

海洋浮游植物自动分析和识别技术

高亚辉¹, 杨军霞¹, 骆巧琦¹, 高 华¹, 杨晨辉², 李雪松¹, 梁君荣¹, 陈长平¹

(1. 厦门大学生命科学学院, 2. 厦门大学计算机与信息工程学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 浮游植物是海洋生态系统的初级生产者, 对其种类的分类鉴定和定量分析是海洋科学研究和应用的基础性工作. 传统的分析方法主要采用显微镜下的人工鉴定和定量计数. 为了适应海洋科学和环境监测中的快速检测的需要, 解决目前显微镜人工鉴定中存在的专业水平要求高、分类人员断层、耗时等问题, 至今已有不少学者对各种浮游植物自动分析和识别方法进行了研究, 包括基于藻细胞形态的与计算机技术相结合的图像法, 基于藻类色素组成的吸光光度法、荧光分光光度法和高压液相色谱法, 基于藻细胞大小、色素组成、DNA 等的流式细胞仪法, 基于细胞基因系列的分子探针法等. 本文对这些方法的原理、发展动态、优缺点等进行了综述. 认为基于藻细胞形态的浮游植物显微图像自动识别技术, 由于其综合了现代仪器自动分析和传统显微分类方法的优点, 是浮游植物自动识别的一种理想和实用的方法, 将有很好的应用前景.

关键词: 浮游植物; 分类; 自动识别

中图分类号: Q 948

文献标识码: A

文章编号: 0438-0479(2006) S2-0040-06

海洋浮游植物是海洋生态系统中的最主要初级生产者, 也是海洋生物资源的重要组成部分, 具有种类多、数量大、繁殖快等特点, 在海洋生态系统的物质循环和能量流动中起着极其重要的作用. 它们的盛衰直接或间接地影响着整个海洋生态系统的生产力, 并最终直接或间接地影响到渔业产量. 因此, 浮游植物与渔业资源、水产养殖、环保、地质等密切相关. 另一方面, 海洋浮游植物本身营养丰富, 富含蛋白质, 可以作为单细胞蛋白 (SCP) 的一个重要来源; 而且富含具有重要营养和医疗保健作用的不饱和脂肪酸脂肪、多糖、蛋白、类胡萝卜素等生物活性物质. 随着陆地资源的衰竭, 丰富的海洋浮游植物资源成了人们关注的热点, 海洋浮游植物在保健食品、药物、饲料、化妆品、生物农药等方面也展现出了广泛的应用前景^[1]. 海洋浮游植物在以上这些领域的开发与利用, 都离不开对其种类的分类和鉴定.

海洋浮游植物既是重要的海洋生物资源, 又是赤潮等自然灾害的肇事者. 赤潮是全球性的海洋环境问题之一. 不仅严重破坏了海洋渔业和水产资源, 甚至威胁到人类的身体健康和生命安全. 对赤潮的监测同样离不开对赤潮生物进行分类和鉴定^[1-7].

由老一辈科学家创立的我国海洋浮游植物分类

收稿日期: 2006-11-14

基金项目: 国家自然科学基金科学仪器基础研究专项 (40627001),

福建省科技重大专项前期研究项目 (2005 YZ1024) 资助

作者简介: 高亚辉 (1963 -), 男, 教授, 博士.

Email: gaoyh@xmu.edu.cn

系统 (专著) 是一宝贵财富, 目前在分类方面已面临断层的危险, 因此把这些分类系统形成计算机分类专家数据库, 并结合现代化仪器, 建立一套快速、准确的浮游植物自动识别和分析系统, 具有重要的理论和实际意义; 不仅可丰富浮游植物分类研究, 而且可广泛应用于海洋生态调查、环境监测、水产养殖、赤潮、地质等领域. 在赤潮监测方面, 目前也急需一种对海洋浮游植物能够进行快速分类识别的仪器, 来实现对海洋浮游植物随环境变化、发生、发展、消亡过程的实时检测^[8], 这是国内外同行共同追求的目标.

1 浮游植物自动分析和识别的原理与方法

由于在海洋生态调查、科学研究、海洋产业等诸多方面对藻类鉴定的需求, 国内外许多科研人员致力于探索藻类自动鉴定的方法和仪器, 至今已有不少学者基于藻类细胞的不同特点进行了尝试, 包括基于藻细胞形态的与计算机技术相结合的图像法^[9-13]; 基于藻类色素组成的吸光光度法^[14-16]、荧光分光光度法^[17-19]和高压液相色谱法^[20-22]; 基于藻细胞大小、色素组成、DNA 等的流式细胞仪法^[23-25]; 基于藻类释放的超氧负离子或过氧化氢的化学发光流动注射分析法^[26]; 基于细胞分子系列的分子探针法^[27,28]等.

1.1 基于藻类特征性化学组成成分

能够用于化学分类的海洋浮游藻类“特征性化学成分”有甾醇、醛类、脂肪酸、糖类、色素和氨基酸等.

其中色素以其特征性显著和相应分析手段的迅速发展而成为最为理想的浮游藻类的化学生物标志物^[29]。以此发展起来的方法主要有下列 3 种。

1.1.1 分光光谱法

利用浮游植物对可见光的吸收光谱,可以在某种程度上识别浮游植物种类。李继刚(2000)^[16]曾用分光光度计对两类硅藻(骨条藻和圆筛藻)和两种甲藻以及悬浮物的纯种及混合藻液的光谱数据进行“曲线叠加分析”,对其进行识别和定量。Kirkpatrick(2000)^[15]应用“四阶导数分析”和“光谱相似性分析”,测定了天然浮游植物群落中短裸甲藻(*Gymnodinium breve*)的数量,但该法无法识别其他赤潮浮游植物。

1.1.2 荧光光谱法

海洋浮游植物均含有叶绿素 a,不同种类的浮游植物含有不同组成的其他色素(如叶绿素 b、藻红蛋白、藻蓝蛋白以及辅助色素)。含有不同色素种类和组成的浮游植物会表现出不同特征的激发荧光光谱和发射荧光光谱。利用荧光光谱鉴定浮游植物色素种类的研究开始于 20 世纪 80 年代。如美国研究者 Yentsch^[30]根据叶绿素/辅助色素比率(chlorophyll accessory pigment ratio, CAP ratio = $F(530\ 685)/F(450\ 685)$),其中 $F(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$ 等于激发荧光强度与发射荧光强度之比,将主要海洋浮游植物分为硅藻、甲藻、球石藻与褐藻、绿藻四大类。目前,德国 Bbe2moldaenke 公司制造的荧光藻类分析仪,可测定并储存 5 个门类浮游植物的荧光光谱指纹,用于浮游植物的分类。但是该仪器尚无法区分硅藻和甲藻,原因是二者的激发光谱和发射光谱非常相似。张前前等(2004b)^[19]对中国东海 6 种分属于 4 个门类的赤潮藻种的三维激发/发射荧光光谱进行分析,实现了对一种金藻、一种绿藻和中肋骨条藻等 3 个物种的识别。

1.1.3 高效液相色谱法

该方法自 20 世纪 80 年代起应用于浮游植物色素组成分析,是目前唯一被广泛接受的准确测量叶绿素含量的方法。1996 年,澳大利亚的 Mackey 开发出程序 CHEMTAX^[31],利用 HPLC 分析浮游植物的色素组成,来估算不同类别浮游植物的数量。它利用每一个藻种色素比率的差异,通过反复地优化一个包含每一个藻种的色素比率矩阵,来定量地确定浮游藻类种群组成和丰度。该方法在世界各国得到广泛认可。我国的王海黎等^[32]尝试用 HPLC 分析浮游藻类色素对台湾海峡浮游植物类群结构的指示作用。鉴于高效液相色谱技术需要有机溶剂萃取浮游植物色素,需要熟练的专业人员的操作,并且高效液相色谱仪精密贵重,作为现场快速自动测量有其局限性。

1.2 基于 DNA 等遗传物质

1.2.1 流式细胞仪法

流式细胞术(Flow Cytometer, FCM)是一种在功能水平上对单细胞或其他生物粒子进行定量分析和分选的检测手段,它可高速分析上万个细胞,并能同时从一个细胞中测得多个参数,根据这些特征参数可以对细胞群体进行分选,实现对藻类的分类。80 年代藻类学家用流式细胞仪发现了海洋中的一类微小植物——原绿藻。焦念志等(1999)^[24]采用 SYBRGreen 染色剂对微型生物细胞 DNA 染色后进行流式细胞仪分析,研究了 SYBRGreen 区分真核微型浮游植物、蓝细菌、原绿球藻以及异养细菌的效果。结果表明,该方法可较好地分离四类微型生物类群。

1.2.2 分子探针技术

分子技术的应用是海洋浮游植物种类识别研究的趋势之一,可用于藻类鉴定的方法有很多种。1)对藻类核糖体 rRNA 进行测序后进行序列分析,做出系统进化树进行比对。2)通过设计特异性分子探针进行荧光原位杂交或“三明治杂交”的分子探针技术。3)利用遗传标记片段的长度多态性的 RFLP(restriction fragment length polymorphism,限制性片段长度多态性)和 RAPD(random amplified polymorphism DNA,随机扩增多态性 DNA)。邵鹏等(2002)^[33]对自然水样中藻类提取总 DNA 后进行 RFLP,分析其种群结构,得到 17 种带型。梁君荣等(2005)^[28]从核糖体 DNA 的转录间隔区 ITS 和 18S rRNA 的基因序列中设计特异性荧光核酸分子探针,采用全细胞杂交方法(即荧光原位杂交法)有效地对锥状斯氏藻(*Scrippsiella trochoidea*)、赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*)和球状棕囊藻(*Phaeocystis globosa*) 3 种单细胞微藻进行分子鉴定。分子手段常用于单个种的种类鉴定(如易混淆种,疑难种),有些方法的可重复性不高。

1.3 基于藻类外部形态

数百年来,生物外形是生物学家对生物进行分类的最重要,也是最基本的手段之一。藻类虽然属于微观领域,但它们在显微镜下的微观特征仍是藻类分类最方便和通用的手段,相对于以上几种手段,对藻类分类专家而言肉眼观察仍然是最直观和可靠的途径。上个世纪末以来,日新月异的计算机信息处理技术为基于图像信息的藻类鉴定的自动化提供了基础。图像信号经过计算机图像分析与模式识别处理,是传统的分类方法实现自动化的有效手段。

2 浮游植物自动分析和识别方法比较

目前已发展的各种浮游植物自动分析和识别方法

的优缺点比较见表 1。从目前国内外的研究进展情况看,基于藻类细胞色素等化学特征的方法虽然可以实现对藻类的自动定量分析,但是其问题是目前一般只能区分藻类大门类(如硅藻门、甲藻门、蓝藻门等),不能区分到种类水平,因此对种类识别还有很大局限性;同时其测定结果容易受到藻类细胞周期、生理状态、海水颜色和深度等影响,因此,其现场应用仍有困难。

卫星海洋遥感也可以对海区藻类分布以及赤潮发生情况进行监测,但这种大尺度的识别显然易受各种天气、海区条件的影响,而且分辨率也极其有限,只适用于大规模环境监测和生态调查。

流式细胞法虽然可以实现多参数快速分析,但主要用于区分自养和异养、原核和真核浮游藻类类群,特别适用于对微型和微微型浮游生物类群的分析,而对藻类种类的直接识别还有困难,特别是对混合样品中藻类种类的区分由于分辨率不够等原因还有很大的局限性;同时,流式细胞仪存在价格昂贵、仪器笨重、分辨率低、专业要求高等问题,因此,要广泛应用于现场赤潮监测还有较大的困难。

分子探针法可以对常规手段难以判别的种类进行鉴定,特别是在对一些形态结构很相似的种类界定方面有优势。但是该方法首先必须预先知道每个种的特异基因序列,而藻类的基因序列受地理、遗传等因素影响很大,同时该方法操作过程比较繁琐,所以目前发展的主要是针对一些重要赤潮藻类的核酸探针^[28, 34, 35]。

根据藻类形态结构特征所进行的显微图像识别方法是一种发展潜力大而且实用的方法。近年来,国外已进行了一些这方面的探索并取得一些进展。

3 浮游植物显微图像自动识别技术

表 1 浮游植物不同分析方法的比较

Tab 1 Comparison of different phytoplankton analysis methods

	优点	缺点
光学显微镜	便捷,成本低,分类结果精确,过程直观,易与传统手段结合。	易受杂质干扰。
荧光显微镜	适用于现场水下检测。	只能用于能自发荧光的生物。
吸收光谱法	方便,成本较低;可自动分析。	受环境干扰和藻种生理状态影响大,灵敏度低,分辨率低;不能分析到种。
荧光光谱法	可用于光学遥感预警,便捷,成本低;可自动分析	依赖于赤潮藻的生理属性,相似生物光谱易重叠,不能分析到种。
液相色谱法	被广泛接受;可自动分析	步骤繁琐,预处理步骤复杂,只能对大门类进行分类,不能分析到种。
流式细胞议法	快速,大批量,可同时定性、定量;适用于微型浮游植物	主要做类群分析,须保持样品新鲜;需专业人员操作,测定数据重复性低,分辨率不高,昂贵,仪器笨重
分子探针法	可以对常规手段难以判别的种类进行鉴定。	过程繁琐,目前仅停留于实验室阶段。

目前,海洋浮游植物的分类和定量分析通常都是在显微镜下,靠人工完成的,需要有较强的分类专业技术水平,即耗时又费力,但却是目前普遍采用的方法。而实际上,海洋浮游植物在壳面形态结构(轮廓形状、花纹)方面存在明显的种间差异性(图 1),这种差异可借助显微镜扫描系统来进行区分。因此,如果预先建立了各种浮游植物的特征数据库,研制出一套数据处理软件,就可望通过显微镜扫描系统和计算机等形成一套浮游植物自动识别鉴定系统。

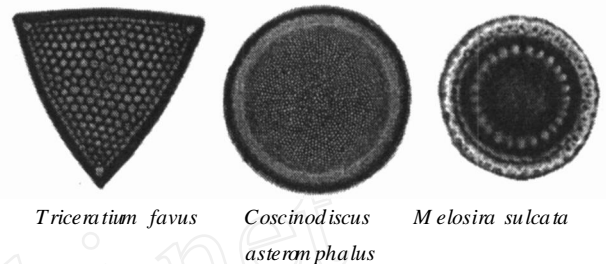


图 1 3种海洋硅藻细胞壳面结构图(图片引自程兆第等,1996)

Fig 1 Cell valves of three marine diatoms (from Cheng et al, 1996)

光学显微镜自问世以来,已成为显微基础研究的重要工具。由于新技术、新理论在显微镜中的运用,各项功能的开发及改进,显微镜的性能日臻完善,适用性和自动化程度也大幅提高。至 20 世纪上半叶,显微镜就有了明视野、暗视野、相位差、干涉差、荧光、偏光、体视、倒置等类型。近年来,光学显微镜和数码摄影与计算机技术的结合,使显微镜逐渐发展成为数码图像采集和处理系统。对比度和分辨率大大提高后的显微数码图像更具视觉效果,可以更有效的获取高质量和深层次的信息,不仅提高了科研的质量和水平,

也大大拓宽了显微镜的应用范围。

Hader(1995)^[19]报道了利用落射荧光显微镜和计算机连接的图像识别系统,但只能对浮游植物样品中可动和不可动细胞的进行区分识别。

Tang等(1998)^[36]通过在浮游生物拖网采样器中装载一个浮游生物摄像记录设备(VPR, Video Plankton Recorder)来对浮游生物(动物和植物)进行图像识别,对6种常见浮游生物的2000张图像的识别准确率达到95%,相当于人工识别的水平,可以在一定范围内达到现场实时检测的目的。这种检测系统证实了利用光学图像识别系统的可行性,但其识别的种类还很有限,而且主要是一些个体较大或群体状的浮游生物,对于个体较小的大多数浮游植物无法识别。

欧共体1998年初启动的“硅藻鉴定和分类的自动系统(ADAC)”,已初步建立了硅藻鉴定的专家系统,并在诸如对硅藻玻片的自动扫描、聚焦和定位,模式标本的图像处理和识别技术等方面进行了摸索^[11]。Hicks等(2002)^[12]在ADAC基础上采用自动轮廓标记(Automatic Landmarking)对硅藻进行识别,增加了数据库的可扩展性,提供了硅藻图象的新检索手段。但他们所针对的主要是欧洲的淡水藻类,既不适于海洋藻类,其数据库也不适合我国的本土种类。就赤潮生物的专门检测而言,Culverhouse等(1996)^[37]和Pech-Pacheco等(2001)^[10]分别报道了人工神经网络技术和光学数码图象技术对野外采集的赤潮甲藻的分类和鉴定,发现与人工鉴定结果有较好的吻合,但仅涉及少量种属,而且未实现现场实测。

此外,Dubelaar等(1991)^[38],Kocak et al(1999)^[39],Foreo等(2002)^[13],Embletoni等(2003)^[40]对浮游植物的图像识别都做了尝试性的工作,也有一些与图像识别部件改进有关的专利出现^[41]。但目前还没有形成能对浮游植物进行成功识别的自动识别仪。

图像分割和轮廓提取是实现硅藻细胞壳面进行自动识别的基础。最近我们借助显微镜扫描系统采集海洋硅藻显微图像,对该显微图像进行图像自动分割和计算机分析,提出了有效的图像分割方法组合,包括基于区域分割方法、阈值分割和数学形态学的处理方法。具体步骤包括:先经过一个区域分裂合并的预分割过程,再用迭代法求得将硅质壳抽提出的阈值。该方法可以将硅藻的二值轮廓从图像中提取出来,并达到令人满意的效果^[42](见图2)。

4 结 语

由于海洋浮游植物在海洋生态系统中的重要地位,对其分类鉴定和定量分析是很多研究的基础性工作。但由于传统的分析方法的极限性,目前已有不同学者根据藻类特征性化学成分(如吸光光度法、荧光分光光度法、高压液相色谱法)、DNA等遗传物质(如流式细胞仪法和分子探针法)、外部形态(如显微图像法)等的不同进行了浮游植物自动分析和识别技术的研究,取得了一定的进展。

海洋浮游植物显微图像自动识别技术显示了广泛的应用前景,不仅可为海洋浮游植物标本的保存和

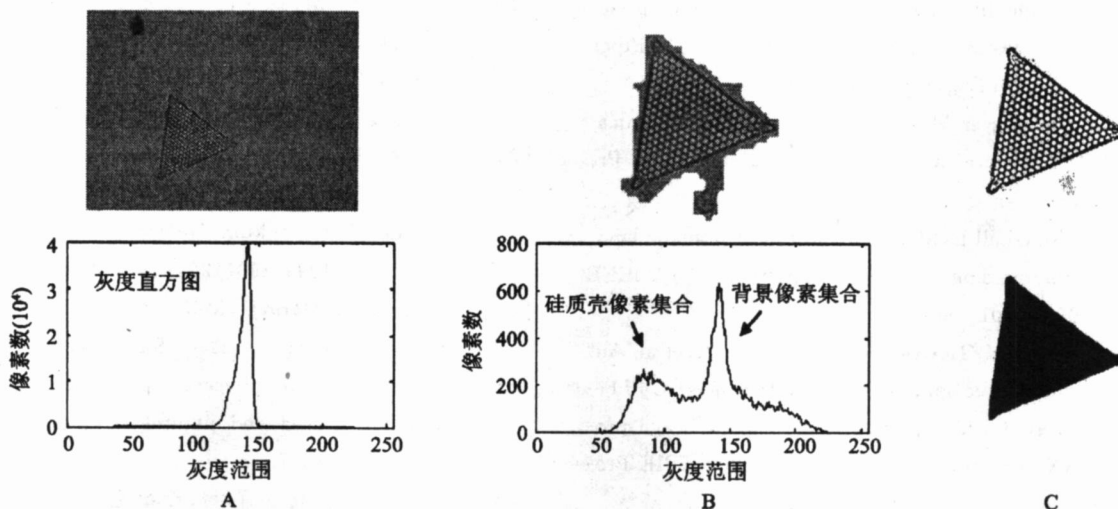


图2 硅藻(蜂窝三角藻)的轮廓提取流程(自高亚辉等,2006,略做修改)

A: 上. 硅藻显微图像,下. 原始灰度直方图; B: 上. 预分割效果,下. 预分割图片灰度直方图; C: 上. 阈值分割效果,下. 最终分割效果

Fig 2 Image segmentation and shape capture of a marine diatom *Tricentium favus* (revised from Gao et al 2006)

科研交流提供新途径,而且可广泛应用于海洋浮游植物实验室种类识别、海洋生态资源调查、赤潮、环境监测、水产养殖、压舱水监测、水质监测、地质、石油勘探、微藻培养和药物开发及法医鉴定等领域。对提高海洋浮游植物的研究水平,特别是提高对海洋浮游植物的检测能力和海洋生态环境快速监测的技术水平,开发利用海洋生物资源,保护和改善海洋环境将起到积极的作用。

参考文献:

- [1] 高亚辉. 海洋微藻分类生态和生物活性物质研究 [J]. 厦门大学学报:自然科学版, 2001, 40(2): 566 - 573.
- [2] Fukuyo Y, Takano H, Chilharu M, et al Red Tide Organisms in Japan-An Illustrater Taxonomic Guide [M]. Uchida Rokakuho, 1990.
- [3] Tomas C R. Identifying Marine Phytoplankton [M]. San Diego: Academic Press, 1997: 858.
- [4] 程兆第, 高亚辉, Mike Dickman 硅藻彩色图集 [M]. 北京: 海洋出版社, 1996: 120, 101图版.
- [5] 程兆第, 高亚辉, 刘师成. 福建沿岸微型硅藻 [M]. 北京: 海洋出版社. 1993: 91, 34图版.
- [6] 齐雨藻, 中国沿海赤潮 [M]. 北京: 科学出版社, 2003: 348.
- [7] 郭皓, 主编. 中国近海赤潮生物图谱 [M]. 北京: 海洋出版社, 2004: 107.
- [8] 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, 2004a: 23(1): 73 - 76.
- [9] Hader D P. Novel method to determine vertical distributions of phytoplankton in marine water columns [J]. Environmental and Experimental Botany, 1995, 35(4): 547 - 555.
- [10] Pech-Pacheco Jose L, Alvarez-Borrego Josue, Cristobal-Perrez, et al Identification of a red tide blooming species through an automatic optical-digital system [J]. Proc SPIE-Int Soc Op Eng(USA), 2001, 4471: 243 - 250.
- [11] Hans du Buf, Bayer M M. Automatic Diatom Identification [M]. Singapore: World Scientific Publishing Co Pre Ltd, 2002.
- [12] Hicks Y, Marshall D, Martin R R, et al Automatic landmarking for building biological shape models [J]. IEEE ICIP, 2002, II 801 - 804.
- [13] Foreiro-Vargas M G, Alvarado J E, Luna T A, et al Automatic diatom recognition on digital images [C]//Teschler Andrew G, ed Applications of digital image processing XXV: Seattle WA, 8 - 10 July 2002. SPIE Proceedings series, 2002, 4790: 133 - 142.
- [14] Johnsen G, Samset O, Granskog L, et al In vivo absorption characteristics in 10 classes of bloom-forming phytoplankton: Taxonomic characteristics and responses to photoadaptation by means of discriminant and HPLC analysis [J]. Mar Ecol Prog Ser, 1994, 105: 149 - 157.
- [15] Kirkpatrick G J, Millie D E, Moline M A, et al Optical discrimination of a phytoplankton species in natural mixed populations [J]. Limnol Oceanogr, 2000, 45(2): 467 - 471.
- [16] 李继刚, 王世忠, 高志, 等. 藻类和悬浮物的光谱识别研究 [J]. 高技术通讯, 2000(7): 68 - 71.
- [17] Cowles T J, Desiderio R A, Neuer S. In situ characterization of phytoplankton from vertical profiles of fluorescence emission spectra [J]. Mar Biol, 1993, 115: 217 - 222.
- [18] Seppaelae J, Babde M. The use of spectral fluorescence methods to detect changes in the phytoplankton community [J]. Hydrobiologia, 1998, 363(1/3): 207 - 217.
- [19] 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, 2004b, 24(10): 1227 - 1229.
- [20] Funaya K, Hayashi M, Yabushita Y, et al Phytoplankton dynamics in the East China Sea in spring and summer as revealed by HPLC2 derived pigment signatures [J]. Deep Sea Research Part II Topical Studies in Oceanography, 2003, 50(2): 367 - 387.
- [21] 王海黎, 洪华生, 徐立. 反相高效液相色谱法分离测定海洋浮游植物的叶绿素和类胡萝卜素 [J]. 海洋科学, 1999, 4: 6 - 9.
- [22] 姚鹏, 于志刚, 米铁柱. 海洋浮游藻类的化学分类法 [J]. 海洋环境科学, 2003, 22(1): 75 - 80.
- [23] Balfourt H W, Snoek J, Smiths J R M, et al Automatic identification of algae: neural network analysis of flow cytometric data [J]. J Plankton Res, 1992, 14(4): 575 - 589.
- [24] 焦念志, 杨燕辉. 四类海洋超微型生物的同步监测 [J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(5): 506 - 511.
- [25] 张利华, 张经, 晁敏. 流式细胞术对微型浮游植物识别初探 [J]. 海洋科学, 2002, 26(3): 60 - 65.
- [26] Asai R, Matsukawa R, Ikebukuro K, et al Highly sensitive chemiluminescence flow injection detection of the red tide phytoplankton *Heterosigma carterae* [J]. Ana Chim Acta, 1999, 390(123): 237 - 244.
- [27] Scholin C A, Marin R, Miller P E, et al DNA probes and a receptor-binding assay for detection of *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) species and domoic acid activity in cultured and natural samples [J]. J Phycol, 1999: 1356 - 1367.
- [28] 梁君荣, 高杨, 高亚辉, 等. 全细胞杂交在三种赤潮微藻检测中的应用 [J]. 高技术通讯, 2005, 15(12): 84 - 89.
- [29] Volkman J K, Barrett S M, Blakburn S I, et al Microalgal

- biomarkers: A review of recent research developments [J]. *Org Geochem*, 1998, 29: 1163 - 1179.
- [30] Yentsch C S, Phinney D A. Spectral fluorescence: an ataxonomic tool for studying the structure of phytoplankton populations[J]. *J Plankton Res*, 1985, 7(5): 617 - 632
- [31] Mackey M D, Mackey D J, Higgins H W, et al. CHEMTAX—a program for estimating class abundances from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton [J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1996, 144: 265 - 283.
- [32] 王海黎, 洪华生. 近岸海域光合色素的生物标志作用研究 I 台湾海峡特征光合色素的分布及其对浮游植物类群结构的指示 [J]. *海洋学报*, 2000, 22(3): 942 - 102
- [33] 邵鹏, 袁洁, 陈月琴, 等. 自然水样微型藻类遗传多样性的方法学研究 [J]. *海洋科学*, 2002, 26(4): 1 - 4.
- [34] 王广策, 张宝玉. 一种现场快速定性鉴定赤潮微藻的方法: 中国, CN200410020770.9 [P]. 2005.
- [35] 苏德胜, 于志刚, 王树杰, 等. 近海赤潮生物全自动分析系统研究 [J]. *海洋环境科学*, 2006, 25(2): 68 - 71.
- [36] Tang X, Kenneth Stewart W, He Huang, et al. Automatic plankton image recognition [J]. *Artificial Intelligence Review*, 1998, 12: 177 - 199.
- [37] Culverhouse P F, Simpson R G, Ellis R, et al. Automatic classification of field collected dinoflagellates by artificial neural network [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1996, 138: 281 - 287.
- [38] Dubelaar G B J, Balfourt H W, Hofstraat H W. Automatic identification and counting of phytoplankton [C] // *kwprc* (international association on water pollution research and control) conference on North Sea pollution: technical strategies for improvement, Amsterdam, Netherlands, September 10 - 14, 1990. *Water Sci Technol*, 1991, 24(10): 285 - 286.
- [39] Kocak D M, Lobo N Da V, Widder E A. Computer vision techniques for quantifying, tracking, and identifying bioluminescent plankton [J]. *IEEE Journal of Oceanic Engineering*, 1999, 24(1): 81 - 95.
- [40] Embletoni K V, Gibson C E, Heaney S I. Automated counting of phytoplankton by pattern recognition: a comparison with a manual counting method [J]. *Journal of plankton research*, 2003, 25(6): 669 - 681.
- [41] Meidensha Corp (MED). Monitoring device for obstructive microbes against filtration-has microscope, television camera and image discrimination device: Patent No, JP 10024283 [P]. 1998.
- [42] 高亚辉, 高华, 骆巧琦, 等. 硅藻显微图像的自动分割方法研究 [C] // Ho Kin-Chung, Lu Song-Hui, Wang Yan, et al, eds. *Key Research Findings to Harmful Algal Blooms in the South China Sea*. HK: AoHABSCS, 2006: 375 - 378.

Automatic Identification and Analysis Techniques of Marine Phytoplankton

GAO Ya-hui¹, YANG Jun-xia¹, LUO Qiao-qi¹, GAO Hua¹, YANG Chen-hui²,
LI Xue-song¹, LIANG Jun-rong¹, CHEN Chang-ping¹

(1. School of Life Sciences, Xiamen University,

2. School of Computer and Information Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Species identification and quantitative analysis of marine phytoplankton, the primary producer in marine ecosystem, is a basic and necessary work in many research and application fields of marine science. Traditional phytoplankton analysis for species identification and cell enumeration is usually made under light microscope. Different automatic identification techniques and quantitative determination for phytoplankton analysis have been developed by scientists with the growing requirement for the rapid detection of marine phytoplankton in marine science research and environmental monitoring, and the problems of decreasing numbers of phytoplankton taxonomists and time-consuming in microscope identification. The automatic analysis techniques include the digital image method based on the combination of morphological characters of algal cell and computer technique, the chemotaxonomy method based on algal pigment such as spectrophotometry, fluorescence spectrophotometry and high performance liquid chromatography (HPLC), the flowcytometer method based on algal cell size and pigment, the molecular probe method based on gene sequence. The working mechanism, advantages, disadvantages and advances of the above methods are reviewed in the present paper. It is suggested that the digital microscope image method based on microscope images of algal cells and computer technique is a practical and ideal method for automatic identification of phytoplankton due to its complex of traditional microscope identification method and modern computer automatic analysis and operation technique.

Key words: Phytoplankton; taxonomy; automatic identification