

SA4 多小波在浮游藻荧光识别测定技术中的应用

张 翠 苏荣国 张珊珊 段亚丽 王修林

(中国海洋大学海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室, 山东 青岛 266100)

摘要 基于 SA4 多小波函数和浮游藻三维荧光光谱发展了一种浮游藻荧光识别测定技术。首先,采用 SA4 多小波对我国近海常见的 42 种优势藻种的三维荧光光谱进行分解,得到不同的尺度分量和小波分量,然后,应用贝叶斯判别原理选择第二、三层尺度分量 Ca₂,Ca₃ 及二者的联合 Ca₂-Ca₃ 作为荧光特征光谱分量,通过系统聚类分析得到 Ca₂,Ca₃,Ca₂-Ca₃ 标准谱库,在此基础上,利用非负最小二乘法解析的多元线性回归建立识别测定技术。用 3 种标准谱库对培养的单种浮游藻样品在门、属水平上进行分级识别,表明 Ca₂ 标准谱库的识别效果最好:门水平上识别正确率平均为 96.1%,属水平上识别正确率平均为 87.4%。将该技术用于模拟混合样品及实际混合样品的分析,3 种比例下,模拟混合样品的优势藻在门水平上识别正确率范围为 91.4%~100%,平均为 98.0%,99.4%,99.9%,平均相对含量分别为 72.7%,77.1%,86.1%,优势藻在属水平上识别正确率范围 23.2%~100%,平均为 91.2%,92.5%,93.4%。实际混合样品的优势藻在门水平上的识别正确率范围为 60.0%~100%,平均为 97.0%,平均相对含量为 71.8%,在属水平上识别正确率范围为 25.0%~100%,平均为 83.1%。将该技术用于麦岛围隔和胶州湾采集样品,在门水平上优势藻的分析结果与镜检结果一致,对于 10 个单种浮游藻优势度超过 75% 的样品,7 个在属水平上的优势藻分析结果与镜检结果一致。

关键词 光谱学;识别测定;SA4 多小波;三维荧光光谱;浮游藻

中图分类号 O657.3;Q949.2 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/CJL201138.0715003

Fluorescence Discrimination and Determination Method for Phytoplankton Composition by SA4 Multiwavelet

Zhang Cui Su Rongguo Zhang Shanshan Duan Yali Wang Xiulin

(Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao, Shandong 266100, China)

Abstract A fluorescence spectroscopy method for differentiation of phytoplankton classes is developed. SA4 multiwavelet functions are used to decompose the three-dimensional (3D) fluorescence spectra date of 42 phytoplankton species dominant in coastal area of China sea into scale vectors and wavelet vectors, then the Ca₂, Ca₃ and Ca₂-Ca₃ vectors are chosen as fluorescence feature spectra by Bayesian discriminant analysis and the three kinds of reference spectra are obtained by application of the systematic cluster to the fluorescence feature spectra, based on which, a fluorescence spectroscopy method is developed by multivariate linear regression resolved by nonnegative least squares. The three kinds of reference spectra are utilized to the samples composed of one phytoplankton species, the results suggest that the Ca₂ reference spectra are the strongest; the average correctly discriminating rate are 96.1% at the division level and 87.4% at the genus level. For the simulative mixed samples, the correctly discriminating rate for dominant species ranged from 91.4% to 100%, the average are 98.0%, 99.4%, 99.9%, the average relative content are 72.7%, 77.1%, 86.1% at division level, the correctly discriminating rate for dominant species ranged from 23.2% to 100% and the average are 91.2%, 92.5%, 93.4% at genus level in three different ratios respectively. For the mixed samples in lab, the correctly discriminating rate for dominate species

收稿日期:2011-01-24; **收到修改稿日期**:2011-03-21

基金项目:国家 863 计划(2009AA063005)、国家自然科学基金(40976060)和山东省自然科学基金(ZR2009EM001)资助课题。

作者简介:张 翠(1985—),女,硕士研究生,主要从事浮游藻监测方面的研究。E-mail:zhangcui135@163.com

导师简介:苏荣国(1973—),男,副教授,硕士生导师,主要从事浮游藻监测方面的研究。

E-mail:surongguo@mail.ouc.edu.cn(通信联系人)

range from 60.0% to 100%, the average is 97.0%, and the average relative content is 71.8% at division level; the correctly discriminating rate for dominate species range from 25.0% to 100%, the average is 83.1% at genus level. For the samples from the mesocosm experiment in Maida Bay of Qingdao and Jiaozhou Bay, the discriminating results of dominant phytoplankton classes from the fluorescence spectroscopy method are the same as that of microscopic examination at division level, and for the 10 samples with over 75% relative dominance of one phytoplankton species, the dominant species of 7 samples are recognized at genus level.

Key words spectroscopy; discriminate; SA4 multiwavelet; three-dimensional fluorescence spectrum; phytoplankton

OCIS codes 300.2530; 300.6170; 100.0100

1 引 言

常用的浮游藻检测方法主要有显微镜技术、图像分析技术、流式细胞仪技术、高效液相色谱法、分子探针技术、荧光光谱技术等^[1~5]。荧光光谱技术作为较常用的技术,具有灵敏度高、易于实现实时现场监测、对物质具有良好的鉴别性等优点。Yentsch等^[5]根据叶绿素/辅助色素比率将不同海域的主要浮游藻分为四类,并预测荧光光谱的指纹信息可用于浮游藻分类。Lee等^[6]根据蓝藻藻蛋白的特征荧光光谱,建立了蓝藻含量的现场活体荧光分析检测技术。Beutler等^[7]利用叶绿素荧光光谱将浮游藻分为四大类:绿藻、隐藻、蓝藻和混合藻(包括甲藻和硅藻)进行识别测定。但是,目前的研究只是局限于某类具有显著荧光特征的浮游藻如蓝藻等的识别测定或将浮游藻粗略地分为几大类后进行识别检测,难以满足现实需要。

有“数学显微镜”之称的小波技术已经成功应用在图像去噪、特征提取、边缘提取及目标识别等方面^[8~10]。近年来,本研究组将单小波技术引入浮游藻荧光特征提取中,根据我国近海浮游藻群落组成特点,建立了门、属水平上的浮游藻群落组成荧光识别测定技术,并实现了对浮游藻群落组成门、属水平上的识别测定^[11,12]。然而,单小波技术对部分藻的识别能力仍存在不足,如盒形藻(Oc),圆筛藻 1583(Cs),圆海链藻(Tr),六异刺硅鞭藻(Se),颗石藻(Ks),裸甲藻(Gy),鱼腥藻(Cy)等在属水平上识别正确率较低。

多小波(Multiwavelet)是近几年在小波技术的基础上发展起来的新理论,已构造出的多小波主要有GHM多小波、SA4多小波等^[13,14]。其中SA4多小波是直接根据单小波扩展构造出来的对称-反对称向量多小波,具有紧支撑性、正交性、高逼近阶等良好的性质,在信号处理、图像特征提取等领域得到广泛的应用^[15,16]。本文针对浮游藻群落组成荧光识别测定技术的研究现状,引入SA4多小波对浮游藻三维荧光光谱进行特征提取,建立了浮游藻荧光

识别测定技术,并通过现场采集样品进行了验证。

2 材料和方法

2.1 仪器与分析条件

仪器:Fluorolog3-11 荧光分光光度计及配套的工作站软件(法国 Jobin-Yvon 公司),1 cm 石英比色池,BBE 藻类分析仪(德国 bbe-moldaenke)。

分析条件:激发波长 400~650 nm,发射波长 600~750 nm,步长 5 nm,狭缝宽度 5 nm,扫描速度为 80 nm/s,扫描信号的积分时间为 0.05 s。

2.2 浮游藻的培养

选用的 42 种浮游藻采用 GXZ-3100 型光照培养箱培养,培养温度分别为 20 ℃,25 ℃;光照强度分别为 20000,12000,7000,4000 lx;光暗比为 12 h:12 h,培养周期为 14 天,培养体积为 350 mL,每种藻液平行培养两份。

2.3 三维荧光光谱的获得

每两天取一次培养的藻液用 Fluorolog3-11 荧光分光光度计测得单种藻的三维荧光光谱。平行样一作为训练集,其荧光光谱作为实验光谱,用于建立实验方法,平行样二作为测试集,其荧光光谱用于检验所建立的方法。

根据中国近海浮游藻群落结构特点:一个区域内浮游藻群落一般由 1~2 个门类的浮游藻占绝对优势,发生赤潮时一般为单相型赤潮,确定模拟混合样混合方案,即在质量比为 3:1,4:1,9:1(优势藻优势度分别为 75%,80%,90%)3 种比例下,将标准化后的荧光光谱两两加和,得到模拟混合藻的光谱数据。

在浮游藻培养的第三、四、五周期,用 BBE 藻类分析仪测定各藻种叶绿素含量,选取其中的 22 种藻按叶绿素质量比 1:3 混合得到 245 个混合样品,用荧光分光光度计测得其三维荧光光谱。

2.4 麦岛围隔和胶州湾样品的采集及荧光测量

2007 年 8 月,在麦岛海域进行浮游藻围隔培养实验,每个围隔采集约 5 L 水样带回实验室浓缩至

100 mL左右,分两份分别予以荧光测量和显微镜计数。

2007年8月,在胶州湾12个站位(如图1)采集水样约5 L,当天带回实验室按BBE所测浓度情况进行浓缩,浓缩后分两份,分别予以荧光测量和显微镜计数。

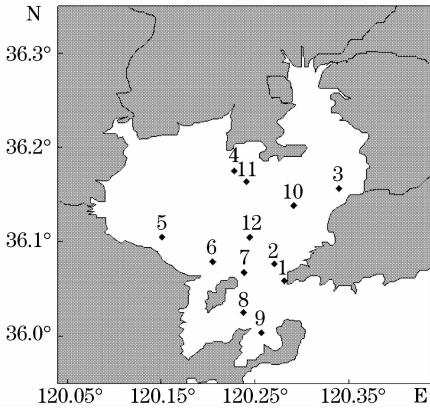


图1 胶州湾采样站位图

Fig. 1 Jiaozhou Bay station for sampling

2.5 数据处理与分析

2.5.1 数据前处理

用Origin7.5软件将42种藻的光谱文件转换成TXT形式。利用Delaunay三角形内插值法消除散射^[17]。将三维光谱数据转换为二维形式[各行(列)数据首尾相接]以便于处理荧光数据,并进行归一化处理来消除浮游藻浓度的影响。以上工作利用Matlab6.5软件完成。

2.5.2 浮游藻荧光特征谱的提取

SA4多小波采用的正交预滤波系数矩阵为

$$\mathbf{M}_{PR_0} = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ -1 & 1 \end{bmatrix} / \sqrt{2}. \quad (1)$$

标准化后的荧光光谱经预滤波处理后进行多小波变换,被分解到一个时域和一个频域内,产生各层的尺度分量和小波分量,如图2所示。

经过预滤波的荧光光谱信号经SA4多小波变换实现逐层分解,随着分解层数的增多,一些细微的谱图信息得到进一步细化和显现,分解后的谱图更利于荧光特征的选用和提取。此工作利用Matlab6.5软件完成。

2.5.3 特征分量的选择

贝叶斯(Bayes)判别分析能够在样本量不大的情况下获得较满意的评估结果,提高试验效率,用贝叶斯判别法对用SA4多小波分解得到的浮游藻荧光光谱各层尺度分量和小波分量的分类判别能力进行判别分析^[18,19]。

2.5.4 浮游藻标准谱库的建立

为减少运算量并消除相似光谱的存在对运算结果的影响,采用系统聚类法对所选浮游藻荧光特征谱在门、属水平上进行聚类分析,以欧氏距离作为各特征谱之间相似程度的度量,将聚为一类的所有特征谱的平均作为该类浮游藻的一条标准谱,由此确定每一类浮游藻的荧光标准谱及其数目。

2.5.5 识别测定技术的建立

在以上基础上,用多元线性回归辅以非负最小二乘法建立相应的浮游藻识别测定技术。非负最小二乘法是一种应用成熟的回归方法,回归模型为

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_nx_n + e, \quad (2)$$

式中 x_i 为标准谱库里的标准谱; $b_0 \geq 0$,为非负约束条件; b_i 为回归系数,即为每条谱所占的分量; e 为残差,计算过程为选取使残差平方和(e^2)达到最小的非负值 b_i 。利用 b_i 能确定每种浮游藻特征谱在未知样品中所占的比例,同样能得出每个门、属的浮游藻特征谱在未知样品中所占的比例。

3 结果与讨论

3.1 最佳特征分量的选择

从贝叶斯判别结果可知,尺度分量的判别效果整体上优于小波分量,第二层、第三层的尺度分量的平均错误判别率较低,分别为17.6%,24.5%,第二层尺度分量Ca2的平均判别错误率最低,且对威氏海链藻(Tw),球等鞭金藻(Ig),小普林藻(Pp),叉鞭金藻(Di),小球藻(Ch),盐藻(Ds),细小微胞藻(Mp),微小原甲藻(Pm),具齿原甲藻(Pd),简裸甲藻(Gs),锥状斯比藻(Sc),海洋卡盾藻(Cm)12种藻的错误判别率为零,所以首选第二层尺度分量Ca2作为SA4多小波的特征光谱分量用于标准荧光光谱的提取。

第三层尺度分量Ca3对威氏海链藻(Tw),小球藻(Ch),盐藻(Ds),亚心型扁藻(Pu),细小微胞藻(Mp),具齿原甲藻(Pd),简裸甲藻(Gs),红海束毛藻(Te)8种藻的错误判别率为零,对Pu,Te而言,第三层效果较第二层好,因此可把第三层尺度分量Ca3及二者的联合Ca2-Ca3作为备用。

3.2 标准谱库的选择及对浮游藻的识别测定

选取判别结果较好的第二层尺度分量Ca2,第三层尺度分量Ca3及二者联合Ca2-Ca3进行系统聚类分析,得到SA4多小波各分量的标准荧光光谱库。

利用SA4多小波的Ca2,Ca3,Ca2-Ca33种标

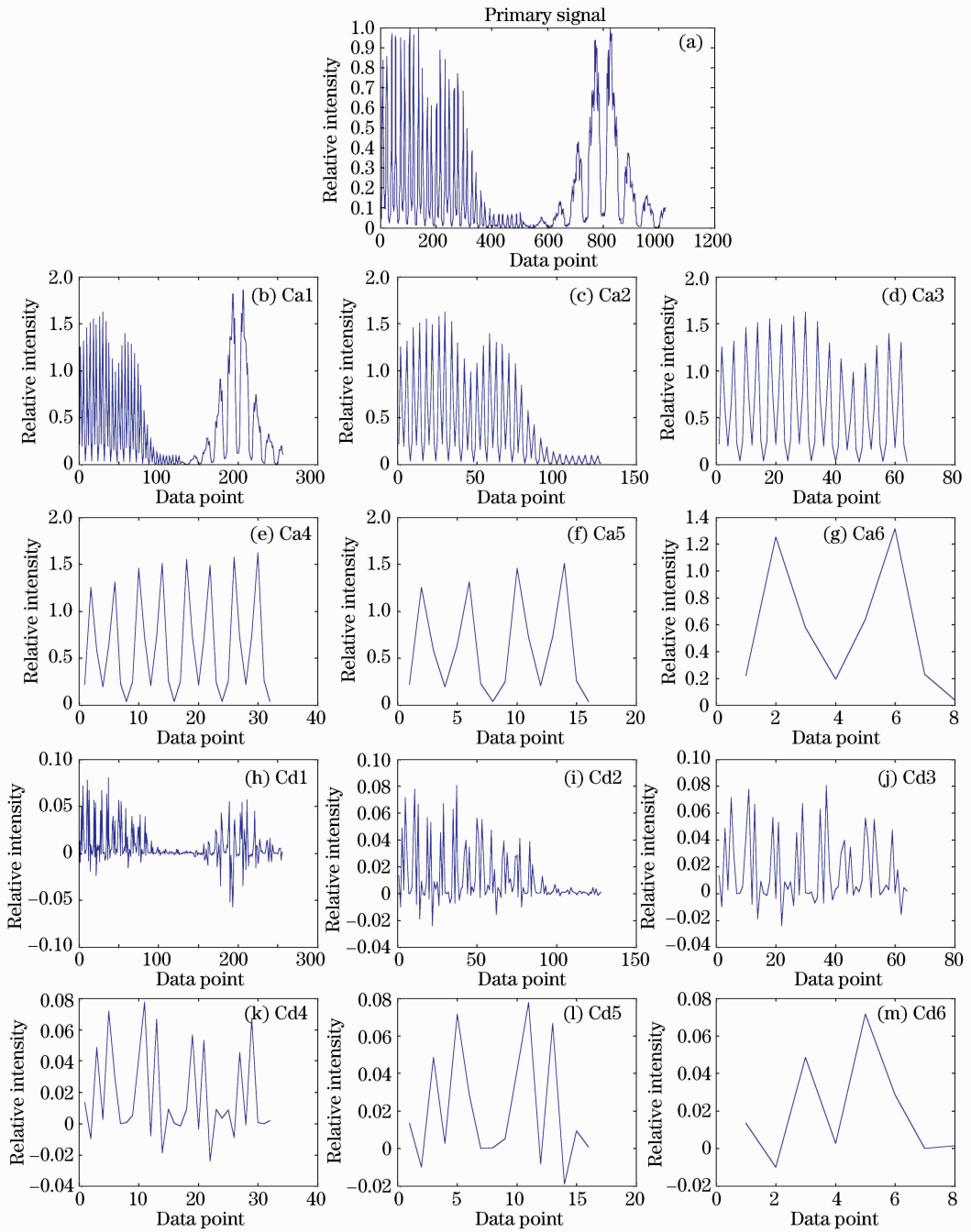


图 2 浮游藻荧光光谱的特征提取过程:Ca1~Ca6 代表第一层到第六层的尺度分量,Cd1~Cd6 代表第一层到第六层的小波分量

Fig. 2 Feature extraction of fluorescence spectra; Ca1~Ca6 stand for the six scaling vectors, and Cd1~Cd6 stand for the six wavelet vectors

准荧光光谱库对单种浮游藻样品进行识别分析,在门水平上,三者的平均识别正确率分别为96.1%,87.5%,95.8%;在属水平上,平均识别正确率分别为87.4%,73.6%,87.8%,且分别有30种、23种、28种浮游藻的属水平上识别正确率高于85%。可见,Ca2标准谱库的识别效果最好,因此选择Ca2标准荧光光谱库用于浮游藻的分级识别。

Ca2标准荧光光谱库对单种浮游藻样品进行识别分析时,门水平的平均正确识别率为96.1%,在属水平平均识别正确率为87.4%。威氏海链藻(Tw),刚毛根管藻(Rh),球形棕囊藻(Cg),颗石藻(Ks),六异刺硅鞭藻(Se)在门水平上的识别正确率低于85%,其他37种浮游藻在门水平上的识别正确率均高于85%。在属水平上除了盒形藻(Oc),圆筛藻

1583(Cs),布氏双尾藻(Db),诺氏海链藻(Tn),刚毛根管藻(Rh),球形棕囊藻(Cg),颗石藻(Ks),六异刺硅鞭藻(Se),强壮前沟藻(Am),米氏凯伦藻(Km),鱼腥藻(Cy)和螺旋藻(Lx)识别正确率低于85%外,其余30种浮游藻在属水平上的识别正确率均高于85%。

3.3 对模拟混合样品及实验室混合样品的识别作用

用SA4多小波Ca₂标准谱库对模拟混合样品进行识别测定,优势藻在门水平上识别正确率范围为91.4%~100%,3种混合比例的(优势门占75%,80%,90%)优势藻的平均识别正确率分别为98.0%,99.4%,99.9%,测定的相对含量范围分别为65.5%~76.7%,70.5%~81.0%,80.5%~89.8%,平均相对含量分别为72.7%,77.1%,86.1%;优势藻在属水平上识别正确率范围为

23.2%~100%,3种比例下(优势藻占75%,80%,90%)平均识别正确率分别为91.2%,92.5%,93.4%,当优势藻优势度达到75%时,该技术即能在属水平上对优势藻进行较好的识别。个别藻在属水平上识别较差,如强壮前沟藻(Am),它易被误判为同门内的原甲藻属,这主要是由于前沟藻属和原甲藻属的荧光光谱差异性较小;而布氏双尾藻(Db)识别较差也在于双尾藻属和角毛藻属的光谱差异性较小,造成误判。

表1为单种浮游藻样品和模拟混合浮游藻样品在门水平上的识别测定结果,表中相对含量是指浮游藻荧光识别测定技术在门水平上测得的优势浮游藻相对含量(下同)。表2为浮游藻单种藻样品和模拟混合藻样品在属水平上的识别结果,表中上标1为优势藻的识别正确率,2为模拟混合浮游藻样品中优势藻所占百分含量,3为单种藻样品。

表1 单种浮游藻样品和模拟混合浮游藻样品在门水平上的识别测定结果

Table 1 Results of phytoplankton species at the division level

Dominant division	Dominance /%	Correct rate /%	Relative content /%	
			Range	Average
Bacillariophyta	75	98.6	61.8~79.9	73.5
	80	99.5	66.3~83.4	77.6
	90	100	71.2~91.6	84.4
	100	96.6	62.8~95.6	83.8
Chrysophyta	75	100	73.9~78.8	76.7
	80	100	76.3~83.4	81.0
	90	100	79.8~92.2	89.6
	100	85.6	66.1~95.6	82.5
Chlorophyta	75	99.6	73.6~76.5	75.3
	80	99.9	78.5~81.4	80.0
	90	100	87.6~91.0	89.3
	100	100	95.9~98.3	97.3
Dinophyta	75	98.8	68.3~77.4	73.5
	80	99.0	72.6~82.0	77.2
	90	100	72.0~91.2	84.5
	100	99.6	79.4~96.5	89.9
Xanthophyta	75	96.0	66.8~71.8	69.3
	80	96.4	70.3~76.3	73.3
	90	99.3	81.4~84.9	83.2
	100	94.2	74.0~82.8	78.4
Cryptophyta	75	100	74.1~76.3	75.2
	80	100	78.8~81.4	80.1
	90	100	88.3~91.2	89.8
	100	100	90.3~91.8	91.1
Cyanophyta	75	91.4	52.2~70.7	65.5
	80	100	56.2~76.0	70.5
	90	100	64.7~86.4	80.5
	100	96.4	81.4~86.4	83.8

表 2 浮游藻单种藻样品和模拟混合藻样品在属水平上的识别结果

Table 2 Results of phytoplankton species at the genus level

Division	Genus	Species (abbreviation)	Correct	Correct	Correct	Correct	
			rate / % ¹	rate / % ¹	rate / % ¹	rate / % ¹	
			75% ²	80% ²	90% ²	100% ³	
Bacillariophyta	Pseudo-nitzschia	Pseudo-nitzschia pungens (Ps)	97.9	99.3	100	100	
	Skeletonema	Skeletonema costatum (Sk)	95.8	99.3	100	85.0	
	Chaetoceros	Chaetoceros	Chaetoceros curvisetus (Cu)	98.5	98.5	99.3	100
			Chaetoceros debilis (De)	94.8	95.6	100	100
			Chaetoceros (Ca)	100	99.3	100	100
	Biddulphia	Odontella cf_sinensis (Oe)	90.8	87.3	95.8	46.7	
	Coscinodiscus	Coscinodiscus	Coscinodiscus cf_radiatus (Cf)	51.4	46.4	23.2	85.0
			Coscinodiscus sp. 1583 (Cs)	82.6	98.6	100.0	70.0
	Ditylum	Ditylum	Ditylum brightwellii (Db)	47.9	48.6	71.8	35.0
	Thalassiosira cleve	Thalassiosira	Thalassiosira rotula (Tr)	69.6	50.4	47.4	98.3
			Thalassiosira nordenskioldii cleve (Tn)	99.3	100	100	75.0
			Thalassiosira weissflogii (Tw)	100	100	100	100
	Leptocylindrus	Leptocylindrus	Leptocylindrus danicus (Ld)	90.8	89.4	99.3	81.8
	Rhizosolenia	Rhizosolenia	Rhizosolenia setigera brightwell (Rh)	99.3	100	100	47.1
Chrysophyta	Prymnesiophyceae	Phaeocystis globosa (Cg)	88.9	93.8	100	60.0	
	Isochrysis	Isochrysis galbana (Ig)	100	100	100	97.8	
	Gephyrocapsa	Gephyrocapsa oceanica (Ks)	99.3	100	100	64.3	
	Prymneium	Prymneium parvum (Pp)	100	100	100	97.9	
	Distephanus	Distephanus speculum (Se)	97.9	100	100	75.0	
	Dicrateria	Dicrateria	Dicrateria2066 (Di)	100	100	100	100
Chlorophyta	Chlorella	Chlorella pynenoidosa (Ch)	98.6	99.3	97.9	100	
	Dunaliella	Dunaliella salina (Ds)	100	100	100	100	
	Platymonas	Platymonas subcordiformis (Pu)	100	100	100	100	
	Micromonas	Micromonas pusilla (Mp)	100	100	100	100	
Dinophyta	Alexandrium	Alexandrium tamarense (Al)	96.5	96.5	100	100	
	Amphidinium	Amphidinium carterae (Am)	57.0	52.8	85.2	78.3	
	Prorocentrum	Prorocentrum	Prorocentrum donghaiense (Pr)	98.5	97.0	100	100
			Prorocentrum minimum (Pm)	100	100	100	100
			Prorocentrum marinum (Ma)	100	100	100	89.1
			Prorocentrum dentatum (Pd)	100	100	100	100
	Gymnodinium	Gymnodinium	Gymnodinium simplex (Gs)	98.6	100	100	100
			Gymnodinium sp. (Gy)	93.5	95.0	99.3	86.1
	Karenia	Karenia mikimotoi (Km)	68.1	77.3	85.8	47.9	
Scripsiella	Scripsiella trochoidea (Sc)	97.2	97.2	94.4	98.3		
Xanthophyta	Heterosigma	Heterosigma akashiwo (Ha)	88.0	89.4	98.6	88.3	
	Chattonella	Chattonella marine (Cm)	100	99.3	100	100	
Cryptophyta	Rhodomonas	Rhodomonas sp. (Rs)	100	100	100	100	
		Rhodomonas salina (Ra)	100	100	100	100	
Cyanophyta	Anabaena	Anabaena sp. (Cy)	30.1	72.6	23.3	83.3	
	Spirulina	Spirulina sp. (Lx)	100	100	100	78.6	
	Synechococcus	Synechococcus sp. (Sy)	100	100	100	100	
	Trichodesmium ehrenberg	Trichodesmium erythraeum ehrenberg (Te)	100	100	100	100	

对实验室混合样品进行识别测定,作为优势种 97.0%,除了球形棕囊藻(Cg)识别正确率为60.0% 参与混合的藻在门水平上平均识别正确率为 之外,其他藻的识别正确率均高于85.0%,多数可达

到 100%，识别的相对含量范围为 50.0%~84.7%，平均相对含量为 71.8%。在属水平上平均识别正确率为 83.1%，圆海链藻(Tr)，球形棕囊藻(Cg)，球等鞭金藻(Ig)，强壮前沟藻(Am)作为优势藻识别正确率较低，可能是由于部分属间荧光光谱差异较小，如 Am 与 Pr, Cg 与 Pp 造成属内误判，而这几种藻参与混合的样本数量较少，统计时也会受偶然因素的

影响。其余藻作为优势藻在属水平上识别正确率均高于 80%。对作为次优势藻种参与混合的藻在门类水平上进行识别测定，平均识别正确率为 77.5%，相对含量范围为 3.04%~49.4% (具体数据未列出)，如表 3 所示，表中上标 1 为门水平上优势浮游藻的正确识别率，2 为属水平上优势浮游藻的正确识别率。

表 3 实验室混合浮游藻样品在门、属水平上的识别测定结果

Table 3 Results of mixed samples from laboratory at the division and genus level

Division	Genus	Dominant species (abbreviation)	Correct rate /%		Relative content /%	
			Division ¹	Genus ²	Range	Average
Bacillariophyta	Pseudo-nitzschia	Pseudo-nitzschia pungens (Ps)	100	100	73.2~97.0	84.7
	Skeletonema	Skeletonema costatum (Sk)	100	71.4	58.3~91.2	74.1
	Chaetoceros	Chaetoceros curvisetus (Cu)	100	88.9	61.7~82.1	73.0
		Chaetoceros debilis (De)	100	100	59.4~91.1	76.1
	Thalassiosira	Thalassiosira rotula (Tr)	100	30.8	49.8~67.8	57.0
Chrysophyta	Phaeocystis	Phaeocystis globosa (Cg)	60.0	40.0	0~95.53	50.0
	Isochrysis	Isochrysis galbana (Ig)	100	33.3	62.7~86.1	74.1
	Prymneium	Prymneium parvum (Pp)	100	100	57.3~58.8	58.1
Chlorophyta	Chlorella	Chlorella pynenoidosa (Ch)	100	100	71.4~94.1	79.5
	Dunaliella	Dunaliella salina (Ds)	100	100	61.4~82.6	75.9
	Platymonas	Platymonas subcordiforus (Pu)	100	100	66.31~86.34	76.3
	Prasinophyceae	Micromonas pusilla (Mp)	100	100	68.7~88.6	78.7
	Alexandrium	Alexandrium tamarense (Al)	93.3	80.0	64.0~85.6	77.0
Dinophyta	Amphidinium	Amphidinium carterae (Am)	100	25.0	67.7~82.9	75.3
	Prorocentrum	Prorocentrum donghaiense (Pr)	95.0	95.0	63.5~82.8	75.0
		Prorocentrum minimum (Pm)	85.7	85.7	60.0~77.8	69.1
	Gymnodinium	Gymnodinium simplex (Gs)	100	85.7	71.6~81.1	75.7
	Scrippsiella	Scrippsiella trochoidea(Sc)	100	92.3	58.1~84.2	71.3
Xanthophyta	Heterosigma	Heterosigma akashiwo (Ha)	100	100	58.5~87.8	72.0
	Chattonella	Chattonella marine (Cm)	100	100	60.4~81.1	72.6
Cryptophyta	Cryptomonas	Rhodomonas sp (Rs)	100	100	50.4~97.2	66.0
		Rhodomonas salina (Ra)	100	100	65.3~70.6	68.0

相对于单小波浮游藻荧光分析技术而言，所建立的浮游藻荧光分析技术不仅在浮游藻门类水平上的定量测定方面有了根本的改善^[8,9]；对于单小波浮游藻荧光分析技术难以正确识别的圆海链藻(Tr)，六异刺硅鞭藻(Se)，裸甲藻(Gy)，鱼腥藻(Cy)等，在属水平上的识别正确率也超过 75%。

3.4 对麦岛围隔实验水样及胶州湾水样的识别作用

12 个围隔水样的镜检结果表明：水样 4-2, 6-2 的第一优势门为甲藻，优势度分别为 56.7%，70.5%，次优势门为硅藻，优势度分别为 30.0%，22.9%；水样 2-2 的第一优势门为硅藻，优势度为 76.2%，次优势门为甲藻，优势度为 23.8%；其他水样的第一优势门为硅藻，优势度为 97.9%~99.9%。12 个水样中有 6 个水样的第一优势种优势度超过

75%，且第一优势种均为聚生角毛藻。用所建立的荧光识别测定技术对 12 个围隔水样进行分析：第一优势门浮游藻的识别结果与镜检结果一致，识别的相对含量为 58.6%~98.4%，对于第一优势门浮游藻优势度小于 90% 的 2-2, 4-2, 6-2 水样，识别出其次优势门浮游藻分别为硅藻、硅藻和甲藻，与镜检结果相一致，测定的相对含量分别为 26.1%，21.9%，13.9%。对于单种藻优势度达到 75% 的 6 个样品，5 个样品的优势藻在属水平上的识别结果与镜检结果一致，如表 4 所示，表中样品编号前一位数字为围隔编号，后一位编号 1 为围隔培养第 5 天采样，2 为第 10 天采样。

胶州湾样品的镜检结果为：硅藻是调查区域的第一优势门，优势度为 94.6%~99.9%；12 个水样

中有 4 个水样(3, 5, 9, 12 号)的单一藻优势度高于 75%, 且第一优势种均为中肋骨条藻。用所建立的荧光识别测定技术进行分析, 12 个水样的优势藻在门水平上的识别结果与镜检结果一致, 测定的相对含量为 75.9%~93.0%。对于单一藻优势度高于 75% 的 4 个水样, 2 个水样的优势藻在属水平上的识别结果与镜检结果一致, 如表 5 所示。

表 4 麦岛围隔水样的识别测定结果

Table 4 Discriminating results of seawater samples of mesocosm

Sample	Dominant division	Relative content / %	Dominant genus
1-1	Bacillariophyta	85.3	Chaetoceros
2-1	Bacillariophyta	79.4	—
3-1	Bacillariophyta	90.5	Chaetoceros
4-1	Bacillariophyta	85.3	—
5-1	Bacillariophyta	79.1	Chaetoceros
6-1	Bacillariophyta	98.4	—
1-2	Bacillariophyta	58.6	Coscinodiscus
2-2	Bacillariophyta	73.9	—
3-2	Bacillariophyta	83.6	Chaetoceros
4-2	Dinophyta	59.8	—
5-2	Bacillariophyta	63.9	Chaetoceros
6-2	Dinophyta	86.1	—

表 5 胶州湾水样的识别测定结果

Table 5 Discriminating results of seawater samples of Jiaozhou Bay

Station number	Dominant division	Relative content / %	Dominant genus
1	Bacillariophyta	79.7	—
2	Bacillariophyta	89.5	—
3	Bacillariophyta	90.6	Thalassiosira
4	Bacillariophyta	86.6	—
5	Bacillariophyta	89.6	Ditylum
6	Bacillariophyta	75.9	—
7	Bacillariophyta	80.1	—
8	Bacillariophyta	76.3	—
9	Bacillariophyta	81.0	Skeletonema
10	Bacillariophyta	85.1	—
11	Bacillariophyta	93.0	—
12	Bacillariophyta	89.6	Skeletonema

4 结 论

基于 SA4 多小波函数, 对实验室培养的分属 7 个门 32 个属的 42 种藻种的三维荧光光谱进行分解, 提取特征光谱, 通过系统聚类得到标准谱库, 结合非负最小二乘法解析的多元线性回归建立了荧光

识别测定技术; 能够在门水平上对浮游藻群落组成进行识别测定, 对赤潮的发生起到预报作用; 而当赤潮爆发时能在属水平上对浮游藻进行识别分析。用该技术对麦岛围隔样品和胶州湾样品分析, 在门水平上优势藻的分析结果与镜检结果一致, 对于 10 个单一浮游藻优势度高于 75% 的样品, 7 个样品在属水平上的优势藻分析结果与镜检结果相一致, 表明所建立的浮游藻群落组成荧光识别测定技术具有可行性。该技术对于实现现场、快速地监测浮游藻的群落组成及赤潮具有重要的意义。

参 考 文 献

- 1 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
- 2 Lynne Boddy, C. W. Morris, M. F. Wilkins *et al.*. Identification of 72 phytoplankton species by radial basis function neural network analysis of flow cytometric data [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2000, **195**:47~59
- 3 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**(195):265~283
- 4 L. Galluzzi, A. Penna, E. Bertozzini *et al.*. Development of a real-time PCR assay for rapid detection and quantification of *Alexandrium minutum* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, **70**(2):1199~1206
- 5 C. S. Yentsch, D. A. Phinney. Spectral fluorescence: An taxonomic tool for studying the structure of phytoplankton populations [J]. *Journal of Plankton Research*, 1985, **7**(5):617~632
- 6 T. Y. Lee, M. Tsuzuki, T. Takeuchi *et al.*. Quantitative determination of cyanobacteria in mixed phytoplankton assemblages by in vivo fluorimetric method [J]. *Analytica Chimica Acta*, 1995, **302**(1):81~87
- 7 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
- 8 Deng Juxiang, Liang Yanmei. Noise reduction with wavelet transform in optical coherence tomographic images [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(8):2138~2141
邓菊香, 梁艳梅. 光学相干层析图像的小波去噪方法研究[J]. *光学学报*, 2009, **29**(8):2138~2141
- 9 Li Xiuyan, Liu Tiegeng, Gu Chunmei *et al.*. Recognition algorithm for multimodal biometric fusion based on hand vein and iris [J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36**(s2):322~325
李秀艳, 刘铁根, 谷春梅 等. 基于手背静脉和虹膜的融合识别算法[J]. *中国激光*, 2009, **36**(s2):322~325
- 10 Chen Fanghan, Miao Hua, Chen Yu *et al.*. Target recognition based on wavelet multiscale product [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(5):1223~1226
陈方涵, 苗 华, 陈 宇 等. 基于小波多尺度积的目标识别[J]. *光学学报*, 2009, **29**(5):1223~1226
- 11 Zhang Fang, Su Rongguo, Wang Xiulin *et al.*. Fluorescence characteristics extraction and differentiation of phytoplankton [J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(12):2052~2059
张 芳, 苏荣国, 王修林 等. 浮游植物荧光特征提取及识别测定技术[J]. *中国激光*, 2008, **35**(12):2052~2059

- 12 Liu Bao, Su Rongguo, Song Zhijie *et al.*. Research on the 3D fluorescence spectra differentiation of phytoplankton by coif2 wavelet [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2010, **30**(5): 1275~1278
刘 宝, 苏荣国, 宋志杰 等. 基于 coif2 小波的浮游植物活体三维荧光光谱识别技术研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2010, **30**(5): 1275~1278
- 13 G. Donvoan, J. S. Geronimo, D. P. Hardin *et al.*. Construction of orthogonal wavelets using fractal interpolation functions [J]. *SIAM J. Math. Anal.*, 1996, **27**(4):1158~1192
- 14 L. Shen, H. H. Tan, J. Y. Tham. Symmetric-antisymmetric orthonormal multiwavelets and related scalar wavelets [J]. *Applied and Computational Harmonic Analysis*, 1998, **8**(3): 258~279
- 15 Li Hong, Lin Fuchun, Jin Liang. Image denoising based on SA4 vector wavelet [J]. *Singal Processing*, 2002, **18**(4):345~348
李 红, 林富春, 金 亮. 基于 SA4 向量小波的图像去噪[J]. *信号处理*, 2002, **18**(4):345~348
- 16 Hong Peng, Jun Wang, Weixing Wang. Image watermarking method in multiwavelet domain based on support vector machines [J]. *The Journal of Systems and Software*, 2010, **83**(8): 1470~1477
- 17 R. G. Zepp, W. N. Sheldon, M. A. Moran. Dissolved organic fluorophores in southeastern US coastal waters; Correction method for eliminating Rayleigh and Raman scattering peaks in excitation-emission matrices [J]. *Marine Chemistry*, 2004, **89**(1-4):15~36
- 18 Zhou Hao, Zhao Xiuping, Wu Wenjun *et al.*. Bayes estimation on fault detection rate of certain type missile launcher [J]. *Ordnance Industry Automation*, 2009, **28**(12):16~21
周 昊, 赵修平, 吴文军 等. 某型导弹发射装置故障检测率的 Bayes 估计[J]. *兵工自动化*, 2009, **28**(12):16~21
- 19 Li Xi, Guan Zequn, Qin Kun *et al.*. Selecting per-pixel endmembers set based on Bayesian inference [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(9):2577~2583
李 熙, 关泽群, 秦昆 等. 基于贝叶斯推理的像元内部端元选择模型[J]. *光学学报*, 2009, **29**(9):2577~2583