

基于小波高频分量的浮游植物活体荧光识别技术研究

段亚丽^{1,2} 苏荣国^{1,2*} 石晓勇^{1,2} 刘金涛³ 张传松^{1,2} 王修林^{1,2}

¹中国海洋大学化学化工学院, 山东 青岛 266100
²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
³中国海洋大学信息科学与工程学院, 山东 青岛 266100

摘要 提出了一种基于小波高频分量的浮游植物活体荧光识别技术。通过测量近海常见 52 种浮游植物的三维荧光光谱, 利用小波函数将光谱分解 6 层后得到系列正交高频分量 cd1~cd6, 通过标准偏差选择稳定而特异性强的分量特征点及其组合作为浮游植物荧光识别特征谱, 并对其稳定性和判别能力进行贝叶斯判别分析, 以判别正确率为基准选择分量组合 cd3~cd6 作为最佳荧光识别特征谱构建浮游植物荧光标准特征谱库, 结合非负最小二乘法实现了浮游植物群落组成门、属水平上的识别测定: 单种浮游植物在门、属水平上的识别正确率分别为 95.5% 和 85.7%; 浮游植物混合样品(混合比例分别为 100%, 75%, 25%) 在门水平上的识别正确率分别为 100%, 90.9%, 53.3%, 平均识别相对含量分别为 79.7%, 68.3%, 17.5%; 优势藻(单种优势度达 75%) 在属水平上的识别正确率为 81.2%。将该技术用于围隔实验和现场调查采集水样, 有效实现了浮游植物在门水平上的定性定量识别测定。

关键词 光谱学; 识别; 小波高频分量; 三维荧光光谱; 浮游植物

中图分类号 O657.3; Q949.2 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL201239.0715003

Differentiation of Phytoplankton Populations by *in vivo* Fluorescence Based on High-Frequency Component of Wavelet

Duan Yali^{1,2} Su Rongguo^{1,2} Shi Xiaoyong^{1,2} Liu Jintao³
Zhang Chuansong^{1,2} Wang Xiulin^{1,2}

¹ College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao, Shandong 266100, China
² Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao, Shandong 266100, China
³ College of Information Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao, Shandong 266100, China

Abstract A fluorescence spectroscopy method of classification for phytoplankton populations is developed based on the high-frequency component of wavelet transform. Three-dimensional (3D) fluorescence spectra of 52 species are projected onto the wavelet function and a series of high-frequency components (cd1~cd6) are obtained. The characteristic points are chosen by the standard deviation and used to form new feature vectors. These feature vectors are analyzed by Bayesian discrimination and cd3~cd6 components are selected as the optimal feature vector for differentiation with the discriminant accuracy rate as a standard, based on which, nonnegative least squares (NNLS) method is introduced to establish the discrimination technique. The technique is used to identify algal species at both the division and the genus level and the correct discrimination rates (CDRs) are 95.5% and 85.7%, respectively. For the actual mixture samples (the mixed proportions are 100%, 75%, 25%), the CDRs are 100%, 90.9%,

收稿日期: 2012-02-15; 收到修改稿日期: 2012-04-05

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: 段亚丽(1983—), 女, 博士研究生, 主要从事海洋监测技术方面的研究。E-mail: ylduancg@163.com

导师简介: 石晓勇(1968—), 男, 博士, 教授, 主要从事海洋化学方面的研究。E-mail: shixy@ouc.edu.cn

* 通信联系人。E-mail: surongguo@ouc.edu.cn

53.3% with the relative contents of 79.7%, 68.3%, 17.5%, respectively at the division level and the CDRs of the dominant species (75%) is 81.2% at the genus level. For the water samples from mesocosm experiment and the Jiaozhou Bay, the method can be used to realize the identification of phytoplankton population and estimate the relative abundance of different classes at the division level effectively.

Key words spectroscopy; discrimination; wavelet high-frequency component; three-dimensional fluorescence spectrum; phytoplankton

OCIS codes 300.2530; 300.6170; 100.4993

1 引 言

浮游植物是海洋生态系统中最主要的初级生产者,在物质循环和能量转化过程中起着重要的作用。近年来,受自然环境和人类活动的共同影响,近海海域赤潮频发,直接或间接地危害着海洋环境、生物和人类健康的发展。建立现场实时的浮游植物群落监测技术,是防治和减少赤潮灾害的前提,而寻求高灵敏度的现场监测浮游植物的方法已成为许多学者奋斗的目标。

荧光光谱技术具有灵敏度高、不需要繁琐预处理^[1]、易于实现现场、实时监测而受到广泛关注。近20年来,荧光技术在海洋浮游植物群落组成监测方面得到很大发展。Yentsch等^[2]根据叶绿素/辅助色素比率识别硅藻/甲藻/球石藻,绿藻,隐藻和蓝藻四个门类。Cowles等^[3,4]通过现场测量藻红蛋白荧光发射光谱波长的位移,推断了海水中含藻红蛋白的浮游植物种类和数量的变化。Seppälä等^[5]根据一定荧光波长下的主要辅助色素特征峰荧光强度,实现了对浮游植物门类的快速分类。Boddy等^[6]使用流式细胞仪,基于浮游植物的荧光性质和散射光性质的差异,借助神经网络技术实现了对72种浮游植物的识别分析。Gregor等^[7]利用浮游植物荧光光谱实现了饮用水中有毒蓝藻的实时识别监测。Beutler等^[8]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、硅藻/甲藻)识别测定,建立了浮游植物群落组成测定技术,但该技术尚无法将我国近海海域最重要的两类藻硅藻和甲藻分类识别。

国内对浮游植物荧光检测技术也开展了广泛的研究。张前前等^[9]运用主成分分析法对浮游植物的三维(3D)荧光光谱进行研究,所提取的光谱特征在门类水平上具有可辨别的差异。金海龙等^[10]对激发波长为440 nm的荧光发射光谱进行二阶导数分析,区分了含叶绿素b和叶绿素c的海藻。吕洪刚等^[11]采用三维荧光技术分析了栅藻、微囊藻和小环藻的色素组成,并通过3种藻的特殊激发谱线的

分析,建立了3种藻叶绿素浓度与藻密度的荧光强度矩阵方程,求出了每种藻类的叶绿素浓度与藻密度。尹平河等^[12]利用荧光激发和发射光谱及共振瑞利散射对球形棕囊藻进行定性定量分析。唐晓静等^[13]基于同步荧光光谱利用主成分分析等方法研究了甲藻与硅藻的特征差异。卢璐等^[14]通过四阶导数和高斯分解法等对甲藻和硅藻的激发光谱的荧光特征进行分析,可以有效区分硅藻和甲藻。王志刚等^[15]测量了富营养化水体中13种浮游植物活体的三维荧光光谱和激发荧光光谱,并结合PARAFAC模型计算出混合浮游植物样品中各浮游植物组分的实际浓度,为水体浮游植物浓度的原位、分类测定提供了一种新的方法。张翠等^[16]基于浮游藻三维荧光光谱,结合多小波分析技术建立了浮游藻识别测定技术。鉴于三维荧光光谱能提供更丰富的光谱信息,结合浮游植物群落组成荧光识别技术的研究现状,本文引入小波函数对浮游植物的三维荧光光谱进行分解,提取其高频分量作为浮游植物的识别特征谱,建立了浮游植物群落组成荧光识别测定技术。该技术对于硅藻和甲藻的快速识别具有现实意义。

2 理论基础

2.1 浮游植物色素荧光激发-发射光谱

浮游植物光合色素系统主要由光合色素叶绿素a和辅助光合色素如叶绿素b、叶绿素c、类胡萝卜素、藻胆色素等组成。叶绿素a存在于任何浮游植物中,是光合作用的主要色素;辅助光合色素在活体藻类细胞内以捕光复合体的形式存在,在接受光照的能量后,高效率地将其传递至叶绿素a,最终到达光合反应中心。由于对不同波长的激发光吸收效率不同,使得不同波长激发下叶绿素a的荧光强度不同,形成特征的激发荧光光谱^[17]。图1为光系统光能吸收和荧光激发的一般模式。浮游植物活体叶绿素荧光有95%是由光系统II(Photosystem II)的叶绿素a荧光贡献的,图2为浮游植物活体三维荧光光谱,凸现了不同门类浮游植物的明显特征差异。

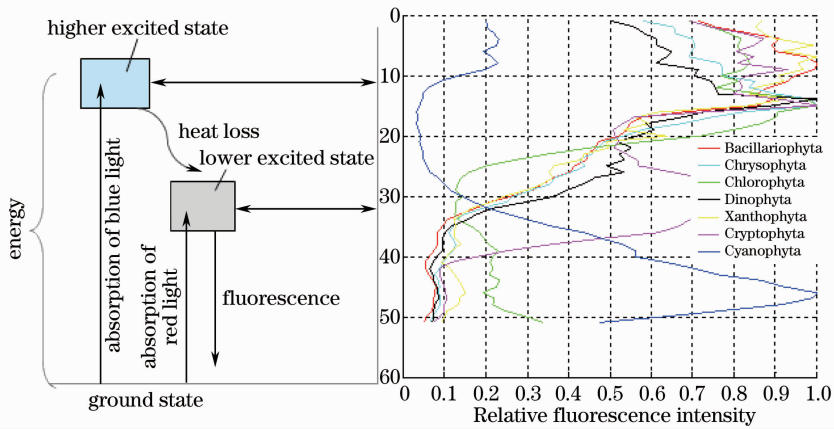


图1 浮游植物荧光激发光谱

Fig. 1 Fluorescence excitation spectra of phytoplankton species

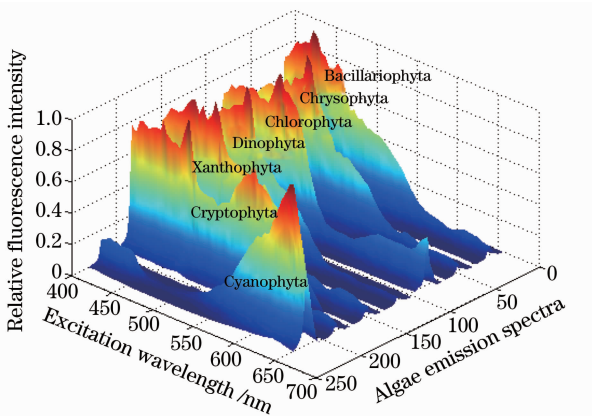


图2 不同门类浮游植物活体三维荧光光谱

Fig. 2 3D fluorescence spectra of phytoplankton from different divisions

2.2 小波高频分量用于光谱特征提取

小波变换是近年来发展起来的一种在时域和频域均有良好分辨性的分析方法^[18]。变换的基本思想是以小波函数 $\phi_{a,b}(t)$ 为基函数对信号 $f(t)$ 进行

分解: $W_{f(a,b)} = \int_{-\infty}^{+\infty} \phi_{a,b}(t) f(t) dt$, 其中小波函数

$\phi_{a,b}(t)$ 是由同一基底函数 ϕ 经平移、伸缩而得到的一组函数: $\phi_{a,b}(t) = a^{-1/2} \phi\left(\frac{t-b}{a}\right)$, $a, b \in R, a \neq 0$,

a 为伸缩因子, b 为平移因子。采用小波变换对信号进行多尺度分析, 在不同尺度下观测信号不同精度的局部特征, 是一种较理想的光谱特征提取方法^[19], 同时, 原信号的信息与能量完全保留在变换后的各个分量中^[20]。正交小波函数能够构建正交高维空间, 将浮游植物三维荧光光谱投影到该空间得到系列低频分量和高频分量, 被定义为小波特征谱, 代表着三维荧光光谱在各空间的投影向量。这

些特征谱及其特征段均可独立使用, 在实际应用中可根据需要选择合适的特征段或其组合作为信号识别特征谱。而随着分解层数的增加, 小波变换后的高频分量绝对值在某个位置邻域内的局部最大值的变化反映了原始信号在该位置邻域处的奇异性, 刻画了该信号的细节信息, 这也是检测光谱特征段位置的关键所在。本文着眼于研究小波高频分量来进行光谱特征选择。

3 材料与方法

3.1 浮游植物的实验室培养

目标藻种(表1)由中国海洋大学海洋污染生态化学实验室提供, 多为中国近海优势种或赤潮种。采用 GXZ-3100 型光照培养箱分不同批次、不同温度(20 ℃、25 ℃)和不同光照(4×10^3 , 7×10^3 , 1.2×10^4 , 2×10^4 lux)条件下进行培养, 光源用白色冷荧光灯管, 光暗比为 12 h:12 h, 培养周期为 12 d。每个藻种平行培养两份, 一份作为训练集, 其荧光光谱用于识别方法的建立, 另一份作为测试集, 其荧光光谱用于所建方法的验证。

3.2 浮游植物三维荧光光谱测定

使用 Fluorolog3-11 荧光分光光度计(法国 Jobin Yvon), 1 cm 石英比色皿。三维荧光光谱扫描范围: 激发波长 400~650 nm, 发射波长 600~750 nm, 激发、发射步长均为 5 nm, 激发发射狭缝(带通)均为 5 nm, 扫描速度为 80 nm/s, 信号积分时间为 0.05 s。

每隔一天定时取各种浮游植物培养体进行光谱扫描, 为了尽量避免荧光自吸收现象, 在扫描前对浓度明显过大的藻液用培养基海水进行稀释。

表 1 实验所用藻种

Table 1 Phytoplankton species for experiment

Division	Genus	Species	Code
Bacillariophyta	<i>Pseudonitzschia</i>	<i>Pseudo-nitzschia pungens</i>	Ps
	<i>Skeletonema</i>	<i>Skeletonema costatum</i>	Sk
		<i>Skeletonema tropicum</i>	St
		<i>Chaetoceros curvoisetus</i>	Cu
	<i>Chaetoceros</i>	<i>Chaetoceros debilis</i>	De
		<i>Chaetoceros gracile</i>	Ca
		<i>Chaetoceros socialis</i>	Css
		<i>Chaetoceros lorenzianus</i>	Cl
	<i>Biddulphia</i>	<i>Odontella sinensis</i>	Oc
	<i>Thalassionema</i>	<i>Thalassionema nitzschioides</i>	Tns
	<i>Coscinodiscus</i>	<i>Coscinodiscus sp.</i> (CCMP312)	Cf
		<i>Coscinodiscus sp.</i> (CCMP1583)	Cs
	<i>Ditylum</i>	<i>Ditylum brightwellii</i>	Db
		<i>Thalassiosira rotula</i>	Tr
	<i>Thalassiosira</i>	<i>Thalassiosira nordenskiöldii</i>	Tn
		<i>Thalassiosira weissflogii</i>	Tw
		<i>Thalassiosira curvoiseriata</i>	Tc
		<i>Thalassiosira mala</i>	Th
	<i>Leptocylindrus</i>	<i>Leptocylindrus danicus</i>	Ld
	<i>Bacillaria</i>	<i>Bacillaria paxillifera</i>	Bp
<i>Nitzschia</i>	<i>Nitzschia closterium</i>	Nc	
<i>Asterionella</i>	<i>Asterionella japonica</i>	Aj	
<i>Rhizosolenia</i>	<i>Rhizosolenia setigera</i>	Rh	
Chrysophyta	<i>Phaeocystis</i>	<i>Phaeocystis globosa</i>	Cg
	<i>Gephyrocapsa</i>	<i>Gephyrocapsa oceanica</i>	Ks
	<i>Prymnesium</i>	<i>Prymnesium parvum</i>	Pp
	<i>Distephanus</i>	<i>Distephanus speculum</i>	Se
Chlorophyta	<i>Dunaliella</i>	<i>Dunaliella salina</i>	Ds
	<i>Platymonas</i>	<i>Platymonas subcordiformis</i>	Pu
	<i>Micromonas</i>	<i>Micromonas pusilla</i>	Mp
Dinophyta	<i>Alexandrium</i>	<i>Alexandrium tamarense</i>	Al
	<i>Amphidinium</i>	<i>Amphidinium carterae</i>	Am
		<i>Prorocentrum donghaiense</i>	Pr
		<i>Prorocentrum minimum</i>	Pm
	<i>Prorocentrum</i>	<i>Prorocentrum marinum</i>	Ma
		<i>Prorocentrum dentatum</i>	Pd
		<i>Prorocentrum triestinum</i>	Pt
	<i>Gymnodinium</i>	<i>Gymnodinium simplex</i>	Gs
		<i>Gymnodinium sp.</i>	Gy
	<i>Karenia</i>	<i>Karenia brevis</i>	Kb
		<i>Karenia mikimotoi</i>	Km
	<i>Scrippsiella</i>	<i>Scrippsiella trochoidea</i>	Sc
<i>Gonyaulax</i>	<i>Gonyaulax spiniifera</i>	Gsa	
<i>Gyrodinium</i>	<i>Gyrodinium instriatum</i>	Gi	
<i>Akashiwo</i>	<i>Akashiwo sanguinea</i>	As	
Xanthophyta	<i>Heterosigma</i>	<i>Heterosigma akashiwo</i>	Ha
	<i>Chattonella</i>	<i>Chattonella mariae</i>	Cm

Division	Genus	Species	Code
Cryptophyta	<i>Rhodomonas</i>	<i>Rhodomonas sp.</i> (CCMP1533)	Rs
		<i>Rhodomonas salina</i> . (CCMP1319)	Ra
Cyanophyta	<i>Anabaena</i>	<i>Anabaena sp.</i>	Cy
	<i>Synechococcus</i>	<i>Synechococcus sp.</i>	Sy
	<i>Trichodesmium</i>	<i>Trichodesmium erythraeum</i>	Te

当浮游植物培养体进入指数生长期后,按照叶绿素质量 3:1 的比例将其进行混合(主要为硅藻和甲藻,单种藻液的叶绿素质量浓度由 BBE 藻类分析仪测得),在同样测量条件下采集三维荧光光谱。

根据中国近海非赤潮期间,浮游植物群落一般以 1~2 个门类的浮游植物占优势,发生赤潮时一般为单项型赤潮的特点,将标准化后的浮游植物三维荧光光谱设置不同的优势度(60%,75%,80%,90%)进行混合,得到浮游植物在门、属水平上的模拟混合样品。

3.3 数据处理

3.3.1 光谱预处理

浮游植物三维荧光光谱中瑞利散射峰的存在严重影响了荧光特征的表达,不利于浮游植物的分类识别,必须予以去除。鉴于瑞利散射效应在原始三维荧光光谱中的出现位置相对固定,采用 Delaunay 三角形内插值法^[21]以邻近散射区域数据为基准进行三维插值,有效去除散射峰,同时保留原散射区域荧光信号,见图 3,去除散射后,浮游植物的荧光峰得到了有效凸现。对去除散射后的三维荧光光谱进行二维形式的转化,便于小波分解及特征提取,同时

对二维光谱做标准化处理以消除荧光光强的影响。以上工作由 Matlab7.0 软件完成。

3.3.2 光谱特征提取及标准谱库的建立

浮游植物荧光光谱特征的提取主要是选择能够反映其光谱特异性、且与其他浮游植物之间有显著差异的波长点。利用 db7 小波函数对标准化后的光谱信号 s 进行 6 层分解(图 4),产生正交高频分量 $cd1\sim cd6$ 。可以看出, $cd1$ 及 $cd2$ 容易受到高频噪声的“污染”,难以有效表达各种浮游植物的荧光特征差异;相对而言,从 $cd3$ 开始到更深层次的分解,能较好地避免噪声影响,且细微的光谱信息得以凸现,利于荧光特征的筛选。在此,通过标准偏差对高频分量 $cd3\sim cd6$ 中稳定而特异性强的波长点进行选择,组合成新的特征分量作为浮游植物荧光特征谱。

为检验浮游植物荧光特征谱的有效性和最佳判别功能,对上述新特征分量进行贝叶斯判别分析,这种方法能够在样本量不是很大的情况下进行状态判别,并获得满意的评估效果^[22,23]。在分类过程中,以判别正确率为基准;对于单独的 $cd3$ 、 $cd4$ 、 $cd5$ 、 $cd6$ 特征分量分析,判别正确率分别为 68.6%,69.2%,69.3%,59.4%;对于特征分量组合 $cd3\sim cd4$ 、 $cd3\sim cd5$ 、 $cd3\sim cd6$ 分析,判别正确率分别为 76.2%,77.4%,80.0%, $cd3\sim cd6$ 在总体上具有最佳的分类判别效果,尤其是对于旋链角毛藻(Cu),旋转海链藻(Tc),新月菱形藻(Nc),亚心型扁藻(Pu),塔玛亚历山大藻(Al)等,判别正确率能达到 100%。因此,选择 $cd3\sim cd6$ 特征分量组合作为最佳荧光识别特征谱。

采用系统聚类法对不同培养条件下浮游植物训练集最佳识别特征谱进行聚类分析,欧氏距离为特征谱相关程度的衡量,对聚为一类的荧光特征谱取平均作为该类浮游植物的一条标准谱,由此构建浮游植物门、属水平上的荧光标准特征谱库。

3.3.3 识别测定方法的建立

在浮游植物荧光标准谱库的基础上,采用以非负最小二乘解析的多元线性回归方法,实现了浮游植物门、属水平上的定性定量分析。回归模型为

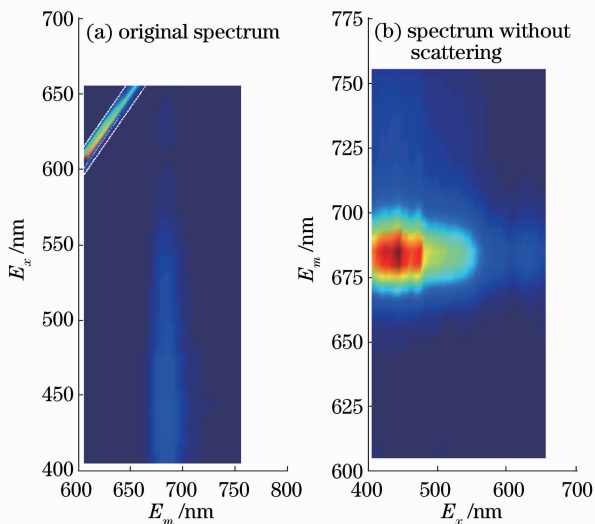


图 3 散射去除(a)前、(b)后的浮游植物三维荧光光谱图
Fig. 3 (a) Original 3D spectrum and (b) that of removing scattering of phytoplankton

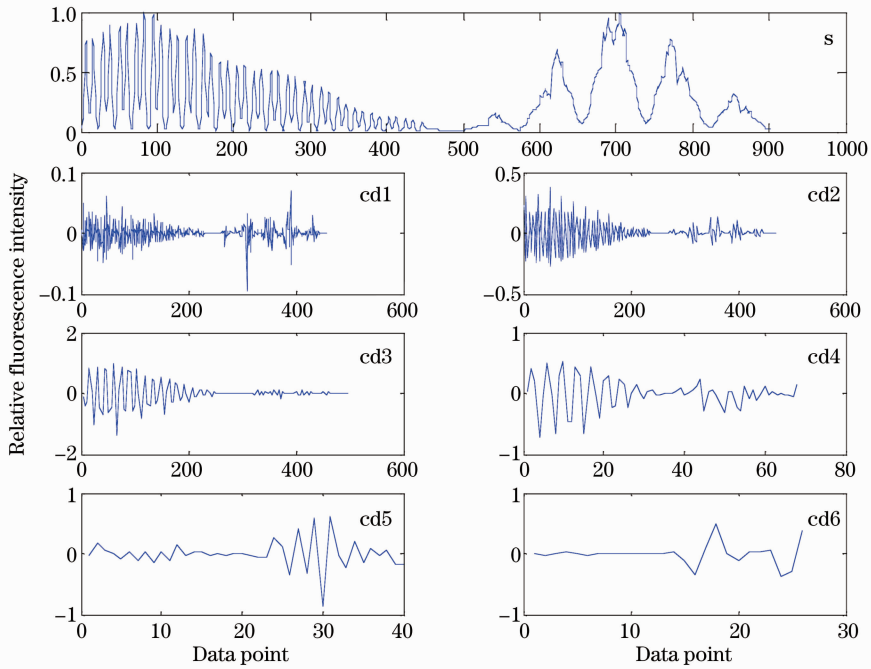


图 4 浮游植物光谱特征信号的提取 (data point: 特征分量光谱数据点)

Fig. 4 Procedure of feature extraction for phytoplankton (data point: the spectral data points of the feature vector)

$y = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n b_{i,j} x_{i,j} + e$, 其中, $x_{i,j}$ 为标准谱, y 为实测谱, $b_{i,j}$ 为回归系数, 为每条谱所占总谱的比例系数, m 是浮游植物种数, n 为每种浮游植物的标准谱数据个数, e 为估计值与实际值之间的残差, 计算过程即为选取使残差平方和 e^2 达最小的非负值 $b_{i,j}$, 利用 $b_{i,j}$ 来确定各类浮游植物在未知样品中所占的比例。

4 结果与讨论

4.1 高频分量标准谱对单种浮游植物样品的识别

不同浮游植物的高频分量标准谱具有不同的识别能力。门水平上, 浮游植物的识别正确率 (CDR) 介于 77.0% ~ 100.0% 之间, 平均识别正确率为 95.5%, 其中, 金藻门的识别率最低 (77.0%), 绿藻门和蓝藻门的识别率最高 (100.0%), 硅藻门、甲藻门、黄藻门、隐藻门的识别率均在 90.0% 以上。属水平上, 52 种浮游植物的识别正确率介于 26.7% ~ 100.0% 之间, 平均识别正确率为 85.7%, 其中硅藻中的双尾藻属最低 (26.7%), 其他藻属中, 菱形藻属 (50.0%)、盒形藻属 (56.7%)、细柱藻属 (77.3%)、刚毛藻属 (47.1%)、金藻中的颗石藻属 (52.4%)、棕囊藻属 (60.0%)、甲藻中的凯伦藻属 (58.3%)、环沟藻属 (50.0%)、阿卡藻属 (66.7%) 的识别率低于 80.0%, 识别效果较差, 其余 25 个属的识别正确率均在 80.0% 以上。对属水平上识别正确率低的情

况进行分析发现: 除棕囊藻属、颗石藻属和凯伦藻属外, 其他浮游植物在门水平上的识别正确率很高, 只是属水平上的识别正确率较低, 表明这几类浮游植物在门内属之间的荧光光谱具有较高的相似性; 而对棕囊藻属、颗石藻属和凯伦藻属的原始荧光光谱分析发现其光谱信号较弱 (数字强度低于 10^3 , 其他浮游植物数字强度在 10^6 左右), 其荧光特征未有效凸现, 使其无法被正确识别。

4.2 高频分量标准谱对模拟混合浮游植物样品的识别

为了检验高频分量标准谱的稳定性及其识别能力, 对浮游植物模拟混合样品原始谱加入 10% 的白噪声进行识别, 结果如表 2 和表 3 所示。当门类优势度分别达 60%, 75%, 80%, 90% 时, 浮游植物的平均识别正确率分别为 70.9%, 89.0%, 91.1%, 93.2%, 识别相对含量范围分别为 16.2% ~ 95.4%, 41.2% ~ 100.0%, 48.9% ~ 100.0%, 58.5% ~ 100.0%, 平均相对含量分别为 53.8%, 64.5%, 68.0%, 76.5%; 当属类优势度达 60%, 75%, 80%, 90% 时, 浮游植物的平均识别正确率分别为 54.8%, 74.3%, 78.1%, 84.9%。结果表明不同浮游植物的小波高频分量标准谱具有不同的抗噪能力, 大多数浮游植物标准谱稳定性良好, 硅藻中的尖刺拟菱形藻 (Ps)、中肋骨条藻 (Sk)、角毛藻 (Cu, De, Ca, Css, Cl)、海链藻 (Tr, Tw), 甲藻中的强壮前沟藻 (Am)、

裸甲藻(Gy),黄藻中的赤潮异弯藻(Ha)抗噪能力较差,容易造成属间错误识别。这些藻属的识别对

小波高频分量标准谱有着更高的要求,需要进一步改进和完善选择稳定特征谱的方式。

表2 高频分量标准谱对加入10%噪声的模拟混合样在门水平上的识别

Table 2 Identification of simulative mixtures with 10% random white noise at the division level

Dominant division	Dominance /%	CDR /%	Relative content	
			Range /%	Average /%
Bacillariophyta	60	95.4	0.0~100.0	73.8
	75	97.1	0.0~100.0	80.6
	80	97.2	0.0~100.0	83.0
	90	97.0	0.0~100.0	87.1
Chrysophyta	60	70.7	0.0~98.7	54.0
	75	93.8	0.0~98.8	66.2
	80	96.3	0.0~98.8	70.2
Chlorophyta	90	98.2	0.0~98.2	79.7
	60	85.3	29.4~95.8	56.8
	75	99.8	47.0~95.5	70.0
Dinophyta	80	100.0	52.6~100.0	73.6
	90	100.0	67.2~100.0	83.1
	60	76.3	0.0~99.9	59.4
Xanthophyta	75	91.4	8.2~99.7	69.1
	80	95.2	0.0~98.7	72.2
	90	98.8	0.0~99.2	79.4
Cryptophyta	60	16.2	0.0~68.6	23.1
	75	41.2	0.0~94.2	30.3
	80	48.9	0.0~80.4	32.7
Cyanophyta	90	58.5	0.0~98.3	42.7
	60	71.4	38.4~67.4	53.8
	75	100.0	54.5~80.6	66.6
Cyanophyta	80	100.0	57.5~90.7	71.2
	90	100.0	70.2~100.0	81.0
	60	81.3	34.1~94.3	55.5
Cyanophyta	75	100.0	50.8~94.3	68.9
	80	100.0	58.5~95.0	73.0
	90	100.0	70.5~97.0	82.3

4.3 高频分量标准谱对实验室培养浮游植物混合样品的识别

对根据浮游植物叶绿素质量浓度比混合的样品进行识别测定,结果如表4所示,同门类浮游植物混合,浮游植物在门水平上的识别正确率为100%,识别的相对含量介于69.0%~90.0%之间,平均为79.7%。不同门类浮游植物混合,优势浮游植物(75%)在门水平上的平均识别正确率为90.9%,除了球形棕囊藻(Cg)的识别率为50.0%之外,其他藻的识别正确率均在95.0%以上,甚至达100.0%,识别的相对含量介于61.9%~79.0%之间,平均为68.3%。非优势浮游植物(25%)在门水平上的平均

识别正确率为53.3%,相对含量介于0.0%~34.2%之间,平均为17.5%。优势浮游植物在属上的平均识别正确率为81.2%,错误识别主要集中在金藻中的球形棕囊藻(Cg),甲藻中的强壮前沟藻(Am),硅藻中的中肋骨条藻(Sk)和圆海链藻(Tr)。分析原因可能是这几种浮游植物属间光谱差异较小,识别过程中容易造成误识别,如强壮前沟藻(Am)易误识别为东海原甲藻(Pr),球形棕囊藻(Cg)易误识别为六异次硅鞭藻(Se)。而且这几种浮游植物在混合样品中数量较少,需要补充更多的混合样品来验证。

表 3 高频分量标准谱对加入 10% 噪声的模拟混合样在属水平上的识别

Table 3 Identification of simulative mixtures with 10% random white noise at the genus level

Division	Genus	Species	CDR / %			
			60%	75%	80%	90%
Bacillariophyta	<i>Pseudo-nitzschia</i>	Ps	36.6	63.4	66.2	86.6
		Sk	0.7	0.7	0.7	4.3
	<i>Skeletonema</i>	St	68.8	92.9	98.6	100.0
		Cu	1.5	10.5	10.5	31.6
		De	3.0	18.0	26.3	40.6
	<i>Chaetoceros</i>	Ca	4.5	2.3	3.0	0.8
		Css	10.5	6.0	13.5	22.6
		Cl	12.0	27.8	39.1	51.9
	<i>Biddulphia</i>	Oc	97.2	95.8	97.2	100.0
	<i>Thalassionema</i>	Tns	53.1	92.4	92.4	98.6
	<i>Coscinodiscus</i>	Cf	97.8	100.0	100.0	100.0
		Cs	99.3	100.0	100.0	100.0
	<i>Ditylum</i>	Db	60.6	85.2	86.6	99.3
		Tr	14.3	27.1	37.6	45.9
		Tn	97.0	100.0	100.0	100.0
	<i>Thalassiosira</i>	Tw	10.5	15.8	27.1	60.2
		Tc	45.9	78.2	84.2	96.2
		Th	62.4	90.2	92.5	100.0
	<i>Leptocylindrus</i>	Ld	16.9	51.4	56.3	75.4
	<i>Bacillaria</i>	Bp	75.9	97.2	97.9	100.0
	<i>Nitzschia</i>	Nc	91.7	98.6	99.3	100.0
	<i>Asterionella</i>	Aj	88.3	99.3	100.0	100.0
	<i>Rhizosolenia</i>	Rh	86.7	100.0	100.0	100.0
<i>Prymnesiophyceae</i>	Cg	69.4	97.2	97.9	100.0	
Chrysophyta	<i>Gephyrocapsa</i>	Ks	79.7	97.2	98.6	100.0
	<i>Prymneium</i>	Pp	38.7	73.9	85.9	93.0
Chlorophyta	<i>Distephanu</i>	Se	61.4	97.9	99.3	100.0
	<i>Dunaliella</i>	Ds	58.5	93.7	96.5	100.0
	<i>Platymonas</i>	Pu	81.0	97.9	100.0	100.0
	<i>Micromonas</i>	Mp	80.7	99.3	100.0	100.0
	<i>Alexandrium</i>	Al	72.5	88.0	97.2	100.0
Dinophyta	<i>Amphidinium</i>	Am	16.2	39.4	54.2	86.6
		Pr	54.6	84.6	90.8	96.2
	<i>Prorocentrum</i>	Pm	60.8	86.2	90.0	99.2
		Ma	66.2	92.3	96.2	100.0
		Pd	84.6	94.6	99.2	100.0
	<i>Gymnodinium</i>	Pt	93.1	99.2	99.2	100.0
		Gs	43.2	73.4	87.1	97.8
		Gy	17.3	34.5	32.4	50.4
	<i>Karenia</i>	Kb	61.7	90.8	95.0	100.0
		Km	33.3	60.3	62.4	76.6
<i>Scrippsiella</i>	Sc	70.4	88.0	95.1	97.9	
<i>Gonyaulax</i>	Gsa	28.3	57.2	69.0	84.1	
<i>Gyrodinium</i>	Gi	82.1	97.2	98.6	100.0	
<i>Akashiwo</i>	As	72.4	94.5	97.2	100.0	
Xanthophyta	<i>Heterosigma</i>	Ha	0.7	2.1	3.5	16.9
	<i>Chattonella</i>	Cm	30.3	73.9	85.9	100.0

Division	Genus	Species	CDR /%			
			60%	75%	80%	90%
Cryptophyta	<i>Rhodomonas</i>	Rs	63.0	99.3	100.0	100.0
		Ra	67.4	100.0	100.0	100.0
Cyanophyta	<i>Anabaena</i>	Cy	60.7	100.0	100.0	100.0
	<i>Synechococcus</i>	Sy	79.6	100.0	100.0	100.0
	<i>Trichodesmium</i>	Te	84.1	100.0	100.0	100.0

表 4 实验室浮游植物混合样在门、属水平上的识别测定

Table 4 Identification of laboratory mixed samples at the division and genus level

Division	Proportion /%	CDR /%	Relative content		Genus	CDR /%
			Range /%	Average /%		
Bacillariophyta	100	100.0	72.9~99.5	90.0	<i>Pseudo-nitzschia</i>	95.2
	75	95.1	52.5~96.0	79.0	<i>Skeletonema</i>	17.7
	25	78.1	0.0~59.1	34.2	<i>Thalassiosira</i>	45.5
					<i>Chaetoceros</i>	96.0
Chrysophyta	100	—	—	—	<i>Biddulphia</i>	100.0
	75	50.0	56.3~78.5	65.8	<i>Prymneium</i>	100.0
	25	0.0	0.0~0.00	0.0		
Chlorophyta	100	100.0	58.7~85.3	72.6	<i>Dunaliella</i>	100.0
	75	100.0	41.0~87.9	65.4	<i>Micromonas</i>	100.0
	25	77.8	0.0~49.7	28.2		
Dinophyta	100	100.0	65.6~97.8	87.4	<i>Alexandrium</i>	92.3
	75	95.1	0.0~87.6	68.3	<i>Gymnodinium</i>	58.3
	25	78.1	0.0~49.8	25.1	<i>Amphidinium</i>	25.0
					<i>Prorocentrum</i>	93.6
Xanthophyta	100	100.0	56.1~84.0	69.0	<i>Scrippsiella</i>	75.0
	75	100.0	50.1~81.9	61.9	<i>Heterosigma</i>	100.0
	25	23.5	0.0~49.9	7.0	<i>Chattonella</i>	100.0
	100	—	—	—		
Cryptophyta	75	100.0	50.8~95.9	69.1	<i>Rhodomonas</i>	100.0
	25	50.0	0.0~31.7	10.4		

4.4 高频分量标准谱对现场水样的识别

在青岛海域进行浮游植物围隔培养实验,采集了12个水样进行显微镜计数,表明10个水样的第一优势门为硅藻门,优势度(以细胞数计)范围为76.2%~99.9%,次之为甲藻门,比例为0.1%~23.8%;10号和12号水样的优势门为甲藻门,优势度分别为56.7%,70.5%,次之为硅藻门,比例分别为30.0%,22.9%。利用高频分量标准谱对其进行识别分析:除10号水样外,其他水样优势门的识别结果与镜检结果一致,测定的相对含量介于73.3%~92.9%之间。10号水样识别为硅藻占优势,相对含量为66.8%,甲藻次之,相对含量为33.2%,详见图5和表5。

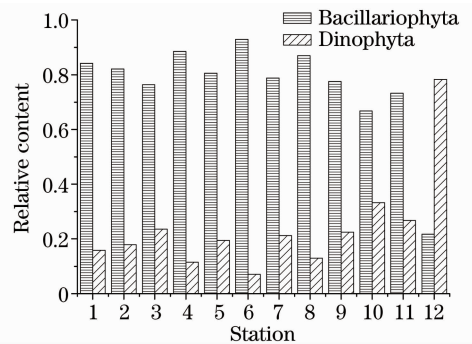


图5 围隔实验浮游植物优势门与次优势门相对丰度图
Fig. 5 Relative abundance of dominant and subdominant divisions of phytoplankton in mesocosm experiment

对胶州湾调查采集水样分析,镜检结果表明硅藻门是调查区域的绝对优势门,优势度(以细胞数计)为 94.6%~99.9%,次之为甲藻门,比例为 0.03%~5.34%。利用高频分量标准谱对其进行识别分析,优势门的测定结果与镜检结果完全一致,测定的相对含量介于 78.7%~93.8%之间,次优势门测定结果除 2 号水样识别为金藻门外,其他水样识别结果与镜检结果一致,测定的相对含量介于 7.2%~21.3%之间,详见图 6 和表 5。结果表明所建技术基本可以应用于现场水样分析,实现对浮游植物群落组成门类水平的定量测定。

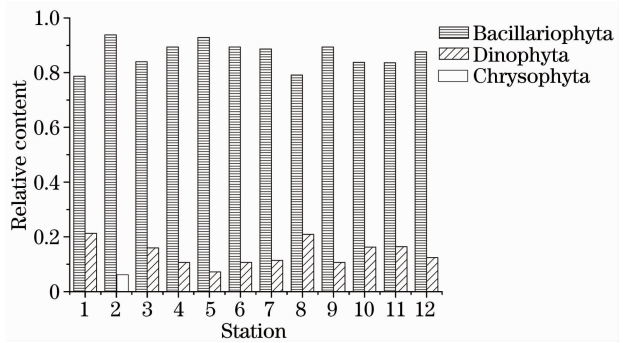


图 6 胶州湾水样浮游植物优势门与次优势门相对丰度图
Fig. 6 Relative abundance of dominant and subdominant divisions of phytoplankton in Jiaozhou Bay

表 5 高频分量标准谱对围隔实验和胶州湾调查采集水样的识别

Table 5 Identification of samples from mesocosm experiment and Jiaozhou Bay

Sample No.	Mesocosm experiment				Sample No.	Jiaozhou Bay			
	Dom-div	Rc	Sub-dom-div	Rc		Dom-div	Rc	Sub-dom-div	Rc
1	Bac	84.2%	Din	15.8%	1	Bac	78.7%	Din	21.3%
2	Bac	82.1%	Din	17.9%	2	Bac	93.8%	Chr	6.2%
3	Bac	76.4%	Din	23.6%	3	Bac	84.0%	Din	16.0%
4	Bac	88.5%	Din	11.5%	4	Bac	89.3%	Din	10.7%
5	Bac	80.6%	Din	19.4%	5	Bac	92.8%	Din	7.2%
6	Bac	92.9%	Din	7.1%	6	Bac	89.4%	Din	10.6%
7	Bac	78.8%	Din	21.2%	7	Bac	88.6%	Din	11.4%
8	Bac	87.0%	Din	13.0%	8	Bac	79.1%	Din	20.9%
9	Bac	77.5%	Din	22.5%	9	Bac	89.3%	Din	10.7%
10	Bac	66.8%	Din	33.2%	10	Bac	83.8%	Din	16.2%
11	Bac	73.3%	Din	26.7%	11	Bac	83.6%	Din	16.4%
12	Din	78.3%	Bac	21.7%	12	Bac	87.6%	Din	12.4%

Dom-div: dominant division; Sub-dom-div: Sub-dominant division; Rc: relative content; Bac: Bacillariophyta; Din: Dinophyta; Chr: Chrysophyta.

5 结 论

通过对实验室培养的分属 7 个门 35 个属的 52 种浮游植物的三维荧光光谱进行小波分解,提取高频分量作为识别特征谱,建立了浮游植物荧光识别测定技术。该技术能够实现浮游植物群落组成门类水平上的识别测定及大部分赤潮浮游植物属水平上的识别,可对赤潮的发生起到一定的预报作用。尤其是针对我国近海海域浮游植物群落组成特点分析,该技术对于实现现场、快速、实时监测浮游植物群落结构具有现实意义。

参 考 文 献

1 Lai Bo, Zhou Yuexi, Dou Lianfeng *et al.*. Variation trend of three-dimensional fluorescence characteristics of aromatic organic pollutants in the ABS wastewater treatment process[J]. *Acta Optica Sinica*, 2011, **31**(1): 0130001
赖 波, 周岳溪, 窦连峰等. ABS 废水处理过程中芳香类有机污

染物三维荧光特性的变换规律[J]. *光学学报*, 2011, **31**(1): 0130001
2 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
3 T. J. Cowles, R. A. Desiderio, S. Neuer. *In situ* characterization of phytoplankton from vertical profiles of fluorescence emission spectra [J]. *Marine Biology*, 1993, **115**(2): 217~222
4 F. E. Hoge, C. W. Wright, R. N. Swift *et al.*. Fluorescence signatures of an iron-enriched phytoplankton community in the eastern equatorial Pacific Ocean[J]. *Deep Sea Res. II*, 1998, **45**(6): 1073~1082
5 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
6 L. 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
7 J. Gregor, B. Maršálek, H. Šípková. Detection and estimation of potentially toxic cyanobacteria in raw water at the drinking water

- treatment plant by *in vivo* fluorescence method [J]. *Water Research*, 2007, **41**(1): 228~234
- 8 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
- 9 Zhang Qianqian, Lei Shuhe, Wang Xiulin *et al.*. Research on discrimination of 3D fluorescence spectra of phytoplankton [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2004, **24**(10): 1227~1229
张前前, 类淑河, 王修林等. 浮游植物活体三维荧光光谱分类判别方法研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2004, **24**(10): 1227~1229
- 10 Jin Hailong, Wang Yutian. Research on recognition method of living alga based on stimulation fluorescence spectrum [J]. *Chinese Journal of Sensors and Actuators*, 2006, **19**(1): 97~111
金海龙, 王玉田. 基于荧光发射光谱的活体海藻识别方法研究[J]. *传感技术学报*, 2006, **19**(1): 97~111
- 11 Lü Honggang, Zhang Xihui, Gong Chunying *et al.*. Studies on the algorithm and identification of three dimensional fluorescence spectroscopy of algae [J]. *China Environmental Science*, 2005, **25**(5): 581~584
吕洪刚, 张锡辉, 龚纯英等. 藻类的三维荧光光谱辨别及算法研究[J]. *中国环境科学*, 2005, **25**(5): 581~584
- 12 Yin Pinghe, Wang Mei, Zhao Ling *et al.*. The characteristics of fluorescence emission spectra *in vivo* of Phaeocystis globosa and quantitative analysis [J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2006, **25**(2): 56~59
尹平河, 王梅, 赵玲等. 球形棕囊藻的荧光光谱特征及定量测定[J]. *分析测试学报*, 2006, **25**(2): 56~59
- 13 Tang Xiaojing, Zhang Qianqian, Lei Shuhe *et al.*. Research on characterization analysis of synchronous fluorescence spectra of living phytoplankton [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2007, **27**(3): 556~559
唐晓静, 张前前, 类淑河等. 活体浮游植物同步荧光光谱特征分析研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2007, **27**(3): 556~559
- 14 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
- 15 Wang Zhigang, Liu Wenqing, Zhang Yujun *et al.*. The classified measuring of three dimensional excitation-emission fluorescence matrix technique on phytoplankton concentration in water body [J]. *China Environmental Science*, 2008, **28**(2): 136~141
王志刚, 刘文清, 张玉钧等. 三维荧光光谱法分类测量水体浮游植物浓度[J]. *中国环境科学*, 2008, **28**(2): 136~141
- 16 Zhang Cui, Su Rongguo, Zhang Shanshan *et al.*. Fluorescence discrimination and determination method for phytoplankton composition by SA4 multiwavelet [J]. *Chinese J. Lasers*, 2011, **38**(7): 0715003
张翠, 苏荣国, 张珊珊等. SA4多小波在浮游藻类荧光识别测定技术中的应用[J]. *中国激光*, 2011, **38**(7): 0715003
- 17 L. Poryvkina, S. Babichenko, A. Leeben. Analysis of phytoplankton pigments by excitation spectra of fluorescence [J]. *EARS eL eProceedings*, 2001, **1**(1): 224~232
- 18 Li Sikun, Su Xianyu, Chen Wenjing. A new wavelet transform method for optical carrier-fringe pattern phase reconstruction [J]. *Chinese J. Lasers*, 2010, **37**(12): 3060~3065
李思坤, 苏显渝, 陈文静. 一种新的小波变换空间载频条纹相位重建方法[J]. *中国激光*, 2010, **37**(12): 3060~3065
- 19 S. Mallat. A theory for multi-resolution signal decomposition; the wavelet representation [J]. *IEEE Trans. Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 1989, **11**(7): 674~693
- 20 Zhang Libao, Wang Pengfei. Remote sensing image coding based on adaptive directional lifting integer wavelet and optimal threshold [J]. *Chinese J. Lasers*, 2010, **37**(s1): 225~228
张立保, 王鹏飞. 基于自适应方向提升整数小波与优化阈值的遥感图像编码[J]. *中国激光*, 2010, **37**(s1): 225~228
- 21 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
- 22 Li Xi, Guan Zequn, Qin Kun *et al.*. Selecting per-pixel endmembers set based on Bayesian inference [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(9): 2557~2583
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): 2557~2583
- 23 Xing Yunyan, Wu Xiaoyue, Liu Qi. Dynamic Bayesian evaluation method of reliability growth for exponential life system [J]. *Journal of System Engineering*, 2010, **25**(5): 712~716
邢云燕, 武小悦, 刘琦. 指数寿命系统可靠性增长的动态Bayes评估方法[J]. *系统工程学报*, 2010, **25**(5): 712~716