phytoplankton productivity by an underwater profiling buoy system: use of fast repetition rate fluorometry. *Mar Ecol Prog Ser* 353:81–88
- Gaarder, T. and H. H. Gran. 1927.** Investigations of the production of plankton in the Oslo Fjord. *Rapp. et Proc. Verb., Cons. Internat. Explor. Mer* 42: 1-48.
- Garver, S. A., and Siegel, D. A. (1997).** Inherent optical property inversion of ocean color spectra and its biogeochemical interpretation: 1. Time series from the Sargasso Sea. *Journal of Geophysical Research: Oceans* (1978–2012), 102(C8), 18607-18625.
- Geider R. J., and Osborne B.A.(1992).** Algal photosynthesis. Chapman and Hall., New York:256 pp.
- Geider R. J., Macintyre H.L., Kana T.M. (1996).** A dynamic model of photoadaptation in phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 41:1-15.
- Geider R.J., MacIntyre H.L., Kana T.M., (1998).** A dynamic regulatory model of phytoplanktonic acclimation to light , nutrients and temperature . *Limnol. Oceanogr.*, 43(4): 679-694.
- Gieskes, W. W. C., and Kraay, G. W. (1989).** Estimating the carbon-specific growth rate of the

major algal species groups in eastern Indonesian waters by ^{14}C labeling of taxon-specific carotenoids. Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers, 36(8), 1127-1139.

Goericke, R., and Welschmeyer, N. A. (1993). The marine prochlorophyte *Prochlorococcus* contributes significantly to phytoplankton biomass and primary production in the Sargasso Sea. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, 40(11), 2283-2294.

Gordon H. R. (1992). Diffuse reflectance of the ocean: Influence of non-uniform phytoplankton pigment distribution. Appl. Optics 31, 2116-2129.

Gordon, H.R., and Morel, A. (1983). Remote assessment of ocean color for interpretation of satellite visible imagery. A review, Springer-Verlag, New York (USA). Get PDF reprint.

Green, R. E., Sosik, H. M. and Olson, R. J. (2003). Contributions of phytoplankton and other particles to inherent optical properties in New England continental shelf waters. Limnology and oceanography, 48(6), 2377-2391.

Green, R. E., and Sosik, H. M. (2004). Analysis of apparent optical properties and ocean color models using measurements of seawater constituents in New England continental shelf surface waters. Journal of Geophysical Research: Oceans (1978–2012), 109(C3).

Gregg, W. W., and Carder, K. L. (1990). A simple spectral solar irradiance model for cloudless maritime atmospheres. Limnology, 35.

Gregg, W. W., Conkright, M. E., Ginoux, P., O'Reilly, J. E., & Casey, N. W. (2003). Ocean primary production and climate: Global decadal changes. Geophysical Research Letters, 30(15).

Grillini, C. L., and Lazzara, L. (1980). Ciclo annuale del fitoplancton nelle acque costiere del Parco Naturale della Maremma II. Flora e variazioni delle comunità. Plant Biosystem, 114(5), 199-215.

Hagan, M.T., and M. Menhaj (1994). Training feed-forward networks with the Marquardt algorithm. IEEE Transactions on Neural Networks, Vol. 5, No. 6, 1999, pp. 989–993.

Hagan, M.T., H.B. Demuth, and M.H. Beale (1996). Neural Network Design, Boston, MA: PWS Publishing, pp 12-19.

Han, B. P., Virtanen, M., Koponen, J., & Straškraba, M. (2000). Effect of photoinhibition on algal photosynthesis: a dynamic model. Journal of Plankton Research, 22(5), 865-885.

Harris, G. and Lott J. (1973). Light intensity and photosynthetic rates in phytoplankton. J. Fish. Res. Bd. Canada. 30:1771-1778.

- Harris, G. and Piccinin B. (1977).** Photosynthesis by natural phytoplankton population. Arch. Hydrobiol. 80:405-457.
- Herbland A. and Voituriez B (1979).** Hydrological structure analysis for estimating the primary production In the tropical Atlantic Ocean. J Mar Res 37:87-101.
- Hidalgo-Gonzalez, R. M., and Alvarez-Borrego, S. (2001).** Chlorophyll profiles and the water column structure in the Gulf of California. Oceanologica acta, 24(1), 19-28.
- Horton, P., and Hague, A. (1988).** Studies on the induction of chlorophyll fluorescence in isolated barley protoplasts. IV. Resolution of non-photochemical quenching. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics, 932, 107-115.
- Howard, K. L., and Yoder, J. A. (1997, December).** Contribution of the subtropical oceans to global primary production. In COSPAR Colloquia Series (Vol. 8, pp. 157-167). Pergamon.
- Hulburt E. M., Guillard R R. L., (1968).** The Relationship of the Distribution of the Diatom *Skeletonema tropicum* to Temperature . Ecology, Vol. 49, No. 2, pp.337-339.
- Innamorati, M. (1990).** Metodi nell'ecologia del plancton marino. Edizione LINT.
- Jacques, G., Minas, H.J., Minas, M., Nival, P., (1973).** Influence des conditions hivernales sur les productions phyto et zooplanctoniques en MeHditerraneHe Nord-Occidentale. II: Biomasse et production phytoplantonique. Marine Biology 23, 251-265.
- Jassby A. D. and Platt T. (1976).** Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. Limnol. Oceanogr., 34:1545-1562.
- Jeffrey S.W. and Humprey G.F. (1975).** New spectrophotometric equations for determining chlorophyll-a, b, c, c2 in algae, phytoplankton and higher plants. Biochem.Physiol.plants: 167:191-194.
- Jeffrey S.W. (1980).** Algal pigment systems. In: Primary Productivity in the Sea (ed. P.G. Falkowski). Plenum Press, New York, pp. 33-58.
- Jewson, D. H., and Wood, R. B. (1975).** Some effects on integral photosynthesis of artificial circulation of phytoplankton through light gradients. Verhandlungen Internationale Vereinigung Limnologie, 19, 1037-1044.
- Juhász-Nagy, P. (1992).** Scaling problems almost everywhere: an introduction. Abstracta Botanica, 16, 1-5.
- Kaiser, M. J., Attrill, M. J., Jennings, S., Thomas, D. N., Barnes, D. K. A., Brierley, A. S., ... and Williams, P. J. I. B.(2005).** Marine Ecology Processes, Systems and Impacts. Oxford University Press, Oxford.

- Kahru, M., Kudela, R., Manzano-Sarabia, M., & Mitchell, B. G. (2009).** Trends in primary production in the California Current detected with satellite data. *Journal of Geophysical Research: Oceans* (1978–2012), 114(C2).
- Kautsky, H., W. AppL, and H. Amann. (1960).** *Biochem. Z.* 332:277.
- Kiefer D.A., Chamberlain W.S., Booth C.R. (1989).** Natural fluorescence of chlorophyll-a: Relationship to photosynthesis and chlorophyll concentration in the western South Pacific gyre. *Limnol. Oceanogr.*, 34, 868-881.
- Kiefer, D. A., and Reynolds, R. A. (1992).** Advances in understanding phytoplankton fluorescence and photosynthesis. In *Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea* (pp. 155-174). Springer US.
- Killworth, P.D., (1976).** The mixing and spreading phases of Medoc I. *Progress Oceanography* 7(2), 59-90
- Kirk, J.T.O. (1983).** *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kirk, J. T. O. (1994).** *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*, 2nd ed. Cambridge Univ. Press.
- Kitajima, M., and Butler, W. L. (1975).** Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 376(1), 105-115.
- Klughammer C., (1992).** Entwicklung und Anwendung neuer absorptionspektroskopischer Methoden zur Charakterisierung des photosynthetischen Elektronentransports in isolierten Chloroplasten und intakten Blättern, Ph. D. thesis, Würzburg Univ.
- Knap, A. H., Michaels, A., Close, A. R., Ducklow, H., and Dickson, A. G. (1996).** Protocols for the joint global ocean flux study (JGOFS) core measurements. JGOFS, Reprint of the IOC Manuals and Guides No. 29, UNESCO 1994, 19.
- Kolber, Z., Zehr, J., and Falkowski, P. (1988).** Effects of growth irradiance and nitrogen limitation on photosynthetic energy conversion in photosystem II. *Plant Physiology*, 88(3), 923-929.
- Kolber Z., Wiman K.D., Falkowski P.G. (1990).** Natural variability in photosynthetic energy conversion efficiency: a field study in the Gulf of Maine- *Limnol. Oceanogr.*, 35, 72–79.
- Kolber, Z., and Falkowski, P. G. (1993).** Use of active fluorescence to estimate phytoplankton photosynthesis in situ. *Limnology and Oceanography*, 38(8), 1646-1665.
- Kok, B. (1956).** On the inhibition of photosynthesis by intense light. *Biochim. Biophys. Acta*

21:234-244.

- Kooten, O., e Snel, J. F. (1990).** The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research*, 25(3), 147-150.
- Langdon C. (1984).** Dissolved oxygen monitoring system using a pulsed electrode: design, performance and evaluation, *Deep-Sea Res.*, 31, 1357–1367.
- Larkum, A.W.D. and Barrett, J.(1983).** Light harvesting processes in algae. *Adv. Bot. Res.* 10:1-219.
- Lazzara L., Massi L., Nuccio C., Biondi N., Innamorati M. (1997).** Phytoplankton ecology: irradiance, particles, gilvin, pigments, absorption, fluorescence, production and species density in Terranova Bay, Ross Sea. *Nat. Progr. Ant. Res.*, Data Report .
- Lazzara L., Saggiomo V., Fani F., Mangoni O., Santarpia I., (2010).** Parametri fotosintetici da fluorescenza variabile modulata (PAM). In *Metodologie di campionamento e di studio del plancton marino* Socal G., Buttino I., Cabrini M., Mangoni O., Penna A., Totti C. (Eds.), ISPRA-SIBM, Roma. Manuali e Linee guida 56/2010 pp. 343-349.
- Laws E.A. (1991).** Photosynthetic quotients, new production and net community production in the open sea . *Deep-Sea Res.*, 38, 143-167.
- Leaman, K.D., Schott, F.A., (1987).** Hydrographic structure of the convection regime in the gulf of Lions: winter 1987. *Journal of Physical Oceanography* 1:21, 575-598.
- Lek, S., Delacoste, M., Baran, P., Dimopoulos, I., Lauga, J., Aulagnier, S., (1996).** Application of neural networks to modelling non-linear relationships in ecology. *Ecol. Model.* 90(1), 39-52.
- Lenz, J., Fritsche, P., (1980).** The estimation of chlorophyll a in water samples: a comparative study on retention in a glas-fibre and membrane filter and on the reliability of two storage methods. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 14, 46–51.
- Lewis, M. R., J. J. Cullen, and T. Platt (1983).** Phytoplankton and thermal structure in the upper ocean: Consequence of nonuniformity in chlorophyll prole. *J. Geophys. Res.* 88, 2565-2570.
- Lewis, M. R., Horne, E.P.W., Cullen, J. J., Oakey, N.S. and T. Platt (1984).** Turbulent motions may control phytoplankton photosynthesis in upper ocean. *Nature*, 311:49-50.
- Lewis, M.R. (2002).**Variability of plankton processes on the mesoscale. In: Williams PJ le B, Thomas DN, Reynolds CS (eds) *Phytoplankton Productivity: Carbon assimilation in marine and freshwater ecosystems*. Blackwell, pp 141-155.
- Lignell, R. (1992).** Problems in filtration fractionation of ¹⁴C productivity samples. *Limnol.*

Oceanogr. 37: 172–178.

- Lohrenz, S. E., R. A. Arnone, D. A. Wiesenburg, and I. P. Depalma (1988a).** Satellite detection of transient enhanced primary production in the western Mediterranean Sea, *Nature*, 335, 245–247.
- Lohrenz, S. E., D. A. Wiesenburg, I. P. Depalma, K. S. Johnson, D. E. Gustafson Jr. (1988 b)** Interrelationships among primary production, chlorophyll, and environmental conditions in frontal regions of the western Mediterranean Sea, *Deep Sea Res., Part A*, 35(5), 793–810.
- Loisel, H., Bosc, E., Stramski, D., Oubelkheir, K., & Deschamps, P. Y. (2001).** Seasonal variability of the backscattering coefficient in the Mediterranean Sea based on satellite SeaWiFS imagery. *Geophysical Research Letters*, 28(22), 4203-4206.
- Lorenzen C.J. (1967).** Determination of chlorophyll and phaeopigments spectrophotometric equations. *Limnology Oceanography*, 22(4)709-722.
- Longhurst, A., Sathyendranath, S., Platt, T., and Caverhill, C. (1995).** An estimate of global primary production in the ocean from satellite radiometer data. *Journal of Plankton Research*, 17(6), 1245-1271.
- Looney, C.G., (1996).** Advances in feedforward neural networks: demystifying knowledge acquiring black boxes. *IEEE Trans. Knowledge Data Eng.* 8 (2), 211–226.
- MacIntyre, H. L., Kana, T.M., Anning, T. and Geider, R.J. (2002).** Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria. *J. Phycol.* 38: 17–38.
- Marcelli, M.; Campana, O., Di Maio A., Mangoni, O., Ribera d' Alcala, M., Saggiomo, V., T Tozzi, S., Fresi, E.(1997).** Development of a new operative method to estimate primary production in the pelagic system with a quasi synoptic space time scale. Paper presented at Progress in oceanography of the Mediterranean Sea- International Conference, Rome, 17-19 Novembre 1997.
- Marcelli, M., Carlini, L., Di Maio, A., Lazzara, L., Nardello, I., Vellucci, V. Ribera D'Alcalà, M. (2003).** Modello di stima della produzione primaria pelagica basato sulle variazioni circadiane dell' efficienza fotosintetica. XIII Congresso Nazionale Società Italiana di Ecologia, Como 8-10/09/03.
- Maritorena, S., Siegel, D. A., and Peterson, A. R. (2002).** Optimization of a semianalytical ocean color model for global-scale applications. *Applied Optics*, 41(15), 2705-2714.
- Margaret, A.M. and Woodson, C.B. (2012).** Review-Plankton distribution and ocean dispersal. *The journal of Experimental Biology*, 215, 1008-1016.
- Marquardt, D. (1963).** An algorithm for least squares estimation of non-linear parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics*. 431-441.

- Marra, J. (1978).** Phytoplankton photosynthetic response to vertical movement in a mixed layer. *Marine Biology*, 46(3), 203-208.
- Martinez, R., R. A. Arnone, and Z. Velasquez (1990).** Chlorophyll a and respiratory electron transport system activity in microplankton from the surface waters of the western Mediterranean, *J. Geophys. Res.*, 95, 1615– 1622.
- Mauzerall D. (1972).** Light-induced fluorescence changes in *Chlorella*, and the primary photoreactions for the production of oxygen. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 69, 1358–1362.
- Mauzerall, D. and Greenbaum, N.L.(1989).** The absolute size of a photosynthetic unit. *Biochim. Biophys. Acta* 974: 119-140.
- McClain, C. R., M. L. Cleave, G. C. Feldman, W. W. Gregg, S. B. Hooker, and N. Kuring (1998).** Science quality SeaWiFS data for global biospheric research, *Sea Technol.*, 39, 10-16.
- McCulloch, W. S., and Pitts, W. (1943).** A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *The bulletin of mathematical biophysics*, 5(4), 115-133.
- Medoc group, (1970).** Observation of formation of deep water in the Mediterranean sea, 1969. *Nature* 227, 1037-1040.
- Melrose DC, Oviatt CA, O'Reilly JE, Berman MS (2006).** Comparisons of fast repetition rate fluorescence estimated primary production and ¹⁴C uptake by phytoplankton. *Mar Ecol Prog Ser* 311:37–46.
- Michaels AF, Knap AH, Dolv RL, Gundersen K, Johnson RJ, Sorensen J, Close A, Knauer GA, Lohrenz SE, Asper VA, Tuel M. Bidigare R. (1994).** Seasonal patterns of ocean bio- geochemistry at the U.S. JGOFS Bermuda Atlantic Time-series Study site. *Deep Sea Res* 41:1013-1038.
- Mielke PW Jr (1985).** Geometric concerns pertaining to applications of statistical tests in the atmospheric sciences. *J Atmos Sci* 42:1209–1212.
- Mielke PW Jr and Berry KJ (2001)** *Permutation methods: a distance function approach*, Springer-Verlag, New York
U.S. EPA (2003) *Technical support document for the Clear Skies Act 2003: air quality modeling analyses*. Environmental Protection Agency, Office of Air Quality Planning and Standards, Emissions Analysis and Monitoring Division, Research Triangle Park, NC.
- Mignot, A., Claustre, H., D'Ortenzio, F., Xing, X., Poteau, A., and Ras, J. (2011).** From the shape of the vertical profile of in vivo fluorescence to Chlorophyll-a concentration. *Biogeosciences*, 8(8), 2391-2406.

- Millot, C. (1999).** Circulation in the western Mediterranean sea, *J. Mar. Syst.*, 20, 423– 442.
- Moore, C. M., Suggett, D., Holligan, P. M., Sharples, J., Abraham, E. R., Lucas, M. I., ... and Hydes, D. J. (2003).** Physical controls on phytoplankton physiology and production at a shelf sea front: a fast repetition-rate fluorometer based field study. *Marine Ecology Progress Series*, 259(2).
- Moran X. A. G., Taupier-Letage I., Vazquez-Dominguez E., Ruiz S., Arin L., Raimault P., Estrada M., (2001).** Physical-biological coupling in Algerian Basin (SW Mediterranean): Influence of mesoscale instabilities on the biomass and production of phytoplankton and bacterioplankton. *Deep-Sea Research I*, 48:405-437.
- Moran X. A. G. and Estrada M. (2005).** Winter pelagic photosynthesis in the NW Mediterranean. *Deep Sea Research I*, 48:405-437.
- More, J.J. (1997).** in *Numerical Analysis*. Edited by Watson G.A., Lecture Notes in Mathematics 630, (Springer Verlag, Germany) 105-116.
- Morel, A., and Prieur, L. (1977).** Analysis of variations in ocean color1. *Limnology and oceanography*, 22(4), 709-722.
- Morel, A., Lazzara, L. and Gostan J.(1987).** Growth rate and quantum yield time response for a diatom to changing irradiances (energy and color), *Limnology and Oceanography*, 32, 1066-1084.
- Morel, A. (1988).** Optical modelling of the upper ocean in relation to its biogenous matter content (CaseI waters). *Journal of Geophysical Research*, 93, 10749-10768.
- Morel, A. and Berthon, J. F. (1989).** Surface pigments, algal biomass profiles, and potential production of the euphotic layer: Relationships reinvestigated in view of remote- sensing applications, *Limnol. Oceanogr.*, 34, 1545–1562.
- Morel, A. (1991).** Light and marine photosynthesis: a spectral model with geochemical and climatological implications. *Progress in Oceanography*, 26, 263-30.
- Morel, A., and J. M. André, (1991).** Pigment distribution and primary production in the western Mediterranean as derived and modeled from Coastal Zone Color Scanner observations, *J. Geophys. Res.*, 96, 12,685 – 12,698.
- Morel, A., Antoine, D., Babin, M., and Y. Dandonneau (1996).** Measured and modeled primary production in the Northeast Atlantic (EUMELI JGOFS program): The impact of natural variations in photosynthetic parameters on model predictive skill. *Deep-Sea Research I*, 43, 1273-1304.
- Mosteller, F., and Turkey, J. (1977).** *Data Analysis and Regression: A Second Course in Statistics.* Addison-Wesley, 588pp.

- Moutin, T. and P. Raimbault, (2002).** Primary production, carbon export and nutrients availability in western eastern Mediterranean Sea in early summer 1996 (MINOS cruise). *Journal of Marine Systems*, 842, 273-288.
- Myers, J.E. (1987).** Is there significant cyclic electron flow around photoreaction I in cyanobacteria? *Photosynth.Res.*, 14, 55-69.
- Nardello, I., (2008).** Bio-optical observation and modeling of marine biomass and primary production, for applications in the coastal environment. Corso di dottorato di ricerca in "Ecologia e Gestione delle Risorse Biologiche"- XIX CICLO.
- Olita, A., Ribotti, A., Fazioli, L., Perilli, A., & Sorgente, R. (2013).** Surface circulation and upwelling in the Sardinia Sea: A numerical study. *Continental Shelf Research*, 71, 95-108.
- Ondrusek, M. E., Bidigare, R. R., Waters, K., and Karl, D. M. (2001).** A predictive model for estimating rates of primary production in the subtropical North Pacific Ocean. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 48(8), 1837-1863.
- Owens, T.G. (1991).** Energy transformation and fluorescence in photosynthesis. In: Particle Analysis in Oceanography (ed. S. Demmers). Springer-Verlag, Berlin, 101-137.
- Perry, M. J., Talbot, M. C. and Alberete R.S. (1981).** Photoadaptation in marine phytoplankton: Response of the photosynthetic unit. *Mar. Biol.* 62: 91-101.
- Piermattei, V., Bortoluzzi, G., Cozzi, S., Di Maio, A., & Marcelli, M. (2006).** Analysis of mesoscale productivity processes in the Adriatic Sea: Comparison between data acquired by Sarago, a towed undulating vehicle, and CTD casts. *Chemistry and Ecology*, 22(sup1), S275-S292.
- Platt T., Gallegos C. L. and Harrison W. G. (1980).** Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. *J. Marine Res.*, 38(4): 687-701.
- Platt, T., Lewis, M., and Geider, R. (1984).** Thermodynamics of the pelagic ecosystem: Elementary closure conditions for biological production in the open ocean. In *Flows of energy and materials in marine ecosystems* (pp. 49-84). Springer US.
- Platt, T., Sathyendranath, S., Caverhill, C. M., and Lewis, M. R. (1988).** Ocean primary production and available light: further algorithms for remote sensing. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 35(6), 855-879.
- Platt, T., Harrison, W. G., Lewis, M. R., Li, W. K., Sathyendranath, S., Smith, R. E., and Vezina, A. F. (1989).** Biological Production of the Oceans-the Case for a Consensus. *Marine Ecology Progress Series*.
- Platt, T., and Sathyendranath, S. (1993).** Estimators of primary production for interpretation of

remotely sensed data on ocean color. *Journal of Geophysical Research: Oceans* (1978–2012), 98(C8), 14561-14576.

- Platt T., Sathyendranath S., White III G. N. and Ravindran P. (1994).** Attenuation of visible light by phytoplankton in a vertically-structured ocean: Solutions and applications. *J. Plankton Res.* 16, 1461-1487.
- Rai, H. and Marker A.F.M. (1982).** The measurements of photosynthetic pigments in freshwaters and standardization of methods. *Arch. Hydrobiol. Beih.*, 16:1-130.
- Raimbault, P., B. Coste, M. Boulhadid, and B. Boudjellal (1993).** Origin of high phytoplankton concentration in deep chlorophyll maximum (DCM) in a frontal region of the southwestern Mediterranean Sea (Algerian Current), *Deep Sea Res., Part I*, 40, 791–804.
- Redalje, D. G. (1983).** Phytoplankton carbon biomass and specific growth rates determined with the labeled chlorophyll a technique.
- Redalje, D. G., and Laws, E. A. (1981).** A new method for estimating phytoplankton growth rates and carbon biomass. *Marine Biology*, 62(1), 73-79.
- Reed, R. K. (1977).** On estimating insolation over the ocean. *Journal of Physical Oceanography*, 7(3), 482-485.
- Reynolds, C.S. (1993).** Scales of disturbance and their role in plankton ecology. *Hydrobiologia*, 249,157–71.
- Reynolds, C.S. (1999).** With or against the grain: responses of phytoplankton to pelagic In *Aquatic Life-Cycle Strategies*, ed. M. Whitfield, J. Matthews and C. Reynolds, pp. 15–43. Plymouth: Marine Biological Association.
- Richardson, K., Beardall, J., and Raven J. A. (1983).** Adaptation of unicellular algae to irradiance: An analysis of strategies. *New Phytol.* 93: 157–191.
- Richardson, A. J., Silulwane, N. F., Mitchell-Innes, B. A., and Shillington, F. A. (2003).** A dynamic quantitative approach for predicting the shape of phytoplankton profiles in the ocean. *Progress in oceanography*, 59(2), 301-319.
- Rio, M. H., Poulain P.M., Pascual A, Mauri E, Larnicol G, Santoleri R. (2007).** A Mean Dynamic Topography of the Mediterranean Sea computed from altimetric data, *in-situ* measurements and a general circulation model, *Journal of Marine Systems* 65 484-508.
- Robinson, A. R., (Ed.) (1983).** *Eddies in Marine Science*, 609 pp., Springer Verlag, New York.
- Robinson A.L. (1979).** HPLC: the new king of analytical chemistry. *Science*, 203:1329- 1332.

- Rothschild, B.J. and Osborn, T.R. (1988).** Small-scale turbulence and plankton contact rates. *Journal of Plankton Research*. 10. pp 465-474.
- Saltelli, A., Chan, K., Scott, E.M., (2000a).** Sensitivity Analysis, Wiley series in Probability and Statistics.
- Saltelli, A., Tarantola, S., Campolongo, F., (2000b).** Sensitivity analysis as an ingredient of modelling. *Sta. Sci.* 15, 377-395.
- Saltelli, A., Tarantola, S., Campolongo, F., Ratto M., (2004).** Sensitivity Analysis in Practice. A Guide to Assessing Scientific Models, John Wiley & Sons.
- Sakshauge E., Bricaud A., Dandonneau Y., Falkowski P.G., Kiefer D.A., Legendre L., Morel A., Parslow J., Takahashi M. (1997).** Parameters of photosynthesis: definitions, theory and interpretation of results. *J. Plankton Res.*, 19: 1637-1670.
- Sarmiento, J.L., Gruber, N., (2006).** Ocean Biogeochemical Dynamics. Princeton University, Princeton.
- Sathyendranath S., and Platt T. (1989).** Remote sensing of ocean chlorophyll: Consequence of non-uniform pigment profile. *Appl. Optics* 28, 490-495.
- Sathyendranath S., Platt T., Caverhill C. M, Warnock R. E. and Lewis M. R. (1989).** Remote sensing of oceanic primary production: Computations using a spectral model. *Deep-Sea Res.* I 36, 431-453.
- Scardi, M. (1996).** Artificial neural networks as empirical model of phytoplankton production. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 139, 289-299.
- Scardi, M. (2001).** Advances in neural network modeling of phytoplankton primary production. *Ecological Modelling*, 146(1), 33-45.
- Schreiber U., Schliwa U., Belger W. (1986).** Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynth. Res.*, 10:51-62.
- Sharples, J., Moore, M. C., Rippeth, T. P., Holligan, P. M., Hydes, D. J., Fisher, N. R., and Simpson, J. H. (2001).** Phytoplankton distribution and survival in the thermocline. *Limnology and Oceanography*, 46(3), 486-496.
- Siegel, D. A., Maritorena, S., Nelson, N. B., Hansell, D. A., and Lorenzi-Kayser, M. (2002).** Global distribution and dynamics of colored dissolved and detrital organic materials. *Journal of Geophysical Research: Oceans* (1978–2012), 107(C12), 21-1.
- Slovacek, R.E., Crowther D., Hind J. (1980).** Relative activities of linear and cyclic electron flows during chloroplast CO₂ fixation. *Biochim. Biophys. Acta*, 592, 495-505.

- Smith E. L. (1936).** Photosynthesis in relation to light and carbon dioxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 22:504-511.
- Steele J.H. (1962).** Environmental control of photosynthesis in the sea. *Limnology and Oceanography*, 7, 137-150.
- Steemann Nielsen, E. (1952).** The Use of Radio-active Carbon (C14) for Measuring Organic Production in the Sea, *J. Cons. int. Explor. Mer* 18(2): 117-140
doi:10.1093/icesjms/18.2.117.
- Stegmann, P. M., Lewis, M. R., Davis, C. O., and Cullen, J. J. (1992).** Primary production estimates from recordings of solar-stimulated fluorescence in the equatorial Pacific at 150°W. *J. Geophys. Res.* 97:627-638.
- Stramski, D., Reynolds, R. A., Kahru, M., & Mitchell, B. G. (1999).** Estimation of particulate organic carbon in the ocean from satellite remote sensing. *Science*, 285(5425), 239-242.
- Strass V, Woods JD (1991).** New production in the summer revealed by the meridional slope of the deep chlorophyll maximum. *Deep Sea Res* 38:35.
- Strickland J.D.H. and Parsons T.R. (1968).** A Practical Handbook of Seawater Analysis. *Bull. Fish. Res. Bd. Can.*, 167:1-310.
- Strom, S. L., and Welschmeyer, N. A. (1991).** Pigment-specific rates of phytoplankton growth and microzooplankton grazing in the open subarctic Pacific Ocean. *Limnology and Oceanography*, 36(1), 50-63.
- Suggett DJ, Moore CM, Maranon E, Omachi C, Varela RA, Aiken J, Holligan PM (2006).** Photosynthetic electron turnover in the tropical and subtropical Atlantic Ocean. *Deep Sea Res II* 53:1573–1592
- Sukenik, A., Wyman, K.D., Bennett, J. and Falkowski, P.G. (1987).** Light-saturated photosynthesis-limitation by electron transport carbon fixation? *Biochim. Biophys. Acta* 891, 205-215.
- Sukenik, A., Bennett, J., Mortain-Bertrand, A. and Falkowski, P.G. (1989).** Adaptation of the photosynthetic apparatus to irradiance in *Dunaliella tertiolecta*. *Plant Physiol.* 92, 891-898.
- Sverdrup, H. U. (1953).** On conditions for the vernal blooming of phytoplankton. *Journal du Conseil*, 18(3), 287-295.
- Takahashi, M., Shimura, S., Yamaguchi, Y. and Fujita, Y. (1971).** Photoinhibition of phytoplankton photosynthesis as a function of exposure time. *J. Oceanogr. Soc. Japan*. 27:43-50.

- Taylor A.H., Geider R.J. And Gilbert,F.J.H. (1997).** Seasonal and latitudinal dependencies of phytoplankton carbon-to-chlorophyll a ratios: results of modelling Study. Mar.Ecol.Prog.Ser. Vol.152:51-66.
- Taupier-Letage, I., (1988).** Biodynamique du Bassin Algérien: Estimation de la réponse biologique à certaines structures moyenne échelle par télédétection (AVHRR et CZCS) et mesures *in situ*, Ph.D. thesis, 120 pp., Univ. d'Aix- Marseille II, Marseille, France.
- Taupier-Letage, I., Puillat, I., Raimbault, P., and Millot, C. (2003).** Biological response to mesoscale eddies in the Algerian Basin, Journal of Geophysical Research, 108 (C8), 3245.
- Uitz, J., Claustre, H., Morel, A., and Hooker, S. B. (2006).** Vertical distribution of phytoplankton communities in open ocean: An assessment based on surface chlorophyll. Journal of Geophysical Research: Oceans (1978–2012), 111(C8).
- Vilicic, D., Vucak, Z., Skrivanic, A., Grzetic, Z. (1989).** Phytoplankton blooms in the oligotrophic open South Adriatic waters. Marine Chemistry. 28:89-107.
- Volpe, G., Santoleri, R., Vellucci, V., Ribera d Acalà, M., Marullo, S., and D Ortensio, F. (2007).** The colour of the Mediterranean Sea: Global versus regional bio-optical algorithms evaluation and implication for satellite chlorophyll estimates. Remote Sens. Environ., 107, 625-638.
- Ward, B. A., and Waniek, J. J. (2007).** Phytoplankton growth conditions during autumn and winter in the Irminger Sea, North Atlantic. Marine Ecology Progress Series, 334, 47-61.ISO 690.
- Webb, W. L., Newton, M. and Starr, D. (1974).** Carbon dioxide exchange of *Alnus rubra*: A mathematical model. Ecologia, 17, 281-291.
- Weis, E., and Berry, J. A. (1987).** Quantum efficiency of photosystem II in relation to 'energy'-dependent quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics, 894(2), 198-208.
- Williams R. (1988)** Spatial heterogeneity and niche differentiation in oceanic zooplankton. Hydrobiologia 167/168: 151-1.
- Williams PJ leB (1993).** On the definition of plankton production terms. ICES Marine Science Symposium 197:9–19.
- Williams P. J., Jenkinson N.W., (1982).** A transportable microprocessor controlled Winkler titration suitable for field and shipboard use, Limnol. Oceanogr., 27, 576–584.

- Willmott CJ, Ackleson SG, Davis RE, Feddema JJ, Klink KM, Legates DR, O'Donnell J, Rowe CM (1985).** Statistics for the evaluation of model performance. *J Geophys Res* 90(C5):8995–9005.
- Willmott CJ and Matsuura K (1995).** Smart interpolation of annually averaged air temperature in the United States. *J Appl Meteorol* 34:2577–2586.
- Willmott, C. J. and Matsuura, K. (2005).** Advantages of the mean absolute error (MAE) over the root mean square error (RMSE) in assessing average model performance. *Climate Research*, 30(1), 79.
- Wood, M.A., Van Valen, L.M., (1990).** Paradox lost? On the release of energy-rich compounds by phytoplankton. *Marine Microbial Food Webs* 4, 103–116.
- Wu, F.-C, Tsang, Y.-P, (2004).** Second-order Monte Carlo uncertainty/variability analysis using correlated model parameters: application to salmonid embryo survival risk assessment. *Ecol. Model.* 177, 393-414.
- Yentsch, C. S., and Menzel, D. W. (1963).** A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. In *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts* (Vol. 10, No. 3, pp. 221-231). Elsevier.
- Zavaratelli, M., Raicich, F., Artegiani, A., Bregant, D., Russo, A. (1998).** Climatological biogeochemical characteristics of the Adriatic Sea. *Journal of Marine System.* 18:227-263.
- Zonneveld, C. (1997).** Modeling effects of Photoadaptation on the Photosynthesis–Irradiance Curve. *Journal of theoretical biology*, 186(3), 381-388.

RINGRAZIAMENTI

Al termine di questo lavoro voglio esprimere la mia gratitudine a tutti coloro che con il loro lavoro o semplicemente la loro presenza mi hanno aiutato in questa esperienza.

Al prof. Marco Marcelli, tutor della mia tesi, per avermi concesso di vivere quest'esperienza di grande crescita umana e professionale, per la fiducia dimostrata continuamente nel mio lavoro e per avermi indirizzata fornendomi sempre nuovi spunti e nuove sfide.

Al prof. Luigi Lazzara, dell'Università degli studi di Firenze, per avermi concesso di utilizzare i dati relativi alle analisi dei parametri fotosintetici e per la disponibilità con la quale ha messo in questi anni a mia disposizione la sua esperienza.

Al dott. Bonamano, che ha rappresentato in questi anni una guida imprescindibile alla mia formazione, nonché un amico leale.

Al dott. Melchiorri per il supporto tecnico-scientifico fornitemi, fondamentale per la messa a punto finale di questo lavoro.

Al dott. Decembrini per avermi concesso l'utilizzo dei risultati dell'analisi di produzione primaria con il metodo ^{14}C usati per la validazione del modello proposto.

A tutti i miei colleghi del laboratorio di Oceanologia Sperimentale ed Ecologia Marina dell'Università della Tuscia perché ognuno con la propria competenza ha contribuito ad aiutarmi direttamente o indirettamente alla costruzione di questo lavoro.

A Vale, Cate, Annina e Chiaretta compagne di avventure, sventure e risate, un grazie per il supporto emotivo e scientifico costante e determinate.

A Veronica una compagna sincera, leale, paziente nell'ascolto, determinante per la comprensione di tutti i miei grovigli mentali.

A Valentina, un'amica riscoperta, un esempio dal punto di vista umano e professionale, un punto di riferimento ormai imprescindibile.

A Davide, la sorpresa più bella che mi potesse capitare, per la quotidiana avventura che stiamo vivendo e per la sua capacità di alleggerirmi ogni fatica iniettando gioia e bellezza in ogni cosa.

Alla mia famiglia, che nonostante la distanza fisica rappresenta il mio punto di riferimento fisso. Un grazie per la fiducia, la stima, l'amore incondizionato che mi hanno aiutata ad essere quella che sono ora.