

DOI: 10.3969/j.issn.1673-6141.2020.01.007

离散三维荧光光谱法海洋浮游藻类群落结构快速测量技术

赵南京¹, 程 钊^{1,2}, 殷高方¹, 马明俊^{1,2}, 董 鸣^{1,2}, 王 翔^{1,2}, 覃志松⁴, 甘婷婷¹,
张小玲³, 刘建国¹, 刘文清¹

(1 中国科学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;

2 中国科学技术大学, 安徽 合肥 230026;

3 安徽大学, 安徽 合肥 230039;

4 桂林电子科技大学, 广西 桂林 541004)

摘 要: 浮游藻类群落结构是评价海洋生态环境状况的重要指标之一, 现有的研究主要基于现场采样实验室分析, 缺少快速在线自动、原位剖面以及遥感地面验证技术装备。针对浮游藻类群落结构快速获取与遥感数据地面验证需求, 研究了基于离散三维荧光光谱法的海洋藻类群落结构现场快速测量方法, 研发了海洋藻类群落结构原位在线测量技术仪器, 并开展了应用示范与对比验证。结果表明, 基于离散三维荧光光谱法的海洋藻类群落结构测量技术能够快速准确地获取藻类群落结构及叶绿素含量, 与现有技术相比, 具有测量快速、准确、稳定可靠等优势, 为海洋生态环境监测数据获取及遥感数据地面验证提供了先进技术手段。

关键词: 离散三维荧光光谱; 藻类群落结构; 快速测量技术; 在线测量

中图分类号: O433; X853

文献标识码: A

文章编号: 1673-6141(2020)01-0062-010

Rapid Measurement of Phytoplankton Community Structure by Discrete Three-Dimensional Fluorescence Spectroscopy

ZHAO Nanjing¹, CHENG Zhao^{1,2}, YIN Gaofang¹, MA Mingjun^{1,2}, DONG Ming^{1,2},
WANG Xiang^{1,2}, QIN Zhisong⁴, GAN Tingting¹, ZHANG Xiaoling³,
LIU Jianguo¹, LIU Wenqing¹

(1 Key Laboratory of Environmental Optics and Technology, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China;

2 University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China;

基金项目: Supported by National Key Research and Development Program of China(国家重点研发计划, 2016YFC1400600), Science and Technology Major Project of Anhui Province(安徽省科技重大专项, 17030801033), Anhui Key Research and Development Program(安徽省重点研发计划, 1804a0802192)

作者简介: 赵南京(1976-), 安徽砀山人, 博士, 研究员, 博士生导师。主要从事环境光学监测技术研究及系统研发工作。

E-mail: njzhao@aiofm.ac.cn

收稿日期: 2019-12-12; **修改日期:** 2019-12-16

3 Anhui University, Hefei 230039, China;

4 Guilin University of Electronic Technology, Guilin 541004, China)

Abstract: The community structure of phytoplankton is one of the important indicators to evaluate the marine ecological environment. At present, the research of this field is mainly based on the on-site sampling followed by laboratory analysis, lacking of rapid on-line automatic, *in-situ* profile and remote sensing ground verification technology. In order to meet the needs of rapid acquisition of phytoplankton community structure and ground verification of remote sensing data, a fast field measurement method of marine algae community structure based on discrete three-dimensional fluorescence spectrum was studied. Then an *in-situ* online measurement instrument of marine algae community structure was developed, and at last application demonstration and comparative verification were carried out. The results show that the measurement technology of marine algal community structure based on the discrete three-dimensional fluorescence spectrometry can obtain the algal community structure and chlorophyll content quickly and accurately. Compared with the existing technology, it has the advantages of fast, accurate, stable and reliable measurement, and provides advanced technical means for the acquisition of marine ecological environment monitoring data and ground verification of remote sensing data.

Key words: discrete three-dimensional fluorescence spectrum; algal community structure; rapid measurement technology; on-line measurement

1 引言

水体浮游藻类的种类和数量可以反映该区域的生态环境状况, 长期以来被用作水质的指标生物, 故其群落结构的快速测量对于水质评价具有重要意义^[1-5]。

对于浮游藻类群落结构的测量, 现有手段主要用于实验室分析, 包括显微镜检(图像)计数、流式细胞术、分子探针以及高效液相色谱分析等^[6]。不同技术虽有各自优势, 但由于操作复杂耗时、环境条件要求苛刻、仪器昂贵、体积大且功耗高等特点, 仍难以满足现场在线自动与原位剖面快速测量等需求。

荧光法作为最具发展潜力的浮游藻类群落结构快速识别测定技术, 是基于色素光谱特征实现藻类在门类水平上的分析^[7], 具有测量快速与灵敏度高等特点, 易于实现在线自动及原位测量现场应用。

国内外研究学者在藻类荧光测量、色素分析、藻类分类等研究方面开展了大量工作。Cowles 等^[8]通过测量藻红蛋白荧光发射特征分析了海水中含藻红蛋白浮游藻的种类和丰度变化; Lee 等^[9]根据藻蓝蛋白特征激发荧光光谱建立了蓝藻活体现场监测技术; Beutler 等^[10]利用浮游藻活体叶绿素激发荧光光谱, 建立了蓝藻、绿藻、隐藻及混合藻(含甲藻和硅藻)测定技术。然而, 基于单一激发或发射荧光光谱识别测定浮游藻种类精度低, 浮游藻色素组成相近(如硅藻和甲藻)或同门类不同种类识别效果难以满足监测需要。张前前等^[11-13]利用浮游藻活体三维荧光光谱, 结合平行因子、小波变换等模型算法对浮游藻含量进行了分类测量。三维荧光光谱提供了更为丰富的指纹信息, 能够在更细层次上区分浮游藻类, 大幅度提高了浮游藻种类识别测定精度。但由于传统三维荧光光谱测量仪器体积大、功耗高、光栅传动等机构对运行稳定性要求高, 使得基于三维荧光光谱的浮游藻类识别测定方法停留在实验室样品分析阶段, 难以满足现场识别测定需求。

基于科学研究及行业应用等需求, 荧光法藻类测量仪器从最初只测量叶绿素含量向着藻类分类测定方向发展, 国内外已开发了系列商品化仪器^[14]。如单波长叶绿素荧光传感器, 其结构简单、体积小、重量

轻, 适于多参数集成及便携使用。对于同一水域藻类群落结构短期相对稳定, 测量结果基本能够满足需要; 但由于其不识别藻类, 当长期在线测量藻类群落结构发生变化时则需不断进行标定。双波长叶绿素荧光传感器在给出叶绿素含量的同时, 能够实现蓝藻的定量, 其特点同单波长传感器。激发荧光光谱法^[15]在瞄准叶绿素准确定量同时进行藻类分类测量, 但无法区分海洋常见硅、甲藻, 分类如不准确其叶绿素定量则存在较大误差。因此, 针对藻类群落结构快速在线自动测量、原位剖面调查以及遥感数据地面验证等装备需求, 发展新型监测技术装备将具有重要的应用价值及现实意义。

2 测量原理与技术

传统荧光光谱法通常为固定激发波长测量发射光谱, 或者固定发射波长测量激发光谱, 光谱数据信息量有限。而三维荧光光谱法能够获得激发波长与发射波长同时变化的荧光强度信息, 具有高选择性、多组分分析、无试剂添加等特点, 常用于多组分混合物分析。

关于三维荧光光谱的获取, 通常是设定激发光波长, 测定该激发波长下的发射光谱, 然后改变激发波长测定另一激发波长下的发射谱, 由不同激发波长下的发射谱组合构成三维荧光光谱^[16]。多组分分析主要依据被分析物荧光光谱特征, 基于建立的荧光光谱特征数据库, 结合特定分析算法, 实现物质种类及含量的分析^[17-19]。

离散三维荧光光谱^[20]是根据被分析物的荧光光谱特征, 有选择性地测量特定激发波长与发射波长下的荧光信息, 以最优化的结果代替连续三维荧光光谱测量, 解决连续三维荧光光谱测量仪器体积大、功耗高、耗时长, 以及外场应用中的在线与原位等问题, 以满足不同应用需求。

对于离散三维荧光光谱测量技术, 首先是根据被分析物连续三维荧光光谱确定激发波长及发射波长相关波段, 建立离散三维荧光光谱测量系统; 然后获取被分析物离散三维荧光光谱, 提取特征并建立被分析

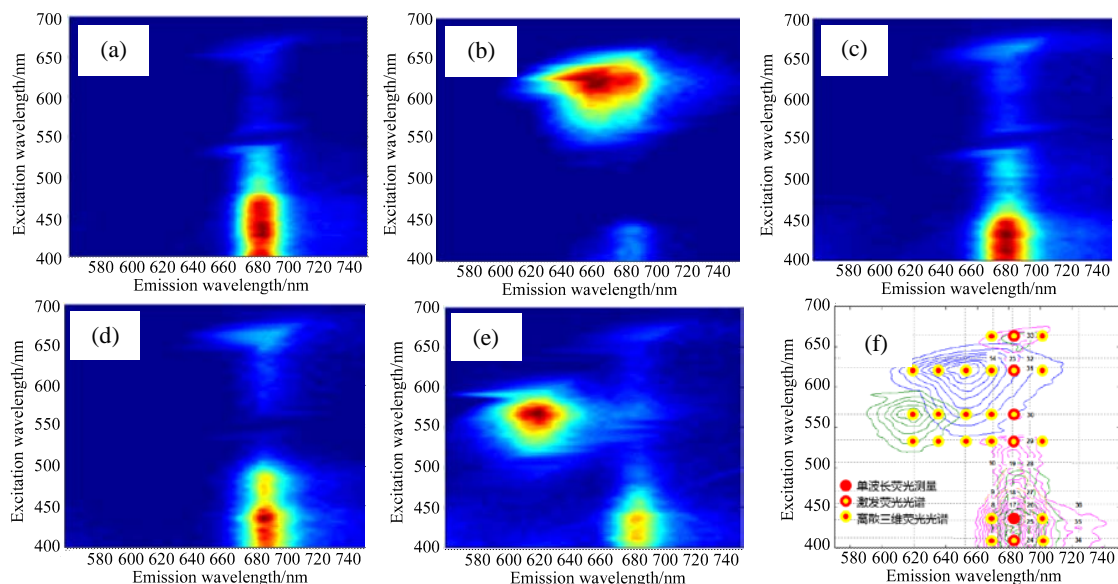


图1 不同藻类三维荧光光谱特征和离散三维荧光光谱示意图。(a) 甲藻, (b) 蓝藻, (c) 硅藻, (d) 绿藻, (e) 隐藻, (f) 离散三维荧光光谱示意图

Fig.1 Three dimensional fluorescence spectrum characteristics and discrete three dimensional fluorescence spectrum of different algae. (a) Pyrrophyta, (b) cyanobacteria, (c) diatom, (d) chlorophyta, (e) cryptococcus, (f) diagram of discrete three-dimensional fluorescence spectrum

物离散三维荧光光谱特征数据库, 用于目标物的识别; 最后是目标物识别算法开发, 并根据应用需求开展系统设计。

特征波长提取: 在实验室对蓝藻、绿藻、硅藻、甲藻、隐藻等五个门类 17 种藻类进行纯种培养, 测量了不同藻类三维荧光光谱, 基于不同门类藻的荧光光谱特征, 提取了 12 个激发波段和 8 个发射波段组成了 96 个特征光谱点离散三维荧光光谱。不同藻类三维荧光光谱特征及离散三维荧光光谱示意如图 1 所示。

测量系统光学结构: 采用 12 波段 LED 激发光源、8 波段荧光探测通道, 以光电倍增管为探测器, 开发了小型化离散三维荧光光谱原位测量系统。光学结构采用激发 - 发射同轴端窗式设计, 主要由多波段 LED 聚焦激发光路和多波段荧光收集光路组成, 通过优化平衡设计获得高效光源激发效率和荧光收集效率, 并减少杂散光, 如图 2 所示。该结构解决了传统光栅分光式结构复杂、体积大、便携性差、光栅传动机构对运行稳定性要求苛刻, 以及难以原位监测应用等问题。

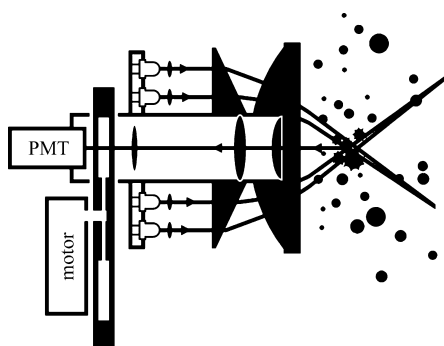


图 2 离散三维荧光光谱测量结构示意图

Fig.2 Structure diagram of discrete three-dimensional fluorescence spectrum measurement

激发光源恒流驱动及荧光检测技术: 以恒流驱动提高光源稳定性, 输出电流在 0~100 mA 可调, 不同波段 LED 激发光强控制为 $1500 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$; 由模拟开关控制 LED 切换, 以 MOS 管对光源进行 10 kHz 调制以提高荧光信号测量信噪比; 采用积分自适应荧光信号高灵敏检测技术获得最低检测电流为 $0.09 \mu\text{A}$, 动态检测范围 3 个量级。

在关键技术解决基础上, 研发的藻类离散三维荧光光谱在线及小型化原位测量仪如图 3 所示, 其中小型化原位测量仪对于不同藻类叶绿素浓度检测限为 $0.003\sim 0.006 \mu\text{g}/\text{L}$, 藻类分类精度 $\leq 9.35\%$, 测量时间为 18.5 s。

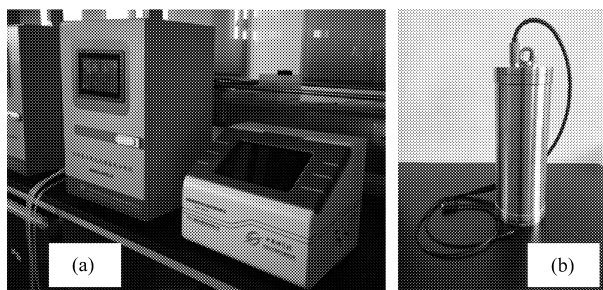


图 3 藻类离散三维荧光光谱在线监测仪 (a) 及原位测量仪 (b)

Fig.3 Discrete three-dimensional fluorescence spectrum on-line monitor (a) and *in-situ* meter (b)

3 对比应用分析

2018年8月至10月在浙江千岛湖(淡水)及象山港(海水)分别开展了藻类离散三维荧光光谱在线监测仪(AFA)测试实验,实验中分别与BBE实验室藻类分析仪(AlgaeLabAnalyser)及藻类野外现场分析仪(Fluoro probe)开展了同步现场测量,并取样进行了实验室显微镜检对比分析。千岛湖15个监测点位藻类实验室镜检分析以及现场同步测量结果分别如图4和图5所示。

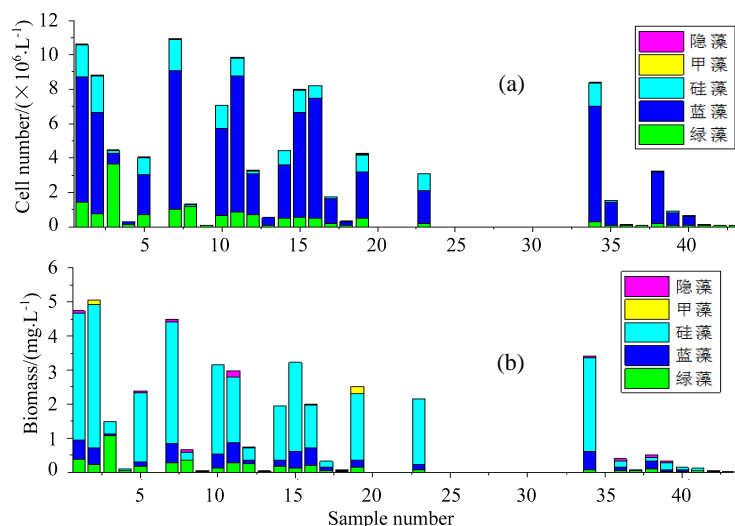


图4 千岛湖不同测量点位藻类实验室显微镜检分析结果。(a)显微镜检细胞计数,(b)显微镜检生物量

Fig.4 Results of laboratory microscopic examination of algae at different measuring points in Qiandao Lake.

(a)Microscopic cell count, (b)Microscopic biomass

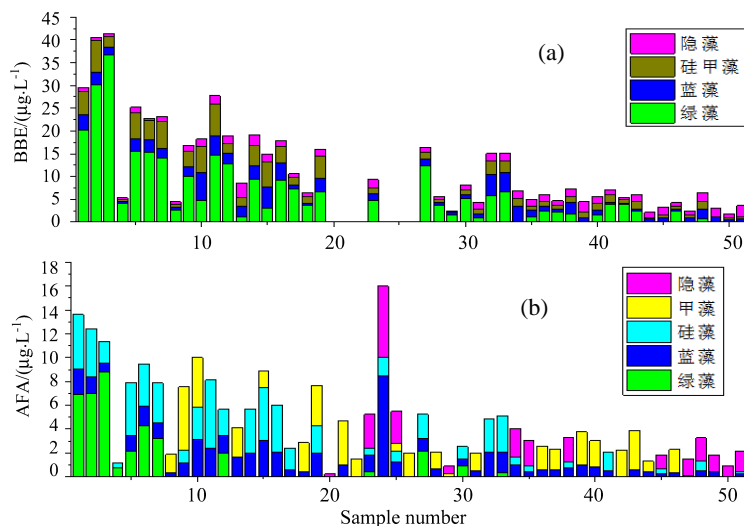


图5 千岛湖不同测量点位现场同步测量结果。(a)BBE实验室藻类分析仪(AlgaeLabAnalyser),(b)藻类离散三维荧光光谱在线监测仪(AFA)

Fig.5 Field synchronous measurement results of different measuring points in Qiandao Lake. (a)BBE laboratory algae analyzer (AlgaeLabAnalyser), (b)on line monitor of algae discrete three-dimensional fluorescence spectrum(AFA)

在藻类群落识别方面,实验室镜检分析是通过细胞外观形态进行分类,荧光法则是基于细胞色素组成并以叶绿素a浓度表示藻类生物量,两种方法虽存在一定关联性,但并不完全等价。基于图4镜检数据,

当以藻类细胞数为评价参数时, 千岛湖优势藻种为蓝藻, 其次为硅藻和绿藻; 当以藻类生物量为评价参数时, 硅藻为绝对优势藻种, 其次为蓝藻和绿藻, 同时还有一定数量隐藻和甲藻。综合细胞数和生物量分析, 得出千岛湖水域优势藻种为硅藻和蓝藻, 劣势藻种依次为绿藻、隐藻和甲藻。

从图 5 现场同步测量结果可以看出, AFA 和 BBE 均能检出蓝藻、绿藻、硅藻(甲藻)和隐藻。其中, AFA 测量结果中有相当比例的硅藻、蓝藻和甲藻, 同时也有一定数量绿藻和隐藻; BBE 测量结果中绿藻为绝对优势藻种, 其他劣势藻种也均有检出。综合考虑千岛湖不同点位测量结果, 并以藻类门类占比均值表示藻类群落结构组成, 结果如图 6 所示。

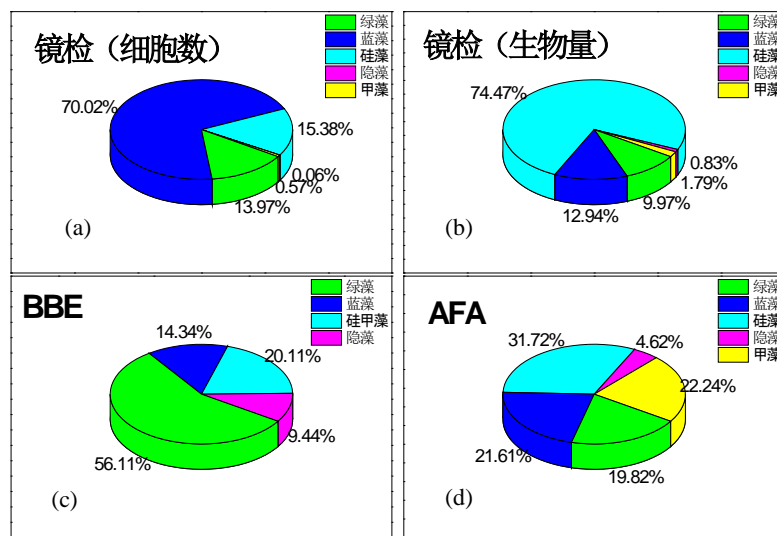


图 6 千岛湖藻类门类占比分析结果。(a) 显微镜检细胞计数, (b) 显微镜检生物量, (c) BBE 实验室藻类分析仪 (AlgaeLabAnalyser), (d) 藻类离散三维荧光光谱在线监测仪 (AFA)

Fig.6 Analysis of the proportion of algae in Qiandao Lake. (a) Microscopic cell count, (b) microscopic biomass, (c) BBE laboratory algae analyzer (AlgaeLabAnalyser), (d) on line monitor of algae discrete three-dimensional fluorescence spectrum(AFA)

从图 6 可以看出, 当以细胞数和生物量为评价标准时, 千岛湖水域优势藻种分别为蓝藻和硅藻; BBE 分类结果中绿藻占绝对优势 (56.11%), 其次为硅(甲)藻; AFA 分类结果表明硅藻为优势藻种, 其次是蓝藻、甲藻、绿藻和隐藻, 占比分别为 31.72%、22.24%、21.61%、19.82% 和 4.62%。因此, 从优势藻类分类结果上看, AFA 与镜检结果具有更好的一致性。但从总体上看, 荧光法与镜检分析结果存在差异, 分析认为主要源于两种方法分类基准不同。在镜检分析中对部分能观测到但数量少的部分藻类未计算在总生物量中, 被忽略的藻类中甲藻最多; 基于细胞形态难以区分外观高度相似的硅藻和甲藻, 镜检结果存在一定的不确定性。荧光法是基于藻类细胞色素分析, 与细胞大小及形态无关。因此, 这也可以解释为什么 AFA 分类结果中有相当数量甲藻占比。

象山港不同站点测量对比分析结果如图 7 所示。镜检结果表明, 象山港优势藻种为硅藻, 其细胞密度远高于其它门类; 对于不同站点 BBE 测得优势藻种涵盖了绿藻、蓝藻、硅(甲)藻和隐藻四个门类; AFA 测得硅藻为优势藻种。

从图 7 可知, 对于不同藻类门类占比, 镜检结果表明硅藻 89% 和甲藻 8%; BBE 分类结果为硅藻 44%、绿藻 27% 和隐藻 22%; AFA 分类结果为硅藻 97.7% 和甲藻 1.7%。AFA 分类与镜检细胞计数分析具有较好一致性。

利用研发的藻类离散三维荧光光谱原位监测仪于 2019 年 8 月在黄渤海开展了现场应用测量, 完成了藻类群落结构垂直剖面观测及沿航迹分布在线监测, 原位剖面测量点位 (编号 01 至 12, 圈点标示)、在线测量航迹 (箭头标示) 与藻类离散三维荧光光谱原位监测仪现场测量示意图如图 8 所示。

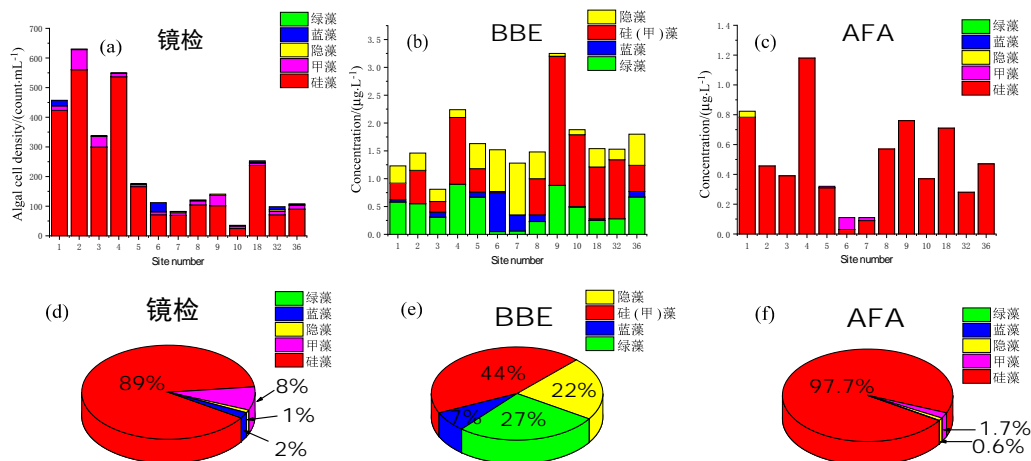


图 7 象山港不同点位测量分析结果。(a) 显微镜检细胞计数, (b)BBE 藻类野外现场分析仪 (FluoroProbe), (c) 藻类离散三维荧光光谱在线监测仪 (AFA), (d) 显微镜检细胞计数, (e)BBE 藻类野外现场分析仪 (FluoroProbe), (f) 藻类离散三维荧光光谱在线监测仪 (AFA)

Fig.7 Analysis results of different points in Xiangshan Port. (a) Microscopic cell count, (b) BBE algae field analyzer(FluoroProbe), (c) on line monitor of algae discrete three-dimensional fluorescence spectrum(AFA), (d) microscopic cell count, (e) BBE algae field analyzer(FluoroProbe), (f) on line monitor of algae discrete three-dimensional fluorescence spectrum(AFA)

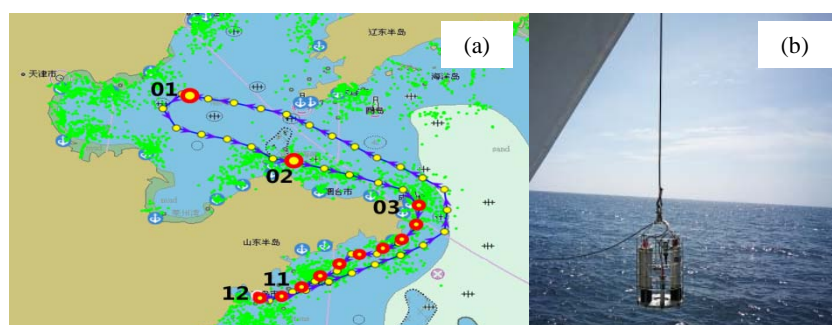


图 8 剖面测量点位、在线测量航迹 (a) 与藻类离散三维荧光光谱原位监测仪现场测量 (b) 示意图

Fig.8 Profile measurement point position & online measurement track (a) and schematic diagram of *in situ* field measurement of algae (b)

黄渤海不同点位藻类群落结构垂直剖面分布以及在线测量初步结果如图 9 所示, 图中不同时间代表航迹不同位置。

可以看出, 不同海域藻类群落结构有着显著差异 (2019 年 8 月 19 日高值为渤海海域), 进一步数据分析将后续进行, 这里不再赘述。基于离散三维荧光光谱法的海洋藻类群落结构测量技术, 不仅实现了藻类群落结构及叶绿素含量的快速准确获取, 为浮游藻类测量分析提供了工具, 而且为海洋科学调查及遥感数据地面验证等提供了先进手段。

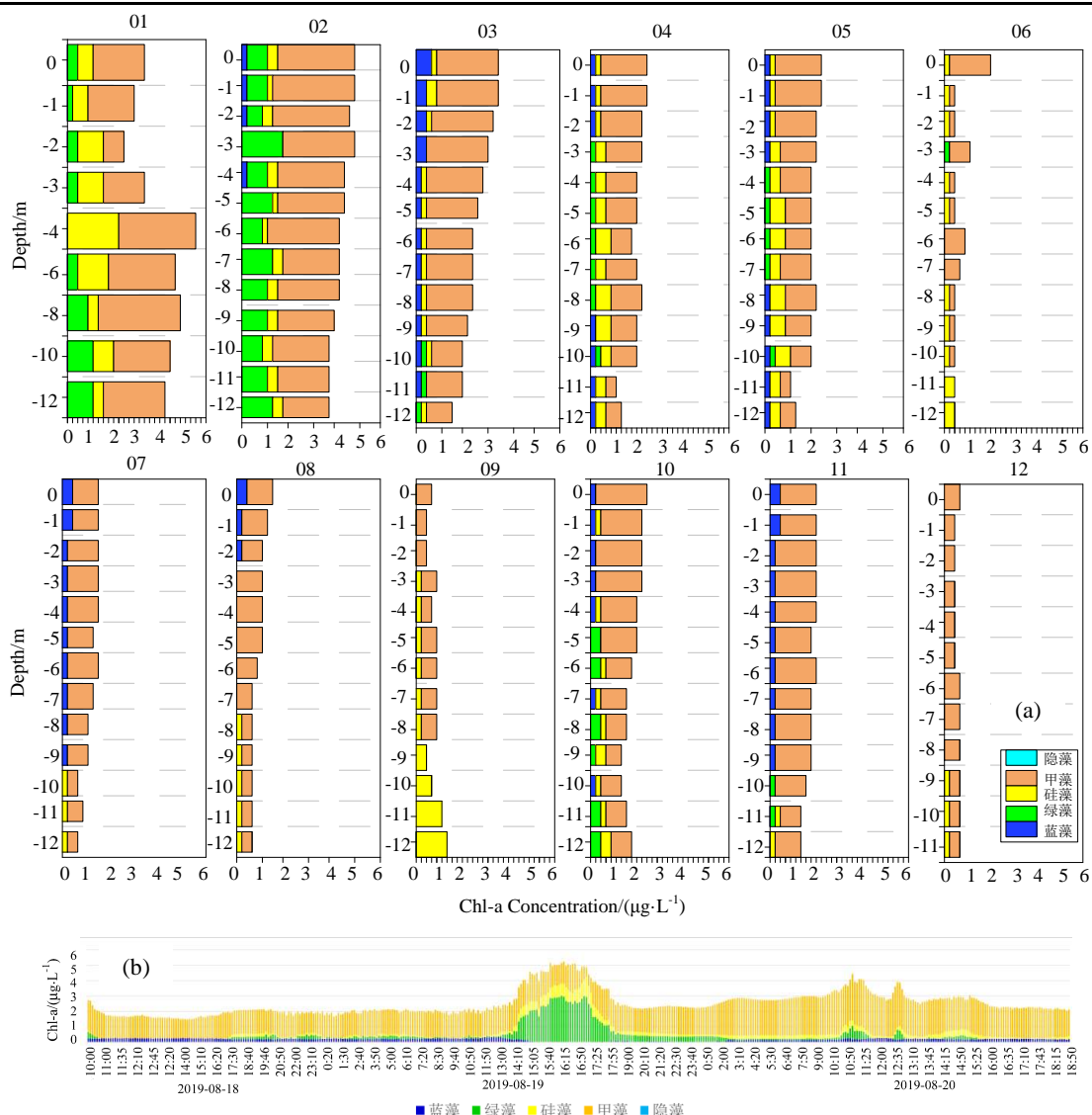


图 9 黄渤海不同点位藻类群落结构垂直剖面分布 (a) 与在线测量结果 (b)

Fig.9 Vertical profile distribution (a) and on-line measurement results (b) of algal community structure at different points in the Yellow Sea and the Bohai Sea

4 结 论

针对海洋浮游藻类快速分析与遥感数据地面验证需求, 研发了基于离散三维荧光光谱法的海洋藻类群落结构在线 / 原位快速测量技术及仪器, 开展了比测验证并快速获取了黄渤海浮游藻类群落结构及叶绿素含量分布状况, 仪器具有稳定、可靠、准确等优势, 为海洋生态环境监测数据获取、遥感数据地面验证、及海洋科学研究提供了先进技术手段。

致谢: 感谢淳安县环境保护监测站、自然资源部第二海洋研究所、国家重点研发计划“海洋环境安全保障”重点专项“重点声学类和近海海洋生态类仪器设备规范化海上试验”课题 (2016YFC1401304) 等提供的试验平台及数据支持。

参考文献 :

- [1] Pachés M, Romero I, Hermosilla Z, *et al.* PHYMED: An ecological classification system for the Water Framework Directive based on phytoplankton community composition [J]. *Ecological Indicators*, 2012, **19**: 15-23.
- [2] Nankabirwa A, De Crop W, Van der Meeren T, *et al.* Phytoplankton communities in the crater lakes of western Uganda, and their indicator species in relation to lake trophic status [J]. *Ecological Indicators*, 2019, **107**: 105563.
- [3] Gao Yu, Sun Lin, Wu Chao, *et al.* Inter-annual and seasonal variations of phytoplankton community and its relation to water pollution in Futian Mangrove of Shenzhen, China [J]. *Continental Shelf Research*, 2018, **166**: 138-147.
- [4] Xiao W P, Edward A L, Xie Y Y, *et al.* Responses of marine phytoplankton communities to environmental changes: New insights from a niche classification scheme [J]. *Water Research*, 2019, **166**: 115070.
- [5] Nunesa S, Latasa M, Delgado M, *et al.* Phytoplankton community structure in contrasting ecosystems of the Southern Ocean: South Georgia, South Orkneys and western Antarctic Peninsula [J]. *Deep-Sea Research Part I*, 2019, **151**: 103059.
- [6] Gao Yahui, Yang Junxia, Luo Qiaoqi, *et al.* Automatic identification and analysis techniques of marine phytoplankton [J]. *Journal of Xiamen University (Natural Science)*, 2006, **45**(z2): 40-45(in Chinese).
高亚辉, 杨军霞, 骆巧琦, 等. 海洋浮游植物自动分析和识别技术 [J]. 厦门大学学报 (自然科学版), 2006, **45**(z2): 40-45.
- [7] Yin Gaofang, Zhao Nanjing, Hu Li, *et al.* Classified measurement of phytoplankton based on characteristic fluorescence of photosynthetic pigments [J]. *Acta Optica Sinica*, 2014, **34**(9): 312-317(in Chinese).
殷高方, 赵南京, 胡 丽, 等. 基于色素特征荧光光谱的浮游植物分类测量方法 [J]. 光学学报, 2014, **34**(9): 312-317.
- [8] Cowles T J, Desiderio R A, Neuer S. *In situ* characterization of phytoplankton from vertical profiles of fluorescence emission spectra [J]. *Marine Biology*, 1993, **115**(2): 217-222.
- [9] Lee T Y, Tsuzuki M, Takeuchi T, *et al.* Quantitative determination of cyanobacteria in mixed phytoplankton assemblages by an *in vivo* fluorimetric method [J]. *Analytica Chimica Acta*, 1995, **302**(1): 81-87.
- [10] Beutler M, Wiltshire K H, Meyer B, *et al.* A fluorometric method for the differentiation of algal populations *in vivo* and *in situ* [J]. *Photosynthesis Research*, 2002, **72**(1): 39-53.
- [11] Zhang Q Q, Lei S H, Wang X L, *et al.* Discrimination of phytoplankton classes using characteristic spectra of 3D fluorescence spectra [J]. *Spectrochimica Acta Part A Molecular & Biomolecular Spectroscopy*, 2006, **63**(2): 361-369.
- [12] 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(in Chinese).
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.
- [13] 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(in Chinese).
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.
- [14] Yuan Jing, Dai Yuan, Shen Wei, *et al.* *In-situ* measurement of chlorophyll-a concentration in the lake based on discrete three-dimensional fluorescent spectroscopy *in vivo* [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2018, **30**(3): 782-789(in Chinese).
袁 静, 戴 源, 沈 薇, 等. 基于离散三维活体荧光光谱法的湖泊水体叶绿素 a 浓度原位测量 [J]. 湖泊科学, 2018, **30**(3): 782-789.

- [15] Wang Zhigang, Liu Wenqing, Zhang Yujun, *et al.* The phytoplankton classified measure based on excitation fluorescence spectra technique [J]. *China Environmental Science*, 2008, **28**(4): 329-333(in Chinese).
王志刚, 刘文清, 张玉钧, 等. 基于激发荧光光谱的浮游植物分类测量方法 [J]. *中国环境科学*, 2008, **28**(4): 329-333.
- [16] Li Hongbin, Liu Wenqing, Zhang Yujun, *et al.* Application of three-dimensional fluorescence spectrum for monitoring of water quality [J]. *Optical Technique*, 2006, **32**(1): 27-30(in Chinese).
李宏斌, 刘文清, 张玉钧, 等. 三维荧光光谱技术在水监测中的应用 [J]. *光学技术*, 2006, **32**(1): 27-30.
- [17] Zhang Fang, Su Rongguo, Wang Xiulin, *et al.* Fluorescence characteristics extraction and differentiation of phytoplankton [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2008, **35**(12): 2052-2059(in Chinese).
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.
- [18] Zhang Xiaoling, Yin Gaofang, Zhao Nanjing, *et al.* Construction of three-dimensional fluorescence standard spectra of algae in vivo based on weighted average method [J]. *Acta Optica Sinica*, 2018, **38**(7): 352-358(in Chinese).
张小玲, 殷高方, 赵南京, 等. 基于加权平均法的活体藻类三维荧光标准光谱构建 [J]. *光学学报*, 2018, **38**(7): 352-358.
- [19] Zhang Xiaoling, Yin Gaofang, Zhao Nanjing, *et al.* Chromophoric dissolved organic matter influence correction of algal concentration measurements using three-dimensional fluorescence spectra [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019, **210**: 405-411.
- [20] Zhao Nanjing, Zhang Xiaoling, Yin Gaofang, *et al.* On-line analysis of algae in water by discrete three dimensional fluorescence spectroscopy [J]. *Optics Express*, 2018, **6**(26): A251-259.