

# 光学学报

## 基于 OJIP 曲线差异性特征的水体综合毒性表征参数构建

谷梦园<sup>1,2,3</sup>, 殷高方<sup>1,3\*</sup>, 甘婷婷<sup>1,3\*\*</sup>, 赵南京<sup>1,3</sup>, 亓培龙<sup>1,2,3</sup>, 陈敏<sup>1,2,3</sup>, 丁志超<sup>1,2,3</sup>, 贾仁庆<sup>1,2,3</sup>, 刘津京<sup>1,2,3</sup>,  
马明俊<sup>1,3</sup>, 杨瑞芳<sup>1,3</sup>, 方丽<sup>1,3</sup>, 刘文清<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>中国科学院合肥物质研究院安徽光学精密机械研究所, 中国科学院环境光学与技术重点实验室, 安徽 合肥 230031;

<sup>2</sup>中国科学技术大学, 安徽 合肥 230026;

<sup>3</sup>安徽省环境光学监测技术重点实验室, 安徽 合肥 230031

**摘要** 以藻类多相瞬态叶绿素荧光动力学曲线 OJIP 为基础, 提取曲线间距离、形状和角度特征之间的差异, 进行曲线差异性度量。同时, 采用 K 最近邻 (KNN) 分类算法评价并选择分类效果较好的特征组合, 利用不同特征对毒性强度表征作用的贡献率分配权重进行特征融合, 构建水体综合毒性表征参数  $PI_{FCD}$ 。在此基础上, 以普通小球藻为受试对象, 在 DCMU、DBMIB、MV、马拉硫磷、克百威毒性物质胁迫下, 对比现有的  $Fv/Fm$ 、 $PI_{ABS}$  两种表征参数, 从毒性响应、最低检测限和最高响应浓度三个方面, 验证所构建  $PI_{FCD}$  参数的有效性与优越性。结果表明:  $PI_{FCD}$  对 5 种毒性物质均响应灵敏, 与  $Fv/Fm$  相比可检测更多种类的污染物;  $PI_{FCD}$  对 5 种毒性物质的最低检测限分别比  $PI_{ABS}$  降低了 90.34%、41.66%、81.91%、95.43% 和 77.66%, 同时对高浓度毒性物质的检测能力更强。

**关键词** 海洋光学; 荧光; 水体综合毒性; OJIP 曲线; 曲线差异性; 毒性表征参数

中图分类号 X832

文献标志码 A

DOI: 10.3788/AOS202242.1801004

## Characterization Parameter Construction for Comprehensive Toxicity of Water Based on Differential Features of OJIP Curve

Gu Mengyuan<sup>1,2,3</sup>, Yin Gaofang<sup>1,3\*</sup>, Gan Tingting<sup>1,3\*\*</sup>, Zhao Nanjing<sup>1,3</sup>, Qi Peilong<sup>1,2,3</sup>,  
Chen Min<sup>1,2,3</sup>, Ding Zhichao<sup>1,2,3</sup>, Jia Renqing<sup>1,2,3</sup>, Liu Jinjing<sup>1,2,3</sup>, Ma Mingjun<sup>1,3</sup>,  
Yang Ruifang<sup>1,3</sup>, Fang Li<sup>1,3</sup>, Liu Wenqing<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Hefei Institutes of Physical Science, Key Laboratory of Environmental Optics and Technology, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, Anhui, China;

<sup>2</sup>University of Science and Technology of China, Hefei 230026, Anhui, China;

<sup>3</sup>Key Laboratory of Optical Monitoring Technology for Environment, Anhui Province, Hefei 230031, Anhui, China

**Abstract** The algal multiphase transient chlorophyll fluorescence kinetic curve (also known as the OJIP curve) is employed to extract differences in distance, shape, and angle features, and curve differences are thereby measured. The K-nearest neighbor (KNN) classification algorithm is used to evaluate those features and select the combination of features with a better classification effect. Weights are assigned according to the contribution rates of different features to toxicity intensity characterization for feature fusion, which is followed by the construction of the characterization parameter  $PI_{FCD}$  of the comprehensive toxicity of water. Moreover, *Chlorella vulgaris* is adopted as the test algae species to compare  $PI_{FCD}$  with the current characterization parameters  $Fv/Fm$  and  $PI_{ABS}$  under the stress of toxic substances (DCMU, DBMIB, MV, Malathion, and Carbofuran). The effectiveness and superiority of the proposed parameter  $PI_{FCD}$  are verified from the aspects of toxicity response, minimum detection limit, and maximum response concentration. The results show that  $PI_{FCD}$

收稿日期: 2022-01-11; 修回日期: 2022-02-16; 录用日期: 2022-02-28

基金项目: 安徽省科技重大专项项目(202003a07020007)、安徽省杰出青年科学基金(1908085J23)、中国科学院仪器设备功能开发技术创新项目(Y93H3g1251)、国家重点研发计划(2021YFC3200100)、国家自然科学基金(61805254, 61875207)、中国科学院院长基金“融合专项”(YZJJZX202013)

通信作者: \*gfyin@aiofm.ac.cn; \*\*tgan@aiofm.ac.cn

is sensitive to all the five toxic substances and can detect more kinds of pollutants than  $F_v/F_m$ . The minimum detection limits of  $PI_{FCD}$  for the five toxic substances are respectively 90.34%, 41.66%, 81.91%, 95.43%, and 77.66% lower than those of  $PI_{ABS}$ .  $PI_{FCD}$  also demonstrates a higher detection ability for high-concentration toxic substances.

**Key words** ocean optics; fluorescence; comprehensive toxicity of water; OJIP curve; curve difference; characterization parameter of toxicity

## 1 引言

藻类作为水生生态系统的初级生产者和能量转换器,因具有个体小、繁殖快、容易获取和易于培养等特点,进而成为水体综合毒性检测的理想受试生物<sup>[1]</sup>。藻类多相瞬态叶绿素荧光动力学曲线,简称 OJIP 曲线,反映了藻类在从暗适应到暴露在光下时,荧光强度先上升后下降的过程。将最初暴露在光下的最低荧光定义为 O 点,荧光的最高峰定义为 P 点,OJIP 曲线反映了从 O 点到 P 点的荧光变化过程,可充分反映藻类光合作用的状态<sup>[2-3]</sup>。水体污染物可影响藻类光合作用的电子传递与能量流动过程,以 OJIP 曲线为基础,研究反映藻类生理变化的表征参数,通过测量表征参数变化来判定污染物的毒性效应,具有测量快速便捷、可实现实时在线检测的优点,近些年被广泛应用于水体毒性检测中<sup>[4-10]</sup>。

在以藻类快速叶绿素荧光诱导动力学为基础进行水体综合毒性检测方面,Strasser 等<sup>[11]</sup>基于生物膜能量流动理论模型推导了一系列的荧光参数,使用最为广泛的是最大量子产率( $F_v/F_m$ )和性能指标( $PI_{ABS}$ )。Yang 等<sup>[12]</sup>考察了铜绿微囊藻、羊角月牙藻对四环素的胁迫反应,研究认为光系统 II(PSII)的  $F_v/F_m$  是四环素毒性检测的合适指标。Li 等<sup>[5]</sup>发现了  $F_v/F_m$  可用于评估  $Cu^{2+}$  的毒性。Sun 等<sup>[13]</sup>通过对比阿特拉津对小球藻不同表征参数的影响,证明了在所有荧光参数中,  $PI_{ABS}$  是最有说服力的表征参数。然而,随着研究的深入,研究者们发现不同种类水体污染物对藻类光

合抑制的作用位点与机理不同,对污染物毒性具有响应特性的光合荧光参数也存在差异,采用复杂模型推导的  $F_v/F_m$ 、 $PI_{ABS}$  等光合荧光参数在表征污染物毒性方面未必能准确全面地反映藻类的光合活性状态,因此可检测污染物种类有限。

鉴于此,本文以 OJIP 曲线为研究对象,摒弃复杂模型推导,直接从 OJIP 曲线出发,从距离、形状和角度三个方面提取曲线差异性特征,定义差异性度量并利用  $K$  最近邻(KNN)分类算法对不同曲线差异性特征进行评价,选择分类效果较好的距离与形状特征,构建了一种基于曲线差异性特征的水体综合毒性表征参数  $PI_{FCD}$ 。同时,以普通小球藻为受试生物,在 5 种毒性物质胁迫下,对比  $PI_{FCD}$  与目前使用的荧光参数  $F_v/F_m$ 、 $PI_{ABS}$  在毒性检测中的毒性响应、最低检测限和最高响应浓度三个方面的性能,以验证所构建  $PI_{FCD}$  参数的优异性。

## 2 实验与方法

### 2.1 实验材料

实验藻种选择中国科学院水生生物研究所淡水藻种库中的普通小球藻,选取 5 种毒性物质开展毒性测试研究,包括:直接作用在光合过程、光系统 II 和光系统 I 上的物质敌草隆(DCMU)、2,5-二溴-6-异丙基-3-甲基-1,4-苯醌(DBMIB)和甲基紫精(MV);其他未直接作用在光合过程位点的物质马拉硫磷和克百威<sup>[14]</sup>。5 种毒性物质的具体信息如表 1 所示,其中 DMSO 为二甲基亚砜。

表 1 5 种测试毒性物质基本信息  
Table 1 Basic information of five tested toxic substances

Toxin (solvent)	Mode of action	Tested mass concentration / ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Stress time / min
DCMU (DMSO)	PS II inhibitor	1, 2, 5, 10, 20, 40; 1, 10, 100, 1000, 10000, 100000	80
DBMIB (DMSO)	Plastoquinone re-oxidation inhibitor	100, 250, 500, 1000, 2000, 5000, 10000, 20000, 40000, 80000	60
MV (deionized water)	PS I inhibitor	5000, 10000, 25000, 50000, 100000, 200000, 400000, 800000	150
Malathion (DMSO)	Cholinesterase inhibitor	1, 2, 5, 10, 20, 40; 10000, 25000, 50000, 100000, 200000, 400000	30
Carbofuran (DMSO)	Cholinesterase inhibitor	1, 2, 5, 10, 20, 40; 10000, 25000, 50000, 100000, 200000, 400000, 800000	30

### 2.2 OJIP 曲线测量及 $F_v/F_m$ 、 $PI_{ABS}$ 的获取

采用 AquaPen 藻类叶绿素荧光测量仪在  $1800 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  饱和光脉冲下测量 OJIP 曲线,研究

数据包括在 DCMU、DBMIB、MV、马拉硫磷、克百威 5 种毒性物质胁迫下的 OJIP 曲线数据和空白对照 OJIP 曲线数据。数据记录从  $20 \mu\text{s} \sim 2 \text{ s}$  的荧光数据,原始曲

线数据为一系列带有时间顺序、变采样率的采样点组成的集合,对原始曲线时间进行对数化处理,如图 1 所示。将每一条曲线表示为  $C = \{(t_1, f_1), (t_2, f_2), \dots,$

$(t_n, f_n)\}$ , 其中  $t_n$  和  $f_n$  分别为曲线上第  $n$  个采样点的时间顺序和第  $n$  个采样点的荧光值。为统一数据规格,进行原始曲线分割,采用定长  $n=265$  进行实验。

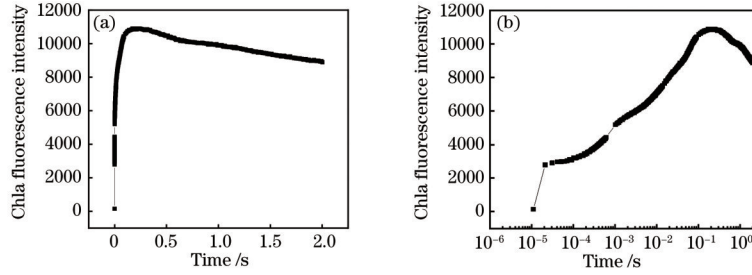


图 1 藻类 OJIP 曲线。(a)线性时间坐标;(b)对数时间坐标

Fig. 1 OJIP curve of algae. (a) Linear time scale; (b) logarithmic time scale

### 3 基于曲线差异性的水体综合毒性表征参数的构建

本文提出一种基于曲线差异性的水体综合毒性表征参数的构建方法,该方法主要包含:1)提取 OJIP 曲线的差异性特征,计算距离、形状和角度差异性特征;2)利用 KNN 分类算法的准确度评价指标对步骤 1)形成的差异性特征进行评价,选择分类准确率高的组合特征;3)根据不同特征的贡献率分配权重,从而构建表征参数,形成最终的水体综合毒性表征参数  $PI_{FCD}$ 。

#### 3.1 毒性物质暴露下的 OJIP 曲线差异性特征

5 种毒性物质胁迫下的 OJIP 曲线如图 2 所示,在毒性物质胁迫下藻类的 OJIP 曲线与空白对照相比,曲线之间存在明显差异。充分提取待测样品 OJIP 曲线与空白对照曲线之间的差异构建表征参数,可实现水体综合毒性的准确测量。曲线之间的差异性由对应时间序列点对之间的距离、曲线变化形状和曲线之间的夹角等特征决定。时间序列点对之间的距离越小,曲线形状越相似,曲线之间的夹角越小,曲线之间的差异性越小。反之,曲线的差异性越大。因此,需要提取 OJIP 曲线之间的距离、形状和角度差异特征。

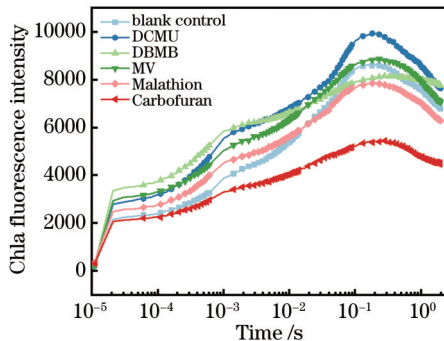


图 2 空白对照和 5 种毒性物质胁迫下的藻类 OJIP 曲线

Fig. 2 OJIP curve of algae under stress of blank control and five toxic substances

##### 3.1.1 距离特征

距离特征采用欧氏距离定义,通过计算两条 OJIP 曲线对应时间点的欧式距离得到距离序列  $\{d_i\} (i =$

$1, 2, \dots, n)$ , 如图 3 所示。采用欧氏距离简单直观,分别利用欧氏距离序列的累加和  $D_s$  和最大值  $D_m$  指标度量曲线之间的差异性,二者的表达式为

$$D_s = \sum_{i=1}^n d_i, \quad (1)$$

$$D_m = \max(d_i), \quad i = 1, 2, \dots, n, \quad (2)$$

式中:  $\max(\cdot)$  为取最大值函数。

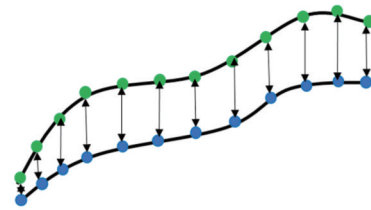


图 3 曲线距离序列

Fig. 3 Distance sequence of curve

##### 3.1.2 形状特征

采用弗雷歇距离描述 OJIP 曲线形状之间的差异性关系,本文中利用 Eiter 和 Mannila<sup>[15]</sup> 提出的求解联结对距离的方法来计算两条曲线间的离散弗雷歇距离。

利用联结对距离法计算弗雷歇距离的思想为设  $P$  和  $Q$  是两条曲线,即  $\sigma(P) = \{u_1, u_2, \dots, u_p\}$  和  $\sigma(Q) = \{v_1, v_2, \dots, v_q\}$ , 其中  $p$  和  $q$  分别为曲线  $P$  和  $Q$  上的点的个数,则它们的联结序列  $L$  是一个由  $\sigma(P) \times \sigma(Q)$  构成的离散对序列,  $L = \{(u_{a_1}, v_{b_1}), (u_{a_2}, v_{b_2}), \dots, (u_{a_m}, v_{b_m})\}$ , 其中  $a_1 = 1, b_1 = 1, a_m = p, b_m = q$ , 一个联结对必须遵循  $P$  和  $Q$  上的点的排列顺序。定义  $L$  的长度为所有联结对中的最大距离,即  $|L| = \max_{j=1,2,\dots,m} (u_{a_j}, v_{b_j})$ , 对于给定多边形曲线  $P, Q$ , 它们之间的离散弗雷歇距离  $S_f(P, Q)$  可定义为

$$S_f(P, Q) = \min(|L|), \quad (3)$$

式中:  $\min(\cdot)$  为取最小值函数。



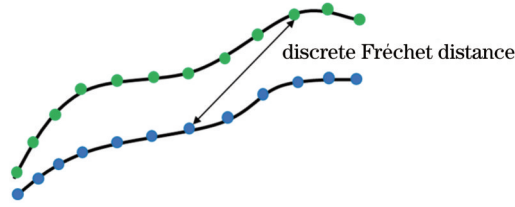


图 4 离散弗雷歇距离  
Fig. 4 Discrete Fréchet distance

3.1.3 角度特征

两条 OJIP 曲线  $C_a = \{(t_1, f_1), (t_2, f_2), \dots, (t_n, f_n)\}$  和  $C_b = \{(t_1, f_1), (t_2, f_2), \dots, (t_n, f_n)\}$  在时间段  $[0, t_i]$  内的向量分别为  $C_{a, [0, t_i]}$  和  $C_{b, [0, t_i]}$ , 那么时间段  $[0, t_i]$  内的

曲线夹角余弦定义为  $\cos \theta_{0, i} = \frac{C_{a, [0, t_i]} \times C_{b, [0, t_i]}}{|C_{a, [0, t_i]}| \times |C_{b, [0, t_i]}|}$ , 则

曲线  $C_a$  和  $C_b$  的累加夹角  $A_c$  的表达式为

$$A_c(C_a, C_b) = \sum_{i=1}^n \cos \theta_{0, i} \quad (4)$$

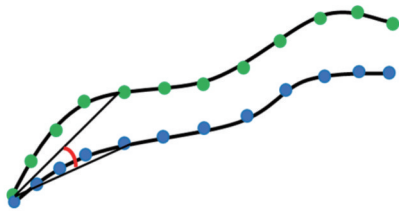


图 5 累加角度  
Fig. 5 Cumulative angle

3.2 单一特征与组合特征毒性表征作用评价

为了分析各类单一曲线差异性特征和不同组合特征的有效性, 本文选择 KNN 分类算法结合毒性物质胁迫下 OJIP 数据进行分类实验, 即以一条或多条曲线为基础曲线, 分别根据待分类曲线与基础曲线间的距离、形状和角度特征判断毒性物质浓度类别, 以分类准确率为评价标准对不同特征的有效性进行评价。

3.2.1 KNN 参数选取

$K$  值一般取值较小且为奇数, 将  $K$  值初设为 1, 依次递加至最大值样本数, 采用交叉验证的方式进行确认, 选择分类效果最好的  $K$  值。

3.2.2 训练与测试样本的确定

针对 5 种毒性物质的数据集, 以同一毒性物质的不同浓度划分类别, 分别以  $D_m, D_s, S_t, A_c$  特征和不同特征的任意组合特征作为特征向量, 将 OJIP 曲线数据集按照 5:1 的比例随机分成训练集与测试集, 分别进行训练和测试。

3.2.3 评价标准

采用不同特征分类下的准确率作为各个特征的作用评价标准。准确率越高, 说明该特征用于毒性分类的效果越好, 准确率的表达式为

$$M_{\text{Accuracy}} = \frac{M_{\text{TP}} + M_{\text{TN}}}{M_{\text{TP}} + M_{\text{FP}} + M_{\text{TN}} + M_{\text{FN}}}, \quad (5)$$

式中:  $M_{\text{TP}}$  是指正样本被正确识别为正样本的个数;  $M_{\text{TN}}$  是指负样本被正确识别为负样本的个数;  $M_{\text{FP}}$  是指负样本被错误识别为正样本的个数;  $M_{\text{FN}}$  是指正样本被错误识别为负样本的个数。

各个单一特征的分类准确率如图 6 所示, 可以发现: 在 DCMU 数据集中,  $D_m, D_s, S_t, A_c$  4 个特征的分类准确率分别为 75.0%、68.8%、56.2%、43.8%; 综合 5 种毒性物质的分类结果来看, 在 4 个单一特征中,  $D_m$  的分类准确率最高。图 7 为单一特征与组合特征的分类准确率。可以发现: 与单一特征相比, 组合特征有助于提高毒性浓度分类准确率; 在 DCMU 数据集中, 以  $D_m$  与  $S_t$  特征组合的准确率最高, 与单一特征相比分别提高了 6.2%、12.4%、25.0%、37.4%; 综合 5 种毒性物质的分类结果来看,  $D_m$  与  $S_t$  特征组合的准确率最高。

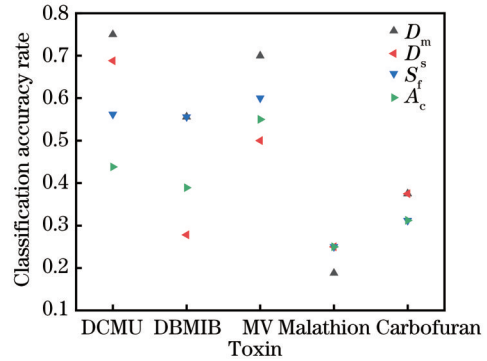


图 6 单一曲线差异性特征 KNN 的分类准确率  
Fig. 6 Classification accuracy rate of KNN with different characteristics of single curve

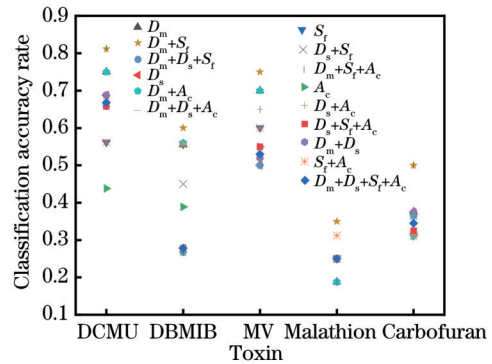


图 7 单一曲线与组合曲线差异性特征 KNN 的分类准确率  
Fig. 7 Classification accuracy rate of KNN with different characteristics of single and combined curves

3.3 距离与形状特征融合的综合表征参数构建

根据单一特征与组合特征 KNN 分类准确率的大小, 选择组合距离与形状特征, 在进行  $D_m$  与  $S_t$  归一化处理的前提下, 以两个特征对毒性强度表征作用的贡献率的大小进行权重分配, 构建水体综合毒性表征参数  $PI_{\text{FCD}}$ 。

3.3.1 特征数据归一化

由于提取的 OJIP 曲线的  $D_m$  与  $S_i$  量纲不同, 因此对两者进行归一化处理。以  $D_m$  为例, 归一化公式为

$$D_{m,N} = \frac{D_m - D_{m,\min}}{D_{m,\max} - D_{m,\min}}, \quad (6)$$

式中:  $D_{m,\max}$  为不同曲线之间  $D_m$  的最大值;  $D_{m,\min}$  为不同曲线之间  $D_m$  的最小值。

3.3.2 基于贡献率权重分配的多特征融合

$D_m$  与  $S_i$  特征在不同的毒性物质作用下, 表征能力不同, 分别计算待测样品 OJIP 曲线数据中的两个特征对待测样品毒性表征的贡献率  $\lambda$  和  $1 - \lambda$ , 根据其贡献率进行权重分配, 构建水体综合毒性表征参数  $PI_{FCD}$ ,  $PI_{FCD}$  的表达式为

$$M_{PI_{FCD}} = \lambda \times D_{m,N} + (1 - \lambda) \times S_{i,N}, \quad (7)$$

$$\lambda = \frac{C_{D_m}}{C_{D_m} + C_{S_i}}, \quad (8)$$

$$C_{D_m} = \frac{D_{m,N} - c(D_{m,N})}{c(D_{m,N})}, \quad (9)$$

表 2 实验组与对照组之间 Fv/Fm、 $PI_{FCD}$ 、 $PI_{ABS}$  的差异性分析结果

Table 2 Difference analysis results of Fv/Fm,  $PI_{FCD}$ ,  $PI_{ABS}$  between treatment group and control group

Tested mass concentration of DCMU / ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	0	1	2	5	10	20	40
	Fv/Fm	0.751	0.742*/ 0.217	0.731**/ 0.408	0.720**/ 0.855	0.680**/ 0.956	0.653**/ 0.972
$PI_{FCD} / 10^{-2}$	3.835	6.694*/ 0.661	12.663**/ 0.912	28.131**/ 0.986	39.260**/ 0.995	46.416**/ 0.998	51.969**/ 0.999
$PI_{ABS}$	4.470	3.470**/ 0.771	2.953**/ 0.982	1.853**/ 0.999	0.857**/ 1.000	0.543**/ 1.000	0.270**/ 1.000
Tested mass concentration of DBMIB / ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	0	0.10	0.25	0.50	1.00	2.00	5.00
	Fv/Fm	0.758	0.749*/ 0.560	0.731**/ 0.832	0.713**/ 0.975	0.666**/ 0.995	0.616**/ 0.998
$PI_{FCD} / 10^{-2}$	6.019	7.871*/ 0.819	9.237*/ 0.856	10.293**/ 0.984	12.221**/ 0.991	16.156**/ 0.998	16.862**/ 0.998
$PI_{ABS}$	4.808	3.997**/ 0.624	3.085**/ 0.852	2.268**/ 0.955	1.276**/ 0.976	0.693**/ 0.983	0.549**/ 0.984
Tested mass concentration of MV / ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	0	5	10	25	50	100	200
	Fv/Fm	0.764	0.757*/ 0.957	0.754**/ 0.959	0.717**/ 0.989	0.638**/ 0.998	0.549**/ 1.000
$PI_{FCD} / 10^{-2}$	1.482	3.506*/ 0.979	4.776**/ 0.976	7.985**/ 0.981	10.070**/ 0.996	31.302**/ 0.995	43.313**/ 0.996
$PI_{ABS}$	5.786	4.413**/ 0.923	4.49**/ 0.893	2.497**/ 0.981	1.093**/ 0.994	0.536**/ 0.995	0.223**/ 0.996

$$C_{S_i} = \frac{S_{i,N} - c(S_{i,N})}{c(S_{i,N})}, \quad (10)$$

式中:  $S_{i,N}$  为待测样品  $S_i$  归一化后的值;  $C_{D_m}$ 、 $C_{S_i}$  分别为  $D_m$  与  $S_i$  的贡献率;  $c(D_{m,N})$  与  $c(S_{i,N})$  分别为空白样品的  $D_m$  与  $S_i$  归一化后的值。

4 结果与讨论

为进一步评价  $PI_{FCD}$  在实际水体毒性检测应用中的有效性, 选用毒性检测中常使用的两种类型荧光参数 Fv/Fm 与  $PI_{ABS}$  分别从水体毒性检测中的毒性响应、最低检测限、最高响应浓度三个方面将这两种参数的毒性检测性能与本文所构建的  $PI_{FCD}$  这一参数进行对比, 探究并验证  $PI_{FCD}$  参数在毒性检测应用中的性能。

4.1 毒性响应

利用单因素方差分析方法分别计算实验组与对照组之间 Fv/Fm、 $PI_{FCD}$ 、 $PI_{ABS}$  三种表征参数的显著性差异, 比较不同参数对 5 种毒性物质的响应能力, 结果如表 2 所示。其中, \* 和 \*\* 分别代表对照组与实验组表征参数在 0.05 和 0.01 水平上有差异。表 2 中数据格式为均值/效应值。

续表

Tested mass concentration of Malathion / ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Tested mass concentration of Malathion / ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )						
	0	1	2	5	10	20	40
Fv/Fm	0.762	0.758 / 0.034	0.757 / 0	0.758 / 0.041	0.758 / 0.062	0.758 / 0.091	0.759 / 0.092
PI <sub>FCD</sub> / 10 <sup>-2</sup>	1.130	1.293* / 0.151	1.526* / 0.523	1.966* / 0.878	2.110** / 0.894	2.442** / 0.839	2.511** / 0.964
PI <sub>ABS</sub>	4.895	4.724* / 0.154	4.593* / 0.323	4.316* / 0.863	4.348* / 0.782	4.184** / 0.897	4.001** / 0.952

Tested mass concentration of Carbofuran / ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Tested mass concentration of Carbofuran / ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )						
	0	1	2	5	10	20	40
Fv/Fm	0.763	0.764 / 0.005	0.763 / 0	0.763 / 0.019	0.759 / 0.818	0.759 / 0.814	0.759 / 0.858
PI <sub>FCD</sub> / 10 <sup>-2</sup>	1.375	1.627* / 0.875	2.087* / 0.883	2.790* / 0.980	4.021** / 0.991	4.541** / 0.993	5.018** / 0.998
PI <sub>ABS</sub>	5.074	5.194* / 0.246	4.972* / 0.230	4.960* / 0.121	4.147** / 0.906	4.044** / 0.927	4.034** / 0.900

由表 2 可知,在 5 种不同测试浓度毒性物质胁迫下:实验组与对照组 PI<sub>FCD</sub>、PI<sub>ABS</sub> 相比均表现出显著性差异 ( $P < 0.05$ ); Fv/Fm 在马拉硫磷、克百威测试浓度的胁迫下实验组与对照组结果均无显著差异 ( $P > 0.05$ ),即 Fv/Fm 不具备对低浓度马拉硫磷、克百威的检测能力。由此可以看出,与 Fv/Fm 相比,以 PI<sub>FCD</sub> 为响应指标,可检测的污染物种类较多,毒性响应能力更强。

#### 4.2 最低检测限

根据 Fv/Fm、PI<sub>FCD</sub>、PI<sub>ABS</sub> 三种表征参数对不同浓度 DCMU、DBMIB、MV、马拉硫磷、克百威的响应特性,选取毒性物质低浓度范围内 PI<sub>FCD</sub>、Fv/Fm、PI<sub>ABS</sub> 的变化率建立线性剂量效应关系曲线,根据国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)对最低检测限的定义,以不同表征参数为响应指标的毒性物质最低检测限的计算公式为

$$M_{LOD} = \frac{3 \times S_b}{M}, \quad (11)$$

式中:  $S_b$  为空白样品多次测量响应信号的标准偏差(本研究中空白样品重复测量 20 次);  $M$  为线性剂量效应曲线的斜率。以 Fv/Fm、PI<sub>FCD</sub>、PI<sub>ABS</sub> 三种表征参数为响应指标的 5 种物质的最低检测限如表 3 所示。从结果综合来看,以 PI<sub>FCD</sub> 这一参数为响应指标所获得的检测限最低,对于 5 种毒性物质,PI<sub>FCD</sub> 的检测限分别比 PI<sub>ABS</sub> 降低了 90.34%、41.66%、81.91%、95.43% 和 77.66%,更有利于提高水体综合毒性的检测灵敏度。

#### 4.3 最高响应浓度

在 4.1 节和 4.2 节的基础上,扩大 DCMU、DBMIB、MV、马拉硫磷、克百威的浓度范围,研究在更高浓度毒性物质胁迫下,PI<sub>FCD</sub>、Fv/Fm、PI<sub>ABS</sub> 三种表

表 3 以 Fv/Fm、PI<sub>FCD</sub>、PI<sub>ABS</sub> 为响应指标的 5 种毒性物质最低检测限

Table 3 Minimum detection limits of five toxic substances with Fv/Fm, PI<sub>FCD</sub> and PI<sub>ABS</sub> as response indexes

Toxin	Minimum detection limit		
	Fv / Fm / ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	PI <sub>FCD</sub> / ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	PI <sub>ABS</sub> / ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
DCMU	2.70	0.34	3.52
DBMIB	213.50	463.70	794.80
MV	7720.00	3290.00	18190.00
Malathion	—	2.96	64.71
Carbofuran	—	3.57	15.98

征参数对 5 种毒性物质的响应特性,以表征参数的变化率达到阈值(抑制率的阈值为 100%)或趋于稳定时所对应的最低浓度为该毒性物质的最高响应浓度,结果如表 4 所示。综合来看,与 Fv/Fm 和 PI<sub>ABS</sub> 两种表征参数相比,以 PI<sub>FCD</sub> 参数为响应指标对 5 种毒性物质的最高响应浓度最高,对高浓度毒性物质的检测能力最强。

## 5 结 论

以藻类快速叶绿素荧光诱导动力学为基础构建的荧光参数作为响应指标进行水体综合毒性检测,具有响应快速、测量简单等特点。针对水体污染物毒性检测研究中 Fv/Fm、PI<sub>ABS</sub> 检测灵敏度不高、检测污染物范围窄的问题,从 OJIP 曲线出发,提取并融合曲线之间的差异性信息,构建了基于曲线差异性特征的水体综合毒性表征参数 PI<sub>FCD</sub>。同时,以普通小球藻为受试

表 4 以  $F_v/F_m$ 、 $PI_{FCD}$ 、 $PI_{ABS}$  为响应指标的 5 种毒性物质最高响应浓度

Table 4 Maximum response mass concentrations of five toxic substances with  $F_v/F_m$ ,  $PI_{FCD}$  and  $PI_{ABS}$  as response indexes

Toxin	Maximum response mass concentration		
	$\frac{F_v}{F_m} /$ ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	$PI_{FCD} /$ ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	$PI_{ABS} /$ ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )
DCMU	>100	>100	0.1
DBMIB	20	80	10
MV	>200	>800	400
Malathion	—	>400	200
Carbofuran	—	>800	400

藻种, 比较在 5 种水体污染物 DCMU、DBMIB、MV、马拉硫磷、克百威胁迫下,  $PI_{FCD}$ 、 $F_v/F_m$ 、 $PI_{ABS}$  在毒性物质检测方面的性能差异。结果表明:  $PI_{FCD}$  相比  $F_v/F_m$  对毒性物质的响应灵敏度更高, 适用于水体综合毒性检测; 与  $F_v/F_m$ 、 $PI_{ABS}$  相比,  $PI_{FCD}$  检测毒性物质的浓度范围更广。该研究结果为水体综合毒性的检测提供了一个更稳定、高效的表征参数。

#### 参 考 文 献

- [1] Camuel A, Guieysse B, Alcántara C, et al. Fast algal ecotoxicity assessment: influence of light intensity and exposure time on *Chlorella vulgaris* inhibition by atrazine and DCMU[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 140: 141-147.
- [2] Stirbet A, Riznichenko G Y, Rubin A B, et al. Modeling chlorophyll *a* fluorescence transient: relation to photosynthesis[J]. *Biochemistry. Biokhimiia*, 2014, 79(4): 291-323.
- [3] 李鹏民, 高辉远, Reto J. Strasser. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2005, 31(6): 559-566.  
Li P M, Gao H Y, Strasser R J. Application of the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis in photosynthesis study[J]. *Acta Photophysiological Sinica*, 2005, 31(6): 559-566.
- [4] Jiang Y H, Liu Y, Zhang J. Antibiotics induced alterations in cell density, photosynthesis, microcystin synthesis and proteomic expression of *Microcystis aeruginosa* during  $\text{CuSO}_4$  treatment[J]. *Aquatic Toxicology*, 2020, 222: 105473.
- [5] Li S X, Chu R Y, Hu D, et al. Combined effects of  $17\beta$ -estradiol and copper on growth, biochemical characteristics and pollutant removals of freshwater microalgae *Scenedesmus dimorphus*[J]. *Science of the*

*Total Environment*, 2020, 730: 138597.

- [6] Macinnis-Ng C M O, Ralph P J. Towards a more ecologically relevant assessment of the impact of heavy metals on the photosynthesis of the seagrass, *Zostera capricorni*[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2002, 45: 100-106.
- [7] Zhao T, Tan L J, Huang W Q, et al. The interactions between micro polyvinyl chloride (mPVC) and marine dinoflagellate *Karenia mikimotoi*: the inhibition of growth, chlorophyll and photosynthetic efficiency[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 247: 883-889.
- [8] 段静波, 刘文清, 张玉钧, 等. 藻类水体  $\text{Cd}^{2+}$  毒性快速监测新方法研究[J]. *环境科学*, 2014, 35(4): 1555-1560.  
Duan J B, Liu W Q, Zhang Y J, et al. Study on a new method of fast monitoring toxicity of  $\text{Cd}^{2+}$  by algal in water[J]. *Environmental Science*, 2014, 35(4): 1555-1560.
- [9] 陈敏, 殷高方, 赵南京, 等. 苯酚胁迫下藻类光合活性参数的响应规律[J]. *光学学报*, 2019, 39(12): 1217002.  
Chen M, Yin G F, Zhao N J, et al. Response of photosynthetic activity parameters of algae under phenol stress[J]. *Acta Optica Sinica*, 2019, 39(12): 1217002.
- [10] 胡丽, 殷高方, 赵南京, 等. 蛋白核小球藻光合荧光参数对  $\text{Cu}^{2+}$  毒性响应特性研究[J]. *光学学报*, 2020, 40(12): 1217001.  
Hu L, Yin G F, Zhao N J, et al. Response of photosynthetic fluorescence parameters of *Chlorella Pyrenoidosa* to  $\text{Cu}^{2+}$  toxicity[J]. *Acta Optica Sinica*, 2020, 40(12): 1217001.
- [11] Strasser R J, Tsimilli-Michael M, Srivastava A. Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient[M]// Papageorgiou G C, Govindhee. *Chlorophyll a fluorescence. Advances in photosynthesis and respiration*. Dordrecht: Springer, 2004, 19: 321-362.
- [12] Yang W W, Tang Z P, Zhou F Q, et al. Toxicity studies of tetracycline on *Microcystis aeruginosa* and *Selenastrum capricornutum*[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2013, 35(2): 320-324.
- [13] Sun C, Xu Y F, Hu N T, et al. To evaluate the toxicity of atrazine on the freshwater microalgae *Chlorella* sp. using sensitive indices indicated by photosynthetic parameters[J]. *Chemosphere*, 2020, 244: 125514.
- [14] Guo Y J, Lu Y P, Goltsev V, et al. Comparative effect of tenuazonic acid, diuron, bentazone, dibromothymoquinone and methyl viologen on the kinetics of Chl *a* fluorescence rise OJIP and the  $\text{MR}_{820}$  signal[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 156: 39-48.
- [15] Eiter T, Mannila H. Computing discrete Fréchet distance [EB/OL]. (1994-04-25)[2021-04-05]. <http://www.kr.tuwien.ac.at/staff/eiter/et-archive/cdtr9464.pdf>.