

文章编号: 0258-7025(2008)12-2052-08

浮游植物荧光特征提取及识别测定技术

张 芳^{1,2} 苏荣国¹ 王修林¹ 华 洋³ 宋志杰³

¹ 中国海洋大学化学化工学院, 山东 青岛 266100; ² 中国极地研究中心, 国家海洋局极地科学重点实验室, 上海 200136
³ 中国海洋大学信息科学与工程研究院, 山东 青岛 266100

摘要 为了区分和识别不同门和属的浮游植物,以 *coiflet2* 小波函数(*coif2*)为基函数对 4 个门类 9 个属的 12 种浮游植物的三维荧光光谱进行分解,选取第三层尺度分量作为浮游植物识别特征谱。不同门类和属(种)的浮游植物的特征谱具有明显的特征差异。Bayes 判别分析结果表明,此类特征谱对浮游植物在门类层次上的总分类正确率可达 99.0%,属层次上的总分类正确率可达 97.4%。以聚类分析法确立浮游植物特征谱的标准谱库,以此为基础,利用线性回归法(非负最小二乘法解析)建立浮游植物荧光识别测定技术。该技术对单种浮游植物样品在门类及属层次上的识别正确率均大于 98.0%,当加入 10% 或 20% 的随机噪声时,在门类及属的层次上的识别正确率分别大于 98.0% 和 85.0%;对浮游植物混合样品中的优势种在门及属的层次上的识别正确率均为 100%。

关键词 生物光学;浮游植物;识别测定;小波分析;三维荧光光谱;特征提取

中图分类号 O 657.32;Q 949.2 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL20083512.2052

Fluorescence Characteristics Extraction and Differentiation of Phytoplankton

Zhang Fang^{1,2} Su Rongguo¹ Wang Xiulin¹ Hua Yang³ Song Zhijie³

¹ College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao, Shandong 266100, China
² Key Laboratory for Polar Science, SOA, Polar Research Institute of China, Shanghai 200136, China
³ College of Information Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao, Shandong 266100, China

Abstract In order to discriminate and identify phytoplankton of different divisions and genera, *coiflet2* (*coif2*) wavelet function was utilized to extract the characteristics of the three-dimensional (3D) fluorescence spectra of 12 phytoplankton species belonging to 9 genera of 4 divisions. The third scale vectors selected as the discriminating characteristic spectra, obviously express the distinguish characteristics of different genera and divisions. The results of Bayes discriminant analysis showed that these characteristic spectra had average discriminating rates of 99.0% and 97.4% at the division and the genus level, respectively. Reference spectra were obtained from these characteristic spectra by cluster analysis. A fluorometric method was established by multiple linear regression resolved by the nonnegative least squares. These reference spectra identified the single species added with 10% and 20% ratios of random noise with the rates of more than 98.0% and 85.0%, respectively, at the division and the genus level. All the dominant species of the phytoplankton mixtures could be identified 100% at both the division and the genus level.

Key words biological optics; phytoplankton; differentiation; wavelet analysis; three-dimensional fluorescence spectral; characteristics extraction

1 引 言

浮游植物群落组成的测定是海洋科学研究中的一项基础性工作^[1]。常用的浮游植物群落组成测定方法有显微镜计数法、图像识别技术^[2,3]、色素分析技

术^[4,5]、荧光技术^[6,7]等。其中,荧光技术因具有灵敏度高、易于实现实时现场检测及对物质具有良好的鉴别性等优点而备受关注^[1,6~9]。1985年,Yentsch等^[6]根据叶绿素与辅助色素的比率,将不同海域的主要浮

收稿日期:2008-01-25;收到修改稿日期:2008-05-07

基金项目:国家自然科学基金(40706036)和国家 863 计划(2006AA09Z178)资助项目。

作者简介:张 芳(1982—),女,山东人,博士研究生,主要从事海洋监测技术研究。E-mail:zhangfang@pric.gov.cn

导师简介:王修林(1960—),男,山东人,教授,博士生导师,主要从事海洋环境及生态污染化学方面的研究。

E-mail:xlwang@ouc.edu.cn (通信作者)

游植物分为 4 大类进行分析,揭开了将荧光光谱用于测定浮游植物群落组成的序幕。1995 年, Lee 等^[10]根据蓝藻的藻蛋白发出的特征荧光光谱,建立了现场活体监测蓝藻含量的荧光分析技术。Kolbowski 等^[11]利用发光二极管阵列作为激发光源得到的活体叶绿素荧光激发光谱实现了三个主要的浮游植物种群的识别测定,并得到了广泛的实际应用。2002 年, Beutler 等^[9]利用浮游植物活体叶绿素荧光激发光谱将浮游植物分为四大类(绿藻、蓝藻、隐藻、褐藻(甲藻和硅藻))进行识别测定,这就是目前已经商品化的 BBE 藻类分析技术。由于硅藻和甲藻的活体叶绿素荧光激发光谱具有相似性,以上技术均无法将这两类浮游植物进行区分识别。而硅藻和甲藻是我国近海海域极为重要的两类浮游植物,同时也是引发赤潮的主要肇事藻类。国内研究者 Zhang 等^[12~14]分别利用主成分分析、高斯分解法及相似性指数法对硅藻和甲藻的荧光光谱进行了研究,认为两类浮游植物的荧光光谱具有可识别的荧光特征差异。同时,仅有很少研究初步探讨以荧光分析技术为手段在属水平上分类识别赤潮肇事藻^[14,15]。

综上所述,根据我国近海浮游植物群落的组成特点(主要组成为硅藻和甲藻,且以某一门类的多种浮游植物为优势种)和赤潮发生时浮游植物群落的结构特点(多为一种肇事藻引发的单相赤潮,肇事藻占浮游植物总生物量的粒子数分数为 90% 以上),建立一种在“正常”(未发生赤潮)情况下能够在门类水平上识别测定浮游植物群落组成,而赤潮发生时在属水平上识别测定赤潮肇事种的浮游植物群落组成荧光分析技术,是我国近岸海域生态监测的迫切需要。本文以 4 种硅藻,4 种甲藻,2 种金藻和 2 种隐藻为研究对象,基于小波分析^[16~18], Bayes 判别法^[17], 聚类法和非负最小二乘法^[15,17]等技术,建立了在门类及属水平上识别测定浮游植物群落组成的荧光分析技术。

2 实验部分

2.1 浮游植物实验室培养及混合

实验所选的 12 种浮游植物(见表 1)均来自中国海洋大学海洋污染生态化学实验室。利用 $f/2$ 营养液配方,在光照培养箱中进行培养。培养温度为 20 ℃,培养光照分别为 6000 lx, 10000 lx 和 15000 lx,固定光暗比为 12 h/12 h。将用于混合的藻种分别按照不同的比例两两或多种混合,使每种浮游植物均能作为优势种出现,并使优势种(属)的混

合浓度比例为 80% 或 75%。样品的设计根据我国近海海域在发生赤潮与非赤潮期间的浮游植物群落组成特点进行。

表 1 实验选用的 12 种浮游植物

Table 1 12 phytoplankton species in test

Species	Genus	Division
Sc <i>Scrippsiella trochoidea</i>	Scri <i>Scrippsiella</i>	Dino Dinophyta
Gs <i>Gymnodinium simplex</i>	Gymn <i>Gymnodinium</i>	
Pr <i>Prorocentrum donghaiense</i>	Pror <i>Prorocentrum</i>	
Pm <i>Prorocentrum minimum</i>		
Ps <i>Pseudo-nitzschia pungens</i>	Pseu <i>Pseudo-nitzschia</i>	
Tr <i>Thalassiosira rotula</i>	Thal <i>Thalassiosira</i>	
Cu <i>Chaetoceros curvisetus</i>	Chae	
De <i>Chaetoceros debilis</i>		
Is <i>Isochrysis</i>	Isoc	Chry Chrysochyta
Pg <i>Phaeocystis globosa</i>	Prym <i>Prymnesiophyceae</i>	
Rs <i>Rhodomonas sp.</i>	Rhod <i>Rhodomonas</i>	Cryp Cryptophyta
Ra <i>Rhodomonas salina</i>		

Dino, Baci, Chry, and Cryp stand for the division of Dinophyta, Bacillariophyta, Chrysochyta, and Cryptophyta, respectively. Pror, Pseu, Thal, Cha, Isoc, Prym and Rhod stand for the genus of *Prorocentrum*, *Pseudo-nitzschia*, *Thalassiosira*, *Chaetoceros*, *Isochrysis*, *Prymnesiophyceae*, and *Rhodomonas*, respectively. Sc, Gs, Pr, Pm, Ps, Tr, Cu, De, Is, Pg, Rs, and Ra stand for *Scrippsiella trochoidea*, *Gymnodinium simplex*, *Prorocentrum donghaiense*, *Prorocentrum minimum*, *Pseudo-nitzschia pungens*, *Thalassiosira rotula*, *Chaetoceros curvisetus*, *Chaetoceros debilis*, *Isochrysis galbana*, *phaeocystis globosa*, *Rhodomonas sp.* and *Rhodomonas salina*, respectively.

2.2 浮游植物荧光光谱的测量

浮游植物的培养周期为 15 天(Ps 为 10 天),对于在 6000 lx, 10000 lx 和 15000 lx 光照下培养样品每隔 2 天(Ps 为每隔 1 天)取样,以 Hitachi F4500 荧光分光光度计(1 cm 石英比色池)进行三维荧光光谱的测量。

测量条件:激发波长 400~600 nm,发射波长 650~700 nm,步长 5 nm,激发狭缝与发射狭缝均为 5 nm,扫描速度 12000 nm/min。每个藻种平行培养三

份,每份平行测定三次。共获得三维荧光光谱 1620 个。以相同的扫描条件测量浮游植物混合样品;同时,以 BBE 藻类分析仪测定样品中的叶绿素含量。

3 数据处理

3.1 预处理

将所有三维荧光光谱转为 txt 格式,以 Matlab 软件(Version 6.5)处理后转存为 11 行×41 列的数据矩阵,每个矩阵分别对应着发射波长 650~750 nm,激发波长 400~600 nm 的三维光谱。利用德劳奈(Delaunay)^[14,17]三角插值法,消除三维荧光光谱的瑞利散射和拉曼散射。

3.2 浮游植物的特征提取

为便于使用小波分析技术,首先将三维荧光光谱转化为二维光谱。不同激发波长点的荧光发射光谱相互连接,由 41 个发射光谱组成,称之为 BEms (big emission spectra);不同发射波长点的荧光激发光谱相互连接,由 11 个激发光谱组成,称之为

BExs(big excitation spectra)(图 1)。图中横坐标所示的 451 个数据点与波长 λ 的对应关系是:图(a)平分为 41 份,每份依次代表 400~600 nm 中(每隔 5 nm)的一个激发波长点,每份中的 11 个数据点分别代表 650~700 nm(每隔 5 nm)的一个发射波长点;图(b)平分为 11 份,每份依次代表 650~700 nm 中(每隔 5 nm)的一个发射波长点,每份中的 41 个数据点序分别代表 400~600 nm(每隔 5 nm)中的一个激发波长点。将 BEms 和 BExs 按公式 $x^* = \frac{x_i - x_{\min}}{x_{\max} - x_{\min}}$ 作最大值归一化处理,其中 x_i 为谱上的每一个点, $x_{\max} = \max_i(x_i)$, $x_{\min} = \min_i(x_i)$ 。然后以 *coif2* 小波函数对所有光谱进行小波分解,以第 1 至第 4 层尺度分量(分别以 *ca1*, *ca2*, *ca3* 和 *ca4* 表示)作为备选荧光特征谱。每一层尺度分量上的数据点按照 $cai \times 2^i - 11(2i - 1)$, $i = 1, 2, 3, 4$ 与 BEms 或 BExs 中的数据点进行换算,并按照与波长 λ 的对应关系换算成相应波长点。

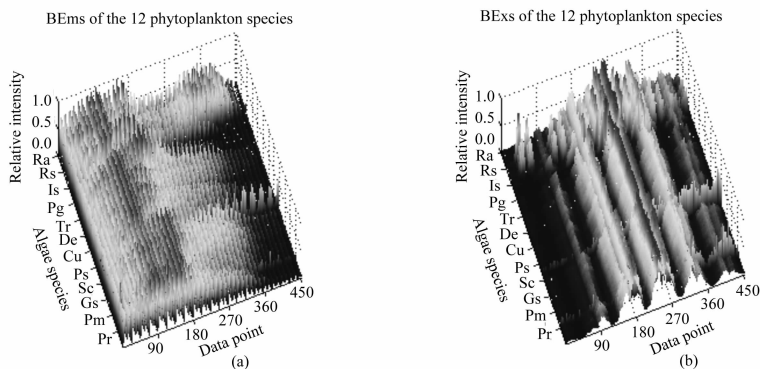


图 1 12 种浮游植物的三维荧光光谱图的二维显示形式

Fig. 1 Two-dimensional (2D) formats of 3D fluorescence spectra of the 12 phytoplankton species

表 2 Bayes 判别分析法对尺度分量的选择

Table 2 Selection of sale vectors by Bayes discriminant analysis

CDR / %	Dino			Bac			Chry		Cryp	GCDR	DCDR
	Pror Pr, Pm	Gs	Sc	Ps	Chae Cu, De	Tr	Pg	Is	Rhod Rs, Ra		
ca2-BEms	97.2	96.2	96.0	98.7	92.3	93.0	100	93.0	100	96.5	98.8
ca2-BExs	96.9	96.2	96.0	98.7	89.3	93.0	100	93.0	100	96.5	98.8
ca3-BEms	97.1	95.2	95.0	98.6	95.6	91.8	100	92.5	100	96.7	98.8
ca3-BExs	97.1	99.1	98.6	99.2	87.6	96.2	100	93.0	100	96.7	99.0
ca3-ca3	97.3	98.6	98.7	99.0	93.3	96.0	100	93.0	100	97.4	99.0

3.3 浮游植物识别特征谱的选择及其分类能力检验

通过观察比对及 Bayes 判别法(结果如表 2 所示)对备选特征谱进行分析,选取识别特征谱。并对识别特征谱在不同分类条件下(包括平行测量样品间、平行培养样品间、不同生长期间的样品间、不同

光照培养样品间)的判别能力进行分析研究。

3.4 浮游植物荧光标准谱库及相应识别测定技术的建立

以聚类法对每种浮游植物在第一平行培养样下的所有识别特征谱进行聚类分析,对不同培养条件

下获得的识别特征谱进行分类,对每一类取平均作为该类的标准谱,分为几类,该藻种就有几条特征谱,由此形成 12 种浮游植物的荧光标准谱库。在标准谱库的基础上,以多元线性回归法辅以非负最小二乘法解析建立相应的识别测定技术,对单种浮游植物样品(加入不同比例的白噪声)及浮游植物混合样品进行识别测定。

4 结果与讨论

选择的 12 种浮游植物属于 4 个门的 9 个属。由图 1 可见,不同门类浮游植物的三维荧光光谱具有较为明显的特征差异;相对而言,同门不同属的浮游植物虽然也有特征差异,但并不明显。因此,提取并放大不同门类及属(种)的浮游植物荧光特征便成为浮游植物荧光识别测定技术的关键所在。

小波技术具有“数学上的显微镜”之称,能够提取和凸显光谱和图像的信号特征,并具有较强的抗干扰能力。小波分析技术能够构建特定高维空间,将三维荧光光谱投影于高维空间,可以得到尺度分量和小波分量,分别反映较大尺度上的综合信息及较小尺度上的细节信息。通过对比分析,选择各空间中特异性强且在不同生态环境条件下具有良好稳定性的荧光分量组成浮游植物的荧光特征谱。在对

具有正交性及紧支撑性的 Daubechies, Symlets 及 Coiflets 小波系列进行选择,coif2 小波函数分析数据所得的特征谱对所研究的 12 种浮游植物具有最佳的分类识别效果,故选择此小波函数用于浮游植物荧光光谱的特征提取。相对于小波分量,尺度分量更不易受到噪声污染^[17],因此本文将在尺度分量中选择特征谱。

对以 coif2 小波分解所得的尺度分量(图 2)进行观察对比后发现:第一层尺度分量仍较为明显地受到噪声影响,而第四层(及其以后的)尺度分量损失了荧光光谱的部分特征,因此,这两层尺度分量均不能作为荧光光谱的识别特征谱;相对而言,第二及第三层尺度分量既能较好地避免噪声影响,又较为完整地保留了各类浮游植物的荧光特征,但仅以观察对比法无法得出哪个分量更适合作识别特征谱。本文选择了 Bayes 判别分析法对第二及第三层尺度分量进行分析,以三维光谱的 BEms 和 BExs 的两层尺度分量(ca2 和 ca3)为依据来对比分析 12 种浮游植物的平均分类正确率。Bayes 判别结果表明(表 2),BExs 和 BEms 相比较,前者除在对角毛藻属的分类正确率上低于后者外,对其他 8 个属均具有较高的分类正确率;而以 ca3 为荧光特征谱的分类正确率又在总体上高于 ca2,因此,选择了 ca3-

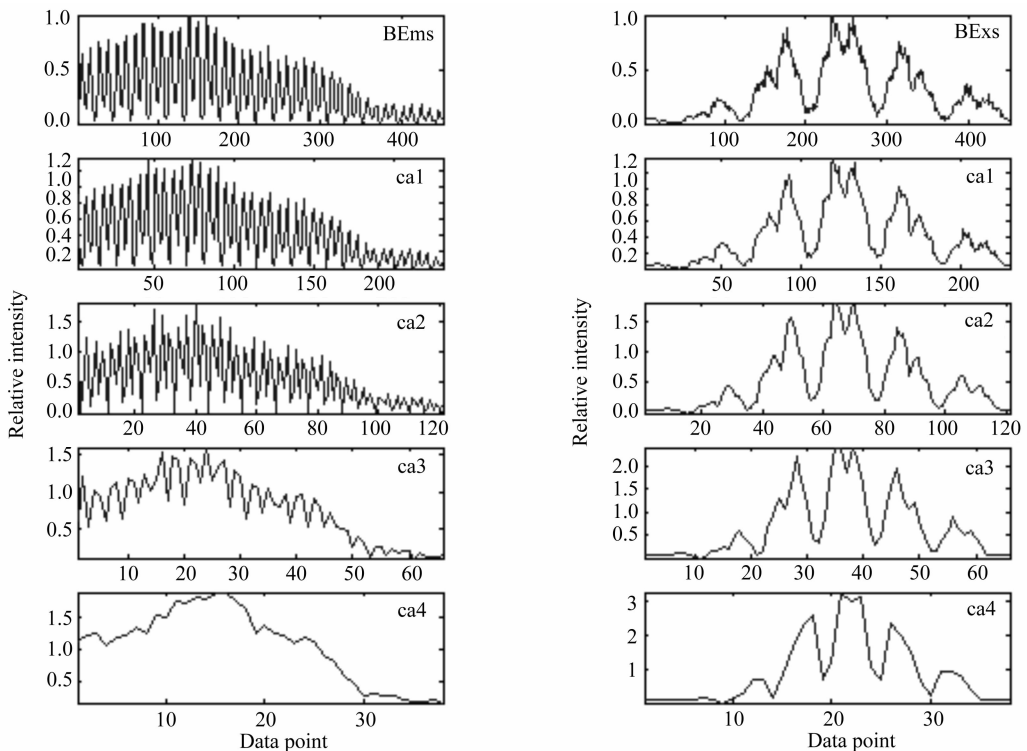


图 2 Coif2 小波对浮游植物三维荧光光谱 BEms 和 BExs 进行分解后所得的 1~4 层尺度分量

Fig. 2 1st to 4th scale vectors of the BEms and BExs of the 3D fluorescence spectra obtained by coif2 wavelet

BEms 与 ca3-BEExs 的联合应用。正如表 2 中结果所示,相较于 ca3-BEExs,两者连用(ca3-ca3)时的最低分类正确率(对角毛藻属的分类)提高了 5.7%,且在总体上具有更佳分类识别效果。因此,两者的

联合被选为浮游植物三维荧光光谱的识别特征谱。相较于原始三维荧光光谱(图 1),识别特征谱(图 3)更好地凸显出了不同属(种)的浮游植物的荧光特征。

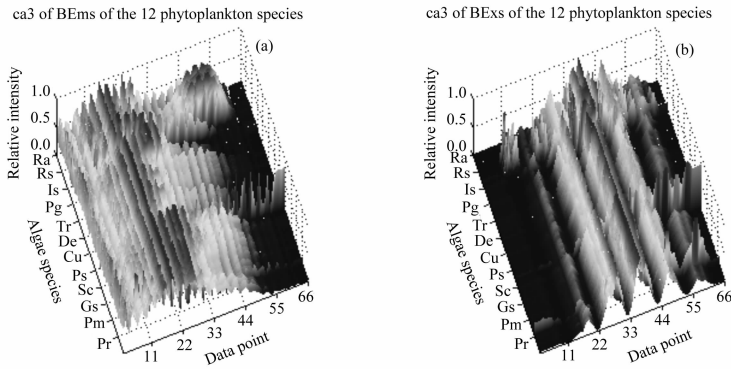


图 3 12 种浮游植物的识别荧光特征谱图

Fig. 3 Discriminating fluorescence characteristic spectra of the 12 phytoplankton species

表 3 识别特征谱的分类正确率

Table 3 Correct discriminating rate of the discriminating characteristic spectra

CDR / %	Dino			Bac			Chry		Cryp	GCCR	DCCR
	Pror Pr, Pm	Gs	Sc	Ps	Chae Cu, De	Tr	Pg	Is	Rhod Rs, Ra		
1	96.9	100	98.3	98.9	100	98.5	100	99.4	100	98.6	99.5
2	97.5	100	98.9	99.4	100	97.8	100	99.4	100	99.2	99.7
3	97.9	98.8	100	99.4	87.3	95.1	100	99.1	100	97.2	99.7
4	95.5	95.5	97.7	98.3	85.8	98.3	100	73.9	100	94.5	97.3

CDR, GCCR and DCCR stand for correct discriminating rate, total correct discriminating rate at the level of genus, and total correct discriminating rate at the level of division, respectively.

识别特征谱的分类正确率如表 3 所示。9 个属的浮游植物在平行测量样品及平行培养样品间均具有高于 96% 的分类正确率;属间及门间的分类总正确率分别在 98% 及 99% 以上。不同属种的浮游植物受生长期及光照的影响不同,角毛藻属的荧光特征谱受两者的影响都较大,Is 的荧光特征谱较易受到光照的影响,这些影响会降低浮游植物的分类正确率。为更准确地表征某种浮游植物的荧光特征,将在不同培养条件下得到的该种浮游植物荧光特征谱进行聚类分析,将每一类特征谱取平均值作为该种浮游植物的一条标准谱,由此确定每一种浮游植物的荧光标准谱及其数目。通过聚类分析,共获得 59 条标准谱组成这 12 种浮游植物的标准谱库,各浮游植物的标准谱如图 4 所示(每条特征谱在处理过程中均进行最大值归一化处理以消除特征谱的荧光强度影响)。

由浮游植物荧光标准谱图可以看出,不同门类的浮游植物具有较为显著的特征差异。首先比较前

66 个数据点处的差异:甲藻分别第 18 和第 22 数据点(波长 $\lambda_{Em} = 650 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 430 \text{ nm}$ 及 $\lambda_{Em} = 700 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 440 \text{ nm}$)处具有最大值,且标准谱的谱峰较宽;硅藻仅在第 18 数据点(波长 $\lambda_{Em} = 650 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 430 \text{ nm}$)处具有最大值,且标准谱的谱峰相对较窄;金藻门在第 16, 18 数据点(波长 $\lambda_{Em} = 680 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 420 \text{ nm}$ 及 $\lambda_{Em} = 700 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 440 \text{ nm}$)处或第 18, 24~26 数据点(波长 $\lambda_{Em} = 700 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 440 \text{ nm}$ 及 $\lambda_{Em} = 655 \sim 700 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 450 \sim 455 \text{ nm}$)处具有明显的较大值,且标准谱的峰形变化与甲藻和硅藻有差异;隐藻与甲藻、硅藻和金藻的荧光特征明显不同,隐藻在第 40~60 数据点(波长 $\lambda_{Em} = 650 \sim 700 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 510 \sim 580 \text{ nm}$)之间出现第二组明显的峰群,两组峰的最大值分别出现在第 16 数据点(波长 $\lambda_{Em} = 680 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 420 \text{ nm}$)处和第 47~50 数据点($\lambda_{Em} = 650 \sim 700 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 500 \sim 545 \text{ nm}$)之间。比较其余数据点处的差异可发现:甲藻标准谱的 5 组荧光峰均具

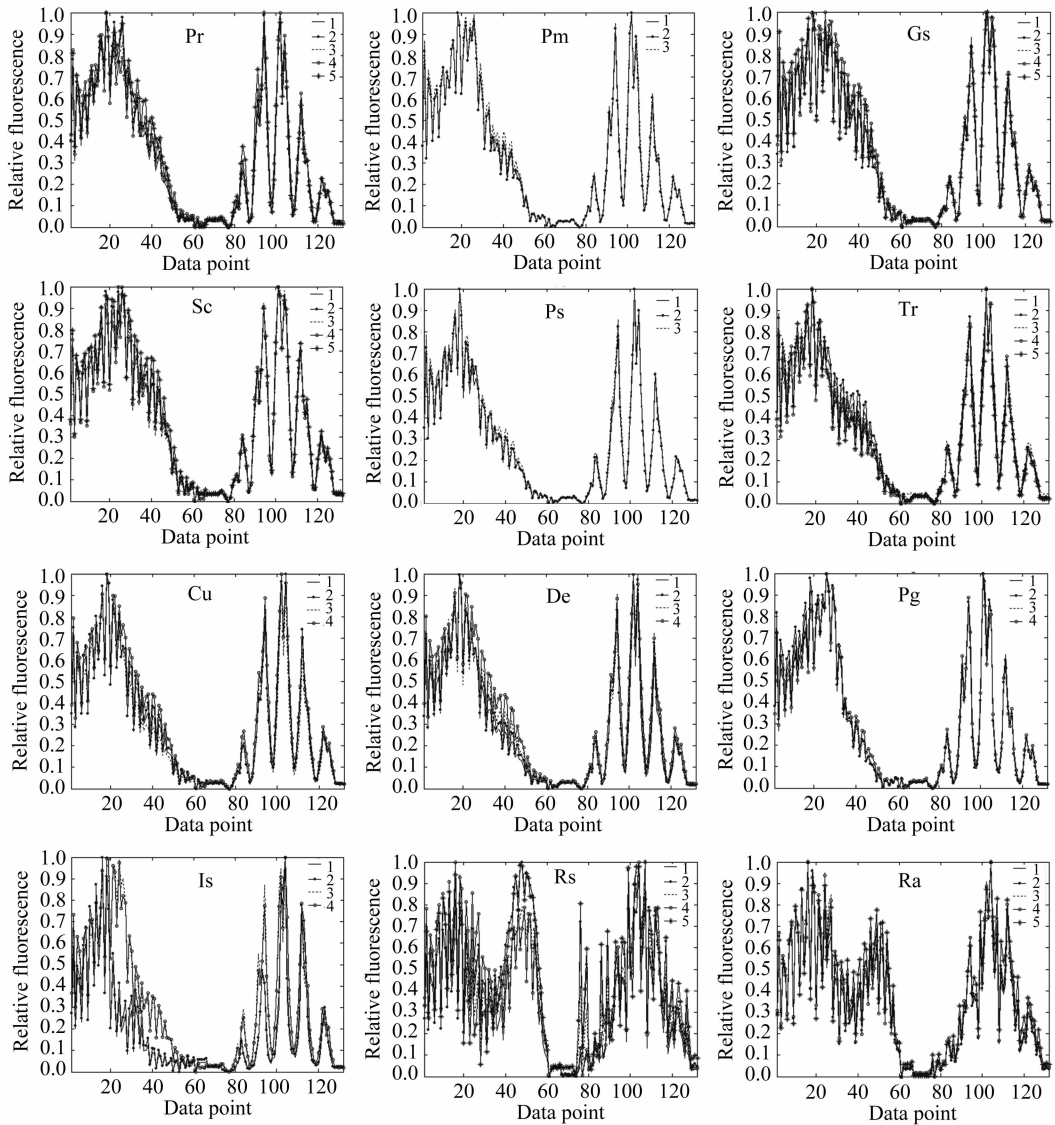


图 4 12 种浮游植物的荧光标准谱图。数据点 1~66, 67~132 分别属于 BEms 及 BExs 的标准谱

Fig. 4 Fluorescence reference spectra of the 12 phytoplankton species. The 1~66 and 67~132 data points belonging to BEms and BExs, respectively

有双峰结构, 最大值出现在第 101(102) 或 104 数据点 ($\lambda_{Em} = 670 \sim 675 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 575 \sim 590 \text{ nm}$ 或 $\lambda_{Em} = 675 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 495 \text{ nm}$) 处; 硅藻标准谱在第 102 或 104 数据点 ($\lambda_{Em} = 675 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 575 \text{ nm}$ 或 $\lambda_{Ex} = 495 \text{ nm}$) 处具有最大值, 且 5 组峰基本为单峰结构; 金藻标准谱在第 101 数据点 ($\lambda_{Em} = 670 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 590 \text{ nm}$) 处 (Pg) 或第 104 数据点 ($\lambda_{Em} = 675 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 495 \text{ nm}$) 处 (Is) 具有最大值, 且 5 组峰多为双峰结构; 隐藻标准谱的每组峰均易出现 3 峰或 4 峰结构, 最大值出现在第 104 或 107 数据点 ($\lambda_{Em} = 675 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 495 \text{ nm}$ 或 $\lambda_{Em} = 680 \text{ nm}$, $\lambda_{Ex} = 425 \text{ nm}$) 处。谱图上的这些特征可以较为明显地将上述四个门类区分开。对同门类的浮游植物而

言, 虽然其特征差异没有不同门类的浮游植物间的差异大, 但仍然具有可识别的特征差异, 相对于不同的属, 甲藻中同一属的 Pr 与 Pm 具有更加相似的特征, 硅藻中同一属的 Cu 和 De 也具有更加相似的特征。

以构建的标准谱库为基础, 利用线性回归技术辅以非负最小二乘法解析建立了浮游植物群落组成荧光识别测定技术, 对单种浮游植物样品和混合浮游植物样品的识别结果分别如表 4 和表 5 所示。

由表 4 可知, 不同门和属的浮游植物的特征谱具有不同的抗噪识别能力, 门类水平上的抗噪识别能力要远高于属水平。当噪声比例达 10% 时, 浮游植物在门类水平上的识别均不受影响, 保持 98% 以

表 4 单种浮游植物的识别结果

Table 4 Identifying result of phytoplankton samples containing single species

Noise ratio / %	Identifying result	Dino		Bac				Chry		Cryp		GCIR	DCIR
		Pror Pr, Pm	Gs	Sc	Ps	Chae Cu, De	Tr	Pg	Is	Rhod Rs, Ra			
0	T/N	350/356		357/358				175/176		180/180			
	CIR / %	172/179	87/89	84/88	89/90	178/178	88/90	88/88	87/88	180/180	1053/1070	1062/1070	
		96.1	97.8	95.5	98.9	99.7	100	97.8	100	98.9	100	98.4	99.3
10	T/N	350/356		357/358				175/176		180/180			
	CIR / %	172/179	87/89	75/88	73/90	147/178	89/90	88/88	87/88	180/180	997/1070	1062/1070	
		96.1	97.8	85.2	81.1	99.7	98.9	100	98.9	100	93.2	99.3	
20	T/N	351/356		344/358				175/176		180/180			
	CIR / %	171/179	88/89	80/88	10/90	118/178	87/90	88/88	87/88	180/180	909/1070	1050/1070	
		95.5	98.9	90.9	11.1	96.1	96.7	100	98.9	100	95.0	98.1	

表 5 浮游植物混合样的识别结果

Table 5 Identifying result of phytoplankton mixture samples

Identifying result		Dino				Bac			Chry			Cryp	
		pror		Gs	Sc	Ps	Chae		Tr	Pg	Is	Rhod	
		Pr	Pm				Cu	De				Rs	Ra
1	T/T	0.74	0	0.03	0.11	0.06	0	0.05	0	0	0	0	0
2	T/T	0.53	0.13	0	0	0	0	0.12	0	0.12	0.04	0	0
3	T/T	0	0.07	0.66	0.19	0	0	0	0	0.07	0	0	0
4	T/T	0.04	0	0.65			0	0.07	0.10	0.05	0.09	0.04	0
5	T/T	0.07	0.69	0.09	0.14	0	0	0	0	0.07	0	0	0
6	T/T	0.03	0.80	0	0	0	0	0.06	0.11	0.05	0.09	0.04	0
7	T/T	0.02	0.19	0.13	0.65		0	0	0.15	0	0	0	0
8	T/T	0	0.03	0.22	0.50	0	0.05	0.03	0.10	0	0	0	0
9	T/T	0	0	0	0	0.74	0	0.05	0.21	0	0	0	0
10	T/T	0	0	0.13	0	0.80	0	0.05	0	0	0	0.03	0
11	T/T	0.06	0.03	0.09	0.19	0	0	0.45	0.11	0	0.06	0	0
12	T/T	0.11	0	0.03	0	0	0.41	0.26	0.19	0	0	0	0
13	T/T	0	0	0.06	0	0.03	0.35	0.33	0.20	0	0	0	0
14	T/T	0	0.16	0.06	0.02	0.14	0.09	0.52	0	0	0	0	0
15	T/T	0	0	0	0	0.15	0	0.11	0.75	0	0	0	0
16	T/T	0	0.07	0	0	0.15	0	0.12	0.61	0	0	0.01	0
17	T/T	0	0	0.02	0	0	0	0	0	0.74	0.21	0	0
18	T/T	0	0	0.03	0	0	0	0	0	0.74	0	0.16	0.07
19	T/T	0	0	0	0	0.03	0	0	0.02	0.25	0.70	0	0
20	T/T	0	0	0	0	0	0	0.03	0	0	0.72	0.02	0.23
21	T/T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.25	0	0.75
22	T/T	0	0	0	0	0	0	0	0	0.17	0.01	0.82	0

CIR, GCIR and DCIR stand for correct identifying rate, total correct identifying rate at the level of genus, and total correct discriminating rate at the level of division, respectively. T/T stands for that both the identifying results are right at the level of genus and the level of division. The number in italic and bold stands for the non-dominant and dominant species in phytoplankton mixtures; the number in bold and italic stands for the dominant species identified.

上的正确识别率;当噪声达到 20% 时,甲藻、金藻和隐藻均可不受影响,而硅藻受影响的程度较高,识别正确率下降到 96%。对属水平上的识别而言,拟菱形藻属(Ps)与角毛藻属特征谱的抗噪能力较差,随着噪声比例的增加,识别能力迅速下降:当无噪声

时,可保持 99% 甚至 100% 的识别正确率;当噪声为 10% 时,识别正确率略大于 80%;而当噪声比例达 20% 时,两者的识别正确率分别迅速下降至 11.1% 及 66.3%。其余 7 个属的特征谱具备较好的抗噪能力,在所研究的噪声比例范围内,属间识别正确率仍

可保持在 85% 以上, 甚至可达 100%。

由表 5 中对浮游植物混合样品的识别结果可知, 对表中所列的 12 个门类间的混合样品及 10 个属间(同一门类)的混合样品, 当所研究的 12 种浮游植物在混合样品中的粒子数分数达到 75% 或 80%, 即作为群落优势种存在时, 在门类及属水平上可进行 100% 的识别。

5 结 论

以 *coif2* 小波函数为基函数对分属 4 个门 9 个属的 12 种浮游植物的三维荧光光谱进行分解, 所得的第三层尺度分量组成的特征谱具有明显的门类差异。Bayes 判别结果表明, 该特征谱可将这 12 种浮游植物在门类的水平上进行有效的分类, 平均分类正确率可达 99.0%; 也可在属的水平上进行分类, 平均分类正确率达 97.4%。通过聚类分析确定了 59 条标准谱组成这 12 种浮游植物的标准谱库, 基于此建立的浮游植物群落组成识别测定技术对单种浮游植物样品在门类层次及属层次上的识别正确率可分别达 99.3% 及 98.4%; 当噪声比例分别为 10% 和 20% 时, 门类层次上的总识别正确率分别为 99.3% 和 98.1%, 属层次上的总识别正确率分别为 93.2% 和 85.0%。当这 12 种浮游植物在混合样品中的浓度比达到 75% 或 80%, 即作为群落优势种存在时, 在门类及属水平上可进行 100% 的识别。结果表明, 建立一种在“正常”(未发生赤潮)情况下能够在门类的水平上识别测定浮游植物群落组成, 而赤潮发生时在属的水平上识别测定赤潮肇事种的浮游植物群落组成荧光分析技术是可行的。

参 考 文 献

- Zhang Oianqian, Wang Xiulin, Zhu Chenjian. Research progress on species and analytical methods of phytoplankton in red tide [J]. *Marine Environ. Sci.*, 2004, **23**(1):73~76
张前前, 王修林, 祝陈坚. 赤潮浮游植物种类和数量分析的研究进展[J]. *海洋环境科学*, 2004, **23**(1):73~76
- J. L. Pech-Pacheco, J. Alvarez-Borrego. Optical-digital system applied to the identification of five phytoplankton species [J]. *Marine Biology.*, 1998, **132**(3):357~365
- C. K. Sieracki, M. E. Sieracki, C. S. Yentsch. An image-in-flow system for automated analysis of marine microplankton [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1998, **168**(1):285~296
- A. J. Lewitus, D. L. White, R. G. Tymowski *et al.*. Adapting the CHEMTAX method for assessing phytoplankton taxonomic composition in southeastern U. S. [J]. *Estuaries*, 2005, **28**(1):160~172
- M. D. Mackey, D. J. Mackey, H. W. Higgins *et al.*. CHEMTAX—a program for estimating class abundances from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1996, **144**(1):265~283
- C. S. Yentsch, D. A. Phinney. Spectral fluorescence: an ataxonomic tool for studying the structure of phytoplankton populations [J]. *Journal of Plankton Research*, 1985, **7**(5):617~632
- J. Seppälä, M. Balode. The use of spectral fluorescence methods to detect changes in the phytoplankton community [J]. *Hydrobiologia*, 1998, **363**(1-3):207~217
- Stéphane Maritorena, André Morel, Bernard Gentili. Determination of the fluorescence quantum yield by oceanic phytoplankton in their natural habitat [J]. *Appl. Opt.*, 2000, **39**(36):6725~6737
- M. Beutler, K. H. Wiltshire, B. Meyer *et al.*. A fluorometric method for the differentiation of algal populations in vivo and in situ [J]. *Photosynthesis Research*, 2002, **72**(1):39~53
- T. Lee, M. Tsuzuki, T. Takeuchi *et al.*. Quantitative determination of cyanobacteria in mixed phytoplankton assemblages by an in vivo fluorimetric method [J]. *Analytical Chimica Acta*, 1995, **302**(1):81~87
- J. Kolbowski, U. Schreiber. Computer-Controlled Phytoplankton Analyzer Based on a4-Wavelength PAM Chl Fluorometer. In: *Photosynthesis: From Light to Biosphere* [M]. Dordrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publishers, 1995. 825~828
- Qianqian Zhang, Shuhe Lei, Xiulin Wang *et al.*. Discrimination of phytoplankton classes using characteristic spectra of 3D fluorescence spectra [J]. *Spectrochimica Acta Part A*, 2006, **63**(2):361~369
- Lu Lu, Su Rongguo, Hu Xupeng *et al.*. Research on phytoplankton chlorophyll fluorescence excitation spectra by Gaussian decomposition [J]. *Chinese J. Lasers*, 2007, **34**(8):1115~1119
卢 璐, 苏荣国, 胡序朋 等. 高斯分解法研究浮游植物荧光激发光谱[J]. *中国激光*, 2007, **34**(8):1115~1119
- Hu Xupeng, Su Rongguo, Zhang Chuansong *et al.*. Fluorescence discrimination technology for the red tide algae by spectra similarity index [J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(1):115~119
胡序朋, 苏荣国, 张传松 等. 基于光谱相似性指数的赤潮藻荧光识别技术[J]. *中国激光*, 2008, **35**(1):115~119
- Su Rongguo, Hu Xupeng, Zhang Chuansong *et al.*. Discrimination of red tide algae by fluorescence spectra and principle component analysis [J]. *Environmental Science*, 2007, **28**(7):1529~1533
苏荣国, 胡序朋, 张传松 等. 荧光光谱结合主成分分析对赤潮藻的识别测定[J]. *环境科学*, 2007, **28**(7):1529~1533
- Zhou Youxi, Li Yunsong, Wu Chengke. Environmental satellite multispectral images compression algorithm [J]. *Acta Optica Sinica*, 2006, **26**(3):336~340
周有喜, 李云松, 吴成柯. 环境卫星多光谱图像压缩算法[J]. *光学学报*, 2006, **26**(3):336~340
- Zhang Fang, Wang Liang, Su Rongguo *et al.*. Research on wavelet analysis in the characteristics extracting and identification of discrete 3D fluorescence spectra of phytoplankton [J]. *Chinese Journal of Sensors and Actuators*, 2007, **20**(10):2143~2150
张 芳, 王 良, 苏荣国 等. 小波分析在活体浮游植物离散三维荧光光谱特征提取及识别中的应用研究[J]. *传感技术学报*, 2007, **20**(10):2143~2150
- Zhang Qiang, Guo Baolong. Fusion of multispectral and panchromatic images based on the physical characteristics of imaging system [J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(2):243~248
张 强, 郭宝龙. 基于成像系统物理特性的多光谱图像与全色波段图像融合[J]. *光学学报*, 2007, **27**(2):243~248