**淡水浮游动物的采集及鉴定**

**Sampling and Identification of Zooplankton in Freshwater**

陈辉煌1, 2，王文平1, 2，杨军1 \*

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

\*通讯作者邮箱：jyang@iue.ac.cn

**摘要：**浮游动物是水生态系统的重要组成部分，淡水中常见的浮游动物包括原生动物、轮虫、枝角类、桡足类等。本文以湖库浮游动物为例，介绍了内陆水体浮游动物的采集、浓缩、固定、保存和鉴定等工作流程，可用于浮游动物群落的定量分析。

**关键词：**浮游动物，浮游生物网，内陆水体，采集，鉴定

**材料与试剂**

1. 波恩试剂
2. 250 mL样品收集瓶
3. 5 L样品收集瓶
4. 60 mL样品保存瓶
5. 洗瓶
6. 4#自封袋包

**仪器设备**

1. 采水器 (5 L)
2. 25# 浮游生物网 (孔径64 μm)
3. 25# 小型过滤装置 (孔径64 μm过滤装置)
4. 倒置显微镜
5. 解剖镜
6. 计数框（0.1 mL、1 mL）
7. 移液枪（0.2 mL、1 mL）
8. 计数器
9. 解剖针

**实验步骤**

1. **采样前准备**
   1. 采样站位设置

根据研究目的选定合适的采样站位，水深小于3米时比较难以形成热分层现象，可采集表层（0.5 m）水体样品。水深为3–10米时，分别采集表层（0.5 m）和底层水体（沉积物表层向上1–2 m）。水深大于10米时，根据现场检测的水温和溶解氧垂直剖面分布特征来决定，一般采集至少3个水层的样品，包括表层（0.5 m）、温跃层或氧跃层的水层、温跃层或氧跃层之下（湖下层，但是沉积物表层向上2 m）。

* 1. 采样用品准备

准备5 L采水器2个、水泵套装1套（附带25 L大桶，进行水样定量） ，用于水样采集； 25# 浮游生物网2个，250 mL样品收集瓶，用于过滤富集枝角类、桡足类浮游动物；5 L样品收集瓶，用于采集原生动物、轮虫样品。

配制波恩试剂（1500 mL饱合苦味酸、660 mL甲醛、139 mL冰乙酸）。

配制鲁哥试剂（20 g 碘化钾、10g 碘、20 mL冰醋酸，定容至200 mL）。

* 1. 采样前检查

采样前，检查采水器是否完好，如底部出水口有无堵住、挂耳是否松动等。抽水水泵套装是否齐全，如水管接头、电线磨损、有刻度的牵引绳、电池电量；25 L大桶是否有标记20 L刻度线。25# 浮游生物网是否完好，如接口是否开裂、有无破洞、开关是否灵活。样品瓶提前写上样品编号，并标注采样时间、采样人。

1. **浮游动物采集与固定**
   1. 原生动物和轮虫定量样品采集

原生动物和轮虫个体较小、丰度较高，可用5 L采水器或水泵直接采集水样。现场收集5 L水样作为原生动物和轮虫样品，马上用鲁哥试剂固定样品**。**如果水体富营养化较严重、原生动物和轮虫密度较高，可以适当减少采水量；如果水体中原生动物和轮虫密度较低，则适当增加采水量。

* 1. 枝角类和桡足类定量样品采集

1. 定量：用5 L采水器或水泵采集水样。用水泵采样，需要用25 L大桶进行定量。枝角类和桡足类个体较大、丰度较低，通常在水库中我们每份样品采集60 L水样进行过滤作为枝角类和桡足类样品**。**如果水体富营养化较严重、枝角类和桡足类密度较高可以适当减少采水量；如果水体中枝角类和桡足类密度较低，则适当增加采水量。
2. 过滤：将60 L水样经25# 浮游生物网进行过滤，将枝角类和桡足类浓缩收集到浮游生物网内。
3. 收集：将过滤富集的枝角类和桡足类样品全部转移到250 mL样品瓶内。
4. 洗网：利用过滤后的水样冲洗浮游生物网3次，将残存的枝角类和桡足类一并收集到收集瓶内，用于后期枝角类和桡足类定量分析。
   1. 浮游动物定性样品采集

用25#浮游生物网在透明度3倍以内的水深进行多次拖网，将浮游动物样品收集到250 mL收集瓶中，标明定性样品、采集时间、地点、采集人、样品编号。

* 1. 样品固定

采样结束后，立即现场往250 mL收集瓶中加入波恩试剂固定枝角类和桡足类样品，固定剂最终浓度为5%**。**向5 L收集瓶中加入鲁哥试剂固定原生动物和轮虫样品，最终固定剂浓度为1.5%**。**

1. **浮游动物浓缩与保存**
   1. 原生动物和轮虫样品再浓缩

1） 将5 L收集瓶样品静置沉淀48 h以上，用虹吸管慢慢吸去上清液。

2） 虹吸时的流速和流量要缓和，沉淀和虹吸过程不可摇动，如搅动了底部应重新沉淀。

3） 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 h以上重新浓缩），最后浓缩的水样（包含沉淀物）约20–25 mL，放入样品保存瓶（60 mL）中。

4） 最后，用吸出的少量上清液冲洗沉淀器3次，一并倒入样品保存瓶中，定容到 30 mL。如样品的水量超过 30 mL，可再静置 24 h后再吸去多余水量（上清液）。

* 1. 枝角类和桡足类样品再浓缩

利用15 mL离心管制作的64 μm过滤器进行枝角类和桡足类的进一步浓缩。

1. 将250 mL收集瓶内固定的枝角类和桡足类样品倒入过滤器、并冲洗3次样品收集瓶。
2. 离心管开口处伸入样品保存瓶（60 mL）中，用洗瓶冲洗过滤网。
3. 洗瓶重复清洗3次过滤网，清洗过程中持续旋转过滤网，确保将所有枝角类和桡足类虫体冲洗进样品保存瓶。
4. 再次核查编号，往样品保存瓶中加入波恩试剂，固定保存，最终浓度为5%。
   1. 浮游动物样品保存
5. 把样品保存瓶（60 mL）盖子盖好后，装入4#自封袋，密封、编号。
6. 按采样编号顺序放入保鲜盒中。
7. 将保鲜盒依次放入整理箱中。
8. 将整理箱按顺序放到样品架上。
9. 制作一份样品表，包括样品编号、采样时间、采样地点、经纬度、采样水深、水体类型、样品名称、存放位置、记录人、核查人等信息。
10. **浮游动物鉴定与计数**
    1. 浮游动物鉴定
11. 准备好显微镜、解剖镜、计数器、解剖针、移液枪（配置0.2 mL 枪头或1 mL枪头，预先剪去尖端扩大枪口) 和计数框 (0.1 mL和1 mL)。
12. 参考浮游动物分类资料进行物种鉴定，要求尽可能鉴定到种或属。
13. 优势种和常见种须鉴定到种，对于难于鉴定的物种需要在解剖镜或倒显微镜下借助解剖针做进一步鉴定，并对关键形态特征进行拍照，向同行专家交流请教。
    1. 浮游动物计数

将定容好的样品进行浮游动物计数，实验记录本应记录采样编号、采样体积、定容体积、计数体积。

1. 充分摇匀容后的样品，用1 mL移液枪吸取1 mL枝角类和桡足类样品至1 mL计数框中。用0.2 mL移液枪吸取0.1 mL原生动物和轮虫样品至0.1 mL计数框中。
2. 在显微镜或解剖境下观察样品，进行种类鉴定并计数、记录；通常每份样品至少鉴定300个个体，以保证群落数据分析的质量。
3. 单位水体体积浮游动物的数量按下式计算

公式中:

*N*表示1 L水样中浮游动物的数量（个/L）

*V*表示采样的体积（L）

*VS*表示样品浓缩后的体积（mL）

*VO*表示计数样品体积（mL）

*n*表示显微计数所获得的个体数(个)

* 1. 浮游动物生物量计算

采用体积法，每个浮游动物可近似当作一个几何立体图形，按求体积公式估算获得生物体积，并假定浮游动物的密度为1 g/cm3，计算浮游动物的生物量。求体积公式参考章宗涉和黄祥飞（1991），测量相应种类30个个体的长、宽和高的数据，代入公式得到湿重生物量。

1. **数据统计与核查**

对每一份样品的浮游动物数据进行整理，制作物种丰度、生物量数据表，并请实验室人员对整理的数据进行核对，如发现疑问需立即对浮游动物样品进行重新鉴定、计数和处理。将确认无误后的数据形成最终表格、并打印保存。

**致谢**

感谢国家自然科学基金项目（31370471，31672312，91851104）和福建省自然科学基金项目（2019J02016）的资助。

**参考文献**

习丽红, 李慧明, 林秋奇, 韩博平. (2015) [热带富营养水库敞水区浮游动物群落结构与季节变化: 以广东大沙河水库为例.](http://www.cqvip.com/QK/97421X/201506/666502474.html) 湖泊科学, 27(6): 1049–1058.

沈韫芬, 章宗涉, 龚循矩, 顾曼如, 施之新, 魏印心. (1990) 微型生物监测新技术. 北京: 中国建筑工业出版社.

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

Sommer, U., Adrian, R., Domis L. D. S., Elser, J., Gaedke, U., Ibelings, B., Jeppesen, E., Lurling, M., Molinero, J. C. and Mooij, W. M. (2012) [Beyond the Plankton Ecology Group (PEG) model: mechanisms driving plankton succession.](https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-ecolsys-110411-160251) Annu. Rev. Ecol. Syst. 43: 429–448.