

УДК 004.67

Автоматизированная система анализа флуоресцентных характеристик культур микроводорослей

А.Ю. Попик[✉], Е.Л. Гамаюнов, С.С. Вознесенский*

*Институт автоматики и процессов управления ДВО РАН
690041, г. Владивосток, ул. Радио, 5*

Поступила в редакцию 16.06.2023 г.;
после доработки 6.09.2023 г.;
принята к печати 16.10.2023 г.

Методы лазерно-индуцированной флуоресценции и их использование в средствах мониторинга позволяют решать ряд ключевых задач по обнаружению цветений водорослей. Разработана автоматизированная система обработки и анализа больших массивов флуоресцентных спектральных характеристик культур микроводорослей. Она позволяет определять доминирующие в акватории культуры на уровне рода и оценивать возможность возникновения их цветения. С помощью этой системы можно формировать каталоги эталонных оптических характеристик культур микроводорослей и реализовывать интерактивные алгоритмы обнаружения опасных видов микроводорослей.

Ключевые слова: автоматизированная система, индекс сходства, идентификация, красные приливы, вредоносные цветения водорослей, хлорофилл *a*, ЛИФ; automated system, similarity index, identification, red tide, harmful algal bloom, chlorophyll *a*, LIF.

Введение

Экологические благополучие и устойчивость природных акваторий в основном зависят от биологического разнообразия населяющих их организмов. Особое место среди этих организмов занимают зоопланктон и фитопланктон (микроводоросли). В результате природных и антропогенных воздействий меняются условия жизнедеятельности, что приводит к угнетению одних видов микроводорослей и бурному размножению других, что часто имеет стихийный характер.

В определенных условиях доминирование отдельных видов микроводорослей может приводить к экологическим катастрофам, вызывая засорение жабр у рыб, обеднение водоемов кислородом или питательными веществами, а также насыщение воды токсичными выделениями [1, 2]. Скопление микроводорослей в большом количестве у поверхности воды называют цветением. В ситуациях, когда оно оказывает негативное воздействие на экосистему, его называют вредоносным цветением водорослей (ВЦВ). Во время цветения вода приобретает определенный оттенок, отличный от нормального, чаще всего красный или красно-бурый, поэтому такие цветения называют «красными приливами» [2, 3]. Некоторые авторы данный термин используют в качестве синонима ВЦВ [4, 5].

Пример локального цветения микроводорослей показан на рис. 1 (цв. вкладка).

ВЦВ может воздействовать непосредственно на структуру и функции экосистем, объекты рекреации, туризм, снижать стоимость собственности, мешать рыболовству, сельскому хозяйству и энергетике [6–8]. Поэтому исследования, направленные на решение проблем раннего обнаружения и идентификации ВЦВ, являются важной составляющей мониторинга морских акваторий.

Для обнаружения больших скоплений микроводорослей используются различные методы, например заборы проб, спутниковое зондирование, сканирование летательными и привязными аппаратами. Визуальное зондирование, в том числе с помощью летательных аппаратов, удобно для обнаружения уже возникших цветений на поверхности воды в некоторых случаях [9, 10], однако его возможности ограничены глубиной залегания цветения, временем суток, погодными условиями, качеством воды и т.д. Для непрерывного долговременного мониторинга в любых погодных условиях в широком диапазоне глубин лучше применять погружные модули, которые могут быть установлены на буйковых станциях или использоваться в оптоволоконных зондах. Для таких систем хорошо зарекомендовал себя метод лазерно-индуцированной флуоресценции (ЛИФ), а его автоматизация была успешно продемонстрирована в работах [11, 12].

Известно, что спектры флуоресценции микроводорослей чувствительны к изменяющимся физическим параметрам среды: температуры, солености,

* Александр Юрьевич Попик (PopikAY@yandex.ru);
Евгений Леонидович Гамаюнов (gamaunov@iacp.dvo.ru);
Сергей Серафимович Вознесенский (vss@iacp.dvo.ru).

освещенности и др. В наших работах [13, 14] было показано, что зависимость флуоресценции от температуры воды, изменяющейся в широком диапазоне, для разных культур микроводорослей различна. При этом зависимость интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* внутри организмов от температуры позволяет отличать их друг от друга [14]. Так как в микроводорослях могут присутствовать несколько светящихся пигментов, характеристики которых могут зависеть от температуры, измерение широкополосных спектров в широком диапазоне температур видится нам наиболее перспективным решением. Поверхность, образованная спектрами флуоресценции, упорядоченными по температурам, в дальнейшем будем называть температурными спектрами флуоресценции (ТСФ) микроводорослей.

На основе ТСФ могут быть получены:

- зависимости нормированной интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* от температуры, другими словами, нормированные температурные кривые флуоресценции (НТКФ) [14],

- зависимости длины волны максимума интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* от температуры — волновые температурные кривые флуоресценции (ВТКФ).

При долговременном мониторинге состояния акваторий количество данных и объем работы растут в геометрической прогрессии. Цель работы — создание системы, которая позволила бы в автоматизированном режиме анализировать и обрабатывать большое число спектральных данных и на их основе идентифицировать виды микроводорослей в исследуемых образцах воды.

1. Автоматизированная система анализа флуоресцентных характеристик культур микроводорослей

Разработанная нами автоматизированная система решает проблему обработки большого массива оптических спектральных данных и флуоресцентных

характеристик микроводорослей. В системе реализованы следующие возможности:

- а) автоматизация работы с большими массивами спектральных данных о микроводорослях и параметрах среды их обитания;

- б) автоматизация определения видов микроводорослей и прогнозирования их цветения на ранней стадии;

- в) получение эталонных характеристик микроводорослей (ТСФ, НТКФ, ВТКФ) для банков данных;

- г) интерактивность и вариативность использования различных процедур анализа и возможность подключения дополнительных блоков.

На рис. 2 представлена структурная схема описываемой системы, состоящей из четырех основных блоков.

1.1. Блок предварительной обработки больших массивов данных о микроводорослях

Задачей первого блока является объединение всех экспериментальных данных в трехмерный массив спектров флуоресценции, упорядоченный согласно шкале температурного нагрева. Диапазон температур нагрева зависит от конкретных образцов исследуемой воды или культур микроводорослей.

На выходе блока формируется массив спектров флуоресценции, состоящий из $n + 1$ строк и $m + 1$ столбцов, где n — количество точек в диапазоне длин волн измерений, а m — количество точек в диапазоне температур. Данный массив, по сути, является матрицей спектров и служит для построения ТСФ.

1.2. Блок анализа и обработки массивов данных

Данный блок представлен на рис. 3 и служит для получения флуоресцентных характеристик в таком виде, в котором возможно их дальнейшее сравнение с эталонными и визуальное отображение на экране оператора.

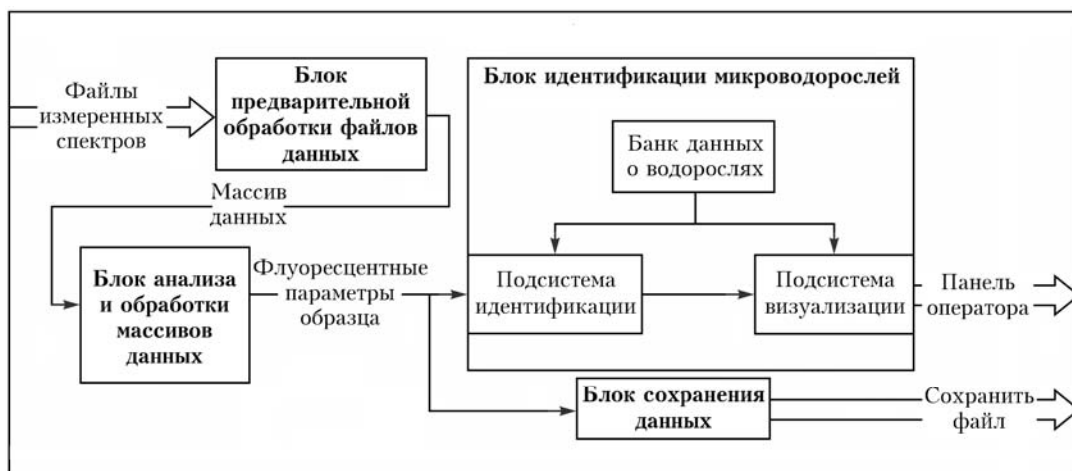


Рис. 2. Структурная схема автоматизированной системы анализа флуоресцентных характеристик культур микроводорослей



Рис. 3. Структура входной и выходной информации блока анализа и обработки полученных массивов данных

Основной исходной информацией для работы блока служит матрица спектров флуоресценции, полученная в ходе работы блока предварительной обработки. Кроме того, система дает исследователю возможность ввода трех дополнительных параметров.

Исходные спектры флуоресценции могут быть получены разными приборами или при разных условиях (диапазоны длин волн, разрешающая способность спектрометра). Для приведения их к единому виду реализована внутренняя функция интерполяции спектров по длине волны, которая с помощью параметра «Разрешение» позволяет исследователю задавать значение шага (точек/нм) в требуемом диапазоне длин волн. Для формирования интерполированных спектров используется метод интерполяции «сплайн».

Чаще всего при анализе флуоресценции микроводорослей оценивают ту ее часть, которая испускается светособирающим комплексом фотосинтетического аппарата. Этой части соответствует максимум в спектре флуоресценции на длине волны около 685 нм. Именно для этого максимума рассчитываются НТКФ и ВТКФ в нашей системе.

В широкополосном спектре ЛИФ могут быть представлены пики флуоресценции комбинационного рассеяния (КР) воды [15], растворенного органического вещества (РОВ) [16], фикобилинов [17] и флуоресценции иных пигмент-белковых комплексов хлорофилла *a*, поэтому для автоматизированного анализа флуоресценции собирающего комплекса необходимо задать соответствующий диапазон длин волн. За эту обработку отвечает функция «Обрезка». Она задает диапазон длин волн 660–700 нм, так как при высоких температурах на более коротких длинах волн начинают флуоресцировать разрушающиеся пигмент-белковые комплексы, а на больших

длинах волн начинает проявляться флуоресценция другой части фотосинтетического аппарата, которая может внести ошибки в измерения НТКФ и ВТКФ.

Важным информационным признаком большой группы микроводорослей, кроме хлорофилла *a*, является наличие дополнительных пигментов — фикобилинов, которые присутствуют в составе красных криптофитовых микроводорослей (фикоэритрины) и цианобактерий (фикоцианин и аллофикоцианин). Данные пигменты обладают характерными спектрами флуоресценции с максимумами на 575 ± 10 нм (фикоэритрин) и 640 нм (фикоцианин) и НТКФ. В одной из своих работ [18] мы демонстрировали НТКФ фикоэритрина культур *Chroomonas salina* и *Plagioselmis prolonga*. В настоящий момент система позволяет осуществлять поиск пиков флуоресценции фикобилинов в диапазонах 550–600 и 600–660 нм при помощи параметров «Фикоэритрин» и «Фикоцианин» соответственно.

Для получения НТКФ и ВТКФ определенного пигмента применяется функция «Поиск максимумов». Для ее эффективного использования необходимо сгладить интерполированные спектры фильтром Савицкого–Галея со степенью полинома, равной единице, и шириной окна сглаживания 1,5 нм. Дополнительно для обрезанных спектров в диапазоне длин волн 660–760 нм система рассчитывает интегральную зависимость флуоресценции хлорофилла *a* от температуры.

В наших экспериментах интенсивность флуоресценции измеряется в насыщающем режиме по методике, описанной в [13], поэтому незначительные флуктуации мощности возбуждающего излучения не должны воздействовать на сигнал флуоресценции. Тем не менее стабильность интенсивности возбуждающего излучения можно оценить по интенсивности комбинационного рассеяния воды. Длину волн

ны максимума комбинационного рассеяния можно с достаточной точностью рассчитать по формуле [15]:

$$\lambda_{\text{КР}} = \left(\frac{10^7}{\lambda_{\text{возб}}} - 3440 \right)^{-1},$$

где $\lambda_{\text{возб}}$ — длина волны возбуждающего излучения, нм; 3440 — частотный сдвиг, см^{-1} , первой стоксовой компоненты воды [19, 20].

В наших измерениях для возбуждения флуоресценции применяется лазер с длиной волны 445 нм. Спектры флуоресценции РОВ и КР воды сдвинуты влево относительно спектра флуоресценции хлорофилла *a* (это видно на рис. 4), и их учет при анализе флуоресценции хлорофилла *a* не требуется.

Результатом работы блока анализа и обработки массивов данных является представленная ниже информация, которая в дальнейшем используется в блоке идентификации микроводорослей или для формирования эталонных характеристик (см. рис. 3).

1. Интерполированные длины волн ТСФ хлорофилла *a*.

2. Длины волн обрезанных ТСФ хлорофилла *a*.

3. Длины волн, соответствующие максимальной интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* во всем температурном диапазоне (ВТКФ).

4. Интегральная интенсивность флуоресценции хлорофилла *a* в обрезанном диапазоне длин волн во всем температурном диапазоне.

5. Интенсивности максимума КР воды во всем температурном диапазоне.

6. Интенсивности флуоресценции в обрезанном диапазоне длин волн.

7. Интенсивности максимума пика флуоресценции фикобилинов (НТКФ фикобилинов).

8. Интенсивность максимума пика флуоресценции хлорофилла *a* (НТКФ хлорофилла *a*).

9. Интерполированная интенсивность флуоресценции хлорофилла *a*.

Оператор может выбрать возможность сохранить ТСФ, а также флуоресцентные параметры образца (НТКФ хлорофилла *a*, интегральная ЛИФ хлорофилла *a*, ВТКФ хлорофилла *a*).

1.3. Блок идентификации видов микроводорослей

Данный блок предназначен для распознавания микроводорослей в исследуемых образцах по их флуоресцентным характеристикам и позволяет определить возможность цветения, вид микроводоросли и оценить, может ли цветение этого вида быть опасным. Все способы распознавания видов основаны на выполнении процедуры сравнения эталонных и измеренных флуоресцентных параметров этих видов. В нашей системе реализовано сравнение по четырем основным флуоресцентным параметрам микроводорослей:

а) спектры флуоресценции при заданной температуре (20 °С по умолчанию);

б) НТКФ хлорофилла *a*;

в) ВТКФ хлорофилла *a*;

г) ТСФ образца.

При наличии у измеряемых образцов флуоресценции фикобилинов может проводиться также сравнение по НТКФ фикобилинов.

В качестве эталонов используются флуоресцентные параметры культур микроводорослей, которые собраны в соответствующие каталоги. Каждый измеренный образец воды анализируется в предположении, что вся его флуоресценция исходит от одной доминирующей в нем культуры микроводорослей, в то время как другие культуры угнетены и их флуоресценция считается незначительной.

В данном блоке реализованы следующие процедуры:

а) доступ к банку данных эталонных ТСФ и других флуоресцентных параметров;

б) выбор и реализация алгоритмов распознавания видов микроводорослей, присутствующих в водных пробах;

в) предоставление интерфейса для управления алгоритмами распознавания;

г) отображение результатов распознавания в графической и текстовой формах.

1.3.1. Банк данных о микроводорослях

Основным источником информации для работы алгоритмов решения задач своевременного обнаружения зарождения и распространения ВЦВ и идентификации опасных видов микроводорослей является каталог эталонных характеристик микроводорослей. Эти характеристики формируются в блоке анализа и обработки массивов данных, полученных в процессе экспериментов, а затем заносятся в банк после соответствующей статистической обработки. Банк открыт для исследователей, что позволяет расширять его, увеличивая количество эталонных культур микроводорослей. Каталог пополняется новыми культурами после лабораторных исследований чистых культур микроводорослей, которые культивируются в биобанке ННЦМБ ДВО РАН или других биобанках.

1.3.2. Подсистема идентификации

Основой разрабатываемого нами метода решения задач своевременного обнаружения зарождения и распространения «красных приливов» и идентификации опасных видов микроводорослей является сравнение спектральных и температурных зависимостей флуоресценции исследуемой пробы с эталонными характеристиками, хранящимися в «Банке данных о микроводорослях». Количественной мерой сравнения является коэффициент сходства.

Существует целый ряд бинарных методов, позволяющих рассчитать коэффициенты сходства между двумя объектами (метод Жаккара [21, 22], Танимото [21], Серенсена [23], косинусный метод [24],

регрессионный анализ по методу наименьших квадратов (МНК) [25] и т.д.). В работе [14] мы показали, что можно эффективно распознавать микроводоросли по каталогу при помощи модернизированного косинусного метода, который достаточно подробно в ней описан.

Для подбора коэффициента масштабирования (α) косинусного метода [14] в представляемой автоматизированной системе используется цикл, постепенно уменьшающий α от значения 2 с заданным оператором шагом. При некотором значении α будет определено только одно сходство, цикл будет остановлен, а на панель оператора поступит информация о названии идентифицированного вида из каталога. Подсистема позволяет выбирать метод поиска сходства и флуоресцентные параметры, по которым оно определяется.

1.3.3. Подсистема визуализации

Подсистема визуализации — это панель оператора (рис. 4), на которой находятся как вкладки, позволяющие задавать некоторые параметры автоматизированной системы, так и экраны, отражающие спектры флуоресценции и полученные на их основе флуоресцентные параметры. При помощи графической информации опытный оператор может производить визуальный анализ совпадения флуоресцентных параметров исследуемой микроводоросли и эталонной, определенной системой как совпадающая.

Панель оператора позволяет выбирать результаты измерений и управлять их обработкой. На рис. 4 (цв. вкладка) отчетливо виден сигнал флуоресценции фикоэритрина, который принимает максимальное значение при температуре 43 °С, при

этой же температуре наблюдается локальный минимум флуоресценции хлорофилла *a*. Изменение флуоресценции хлорофилла *a* имеет нелинейный характер с отчетливым максимумом флуоресцентного сигнала при температуре 46 °С. Длина волны максимальной флуоресценции хлорофилла *a* убывает в диапазоне температур от 40 до 65 °С.

2. Результаты идентификации культур автоматизированной системой

При помощи нашей автоматизированной системы мы получили и исследовали температурные спектры и некоторые флуоресцентные характеристики культур, которые изучались нами ранее в статьях [13, 14]. В таблице представлены результаты проведенного исследования.

На основе ряда измерений для каждой культуры созданы эталонные характеристики, которые применялись для идентификации отдельных образцов микроводорослей. В таблице приведены названия культур (с указанием разных штаммов одного вида, если таковые были), количество измерений (Q), которые проводились с этими культурами, и процентное количество успешных идентификаций по двум флуоресцентным характеристикам (НТКФ и ВТКФ) тремя методами (МНК, косинусный метод (SI) и модернизированный косинусный метод (SI_{MOD})). Как видно из таблицы, десять культур идентифицируются без ошибок всеми методами и по обоим исследуемым параметрам. Ошибки идентификации остальных образцов микроводорослей связаны с тем, что их флуоресцентные характеристики имеют высокое сходство внутри рода, в частности в [14] мы показали это на примере *Pseudo-nitzschia*.

Тест процедуры идентификации

Культура микроводорослей	Q	Количество успешных идентификаций, %					
		НТКФ			ВТКФ		
		МНК	SI _{MOD}	SI	МНК	SI _{MOD}	SI
<i>Chaetoceros sp</i>	4	100	100	100	100	100	100
<i>Chlorella minutissima</i>	3	100	100	100	100	100	100
<i>Dunaliella salina</i>	3	100	100	100	100	100	100
<i>Heterosigma akashiwo</i>	4	100	100	100	100	100	100
<i>Picochlorum maculatum</i>	3	100	100	100	100	100	100
<i>Porphyridium purpureum</i>	3	100	100	100	100	100	100
<i>Pseudo-nitzschia calliantha</i> (MBRU_PC16)	9	56	22	56	10	10	10
<i>Pseudo-nitzschia calliantha</i> (MBRU_PC19)	8	50	25	25	10	10	10
<i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i> (MBRU_PD17)	9	67	44	78	10	10	10
<i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i> (MBRU_PD119)	7	100	100	100	14	14	14
<i>Pseudo-nitzschia hasleana</i>	8	100	100	100	100	100	100
<i>Pseudo-nitzschia multistriata</i>	4	100	100	100	100	100	100
<i>Pseudo-nitzschia pungens</i> (MBRU_PP21)	9	100	100	100	22	22	22
<i>Pseudo-nitzschia pungens</i> (MBRU_PPNDi_9_18)	8	75	87,5	87,5	25	25	25
<i>Rhodomonas salina</i>	3	100	100	100	100	100	100
<i>Tisochrysis lutea</i>	5	100	100	100	71	71	71
<i>Tetraselmis viridis</i>	3	100	100	100	100	100	100

Заключение

Разработана автоматизированная система обработки массивов спектральных данных и идентификации культур для обнаружения зарождения и распространения ВЦВ и «красных приливов» и выявления опасных видов микроводорослей. Система может использоваться для долгосрочных исследований как в натуральных, так и лабораторных условиях. За счет автоматизации процедур она позволяет в несколько раз сократить время, затрачиваемое на обработку экспериментальных данных. Совместное использование обширных каталогов эталонных характеристик микроводорослей позволит развивать методы комплексного мониторинга экологического состояния природных акваторий.

В настоящей работе показана успешная идентификация родов исследуемых микроводорослей по созданным нами эталонам. Однако низкая специфичность флуоресцентных характеристик для каждого вида внутри рода затрудняет идентификацию на уровне видов, что требует дополнительных исследований. Необходимо отметить, что для ряда практических задач достаточно идентификации на уровне рода. Например, все культуры рода *Pseudo-nitzschia* потенциально токсичны и требуют особого внимания при обнаружении их высокой концентрации в акватории.

Автоматизированная система выполнена таким образом, что может дополняться новыми блоками или функциями, расширяющими возможности изучения флуоресцентных характеристик. Дополнительное использование в качестве входных данных суточной зависимости интенсивности освещенности дает возможность анализировать флуоресценцию и идентифицировать микроводоросли с учетом влияния на них фотосинтетически активной радиации. Реализованные алгоритмы и процедуры позволяют в процессе их развития и совершенствования создать научный задел для программно-технического воплощения системы в виде измерительных станций. Они могут быть выполнены как автономные устройства, объединенные в оригинальную отечественную автоматизированную систему прогнозирования, анализа возникновения и распространения «красных приливов». Кроме того, данные устройства могут быть внедрены в общую региональную систему экологического мониторинга.

Благодарности. Биологические материалы в виде культур микроводорослей подготовлены и предоставлены ННЦМБ ДВО РАН (<http://www.marbank.dvo.ru>).

Финансирование. Результаты в части автоматизации обнаружения зарождения и распространения «красных приливов» и идентификации опасных видов микроводорослей получены при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-77-00004). Блок идентификации микроводорослей разрабатывался в ходе исследовательской деятельности в рамках государственного задания (проект № 0202-2021-0001).

Список литературы

1. López-Cortés D.L., Núñez-Vázquez E.J., Dorantes-Aranda J.J., Band-Schmidt C.J., Hernández-Sandoval F.E., Bustillos-Guzmán J.J., Leyva-Valencia I., Fernández-Herrera L.J. The state of knowledge of harmful algal blooms of *Margalefidinium* (*Cochlodinium*) polykrikoides in Latin America // *Front. Mar. Sci.* 2019. V. 6. P. 1–10. DOI: 10.3389/fmars.2019.00463.
2. Sakamoto S., Lim W.A., Lu D., Dai X., Orlova T., Iwataki M. Harmful algal blooms and associated fisheries damage in East Asia: Current status and trends in China, Japan, Korea and Russia // *Harmful Algae*. 2020. 101787. DOI: 10.1016/j.hal.2020.101787.
3. Anderson D.M. Red tides // *Sci. Am.* 1994. V. 271. P. 62–68. DOI: 10.1038/scientificamerican0894-62.
4. Guy R.C. Red tide // *Encyclopedia of Toxicology*. 3rd ed. Elsevier, 2014. V. 4. P. 65–66. DOI: 10.1016/B978-0-12-386454-3.00919-2.
5. Anderson D.M. Harmful Algal Blooms. Amsterdam: Elsevier, 2019. P. 309–321.
6. Kouakou C.R.C., Poder T.G. Economic impact of harmful algal blooms on human health: A systematic review // *J. Water Health*. 2019. V. 17. P. 499–516. DOI: 10.2166/wh.2019.064.
7. Lum W.M., Benico G., Doan-Nhu H., Furio E., Leaw C.P., Leong S.C.Y., Lim P.T., Lim W.A., Lird-witayaprasit T., Lu S., Muawanah U., Van Nguyen N., Orlova T.Yu., Rachman A., Sakamoto S., Takahashi K., Tung Teng S., Thoha H., Wang P., Yñiguez A.T., Wakita K., Iwataki M. The harmful raphidophyte *Chattonella* (*Raphidophyceae*) in Western Pacific: Its red tides and associated fisheries damage over the past 50 years (1969–2019) // *Harmful Algae*. 2021. V. 107. DOI: 10.1016/j.hal.2021.102070.
8. Trainer V.L., Hardy F.J. Integrative monitoring of marine and freshwater harmful algae in Washington state for public health protection // *Toxins* (Basel). 2015. V. 7. P. 1206–1234. DOI: 10.3390/toxins7041206.
9. Cheng K.H., Chan S.N., Lee J.H.W. Remote sensing of coastal algal blooms using unmanned aerial vehicles (UAVs) // *Mar. Pollut. Bull.* 2020. V. 152. P. 110889. DOI: 10.1016/j.marpollbul.2020.110889.
10. Bilyeu L., Bloomfield B., Hanlon R., González-Rocha J., Jacquemin S.J., Ault A.P., Birbeck J.A., Westrick J.A., Foroutan H., Ross S.D., Powersab C.W., Schmale D.G.III. Drone-based particle monitoring above two harmful algal blooms (HABs) in the USA // *Environ. Sci. Atmos.* 2022. V. 2. P. 1351–1363. DOI: 10.1039/d2ea00055e.
11. Кульчин Ю.Н., Букин О.А., Константинов О.Г., Вознесенский С.С., Павлов А.Н., Гамаюнов Е.Л., Майор А.Ю., Столярчук С.Ю., Коротенко А.А., Попик А.Ю. Комплексный контроль состояния морских акваторий оптическими методами. Часть 1. Концепция построения многоуровневых измерительных систем для экологического мониторинга прибрежных акваторий // *Оптика атмосф. и океана*. 2012. Т. 25, № 7. С. 633–637; Kul'chin Y.N., Bukin O.A., Konstantinov O.G., Voznesenskii S.S., Pavlov A.N., Gamayunov E.L., Mayor A.Y., Stolyarchuk S.Y., Korotenko A.A., Popik A.Y. Complex monitoring of the state of sea water basins by optical methods. Part 1. The concept of constructing the multilevel measurement systems for ecological monitoring of coastal water basins // *Atmos. Ocean. Opt.* 2012. V. 25, N 6. P. 446–450. DOI: 10.1134/S1024856012060085.

12. Voznesenskiy S.S., Gamayunov E.L., Popik A.Y., Korothenko A.A. A fiber-optic fluorometer for measuring phytoplankton photosynthesis parameters // Instruments Exp. Tech. 2014. V. 57. P. 330–335.
13. Voznesenskiy S.S., Gamayunov E.L., Popik A.Y., Markina Z.V., Orlova T.Y. Temperature dependence of the parameters of laser-induced fluorescence and species composition of phytoplankton: The theory and the experiments // Algal Res. 2019. V. 44. P. 101719. DOI: 10.1016/j.algal.2019.101719.
14. Popik A., Gamayunov E., Voznesenskiy S., Markina Z., Orlova T. The study of fluorescence features of microalgae from the genus *Pseudo-nitzschia* and the possibility of their detection in water // Algal Res. 2022. V. 64. P. 102662. DOI: 10.1016/j.algal.2022.102662.
15. Sefa-Ntiri B., Kwakye-Awuah B., Edziah R., Anderson B., Armah F.A., Mensah-Amoah P., Sackey S.S., Sam F., Akyea A.G., Yunus S., Tatchie E., Nkansah B.K., Kumi F. Dissolved organic matter in hand-dug well water as groundwater quality indicator: Assessment using laser-induced fluorescence spectroscopy and multivariate statistical techniques // SN Appl. Sci. 2020. V. 2. P. 1–15. DOI: 10.1007/s42452-020-2446-4.
16. Салюк П.А., Дорошенко И.М., Ключер К.С., Букин О.А., Крикун В.А., Майор А.Ю. Флюоресценция растворенных органических веществ в дальневосточных морях при многочастотном возбуждении // Оптика атмосф. и океана. 2013. Т. 26, № 4. С. 286–290.
17. Sun L., Wang S., Chen L., Gong X. Promising fluorescent probes from phycobiliproteins // IEEE J. Sel. Top. Quant. Electron. 2003. V. 9. P. 177–188. DOI: 10.1109/JSTQE.2003.812499.
18. Voznesenskiy S.S., Popik A.Y., Gamayunov E.L., Markina Z.V., Orlova T.Y. The dependence of phytoplankton fluorescence on the thermal stress factor // Biophysics. 2016. V. 61. P. 73–77.
19. Клышко Д.Н., Фадеев В.В. Дистанционное определение концентрации примесей в воде методом лазерной спектроскопии с калибровкой по комбинационному рассеянию // Докл. АН СССР. 1978. Т. 238. С. 320–323.
20. Ефимова Е.А., Ковалев Ю.С., Тютюнников С.И. Исследование структуры воды с помощью лазерного конфокального сканирующего микроскопа // Письма в ЭЧАЯ. 2008. Т. 5. С. 99–108.
21. Chung N.C., Miasojedow B.Z., Startek M., Gambin A. Jaccard/Tanimoto similarity test and estimation methods for biological presence-absence data // BMC Bioinformatics. 2019. V. 20. P. 1–11. DOI: 10.1186/s12859-019-3118-5.
22. Белова К.М., Судаков В.А. Исследование эффективности методов оценки релевантности текстов // Препринты ИПМ им. М.В. Келдыша. 2020. № 68. 16 с.
23. Carass A., Roy S., Gherman A., Reinhold J.C., Jesson A., Arbel T., Maier O., Handels H., Ghafoorian M., Platel B., Birenbaum A., Greenspan H., Pham D.L., Crainiceanu C.M., Calabresi P.A., Prince J.L., Gray Roncal W.R., Shinohara R.T., Oguz I. Evaluating white matter lesion segmentations with refined sorenson-dice analysis // Sci. Rep. 2020. V. 10. P. 1–19. DOI: 10.1038/s41598-020-64803-w.
24. Millie D.F., Schofield O.M.E., Kirkpatrick G.J., Johnson G., Evens T.J. Using absorbance and fluorescence spectra to discriminate microalgae // Eur. J. Phycol. 2002. V. 37. P. 313–322. DOI: 10.1017/S0967026202003700.
25. Tofallis C. Least squares percentage regression // J. Mod. Appl. Stat. Methods. 2008. V. 7. P. 526–534. DOI: 10.22237/jmasm/1225513020.

A.Yu. Popik, E.L. Gamayunov, S.S. Voznesenskiy. Automated system for the analysis of fluorescent characteristics of microalgae monocultures.

Methods of laser-induced fluorescence and their use in monitoring tools allow solving a number of key problems in the detection of algal blooms. The automated system developed by us makes it possible to process and analyze huge amount of fluorescent spectral characteristics of microalgae monocultures, to determine the dominant monocultures in the water area at the level of genus, and to estimate a possibility of their blooming. In addition, the system makes it possible to catalog reference optical characteristics of microalgae monocultures and to implement interactive algorithms for detecting dangerous microalgae species.



Рис. 1. Цветение микроводорослей 13.07.2022 г. в акватории Амурского залива

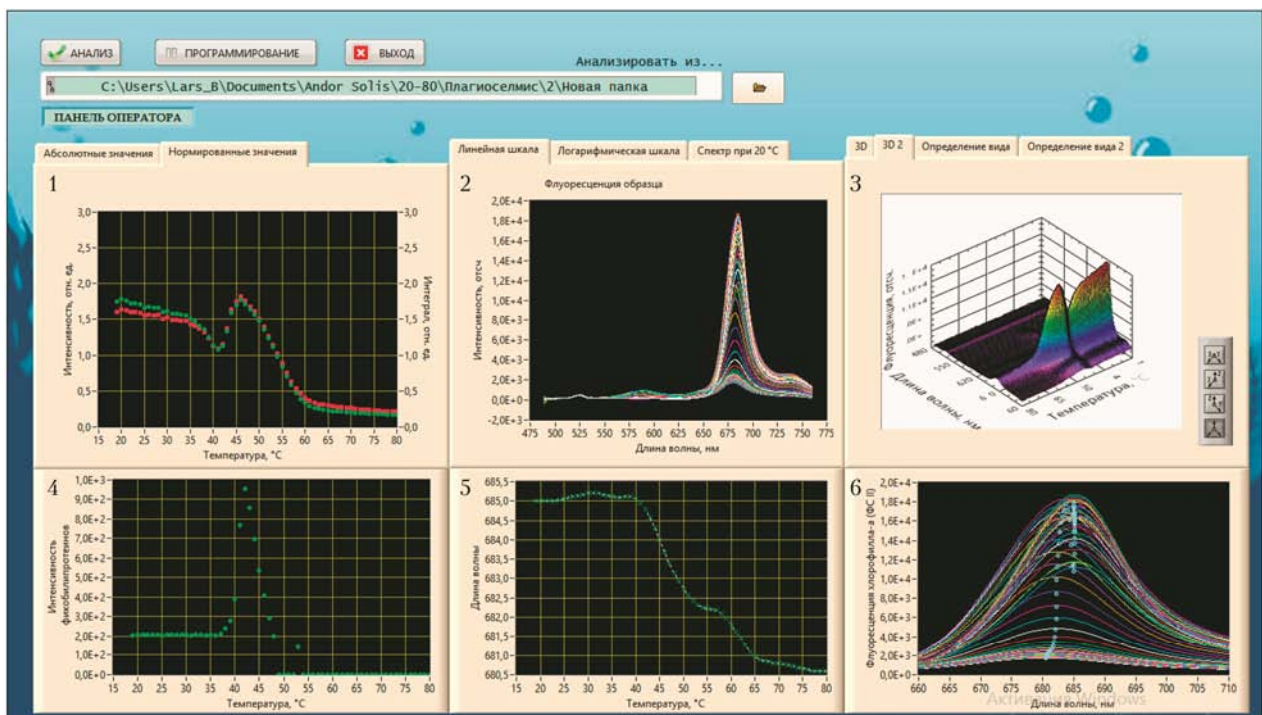


Рис. 4. Панель оператора автоматизированной системы определения состава микроводорослей: 1 – НТКФ хлорофилла *a*; 2 – спектры флуоресценции образца (от 19 до 80 °C); 3 – ТСФ образца; 4 – НТКФ фикоэритрина; 5 – ВТКФ хлорофилла *a*; 6 – спектры флуоресценции хлорофилла *a* (от 19 до 80 °C)