

CytoBuoy 浮游植物流式细胞仪 近海海域监测解决方案及应用



2017-4-5

上海泽泉科技股份有限公司

荷兰 CytoBuoy 中国技术服务中心

ii

目 录

1. 前言	3
2. CytoBuoy 系列流式细胞仪在藻类监测中的技术优势	4
3. 计数性能	7
4. 藻类识别	8
4.1 信号通道说明	8
4.2 常见散点图	9
4.3 微囊藻群体监测	10
5. 现场应用	11
6. 部分文献目录	14

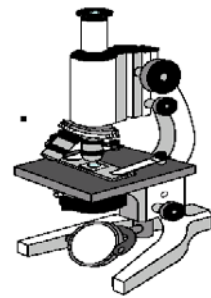


1. 前言

伴随着我国经济快速发展的同时，生态环境持续恶化。近年来有害藻华（包括海洋赤潮和淡水水华）持续频发，已严重影响到居民的饮用水安全、水产养殖、水体景观等各个方面，造成巨大的经济损失。对水体中浮游植物的群落结构的动态变化进行快速监测，成为当前环境监测部门及科研机构研究的重点。目前我国浮游植物和有害藻华的监测主要采用显微计数、叶绿素含量测定、卫星遥感、藻毒素监测等技术。



尽管光学显微镜技术在藻类分类方面具有传统的重要意义，但在有害藻华预警监测中仍存在一些限制：1）显微计数采集的样品需要经过鲁格氏液、甲醛等固定液固定，带回实验室沉淀浓缩进行定性定量分析，需要花费的时间较长。2）对于小于 5 μm 的微级浮游植物检测准确性明显降低。3）显微镜下藻类分类和计数需要非常专业的人员，且分析样品的效率较低（一般而言，对一个样品同时进行定性定量分析约需 2 h）。



叶绿素含量测定是一种相对较快速简单的测量技术，但传统的测量方法多为现场抽滤后带回实验室抽提，然后进行分光光度计分析、荧光分光光度计分析或高效液相色谱（HPLC）分析，但这种技术最快也需要 1—2 天才能获得结果。这两种方法均不能立即反映出水体中的藻类信息，而是要经过一段分析时间，从而降低了生物监测的时效性，大大影响有害藻华的监测/预警。

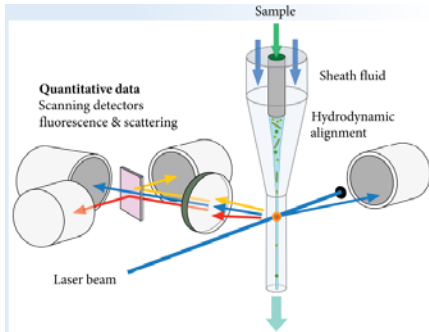
卫星遥感具备监测范围广，数据多，不受地理位置和人为条件限制等优点，但容易受天气条件影响，且往往需要藻类细胞积累到一定程度才能监测到，往往达不到预警的效果。

尽管浮游植物的群落信息（如生物量等）24h 内的波动非常大，但赤潮作为有害种群数量超常规积累的现象，其发展发生也有一定规律可循。而对浮游植物群落结构的观测频率和持续时间，远海到近海浮游植物分布变化跟踪，则成为了解这一规律的关键。

流式细胞仪作为研究微生物最先进的科研工具，正逐渐应用于海洋监测领域。但是传统的为临床医学开发的流式细胞仪因为分析管径较小，容易堵塞而无法得到更好的应用。因此，结合长期的监测经验和当前用户需求，荷兰 CytoBuoy 系列浮游植物流式细胞仪，针对传统流式细胞仪分析水环境样品的诸多不足进行了技术突破，可满足实验室、野外在线监测和水下应用，实现了流式细胞术的野外高频/在线监测。

2. CytoBuoy 系列流式细胞仪在藻类监测中的技术优势

FCM 原理快速扫描获取单细胞信息

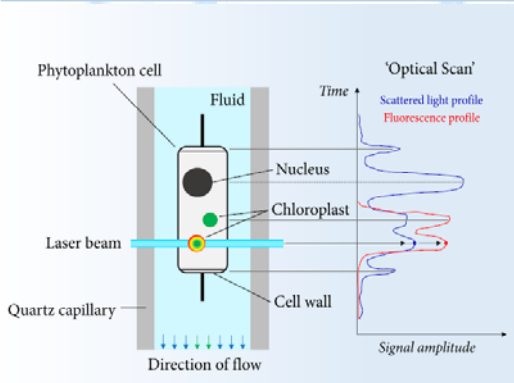


样品中的细胞和颗粒物在鞘液的流体力学聚焦作用下高速列队经过狭窄的喷嘴，在测量区液流和激光垂直相交。颗粒经过激光时产生的前向、侧向散射和叶绿素等色素荧光通过检测器收集而进一步分析。

可以扫描记录各种光学信号（散射、荧光）的动态变化（全球唯一）。多达 45 组参数可以将不同特征（大小，形态，色素等）藻细胞聚类区分开

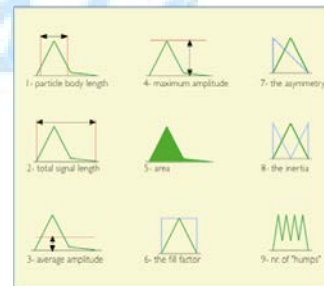
来。这些信号包涵了丰富的细胞形态学信息，利用这些形态学信息可以建立浮游植物特征信息数据库，进而利用 CytoBuoy 进行浮游植物的详细分类，有助于了解浮游植物的种群变化和水华预警。

独创的脉冲信号指纹图谱技术，参考藻类表型特征，圈门直观方便



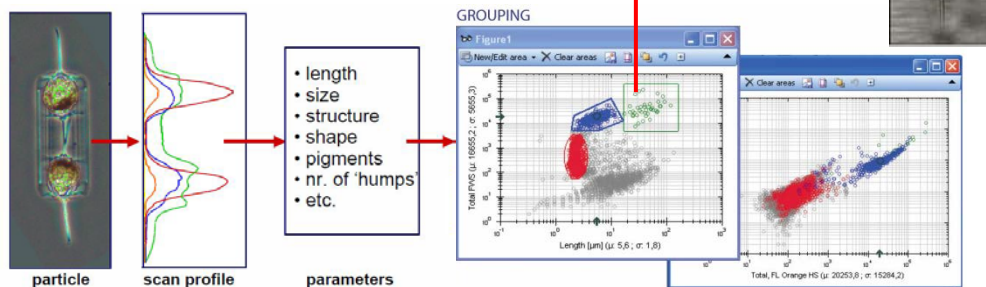
Currently: 10 parameters

- Length
- Signal length (TOF)
- Total
- Average
- Maximum
- Fill factor
- Asymmetry
- Inertia
- Centre of gravity
- Number of peaks

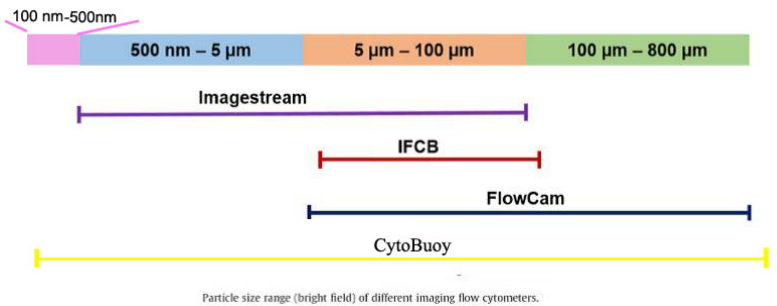
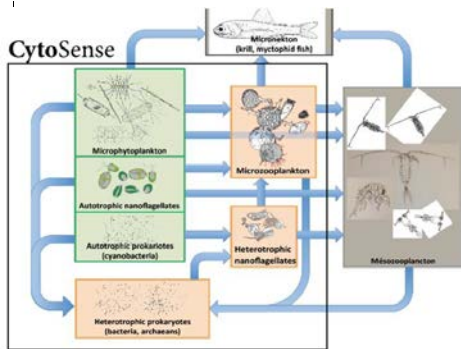


Pulse shape is represented by these 10 parameters

Silico-imaging 详细记录细胞的全部光学信息，逐个扫描，不放过自然水体中的稀有藻种。



超大流通池设计专业分析浮游植物（粒径范围）



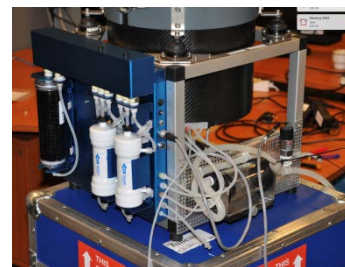
- 检测对象：藻类、细菌、浮游动物及沉积物等颗粒
- 适用于水体环境大部分藻细胞浓度
- 无需对样品过滤或分级处理
(10^3 - 10^9 Particles/L)

CytoSense 可对直径在 0.2-700 μm ，最大长度 4mm 的浮游植物细胞或其他颗粒进行分析。可直接测定大粒径藻细胞和藻群体（如常见的微囊藻群体等），低流通剪切力设计可方便测定易碎颗粒和丝状藻。

TYPE of microorganism		其他流式细胞仪		CytoSense	
		image	FCM data	image	FCM data
bacteria					
picoplankton					
nanoplankton <40 um					
other algae					
					
					
					
					
					
					
					
					
					
					
					
					
					
microzooplankton					
					

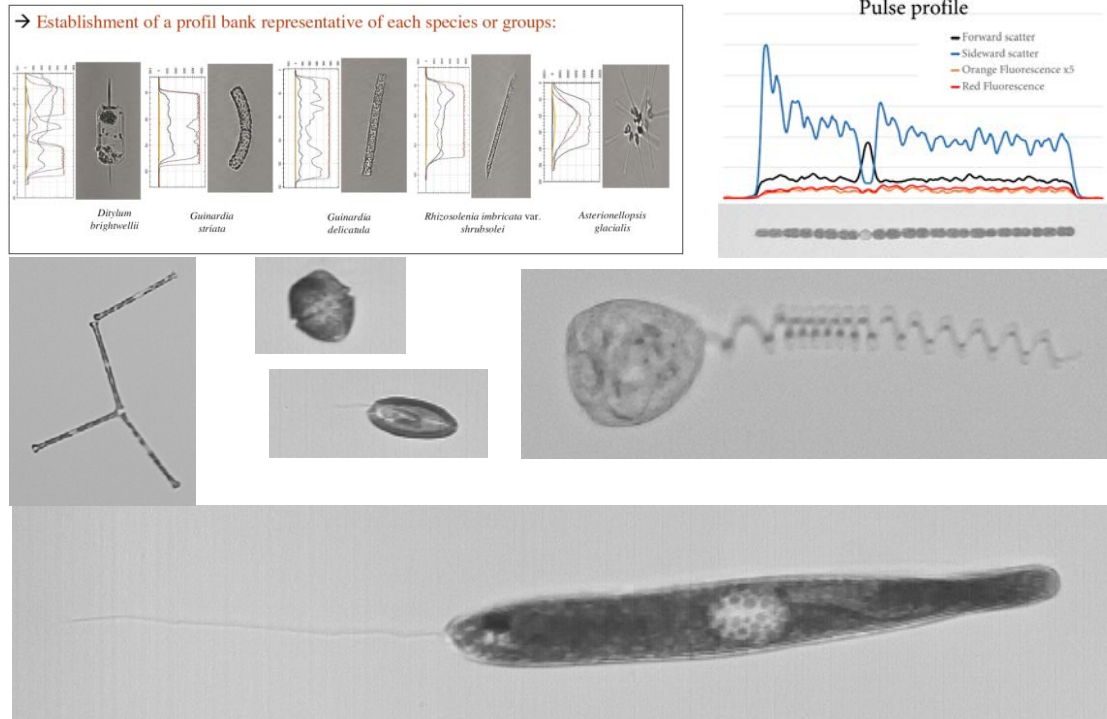
循环鞘液系统无需外接鞘液维护量低

纯净的再循环鞘液。循环鞘液系统可提高数据质量，保证浓度计数可靠，防污染功能（样品不会污染流通池），可减少维护频率。



高速流动成像技术

流动成像模块可在颗粒通过系统时对其进行实时拍照，对应脉冲图谱，对藻类进行初步鉴定。



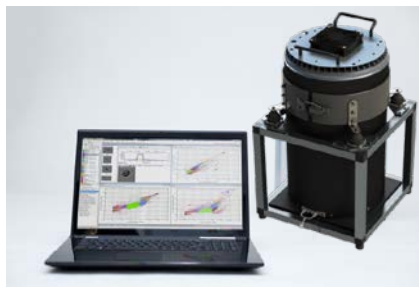
模块化设计满足野外便携和在线监测

自清洗校准系统：自清洗系统含 2 个方便更换的外置滤器，可自动添加生物抑制剂和自动测定标准小球

通讯控制模块：接受外部控制指令并对外发送检测分析数据。

细菌染色模块：水体异养微生物自动染色、藻类、细菌、浮游动物及沉积物等在线检测。

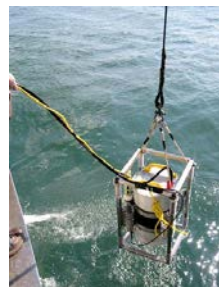
水下版 CytoSub：最大工作水深 200 m，适合于水体剖面分层分析和随航分析。



台式/便携



在线监测



水下/剖面



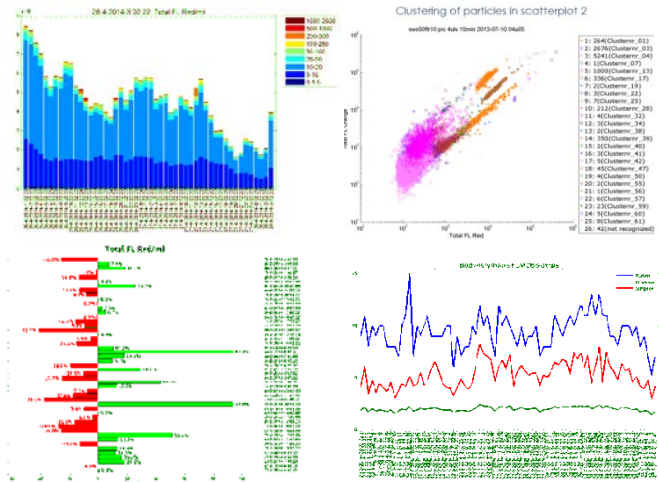
原位浮标

自动聚类分析软件批量分析数据——基于 MATLAB 环境

特定水域的聚类分析及粒度分布

生物多样性及总生物量参数变化跟踪

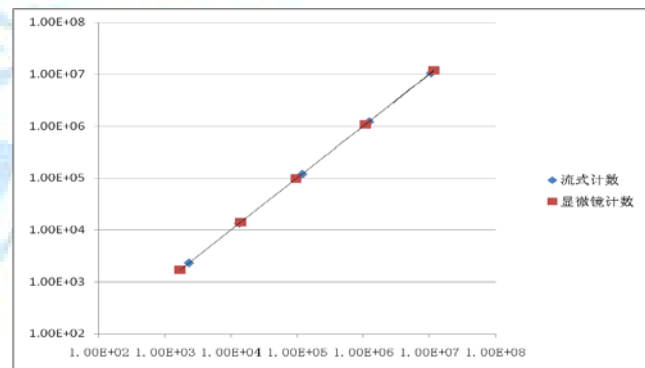
- 粒级划分
- 分布比例
- 浓度
- 大小
- 形态
- 色素荧光
- 叶绿素 a
- 剖面研究
- 生命周期
- Shannon-Wiener-index
- Simpson-index
- Rutten-index
- 优势种



3. 计数性能

合作单位

- 泽泉生态开放实验室
- 中国科学院武汉水生生物研究所



CytoSense 流式细胞仪和显微镜计数比较

- 1) 目前显微镜藻类计数采用计数框或血小球计数板，取样分别是 100 微升和 10 微升，后者适用于浓度较高样品。在细胞浓度低于 10^4 个/毫升时，显微镜会出现较大计数误差，通常情况下认为平行误差小于 15% 为可接受上限，在这个浓度及以下，显微镜计数结果均不可接受。
- 2) 在 10^5 , 10^6 , 10^7 个/毫升时，显微镜计数结果较为可靠，CytoSense 和显微镜计数偏差不得超过 10%；CytoSense 在 $10^4 \sim 10^7$ 个/毫升结果重现性均良好，平行误差不得超过 5%。CytoSense 完成一个样品分析需要 2 分钟时间。
- 3) CytoSense 可直接计数蓝藻微囊藻群体 (colony) 数量，可以反映微囊藻不同粒径大小群体的动态变化。群体通过超声破碎之后可以计算单细胞数量。
- 4) 底泥中藻细胞识别：光学显微镜下很难识别和计数，CytoSense 可以通过激光激发叶绿素而发射红色荧光得到识别而和其它无机颗粒区分开来。

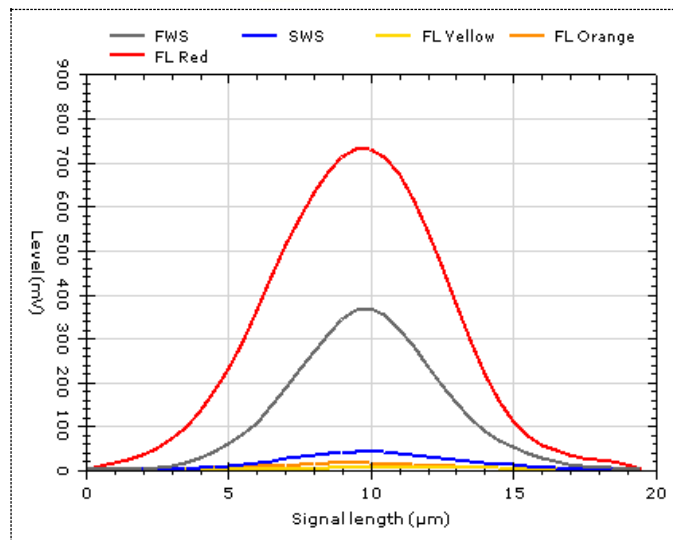
4. 藻类识别

利用中国科学院武汉水生生物研究所藻种库纯藻所建立了独特指纹图谱,每一种藻因为大小,形状和含有色素的不同而具有不同的指纹图谱。这些独特的指纹图谱可用于建立藻种专家库,可实现环境样品中藻种的自动识别。目前正在和武汉水生所,厦门大学合作进行淡水藻和海水藻藻种库的建设。

4.1 信号通道说明

- 1) 黑色线: FWS 前向散射信号, 和藻细胞的大小有关系, 越大表示细胞越大。
- 2) 蓝色线: SWS 侧向散射信号, 和藻细胞的胞内颗粒复杂成都相关, 一般来说, 颗粒度越高, 侧向散射信号越强。
- 3) 红色线: FL Red (FLR), 叶绿素荧光信号, 藻细胞内含有的叶绿素越高, 得到的红色线峰值也越高。
- 4) 橙色线: FL Orange (FLO), 和藻细胞里面的藻红蛋白等色素相关, 含量越高峰值也就越高。一般来说, 蓝藻橙色荧光会较高。
- 5) 黄色线: FL Yellow (FLY), 和藻细胞里面的胡萝卜素、类胡萝卜素等色素有关, 含量越高峰值也就越高。一般来说, 硅藻和甲藻黄色荧光会比较高。

通过两参数的散点图, 不同特征的藻细胞就可以根据大小, 叶绿素含量等差异聚类分开。



CytoSense 脉冲图谱信号

4.2 常见散点图

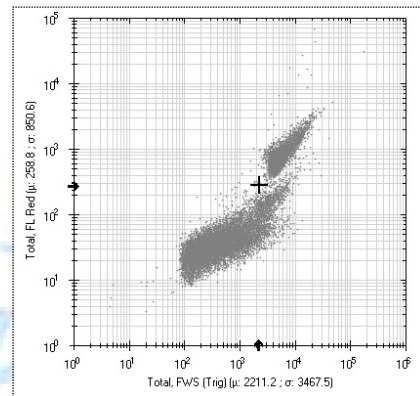
不同大小和含有不同色素的藻细胞经过流式细胞仪激光激发之后，会散射并同时发射不同波长的荧光，根据散射光的强弱和荧光的差异，在二维的散点图上可以将同一样品中的不同类群细胞分开。

CytoSense 采用散点作图，聚类分析，具有类似特性的藻细胞会落在同一个集中的区域，当样品中有很多类群时，就会出现多个散点集中区域。这些不同的类群的细胞密度，每一个藻细胞的大小，色素含量等信息都一一被记录。CytoSense 所采集的数据文件经自身的 CytoClus 分析软件可以导出为报告文件，excel 文件以及 MATLAB 等多种格式文件。

以下是藻类样品分析中最为常用的散点图。

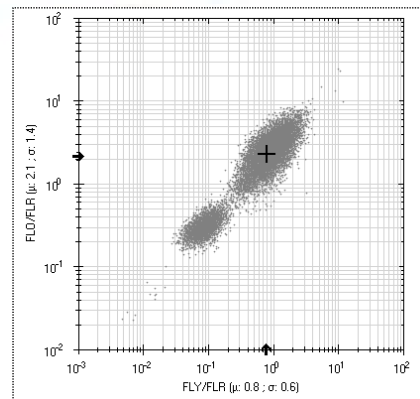
FWS –FL Red 散点图

该图为细胞的大小和细胞内所含的叶绿素荧光作图，从 X 轴来看，越往右细胞越大。从 Y 轴来看，单个细胞内所含的叶绿素荧光越高越靠上。叶绿素荧光和单个细胞内的叶绿素含量成正相关关系。



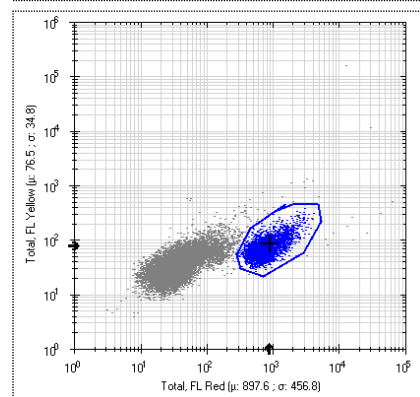
FLY/FLR-FLO/FLR 散点图

此图中，采用了荧光比值来作图，都是以 FLR 红色叶绿素荧光作分母，所以红色叶绿素荧光值高的细胞越靠近左下角。对于泥沙含量高、浊度高的水体，此图可以快速将藻细胞和泥沙及其它杂质区分开来。



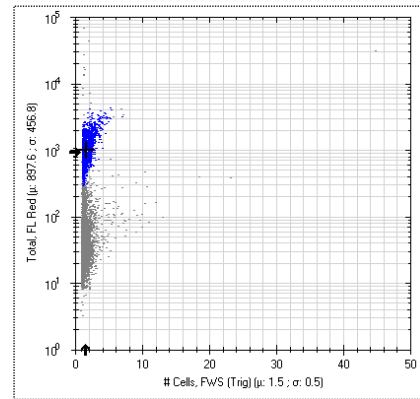
FLR-FLY 散点图

红色荧光对黄色荧光作图，叶绿素荧光越大的细胞越往右，蓝色散点是蓝藻微囊藻单细胞，黄色荧光较低，如果有硅甲藻在这同一样品中，则会落在蓝色散点上方。



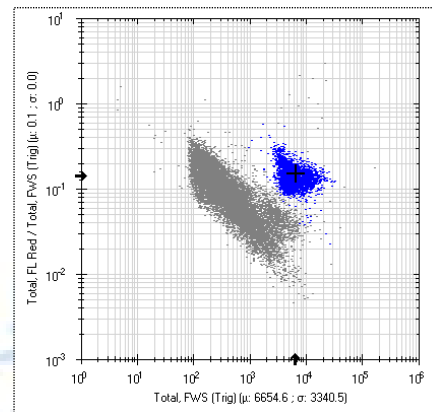
FWS CELLS-FLR 散点图

当样品中有链状藻时，X 轴上数字指示含有 N 个单细胞的藻链，Y 轴为红色荧光素荧光，这个图可以用于藻链上单细胞数量的自动统计。对于链状硅藻，链状蓝藻鱼腥藻，蓝藻颤藻等链状藻计数特别方便。

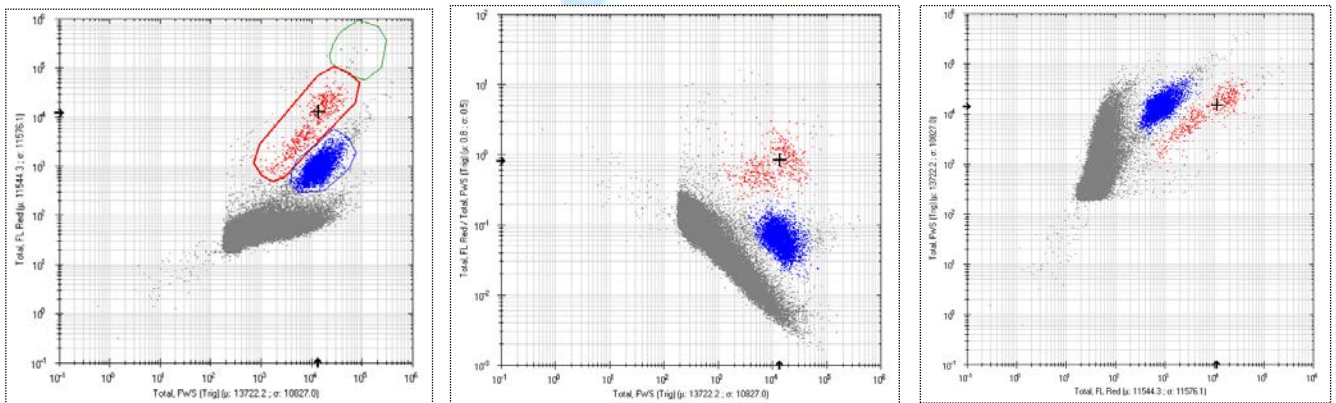


FWS-FLR/FWS 散点图

细胞大小和红色叶绿素荧光比细胞大小之间作图，首先可以明显将藻细胞和其它噪声杂质区分开来，对于单个细胞内叶绿素含量和细胞比值差异明显的藻细胞类群也可以快速分开。细胞越大越分布在 X 轴的右面，叶绿素荧光越大越分布在 Y 轴的上面



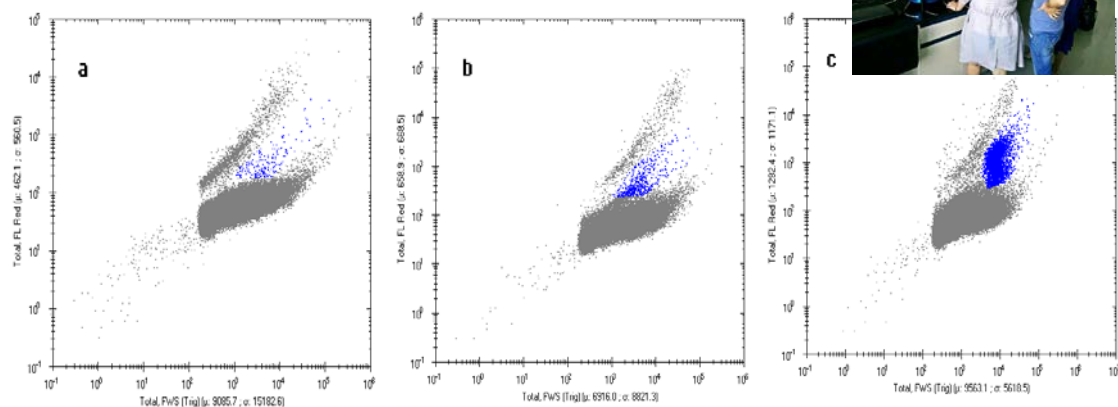
4.3 微囊藻群体监测



此图以 2010 年 7 月 6 日太湖三号标水样为例，不同颜色部分信号是人工框选出来的。蓝色部分信号是蓝藻微囊藻单细胞，红色部分是绿藻，绿色部分为硅/甲藻细胞。就同一水体来说，这些不同类群的藻分布位置是相对稳定的，也就是说这些框可适用于大部分水样，不同的样品需要做细微的调整即可。该图是分析中最为常用的散点图。当这些不同类群框选之后，在其他参数的散点图中也会显示出不同的颜色。

5. 现场应用

例 1：2009 年 7 月在太湖蓝藻水华预警工作中的监测数据。



例 2：磨刀门水道现场监测（2008. 9）



例 3：搭载东方红 2 号航次（2009. 1）



例 4：青岛海洋所 CytoSub 水下测试（2013. 7）



例 5：搭载海洋所科学号巡航测试



例 6：厦门大学监测成果

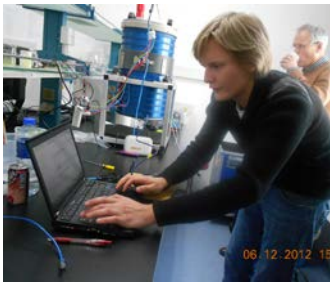
Seasonal variations of group-specific phytoplankton cell death in Xiamen Bay, China*

HUANG Xiaozhou (黄晓舟)^{1,2}, LIU Xin (柳欣)¹, CHEN Jixin (陈纪新)¹,
XIAO Wupeng (肖武鹏)¹, CAO Zhen (曹振)¹, HUANG Bangqin (黄邦钦)^{1,**}

¹ Fujian Provincial Key Laboratory of Coastal Ecology and Environmental Studies, Key Laboratory of Coastal and Wetland
Ecosystems, Ministry of Education, Xiamen University, Xiamen 361005, China

² College of Oceanography and Food Science, Quanzhou Normal University, Quanzhou 362000, China

Received Oct. 13, 2015; accepted in principle Dec. 10, 2015; accepted for publication Jan. 25, 2016
©Chinese Society for Oceanology and Limnology, Science Press, and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2017



Abstract The importance of phytoplankton cell death is being increasingly recognized, however, there are still no published reports on this in Xiamen Bay. In this study, the proportion of dead phytoplankton cells associated with environmental factors was assessed at a station in Xiamen Bay from December 2012 to December 2013, using a cell digestion assay, which is an effective method to analyze dead/ living cells in complex natural phytoplankton communities. The percentages of dead cells (% DC) in the total phytoplankton in summer ($16\% \pm 6\%$) were lower than those in winter ($27\% \pm 16\%$). Six groups of phytoplankton (G1-G6) were categorized by flow cytometry. These phytoplankton communities with diverse seasonal variations in % DC had different responses to environmental constraints. The main factors

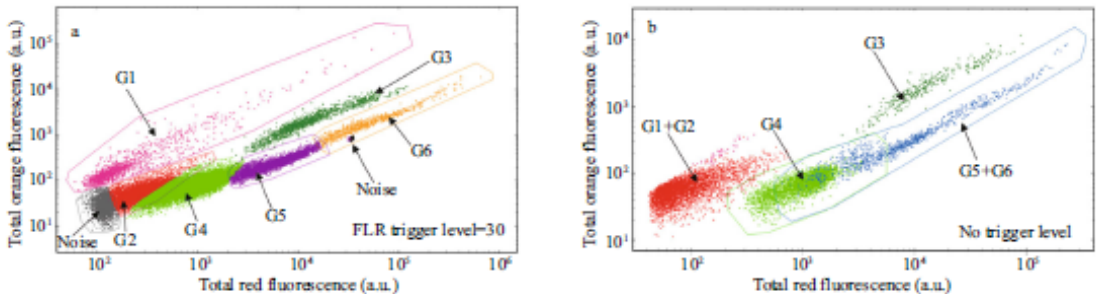


Fig.3 Red fluorescence (FLR) versus orange fluorescence (FLO) cytograms leading to the resolution of clusters (a.u.: arbitrary units)

a. a threshold on FLR recording was set at 30; b. no threshold on FLR recording.

例 7：法国泻湖有毒藻监测

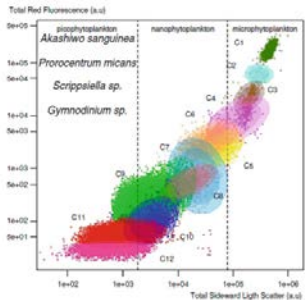
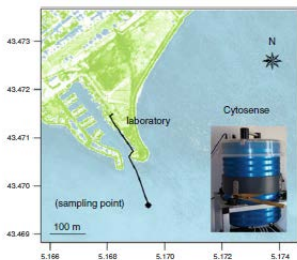


Fig.3 Cluster description on a red fluorescence (total red fluorescence, arbitrary unit) and light scatter area under the curve (total forward light scatter, arbitrary unit) cytogram with 0.8 and 0.9 confidence ellipses

Cluster	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Mean length	56.4 ± 12.2	37.7 ± 10.5	23.3 ± 8.8	20.1 ± 13.5	13.1 ± 8.2	13.2 ± 4.3
Standard deviation	13.9 ± 5.6	8.6 ± 1.3	3.5 ± 0.5	4.1 ± 1.0	1.1 ± 0.1	0.9 ± 0.1

例 8：荷兰边境小镇 Eijsden 建设在 Meuse 河一艘船上的监测站



例 9：太湖水质自动检测站



6. 部分文献目录

数据来源: Cytometry , Goolge scholar 等, 截至 2016 年, 共收集相关文献近 100 篇。
如需原文, 可与我们联系。

部分国内用户

- [1] A flow cytometer based protocol for quantitative analysis of bloom-forming cyano bacteria (Microcystis) in lake sediments [J]. Journal of Environmental Sciences, 2012, 09:1709-1716. (中科院水生所)
- [2]范宇.上海地区湖泊水体中常见藻的快速检测技术及应用研究[D].东华大学,2014. (上海环科院)
- [3]陈纪新,黄邦钦,柳欣.海洋浮游生物原位观测技术研究进展[J].地球科学进展,2013,05:572-576. (厦门大学)
- [4]孙晓霞,孙松.海洋浮游生物图像观测技术及其应用[J].地球科学进展,2014,06:748-755. (中科院海洋所)
- [5]Ou H, Gao N, Wei C, et al. Immediate and long-term impacts of potassium permanganate on photosynthetic activity, survival and microcystin-LR release risk of Microcystis aeruginosa[J]. Journal of hazardous materials, 2012, 219: 267-275. (同济大学)
- [6]Zhen Cao, Ji-Xin Chen, Bang-Qin Huang. Seasonal variations of phytoplankton composition in Xiamen Bay using in situ Cytosense [A]. 中国生态学会 (Ecological Society of China)、中国国家自然科学基金委(National Science Foundation of China)、美国国家自然科学基金委(National Science Foundation of USA). Proceedings of The 1~(st) International Workshop on Urbanization in Watersheds Ecological and Environmental Responses[C].中国生态学会 (Ecological Society of China)、中国国家自然科学基金委(National Science Foundation of China)、美国国家自然科学基金委(National Science Foundation of USA);, 2014:1. (厦门大学)
- [7]徐兆安,高怡,吴东浩,张会勇. 应用流式细胞仪监测太湖藻类初探[J]. 中国环境监测, 2012, 04:69-73. (水利部太湖局)
- [8]范宇,康丽娟,孙从军,吴贤海,韩振波. 铜绿微囊藻与蛋白核小球藻的快速定性研究[J]. 环境科学与技术, 2013, S1:282-285. (上海环科院)
- [9]尤珍 孟庆宇 范敬英. 水生态监测——代言河湖的有效发声[N]. 中国水利报, 2015-03-19003. (水利部太湖流域水文水资源监测中心)

部分外文文献

- 1.Simon Bonato a, Elsa Breton , al e: Spatio-temporal patterns in phytoplankton assemblages inshore-offshore gradients using flow cytometry: A case study in the eastern English Channel, Journal of Marine Systems 2016, 76-83.[CytoSense]
- 2.Goran Bakalar & Vinko Tomas, Possibility of Using Flow Cytometry in the Treated Ballast Water Quality Detection, Pomorski zbornik 51 (2016), 43-55
- 3.Quan Zhou, Wei Chen, al e: A flow cytometer based protocol for quantitative analysis of bloom-forming cyanobacteria (Microcystis) in lake sediments, Journal of Environmental Sciences 2012, 24(9) 1709-1716
- 4.A. Mansour, I. Leblond al.e: Invited Paper: Wireless Sensor Networks for Ecosystem Monitoring & Port Surveillance. (WSCN 2013)

5. Endymion D. Cooper, Bastian Bentlage et al: Metatranscriptome profiling of a harmful algal bloom. *Harmful Algae* 37(2014)75-83.
6. SERGIO A. COELHO-SOUZA, FÁBIO V. ARAÚJO et al: Bacterial and Archaeal Communities Variability Associated with Upwelling and Anthropogenic Pressures in the Protection Area of Arraial do Cabo (Cabo Frio region - RJ). *Anais da Academia Brasileira de Ciências* (2015) 87(3):1737-1750
7. Malkassian, A., D. Nerini, et al: Functional analysis and classification of phytoplankton based on data from an automated flow cytometer. *Cytometry Part A* 2011, 94A:263-275. [Cytosense]
8. Thyssen, M., B. Beker, et al: Phytoplankton distribution during two contrasted summers in a Mediterranean harbour: combining automated submersible flow cytometry with conventional techniques. *Environmental Monitoring and Assessment* 2011, 173:1-16.
9. Thyssen, M., Denis M: Temporal and Spatial High-Frequency Monitoring of Phytoplankton by Automated Flow Cytometry and Pulse-Shape Analysis. Springer Netherlands 2011:293-298.
10. Vidoudez, C., J. C. Nejstgaard, et al: Dynamics of Dissolved and Particulate Polyunsaturated Aldehydes in Mesocosms Inoculated with Different Densities of the Diatom *Skeletonema marinoi*. *Marine Drugs* 2011, 9: 345-358.
11. Hansen, B. W., H. H. Jakobsen, et al: Swimming behavior and prey retention of the polychaete larvae *Polydora ciliata*. *Journal of Experimental Biology* 2010:3237-3246.
12. Pereira GC, Figueiredo ARd, Jabor PM, Ebecken NFF: Assessing the ecological status of plankton in Anjos Bay: a flowcytometry approach. *Biogeosciences Discuss* 2010, 7:6243–6264. [cytobuoy]
13. Barofsky, A., Simonelli P, et al: Growth phase of the diatom *Skeletonema marinoi* influences the metabolic profile of the cells and the selective feeding of the copepod *Calanus* spp. *J Plankton Res* 2009, 32:263-272. [CytoBuoy]
14. Donk V, E., Cerbin S, et al: The effect of a mixotrophic chrysophyte on toxic and colony-forming cyanobacteria. *Freshwater Biology* 2009, 54:1843-1855.
15. Pereira, C. G, Granato A, et al: Virioplankton Abundance in Trophic Gradients of an Upwelling Field. *Brazilian Journal of Microbiology* 2009, 40:857-865. [CytoBuoy]
16. Thyssen, M., Mathieu D, et al: Short-term variation of phytoplankton assemblages in Mediterranean coastal waters recorded with an automated submerged flow cytometer. *J Plankton Res* 2008, 30:1027-1040. [Cytosub]
17. Thyssen, T. M, Garcia N, et al: Sub meso scale phytoplankton distribution in the north east Atlantic surface waters determined with an automated flow cytometer. *Biogeosciences Discuss* 2008, 5:2471-2503. [Cytosub]
18. Dubelaar, J. GB, Casotti R, et al: Phytoplankton and their analysis by flow cytometry. *Flow Cytometry with Plant Cells* 2007:287-322. [CytoBuoy]
19. Takabayashi, M., Lew K, et al: The effect of nutrient availability and temperature on chain length of the diatom, *Skeletonema costatum*. *J Plankton Res* 2006, 28:831-840. [CytoSense]
20. Takabayashi, M., Wilkerson FP, et al: Response Of Glutamine Synthetase Gene Transcription And Enzyme Activity To External Nitrogen Sources In The Diatom *Skeletonema Costatum* (Bacillariophyceae). *J Phycol* 2005, 41:84-94. [Cytobuoy]

- 21.Dubelaar, J. GB, Geerders PJF: Innovative technologies to monitor plankton dynamics. Sea Technol 2004, 45:15-21. [CytoSub]
- 22.Dubelaar, J. GB, Geerders PJF, al. e: High frequency monitoring reveals phytoplankton dynamics. J Environ Monit 2004, 6:946-952. [Cytosense]
- 23.Cunninghama, A., McKee D, al e: Fine-scale variability in phytoplankton community structure and inherent optical properties measured from an autonomous underwater vehicle. J Mar Syst 2003, 43:51-59.
- 24.Dubelaar, J. GB, Gerritzen PL: CytoBuoy: a step forward towards using flow cytometry in operational oceanography. Sci Mar (Barc) 2000, 64:255-265. [CytoBuoy]
- 25.Dubelaar, J. GB, Jonker RR: Flow cytometry as a tool for the study of phytoplankton. Scientia Marina 2000, 64. [CytoBuoy]
- 26.Jonker R, Droben R, Tarran G, Medlin L, Wilkins M, Garcla L, zabala L, boddy I: Automated identification and characterisation of microbial populations using flow cytometry: the AIMS project. scientia marina 2000, 64:225-234. [Cyto]
- 27.Woodd-Walker, S. R, Gallienne CP, al e: A test model for optical plankton counter (OPC) coincidence and a comparison of OPC-derived and conventional measures of plankton abundance. J Plankton Res 2000, 22:473-483.
- 28.Dubelaar, J. GB, Gerritzen PL, al e: Design and first results of CytoBuoy: A wireless flow cytometer for in situ analysis of marine and fresh waters. Cytometry 1999, 37:247-254. [CytoBuoy]
- 29.Wilkins, F. M, Boddy L, al e: Identification of Phytoplankton from Flow Cytometry Data by Using Radial Basis Function Neural Networks." Appl Environ Microbiol 1999, 65:4404-4410.
- 30.Jonker, R. R, Meulemans JT, al e: Flow cytometry: A powerful tool in analysis of biomass distributions in phytoplankton. Water SciTechnol 1995, 32:177-182. [Cytosense]
- 31.Jonker, R. R, G. B. J. Dubelaar, al. e: The European Optical Plankton Analyser: A high dynamic range flow cytometer. Scientia Marina 1994.
- 32.Dubelaar, G. B. J., A. Groenewegen ea: Optical plankton analyser: a flow cytometer for plankton analysis, II: Specifications. Cytometry 1989, 10:529-539. [OPA]
- 33.Peeters, J. C. H., G. B. J. Dubelaar, al e: Optical plankton analyser: A flow cytometer for plankton analysis, I: Design considerations. Cytometry 1989, 10:522-528. [OPA]