

文章编号 1004-924X(2018)04-0764-07

浮游植物粒级结构的原位测量

曹文熙*, 孙兆华, 李 彩, 周 雯, 许占堂

(中国科学院 南海海洋研究所 热带海洋环境国家重点实验, 广东 广州 510301)

摘要:浮游植物粒级通常采用采集水样的分级叶绿素法来测定, 比较费时且难以实现剖面连续测量。本文提出了一种基于测定海水光吸收来反演浮游植物粒级结构的原位测量系统。该测量系统硬件主要由高稳定光源、光学窗口、样品管、光纤高精度微型光谱仪、数据采集系统等组成。测量数据基于遗传算法来分析浮游植物粒级结构。海上初步试验结果表明, 该仪器能够测定水下 300 m 之内的浮游植物粒级结构, 实现 1 m 剖面分辨率的连续测量, 尤其适用于分析 50~80 m 深度叶绿素最大值层的浮游植物粒级结构变化, 在未来海洋浮游植物粒级结构测定中有良好的应用前景。

关键词:浮游植物粒级结构; 原位测量; 海水光吸收; 光谱分析

中图分类号: Q948. 8; O657. 3 **文献标识码:** A **doi:** 10. 3788/OPE. 20182604. 0764

In situ measurement of phytoplankton size class

CAO Wen-xi*, SUN Zhao-hua, LI Cai, ZHOU Wen, XU Zhan-tang

(State key Laboratory of Tropical Oceanography, South China Sea Institute of Oceanology,
Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China)

* Corresponding author, E-mail: wxcao@scsio. ac. cn

Abstract: Size-fractionated filtration is a common approach for measuring phytoplankton size classes in marine observation. However, this approach is time-consuming and unsuitable for analysis of a large number of samples in profiling measurement. In this paper, an in situ measurement system was developed for retrieving the phytoplankton size classes using light absorption coefficient of seawater. The hardware system of this instrument consists of a light system, optical windows, sample cell, fiber optic cable, mini-spectrometers, and a data collection and control system. Based on the genetic algorithm, the measured absorption coefficients were transformed to phytoplankton size class. Experiments have been carried out in situ in the northern South China Sea. The results prove that the instrument can be used to measure and analyze phytoplankton size class in up to 300 m seawater depth with an vertical interval of 1 m. This system is especially suitable for analyzing the variability of phytoplankton size class in 50 to 80 m seawater depth, which is commonly called the maximum chlorophyll depth in open ocean. The instrument could be used for ocean profiling measurement of phytoplankton size classes, which exhibits favorable future application prospects in marine observation.

Key words: phytoplankton size class; in situ measurement; light absorption of seawater; spectral analysis

收稿日期: 2017-09-14; 修订日期: 2017-10-09.

基金项目: 中国科学院战略性先导专项 A 类 (No. XDA11040302); 广州市科技计划资助项目 (No. 201504010034, No. 201707020023); 热带海洋环境国家重点实验室开放基金资助项目 (No. LTOZZ1602)

1 引言

浮游植物作为最主要的海洋初级生产者,其粒径结构变化影响海洋生态系统的物质交换、能量传输和碳循环。浮游植物种群结构对于描述海洋生物地球化学过程、深入揭示海洋浮游植物类群的功能、定量分析海洋生态系统中物质和能量流动、研究气候变化对生态系统的影响等都具有重要的科学意义。

浮游植物粒径是描述其种群结构的一种方法。目前,最常用的粒径分类方法把浮游植物分为三类,即 Pico-、Nano-、Micro-三个量级,其中粒径小于 $2\ \mu\text{m}$ 为 Pico 级, $2\sim 20\ \mu\text{m}$ 为 Nano 级, $20\sim 200\ \mu\text{m}$ 为 Micro 级^[1]。粒径结构测量通常采用“分级叶绿素法”,即通过测量不同粒径的浮游植物所含的叶绿素浓度来描述生物量在各个粒径的分布。迄今为止,国际上能用于浮游植物粒径监测的仪器不多,且普遍存在一些问题,如:德国的 FerryBox,它用叶绿素荧光特性来分析浮游植物粒径^[2],没有给出粒径结构分析的精度;美国的 Flow Cytobot 是采用流式细胞技术的浮游植物粒径摄像探测系统^[3],它是光散射法、流式细胞技术和摄像技术的结合,但现场仪器还在开发中,且存在对于浮游植物粒径测量范围和测量精度不足等问题;激光粒度测量仪(LISST)利用散射光特性测定颗粒物粒径^[4],只能测定总颗粒物粒径,不能分辨浮游植物和其它颗粒。因此,目前的浮游植物粒径结构探测都依赖分级叶绿素测量方法,通过水样采集、过滤,然后在实验室进行测量、分析,这种方法耗时、费力,而且难以完成全剖面连续测量。

本文提出一种全新、原创性测量法,即利用光吸收法来测量浮游植物的粒径结构,通过浮游植物吸收特性来测定其粒径结构,实现浮游植物粒径结构的快速原位测量与分析。该方法突破目前已有方法的局限,能够促进海洋科学调查技术的发展和进步,在海洋生态、生物地球化学等领域具有重要的应用价值。

2 基本原理与方法

浮游植物粒径与其光吸收系数之间有明显的关系,即粒径大的浮游植物具有较低的比吸收系数,粒径小的浮游植物具有较高的比吸收系数^[5],因此可以利用浮游植物吸收系数反演其粒径结构^[6-7]。

根据水体光吸收系数的累加关系,有:

$$a(\lambda) = a_w(\lambda) + a_{\text{ph}}(\lambda) + a_{\text{cdm}}(\lambda) + a_{\text{nap}}(\lambda), \quad (1)$$

式中,下标 w、ph、cdm 及 nap 分别表示纯海水、浮游植物、黄色物质及碎屑对吸收系数的贡献。由于 cdm 和 nap 具有相似的吸收光谱形状,可将它们合为一项,并用 cdm 表示,其大小随波长呈递减分布。浮游植物的吸收可表示为三个粒级的吸收之和,且各粒级的吸收系数可表示为其比吸收系数与浓度的乘积,已知纯海水的吸收系数^[8],可将式(1)中纯海水吸收系数扣减,式(1)可整理为:

$$a_{\text{t-w}}(\lambda) = c_m a_m^*(\lambda) + c_n a_n^*(\lambda) + c_p a_p^*(\lambda) + a_{\text{cdm}}(412) \exp[-S_{\text{cdm}}(\lambda - 412)], \quad (2)$$

其中, c_m , c_n , c_p 分别为 Micro-、Nano-、Pico-粒级的浓度; a_m^* , a_n^* 和 a_p^* 分别为 Micro-、Nano-、Pico-粒级的比吸收系数; $a_{\text{cdm}}(412)$ 为黄色物质与碎屑在参考波长 412 nm 处的吸收系数, S_{cdm} 为吸收光谱的斜率。由于黄色物质与碎屑的吸收光谱基本恒定,因此理论上可以由总吸收系数确定浮游植物的吸收系数,然后再由浮游植物的吸收系数确定浮游植物的粒径结构分布。

3 仪器硬件设计

根据上述原理,要想获取浮游植物粒径结构分布,首先需要测定海水的吸收系数,图 1 所示为研发的水体光谱吸收系数测量系统的结构原理图。系统主要由光源、小孔和透镜构成平行光系统,平行光束经分束镜变成两束平行光:一束平行光由参考光探测器探测,形成反馈光路,用于补偿光源变化;另一束平行光通过吸收样品池后被探测器测量,光束经过样品池后的透过率 T 可以表

述为:

$$T = \frac{S_{\text{sig}} - S_{\text{sigD}}}{(S_{\text{ref}} - S_{\text{refD}}) \times R_a} \times G = \exp[-(a + b_{\text{aerr}})r], \quad (3)$$

由上式可得吸收系数 a 为:

$$a = -\frac{\ln\left[\frac{S_{\text{sig}} - S_{\text{sigD}}}{(S_{\text{ref}} - S_{\text{refD}}) \times R_a}\right]}{r} - \frac{\ln(G)}{r} - b_{\text{aerr}}, \quad (4)$$

其中: a 为吸收系数; S_{sig} 为探测器测得的经样品吸收后的信号, S_{sigD} 是吸收光探测器的暗电流信号; S_{ref} 为参考光信号, S_{refD} 是参考光探测器的暗电流信号; G 是吸收系数测量光路系统的固有误差系数; r 是吸收系数测量光路光程; b_{aerr} 是吸收系数测量光路设计中需要校正的散射错误; R_a 是吸收系数测量光路分光系统的比率系数; T 为吸收系数测量光路测得的透射率。

基于图 1 所示的原理图设计吸收系数测量仪, 光源的出射光必须是平稳的平行光, 且必须进行光源稳定性反馈, 实现光路辐射变化补偿; 要确保被样品吸收之外的光全部透射并被探测器接收, 样品池内壁必须是一个较理想的全反射面, 对于整个可见光波段而言, 这有一定困难, 通常只能做到 99% 的光被反射, 因此可能带来误差, 这就要求测量光路设计中增加一个可以校正上述误差

的散射因子 b_{aerr} 。为了较为方便地获取散射因子, 除吸收系数外, 还加了衰减系数测量通道, 同时, 为了使仪器不过于庞大, 样品池透射光被透镜收集并耦合到光谱仪的入射狭缝, 采用了光纤传输的光路方案, 图 2 所示为浮游植物粒级结构测量仪光学系统的实际结构图。整体结构分为海水衰减特性测量光路、海水吸收特性测量光路和参考测量光路三部分。海水衰减特性测量光路主要由高稳定光源、精密光阑、光能衰减组、程控光快门、光学系统、窗口、光纤、光机结构件等组成。海水吸收特性测量光路主要由高稳定光源、精密光阑、光能衰减组、程控光快门、光学系统、窗口、光纤、光机结构件等组成。参考光测量光路主要由高稳定光源、精密光阑、光能衰减组、程控光快门、光学系统、光纤、光机结构件等组成, 多个程控光快门实现测量系统背景光监测和多路光源切换, 以此提升测量系统的精度。考虑到海水吸收和衰减测量仪的整体功率、空间布局及系统可实现性, 部分光机组件可以共用。海水衰减特性测量光路和海水吸收特性测量光路的不同之处在于: 前者的样品池采用普通样品管, 而后者的样品池采用全反射管, 而且采用光纤接收包接收其透射光, 保证大角度方向光束能够被充分利用。

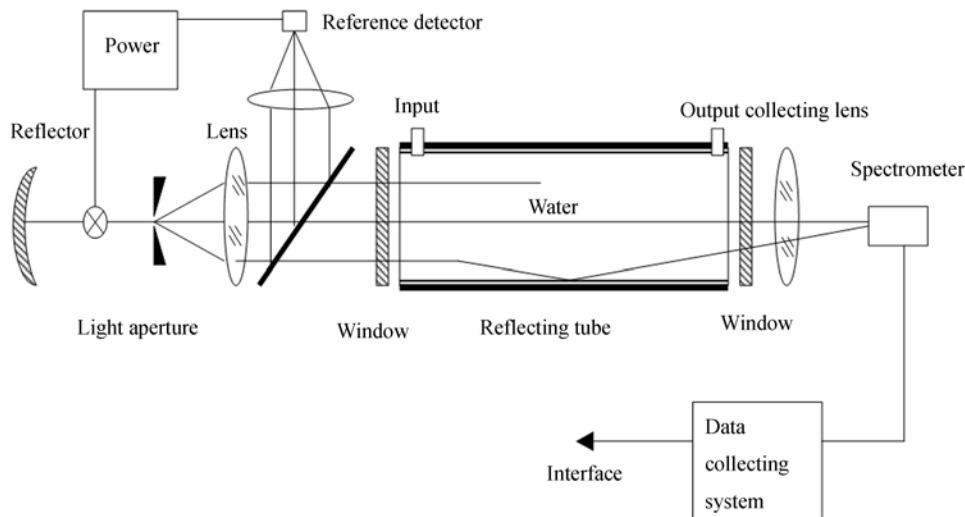


图 1 吸收系数测量原理性光路

Fig. 1 Schematic of light path for light absorption measurement

基于图 2 所示的测量仪结构及功能需求, 设计了如图 3 所示的数据采集系统, 该系统主要由工业级 PC104、光谱仪数据采集卡、测量仪辅助参

数采集卡、测量仪-上位机之间的通讯系统光源、水泵以及供电控制控制单元构成。核心组成模块主要有 PC104 和光谱数据采集卡。

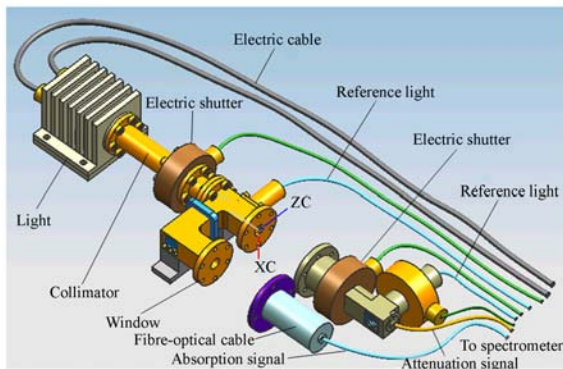


图 2 浮游植物粒径结构测量仪实际结构

Fig. 2 Schematic configuration of phytoplankton size class measuring system

PC104 主要完成各种控制命令的发送及状态信号和采样数据的读取和保存,同时,也是测量仪与上位机之间通讯的控制和指挥中心;基于复杂可编程逻辑器件(Complex Programmable Logic Device, CPLD)的光谱仪数据采集卡的核心任务是根据 PC104 的要求,产生光谱仪上 CCD 光电探测器工作所需的各种驱动时序,并对 CCD 视频信号进行恰当的量化和缓存;供电过程主要由 PC104 控制。数据采集卡主要由脉冲发生器和光谱仪视频信号处理电路两部分组成。时序发生器的功能是产生保证光谱仪 CCD 正常工作的转移

时钟、传输时钟、采样保持时钟、复位时钟、以及视频信号处理电路和 A/D 转换电路所需要的同步脉冲、像元时钟和箝位脉冲,系统采用 CPLD 替代繁多的分立元器件或小规模集成电路来灵活地设计 CCD 的时序信号发生器,简化了数据采集卡的设计,缩小了系统规模,提高了系统的可靠性和灵活性。为了扩大仪器测量的动态范围,提高测量灵敏度,CCD 积分时间可根据现场实测结果进行自适应调整。

4 浮游植物粒径结构的算法设计

式(2)中包含了三个粒径浮游植物的比吸收系数,根据前人的结果,可认为三个粒径浮游植物的比吸收系数在同一海区变化不大,可作为已知量^[9-10]。因此上述方程有 5 个为未知量($c_m, c_n, c_p, a_{cdm}(412), S_{cdm}$),解该方程至少需要 5 个波段,构成一个 5 维方程组。如果有一台仪器能够测定 $n(n \geq 5)$ 个波长的总吸收系数 $a_{t-\lambda}$,则可以构造一个 n 维方程组来求解这 5 个未知量。但使用一般的非线性方程算法求解上述方程时,常会得到负值解,因此需要采用非线性方程优化算法,比如带约束条件的遗传算法^[11-13]。本文采用如下约束条件:

$$c_m, c_n, c_p, a_{cdm}(412) > 0, \quad (5)$$

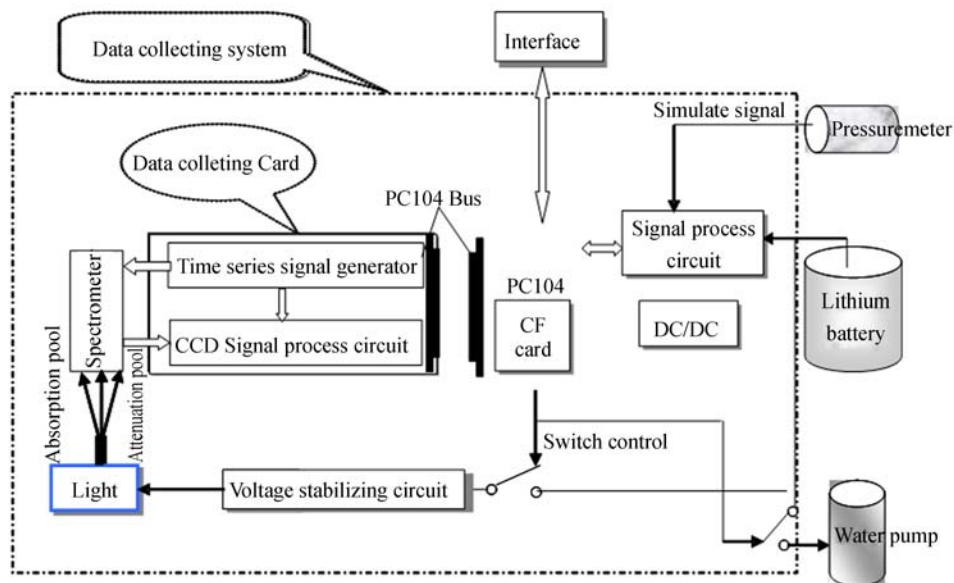


图 3 浮游植物粒径结构测量仪数据采集系统的硬件结构

Fig. 3 Hardware structure of data collection system of phytoplankton size class measuring system

$$\delta_{cdm1} < S_{cdm} < \delta_{cdm2}, \quad (6)$$

$$\delta_{m1} < \frac{c_m}{c_m + c_n + c_p} < \delta_{m2}, \quad (7)$$

$$\delta_{n1} < \frac{c_n}{c_m + c_n + c_p} < \delta_{n2}, \quad (8)$$

$$\delta_{p1} < \frac{c_p}{c_m + c_n + c_p} < \delta_{p2}. \quad (9)$$

其中,黄色物质与碎屑吸收光谱的斜率范围及各粒级叶绿素浓度占总叶绿素浓度比例的范围对于不同水体稍有区别,为了使该算法适用于大部份的水体,可对制约条件放得稍微宽些,见表 1。表 1 的参考值适应于南海广泛的开阔海区。

表 1 参数初始值

Tab. 1 Initial values of parameters

参数	δ_{cdm1}	δ_{cdm2}	δ_{m1}	δ_{m2}	δ_{n1}	δ_{n2}	δ_{p1}	δ_{p2}
值	0.008	0.025	5%	80%	5%	50%	5%	80%

基于上述各式,根据总吸收光谱提取浮游植物粒级结构的反演流程如图 4 所示。根据上述原理可知,在各粒级浮游植物比吸收系数不变的情况下,只要测定了海水吸收系数,就可以反演出各浮游植物粒级的浓度,进而分析估算出各粒级结构的分布。

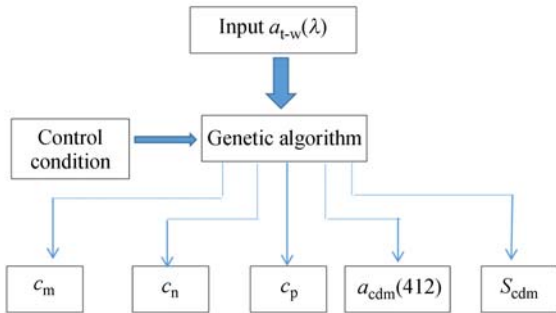


图 4 浮游植物粒级结构的反演流程

Fig. 4 Flowchart of phytoplankton size class inversion

5 初步海上试验

海上试验在南海北部海区进行,图 5 为仪器在海上的布放图。试验期间,用绞车将仪器下放到 300 m 深度以内,仪器在下放过程中采集数据,并将数据自容式记录,待回收后取出现场测量水体吸收衰减系数,并基于图 4 流程提取数据相

关信息。现场投放过程中,同步按照标准层采集水样用“分级叶绿素法”测定了各粒级的叶绿素浓度。

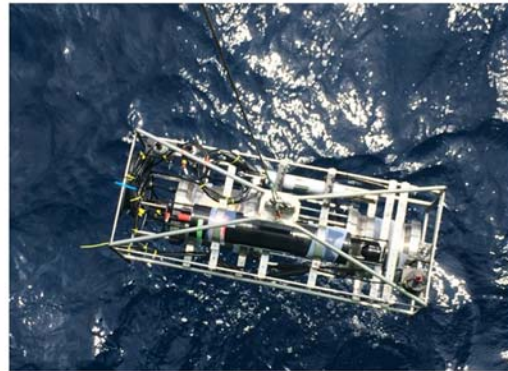


图 5 浮游植物粒级结构测量系统海试照片

Fig. 5 Instrument deployment on sea for phytoplankton size class measurement

图 6 所示为根据遗传算法反演的某站位的总叶绿素和 Micro-、Nano-、Pico-三个粒级的叶绿素浓度的剖面分布。其中,实点为用“分级叶绿素”测得的相应各粒级的叶绿素浓度。从中可见,基于吸收系数反演获取的总叶绿素和 Micro-、Nano-、Pico-三个粒级的叶绿素浓度在 50~80 m 深度都有一个极大值层。对于“分级叶绿素法”

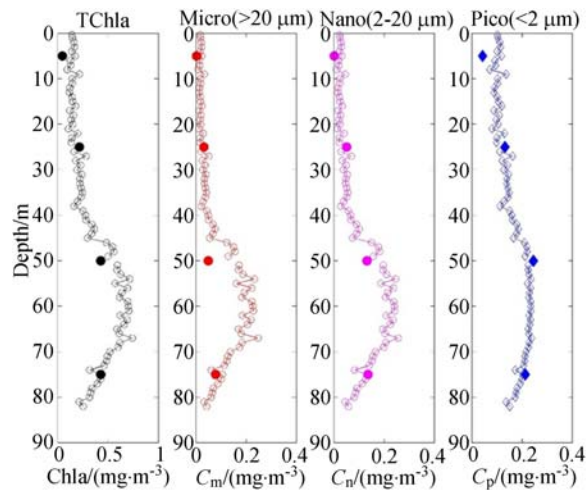


图 6 浮游植物粒级结构实测结果与水样分析结果的比较。实点:分级叶绿素结果;实线加空心点:仪器测量结果

Fig. 6 Comparison of results between phytoplankton size class of measured in situ and water sample analysis. Dot denotes result of size-fractionated filtration, line and open point denotes results of measured in situ by proposed instrument

而言,这一极大值层因为海水采样密度有限难以精确测定。其中,水下 50 m 位置 Micro 粒级的误差偏大,估计与水样采集分析有关,具体将根据未来更多的试验数据进一步做误差分析。

6 结 论

本文提出了一种浮游植物粒级结构原位测量

及分析的新方法,该方法通过测定海水吸收系数、利用遗传算法来反演浮游植物粒级结构。在南海北部的初步试验表明,该仪器能够方便地测定浮游植物粒级结构的剖面分布。后续研究将进一步开展海上试验,并分析其误差来源,进一步将仪器推广应用,使该技术在浮游植物粒级结构监测中发挥作用。

参考文献:

- [1] SIEBURTH J M, SMETACEK V, LENZ J. Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions[J]. *Limnology and Oceanography*, 1978, 23(6): 1256-1263.
- [2] PETERSEN W. FerryBox systems: State-of-the-art in Europe and future development[J]. *Journal of Marine Systems*, 2014, 140: 4-12.
- [3] OLSON R J, SOSIK H M. A submersible imaging-in-flow instrument to analyze nano-and microplankton: Imaging FlowCytobot[J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 2007, 5(6): 195-203.
- [4] ANGLÈS S, JORDI A, GARCÉS E, et al.. High-resolution spatio-temporal distribution of a coastal phytoplankton bloom using laser in situ scattering and transmissometry (LISST) [J]. *Harmful Algae*, 2011, 7(6): 808-816.
- [5] MOBLEY C D. *Light and Water: Radiative Transfer in Natural Waters*[M]. San Diego, Tokyo: Academic Press, 1994.
- [6] 周雯, 孙兆华, 曹文熙, 等. 浮游植物的吸收-衰减特性及其与粒径间的关系[J]. *光谱学与光谱分析*, 2012, 32(12): 3347-3352.
- ZHOU W, SUN ZH H, CAO W X, et al.. Variations in the optical absorption and attenuation properties of cultured phytoplankton and their relationships with cell size[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2012, 32(12): 3347-3352. (in Chinese)
- [7] CIOTTI Á M, LEWIS M R, CULLEN J J. Assessment of the relationships between dominant cell size in natural phytoplankton communities and the spectral shape of the absorption coefficient [J]. *Limnology and Oceanography*, 2002, 47(2): 404-417.
- [8] MUELLER J L, AUSTIN R W. *Ocean optics protocols for SeaWiFS validation* [R]. Greenbelt, USA: NASA, 1995.
- [9] DEVRED E, SATHYENDRANATH S, STUART V, et al.. A three component classification of phytoplankton absorption spectra: Application to ocean-color data[J]. *Remote Sensing of Environment*, 2011, 115(9): 2255-2266.
- [10] WANG G Q, CAO W X, WANG G F, et al.. Phytoplankton size class derived from phytoplankton absorption and chlorophyll-a concentrations in the northern South China Sea[J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2013, 31(4): 750-761.
- [11] LIN J F, CAO W X, WANG G F, et al.. Inversion of bio-optical properties in the coastal upwelling waters of the northern South China Sea [J]. *Continental Shelf Research*, 2014, 85: 73-84.
- [12] LIN J F, CAO W X, WANG G F, et al.. Satellite-observed variability of phytoplankton size classes associated with a cold eddy in the South China Sea[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 83(1): 190-197.
- [13] LIN J F, CAO W X, WANG G F, et al.. Approach for determining the contributions of phyto-

plankton, colored organic material, and nonalgal particles to the total spectral absorption in marine

waters [J]. *Applied Optics*, 2013, 52 (18): 4249-4257.

作者简介:



曹文熙(1963—),男,湖南郴州人,博士,研究员,1992年于中科院长春光机所获得硕士学位,2006年于中科院南海海洋所获得博士学位,主要从事海洋光学、海洋遥感基础的研究。E-mail: wxcao@scsio.ac.cn



孙兆华(1979—),男,内蒙古人,高级工程师,2011年于中国科学院南海海洋研究所获得博士学位,主要从事海洋技术及其应用的研究。E-mail: JoeySun@scsio.ac.cn