

水体浮游植物采集与鉴定

Sampling and Identification of Phytoplankton in Water

金磊^{1,2}, 杨义刚^{1,2}, 杨军^{1,*}

¹中国科学院城市环境研究所, 城市环境与健康重点实验室, 水生态健康研究组, 福建厦门; ²中国科学院大学, 北京

*通讯作者邮箱: jyang@iue.ac.cn

摘要: 本文介绍了内陆水体中浮游植物 (粒径范围 5–1000 μm) 采集、固定、浓缩、保存、定性及定量分析方法流程。水样采集后定性样品立刻用福尔马林固定; 定量样品用鲁哥试剂固定, 带回实验室静置 48 小时, 去除上清液并将沉淀浓缩后样品保存至定量样品瓶中。根据浮游植物形态学特征, 利用显微镜进行物种鉴定、定性和定量分析, 优势种鉴定到种, 其它种类至少鉴定到属, 最后计算出浮游植物丰度和生物量数据。

关键词: 浮游植物, 样品采集, 定性分析, 定量分析, 显微镜

研究背景

浮游植物是自然界水体中最主要的初级生产者, 是水生态系统的重要组成部分; 其中, 淡水浮游植物主要包括蓝藻门、硅藻门、甲藻门、裸藻门、金藻门、隐藻门、绿藻门和黄藻门等八大门类。浮游植物对环境变化响应十分迅速, 其物种组成、生物量、优势种及群落变化可作为衡量水体生态系统状态的重要指标。近年来, 蓝藻水华成为危害内陆水体生态环境的重要问题, 全球范围内蓝藻水华的暴发频率、规模和持续时间都在增加, 导致生物多样性丧失、生态功能退化、水质恶化等一系列生态问题。通过浮游植物调查, 可以有效地反映水生态系统的健康状况, 在水资源利用、水环境管理和水生态保护等领域具有重要意义。

材料与试剂

1. 采水器: 水深小于 10 m 的水体可用有机玻璃采水器, 深水水体需用颠倒式采水器或卡盖式采水器, 采水器体积规格为 1、2.5 或 5.0 L 等不同类型
2. 浮游生物网: 25#浮游生物网 (网孔直径 64 μm)
3. 样品瓶 (定量): 1.0–2.5 L 聚乙烯瓶

4. 样品瓶（定性）：定性样品瓶采用 50 ml 玻璃或聚乙烯瓶
5. 塞氏盘（直径 30 cm）：用于水体透明度测定、透光层深度估算
6. 乳胶管或 U 形玻璃管（虹吸管）：内径约 2 mm
7. 洗耳球
8. 刻度吸管：0.1 ml、1.0 ml
9. 计数框：0.1 ml（10 行×10 行，共 100 格）
10. 盖玻片
11. 甲醛
12. 福尔马林（见溶液配方）
13. 碘化钾
14. 碘
15. 冰乙酸
16. 鲁哥试剂（见溶液配方）
17. 记号笔和实验记录本
18. 绳子（带刻度）
19. 救生衣

仪器设备

1. 显微镜：附带测微尺（显微镜目镜放大倍数以 20×、40×或 60×为宜）
2. 测深仪（Speedtech SM-5）
3. 多参数水质分析仪

实验步骤

1. 样点布设

1.1 原则根据水体水面面积（见表 1）、形态、浮游植物的生态分布特点和调查的目的等布设采样点位置和数量，采样点应具有代表性，样点布设应具有较好的整体性，结合水生态系统特点及人为活动的影响，能够反映整个水体浮游植物的基本情况。

1.2 湖泊

湖泊应在有代表性的湖区设置断面（垂线、点）。断面（垂线、点）可根据湖泊的形状设置在湖心区、湖湾中心区、进水口和出水口附近、沿岸浅水区及其他敏感区。水面宽度小于 50 m 可在中心布设一条采样垂线（点），50–100 m 的可布设左右两条采样垂线（点），大于 100 m 的采样垂线（点）不得少于左、中、右 3 条（个）。

1.3 水库

水库应在库心区（河道型水库应分别在上游、中游、下游的中心区）及大的库湾中心区、主要进水口和出水口附近、主要排污口、入库河流汇合处设置断面（垂线、点）。水面宽度小于 50 m 可在中心布设一条采样垂线（点），50–100 m 的可布设左右两条采样垂线（点），大于 100 m 的采样垂线（点）不得少于左、中、右 3 条（个）。

1.4 河流

在干流上游、中游、下游，主要支流汇合口上游、汇合后与干流充分混合处，主要排污口附近、河口区等河段设置采样断面。根据江河宽度设置断面采样点，一般小于 50 m 的只在中心区设点；50–100 m 的可在两岸有明显水流处设点；超过 100 m 的应在左、中、右分别设置采样点。

表 1. 采样点设置数量

水体面积 (km ²)	< 2	2 ~ 5	5 ~ 20	20 ~ 50	50 ~ 100	100 ~ 500	> 500
采样点个数 (个)	3	3 ~ 5	5 ~ 7	7 ~ 10	10 ~ 15	15 ~ 20	20 ~ 50

2 采样水层

水深小于 3 m 且水体混合良好的水体，只在表层水深 0.5 m 处采样；当水深为 3–10 m 时，分别在水面下 0.5 m 和透光层底部各布设一个采样点（透光层以 3 倍透明度计），进行分层采样或取混合样；当水深大于 10 m 时，分别在水面下 0.5m、1/2 透光层（透明度深度以 3 倍透明度计）处及透光层（透光层深度以 3 倍透明度计）底部各布设 1 个采样点，进行分层采样或取混合样。分层采样应满足实际项目要求，可根据实际需要进行加密水层采样。

3 采样频次和采样时间

3.1 采集次数依研究目的而定，采样次数可逐月或按季节进行，一般调查按季节进行。

样品瓶必须贴上标签，标明采集时间、地点、采集人、样品编号。

3.2 采样时间尽量保持一致，一般在上午 8:00–10:00 进行。

4 采样方法

定量样品在定性采样之前用采水器采集，每个采样点取水样 1.0 或 2.5 L。分层采样时，取各层水样等量混匀后取水样 2.5 L。此外，泥沙较多时需先在容器内沉淀后再取样。浮游植物定性样品用 25#浮游生物网在水体表层以划“∞”字方式进行采集。

5 样品的固定

浮游植物定量样品立即添加鲁哥氏液固定，用量为水样体积的 1%–1.5%。浮游植物定性样品加入水样体积的 1%福尔马林固定。

6 水样的沉淀和浓缩

固定后的浮游植物定量样品经充分沉淀（一般应超过 48 小时）后，用虹吸管慢慢吸去上清液。虹吸时管口要始终低于水面，流速、流量不能太大，沉淀和虹吸过程不可摇动，如搅动了底部应重新沉淀。吸至澄清液的 1/3 时，应逐渐减缓流速（或转移到 500 ml 样品瓶中，再静置 48 小时），最后浓缩为包含沉淀物的水样 20–25 ml（或 30–40 ml），放入 30（或 50）ml 的定量样品瓶中。最后，用吸出的少量上清液冲洗沉淀器 2–3 次，一并倒入样品瓶中，定容到 30（或 50）ml。如样品的水量超过 30（或 50）ml，可静置 24 小时后再吸去多余水量（上清液）。

7 浮游植物鉴定与计数

7.1 种类鉴定

首先利用浮游植物定性样品进行显微观察，借助浮游植物分类和鉴定图书资料进行种类鉴定，优势种类应鉴定到种，其它种类至少鉴定到属水平。此外，浮游植物还需观察分析定量样品。

7.2 计数（丰度定量）

使用测微尺测量所用显微镜在一定放大倍数下的视野直径，计算出视野面积。计数的视野应均匀分布在技术框内，每个计数视野数可按浮游植物的多少酌情增减，一般为 50–300，依浮游植物数量确定计数视野数（见表 2），且保证每份样品计数的浮游植物个体总数不低于 500 个，确保后期统计分析数据可靠、有效。

表 2. 根据浮游植物丰度确定观察的视野数

浮游植物平均数（个/视野）	视野数（个）
3–5	300
6–10	150
10–50	50

1 L 水样中浮游植物的个数（密度）可用下列公式计算：

$$N = \frac{C_s}{F_s \cdot F_n} \cdot \frac{V}{V_0} \cdot P_n \dots\dots\dots (1)$$

式中：

N ——1 L 水样中浮游植物的数量，个/L；

C_s ——计算框面积， mm^2

F_s ——视野面积， mm^2

F_n ——每片计数过的视野数；

V ——1 L 水样经浓缩后的体积，ml；

V_0 ——计数框容积，ml；

P_n ——显微计数的浮游植物个数。

7.3 生物量估算

浮游植物的密度接近 1 g/cm^3 ，可直接采用体积换算成湿重生物量。体积的估算可根据浮游植物的细胞形态，按最近似的几何形状测量其长度、高度、直径等，每一类至少随机测定 30–50 个个体，计算体积平均值，带入公式计算出体积。此平均值乘 1 L 水中该浮游植物的数量，即得到 1 L 水中这种浮游植物的生物量，所有浮游植物生物量的和即为 1 L 水中浮游植物的总生物量，单位为 mg/L 或 g/m^3 。

对于一些形状不规则的浮游植物物种可分割为几个部分，分别按相近似几何立体图形公式计算后相加。对数量大或体积大的种类，应尽量实测体积并计算平均重量。笔者列出一些物种的体积或生物量参考值（附录 A）。需要指出的是，附录 A 中所给出的仅为部分浮游植物生物量的参考值，由于各水体生境情况不同，有必要对对所采样品中浮游植物优势种类进行形态参数测量，根据细胞体积计算公式估算生物体积，再换算出生物量。

137

138 8 数据整理与核查

139 样品计数与生物量计算完成后,及时进行数据整理,并邀请实验室人员(1–2人)对
140 整理的数据进行核对,如发现问题需及时对原样品进行重新观察、计数和处理。

141

142 注意事项

143 1. 每份样品计数两片取其平均值,每片结果与平均数之差不大于 $\pm 15\%$,否则必须计数
144 第三片,直至三片平均数与相近两数之差不超过平均数的 15% 为止,这两个相近值
145 的平均数即可视为计算结果。

146 2. 浮游植物计数单位用细胞个数表示。对不易用细胞数表示的群体或丝状体,可求出
147 平均细胞数。

148 3. 某些个体一部分在视野中另一部分在视野外,这时可规定只计数右侧、上半部分。

149

150 溶液配方

151 1. 鲁哥试剂

152 称取20 g 碘化钾溶于200 ml 含冰醋酸20 ml 的蒸馏水中,待完全溶解后,加入10 g
153 碘,搅拌至碘完全溶解,溶解后贮存于密闭的棕色试剂瓶中。注意,以上药品及试剂
154 均室温避光保存。

155 2. 福尔马林

156 体积分数为40%的甲醛溶液。

157

158 致谢

159 感谢国家自然科学基金项目(31370471)和福建省自然科学基金项目(2019J02016)的
160 资助,感谢中国科学院城市环境研究所水生态健康研究组已毕业博士杨军和陈辉煌老师
161 对相关内容的整理。

162

163 参考文献

164 1. 胡鸿钧,魏印心.中国淡水藻类——系统、分类及生态.北京:科学出版社,2006.

165 2. 章宗涉,黄祥飞.淡水浮游生物研究方法.北京:科学出版社,1991.

166 3. 中华人民共和国水利部.内陆水域浮游植物监测技术规程(SL 733-2016).北京:中国标准出版社,

- 2016.
4. Hillebrand H, Dürselen C-D, Kirschtel D, Pollinger U, Zohary T. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *J Phycol*, 1999, 35: 403–424.
5. Lv H, Yang J, Liu LM, Yu XQ, Yu Z, Chiang PC. Temperature and nutrients are significant drivers of seasonal shift in phytoplankton community from a drinking water reservoir, subtropical China. *Environ Sci Pollut Res*, 2014, 21(9): 5917–5928.