

DF 活体藻类在线监测系统在鄱阳湖的应用研究

熊丽黎¹ 刘爱玲² 李梅¹ 刘霞³

(1. 江西省水文局; 2. 江西省鄱阳湖水文局; 3. 中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊与环境国家重点实验室)

摘要 匈牙利科学家发明的 DF 活体浮游植物在线监测系统, 通过在线监测藻类的延迟荧光自动记录活的浮游植物光合的生物量和组成。经研究发现, 该仪器的出厂校准参数并不适用于鄱阳湖。本研究从鄱阳湖藻类现状出发, 选取几种具有代表性的藻类优势种进行纯培养, 通过分析 DF 监测数据中的荧光值与人工监测的生物量, 建立纯种藻中生物量与荧光值的校准公式, 再进一步分析混合藻之间的荧光配比, 建立了混合藻中生物量与荧光值的校准公式, 通过监测结果中的荧光, 可以应用该公式计算出各种藻的生物量, 简化了该仪器的数据处理过程, 提高了监测准确度。

关键词 DF 活体藻类在线监测系统 荧光 生物量 校准公式

鄱阳湖是中国最大的淡水湖, 近年来, 科研人员对鄱阳湖开展了大量的水生态研究, 但是对浮游植物的研究缺乏系统性, 依靠人工记数的方法分析调查浮游植物的变化趋势, 无法即时有效反映湖泊水体的富营养和水华状况, 因此持续自动监测显得尤其重要。近 20 年来, 出现了大量基于荧光理论的浮游植物监测仪器, 大多是用于快速荧光的测量^[1]。此技术测量的是所有能释放荧光的物质, 包括死的浮游植物和腐殖质。1951 年, 科学家研究发现了植物光诱导延迟荧光现象。延迟荧光 (DF) 是植物光合器官在停止光照后的发光现象, 是活细胞的专属特性, 是光合效率的指示指标^[2]。DF 活体浮游植物在线监测系统, 可在线监测藻类的延迟荧光, 并自动记录活的浮游植物光合的生物量和组成, 适用于天然浮游植物数量的持续和在线监测。基于 DF 活体浮游植物在线监测系统的技术先进性以及在国外使用的成功经验, 将该系统引入鄱阳湖, 应用于监测鄱阳湖浮游植物的数量及组成, 反映鄱阳湖藻类生存的状况, 并预测藻类水华发生的概率。

鄱阳湖具有独特的水文条件, 其藻类优势种和生长状况与其他湖泊有极大差异^[3]。我们引进的 DF 活体浮游植物及生态环境在线监测系统所提供的校准参数是以匈牙利巴拉顿湖为研究对象得到的^[4-7], 并不一定适合鄱阳湖的藻类状况。本研究在此基础上, 尝试分析 DF 中不同光照射下的荧光值与藻类生物量的关系, 找出相关参数, 建立校准公式。在实际应用中, 通过将监测结果中的荧光值代入相应校准公式中来分辨藻类优势种和生物量, 使该仪器真正应用于鄱阳湖, 为今后将其推广到其他水体奠定基础。

1 DF 活体浮游植物在线监测系统的工作原理

延迟荧光技术可有效屏蔽再悬浮、死的生物和腐殖质对测量精度的干扰。活体浮游植物及生态环境在线监测系统 (DF) 基于延迟荧光技术, 可进行延迟荧光两个方面的测量: 延迟荧光动力学特征, 即延迟荧光的消亡过程; 延迟荧光光谱, 即 DF。随不同激发光源波长的变化。这两个测量方法分别用于测量活体藻类的生物量及组成, 系统工作流程, 如图 1 所示。

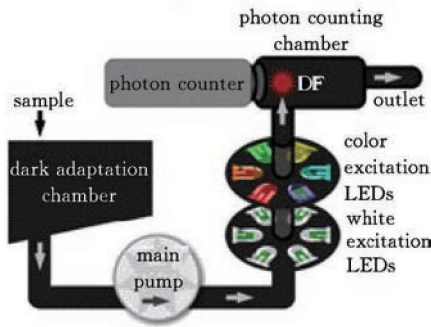


图1 DF活体浮游植物在线监测系统工作模式

结合其他水文、气象与光学等水体生态因子，分析浮游植物的季节变化模式，作为动态变化环境的函数。最终建立随季节而变化的生态因子和浮游植物生长之间的函数关系，可以充分地模拟各种水华的过程，精确探测藻类和水华的形成和消亡，从而达到预防水华发生的目的^[1]。

2 材料与方 法

2.1 试验点描述

试验地点设置在鄱阳湖水量水质水生态自动监测站。监测站选址在位于鄱阳湖的中心的蛇山岛，该岛常年平均水位以上的用地面积 18hm²，是鄱阳湖最具景观标志意义和生态意义的岛屿，该处为赣江南支、中支和信江、抚河、饶河汇合后形成鄱阳湖东水道，其水量占五河入水总量的 55%。蛇山因其独特的地理位置和极好的水文、生态、气象代表性，是开展鄱阳湖水文水生态实验研究的理想场所。

蛇山水量水质水生态自动监测站于 2011 年 5 月完成了设备引进，已投入运行。自动监测站实现了水质参数的自动分析、处理、采集、控制、传输等功能。自动监测站主要监测指标包括：气温、水位、流速流向、风速风向、波浪、水温、pH 值、电导率、氧化还原电位、溶解氧、浊度、高锰酸盐指数、总磷、总氮、氨氮、总碳等。DF 活体藻类在线监测系统安装在该监测站，与鄱阳湖水量水质水生态自动监测站同时开展自动监测。

2.2 试验方 法

DF 活体藻类在线监测系统每天早上 6 时自动采样分析。系统主要分析测量藻类生物量，识别包括蓝藻、绿藻、硅藻和隐藻四种藻类及其组成部分。同时我们从中科院水生所生物库购买到纯种培养的蓝藻（微囊藻、鱼腥藻）、隐藻、硅藻（小环藻）、绿藻（栅藻），并配置不同浓度的标准物质。通过对系统检测的六种波长的荧光值与室内分析的生物量分析两者的相关关系，并建立方程式。将纯种藻混合样、野外采集水样检测所得荧光值代入方程式进行检验，同时考虑悬浮泥沙对检测结果的影响，通过参数调整，使方程式能够更为精准地体现鄱阳湖藻类生态状况。

3 结果分 析

3.1 各波段荧光值与纯种藻生物量的校准公式

图 2 是厂家根据 DF 活体藻类分析仪对纯种藻测定结果中荧光，以及各个样品的生物量值进行分

析,并结合其他经验值所作出的不同藻类在不同波段下荧光值—生物量的关系,反映了在不同波段下,每种藻中每一份生物量占的荧光值。由图2可知,不同的藻类荧光值对生物量的贡献是有很大差异的。

我们以微囊藻为例,根据监测结果(表1),计算出不同荧光值与生物量的关系(表2)。从表2可以看出荧光值与生物量之间呈线性相关,相关关系较好。计算出的线性关系,结合不同荧光值与生物量的关系图(图2)所反应的比值来计算荧光值与藻类生物量的关系:

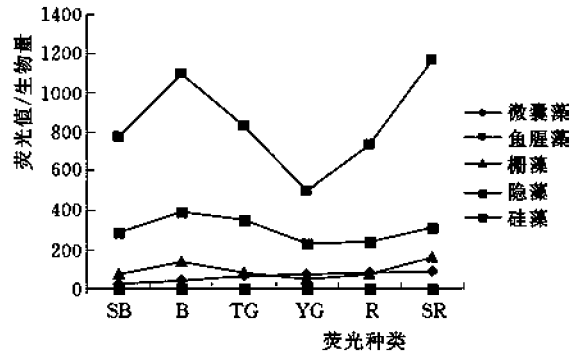


图2 不同荧光值与纯种藻生物量的关系图

$$Y_1 = 0.0232x_1 + 0.70 \times 0.0172x_2 + 0.45 \times 0.0114x_3 + 0.37 \times 0.0093x_4 + 0.33 \times 0.0084x_5 + 0.33 \times 0.0082x_6$$

式中: Y_1 为微囊藻的生物量; $x_1 \sim x_5$ 为六种不同波长下的荧光值。

表1 不同浓度纯种藻荧光值与生物量原始观测值

荧光种类 浓度	SB	B	TG	YG	R	SR	生物量 (mg/L)
原样	2182	2947	4509	5533	6096	6272	31.3
1/2	1037	1397	2079	2602	2941	2953	14.17
1/4	506	657	888	1075	1196	1232	7.06
1/8	342	429	551	633	696	734	3.29

表2 不同波长荧光值与微囊藻生物量的关系

	荧光种类	方程	相关系数
截距不为0	SB	$Y_1 = 0.5966x_1 - 48.394$	$R=0.999^{**}$
	B	$Y_1 = 0.4362x_2 - 33.791$	$R=0.999^{**}$
	TG	$Y_1 = 0.2767x_3 + 2.9341$	$R=0.999^{**}$
	YG	$Y_1 = 0.2239x_4 + 7.3763$	$R=0.999^{**}$
	R	$Y_1 = 0.2031x_5 + 3.3068$	$R=0.998^{**}$
	SR	$Y_1 = 0.198x_6 + 4.0992$	$R=0.999^{**}$
截距为0	SB	$Y_1 = 0.1392x_1$	$R=0.992$
	B	$Y_1 = 0.1034x_2$	$R=0.993$
	TG	$Y_1 = 0.0686x_3$	$R=1.000^{**}$
	YG	$Y_1 = 0.0557x_4$	$R=0.998^*$
	R	$Y_1 = 0.0503x_5$	$R=0.990^{**}$
	SR	$Y_1 = 0.0491x_6$	$R=0.998^*$

* 表示 $P < 0.05$;
** 表示 $P < 0.01$ 。

同理计算出荧光值与其他四种纯种藻藻类生物量的关系:

鱼腥藻: $Y_2 = 0.0007x_1 + 0.72 \times 0.0005x_2 + 0.0006x_3 + 1.54 \times 0.0010x_4 + 0.0007x_5 + 0.67 \times 0.0004x_6$

栅藻： $Y_3 = 0.0089x_1 + 0.54 \times 0.0049x_2 + 0.0086x_3 + 1.58 \times 0.0138x_4 + 1.11 \times 0.0099x_5 + 0.48 \times 0.0044x_6$

隐藻： $Y_4 = 0.0003x_1 + 0.75 \times 0.0003x_2 + 0.82 \times 0.0003x_3 + 1.26 \times 0.0004x_4 + 1.21 \times 0.0004x_5 + 0.0003x_6$

小环藻： $Y_5 = 0.431x_1 + 0.63 \times 0.304x_2 + 0.67 \times 0.329x_3 + 1.68 \times 0.621x_4 + 0.489x_5 + 0.550 \times 280x_6$

($Y_1 \sim Y_5$ 分别代表五种藻类生物量, $x_1 \sim x_6$ 代表六种不同波长下的荧光值, 下同)。

3.2 各波段荧光值与混合藻生物量的校准公式

为了消除不同藻类之间的相互影响造成的误差, 我们将纯种培养的藻类按一定比例混合, 形成混合藻。为进一步确定混合藻样品中各个波段荧光值与生物量之间的校准参数, 本项目根据图 2 中各种藻在各个波段下荧光值/生物量的值, 运用加权平均的方法计算出各波段中荧光值/生物量的平均值, 计算出每种藻占该波段总荧光值的比例, 结果见表 3。将不同藻类分配后的荧光值代入方程式进行计算生物量, 并跟实验室分析的生物量结果进行比对。比对结果见表 4。

表 3 各种藻占总荧光值的比例

藻种类	微囊藻	鱼腥藻	栅藻	隐藻	硅藻
所占比例	0.049	0.668	0.075	0.24	0.005

表 4 生物量方程计算值与室内观测值比对 单位: mg/L

藻类名称	方程计算值			室内观测值		
微囊藻	8.8912	5.6404	0.0807	34.30	17.60	8.35
鱼腥藻	10.4242	5.6484	0.0047	8.53	4.33	2.08
栅藻	14.8474	8.0510	0.0995	121.62	62.93	29.34
隐藻	1.9902	1.0794	0.0004	5.65	2.91	1.37

根据方程计算值与室内混合藻观测值的比对结果, 我们对方程式进行进一步参数调整。微囊藻、鱼腥藻、栅藻、隐藻方程计算值与室内观测值的线性参数分别为 3.65、0.81、8.12、2.81 (图 3)。经调整后的方程式如下:

微囊藻： $Y_1 = 3.65 \times (0.0232x_1 + 0.70 \times 0.0172x_2 + 0.45 \times 0.0114x_3 + 0.37 \times 0.0093x_4 + 0.33 \times 0.0084x_5 + 0.33 \times 0.0082x_6)$

鱼腥藻： $Y_2 = 0.81 \times (0.0007x_1 + 0.72 \times 0.0005x_2 + 0.0006x_3 + 1.54 \times 0.0010x_4 + 0.0007x_5 + 0.67 \times 0.0004x_6)$

栅藻： $Y_3 = 8.12 \times (0.0089x_1 + 0.54 \times 0.0049x_2 + 0.0086x_3 + 1.58 \times 0.0138x_4 + 1.11 \times 0.0099x_5 + 0.48 \times 0.0044x_6)$

隐藻： $Y_4 = 2.81 \times (0.0003x_1 + 0.75 \times 0.0003x_2 + 0.82 \times 0.0003x_3 + 1.26 \times 0.0004x_4 + 1.21 \times 0.0004x_5 + 0.0003x_6)$

3.3 各波段荧光值与野外实际藻类生物量的校准公式

将调整后的方程式根据湖泊实地监测值及室内留样观测值的进一步进行比对。将野外实测荧光值代入各方程式, 算得生物量与实际生物量的比对情况见表 5。

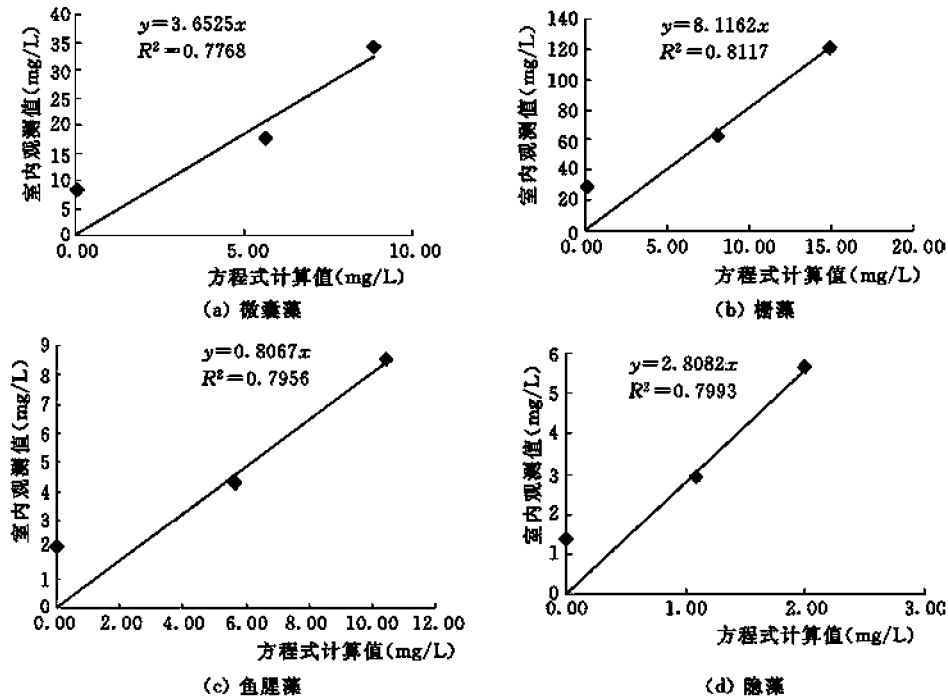


图3 混合藻生物量方程计算值与室内观测值相关关系图

表5 野外实际藻类生物量方程式计算值与室内观测值

藻类名称	测次 1		测次 2		测次 3		测次 4	
	方程式计算值	室内观测值	方程式计算值	室内观测值	方程式计算值	室内观测值	方程式计算值	室内观测值
微囊藻	0.5740	0.0005	0.4836	0.0010	2.0059	0.0044	1.4267	0.0162
鱼腥藻	1.2537	0.0015	1.0078	0.0012	5.0382	0.0308	3.8152	0.2607
栅藻	0.0554	0.0011	0.0463	0.0012	0.2284	0.0598	0.1664	0.0505
隐藻	5.0000	0.0123	10.0000	0.0276	20.0000	0.3138	13.0000	1.0945

根据表5可知，方程式计算值与室内观测值计算结果并不吻合。通过进一步分析计算两者的相关关系图发现两者之间存在线性关系，但是系数也不相同0.0024、0.0027、0.015、0.0822，如图4所示。

根据多次监测对比发现泥沙对硅藻的监测结果产生一定的影响。根据鄱阳湖水水质水量自动监测站监测资料可知各测次对应的浊度分别为207.99NTU、607.55NTU、174.69NTU、81.32NTU，跟浊度相比较发现，该系数与浊度之间存在乘幂关系 ($y=71.428x^{-1.6765}$, $R=0.83$) (图5)。

故在建立方程式时应充分考虑浊度对监测结果的影响。令浊度为S，则方程式调整为微囊藻：

$$Y_1 = 3.65 \times (0.0232x_1 + 0.70 \times 0.0172x_2 + 0.45 \times 0.0114x_3 + 0.37 \times 0.0093x_4 + 0.33 \times 0.0084x_5 + 0.33 \times 0.0082x_6) \times 71.428S^{-1.6765}$$

$$\text{鱼腥藻: } Y_2 = 0.80 \times (0.0007x_1 + 0.72 \times 0.0005x_2 + 0.0006x_3 + 1.54 \times 0.0010x_4 + 0.0007x_5 + 0.67 \times 0.0004x_6) \times 71.428S^{-1.6765}$$

栅藻：

$$Y_3 = 8.12 \times (0.0089x_1 + 0.54 \times 0.0049x_2 + 0.0086x_3 + 1.58 \times 0.0138x_4 + 1.11 \times 0.0099x_5 + 0.48$$

$\times 0.0044x_6) \times 71.428S^{-1.6765}$

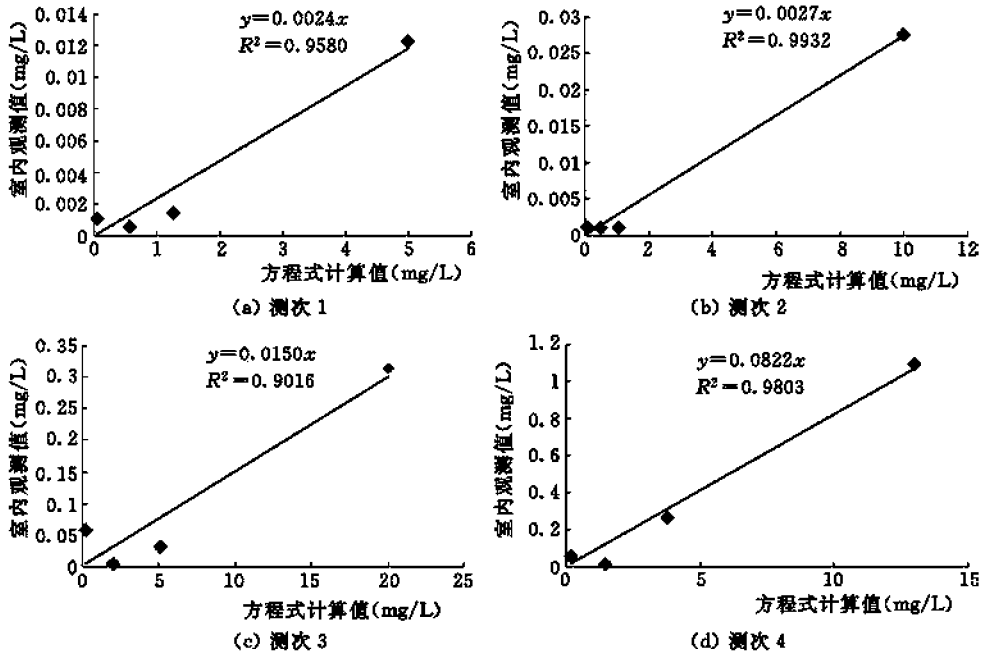


图 4 野外实际藻类方程式计算值与室内观测值相关关系图

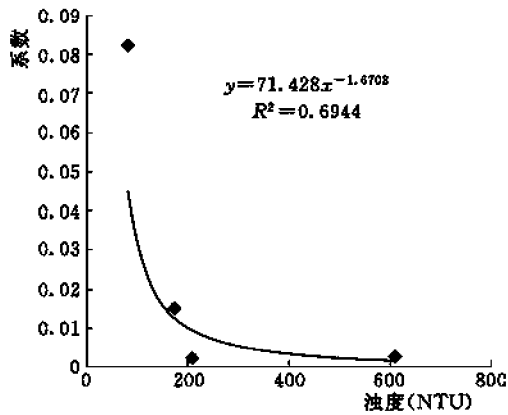


图 5 系数与浊度相关性分析

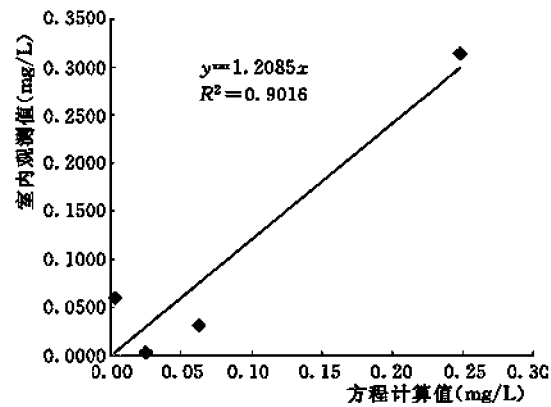


图 6 方程式计算值与室内观测值相关系数图

隐藻:

$$Y_4 = 2.88 \times (0.0003x_1 + 0.75 \times 0.0003x_2 + 0.82 \times 0.0003x_3 + 1.26 \times 0.0004x_4 + 1.21 \times 0.0004x_5 + 0.0003x_6) \times 71.428S^{-1.6765}$$

硅藻: $Y_5 = (0.431x_1 + 0.63 \times 0.304x_2 + 0.67 \times 0.329x_3 + 1.68 \times 0.621x_4 + 0.489x_5 + 0.55 \times 0.280x_6) \times 71.428S^{-1.6765}$

经计算获得方程计算值与室内观测值做比较, 结果已较为接近。两者相关系数如图 6 所示。因条件限制, 所得方程式仍存在着进一步精确细化的空间, 有待进一步研究。

4 小结论与讨论

DF 活体藻类在线监测系统所检测的六种不同波段荧光值与不同藻类生物量呈极显著线性相关。

该系统在匈牙利等国家使用过程中取得良好的效果,但是在不同的地方荧光强度与生物量之间的计算参数是不一样的,用户应通过所在地的藻类情况来计算出合理的参数。本研究已经通过多次校准获得一个较为精准的参数,方程的获得实现了 DF 活体藻类在线监测系统在鄱阳湖藻类自动监测过程中的使用。

DF 活体藻类在线监测系统在使用过程中其结果受到不同藻类荧光遮挡的影响、泥沙的影响,等等,除此以外,还容易受到光照等因素的影响。因此系统在使用过程中应尽量调整参数至尽量精准,同时为了减少系统误差,还应当增大检测频次减少光照对检测结果的影响,同时水样传输过程中,藻类生物易发生沉淀,对分析数据的准确性产生干扰,应当将仪器安装在湖内水面上,减少传输距离产生的监测误差。

DF 活体藻类在线监测系统在鄱阳湖藻类生态自动监测过程中起到了良好的效果,经过参数调整,还具有进一步在其他河流湖泊推广使用的价值。

参 考 文 献

- [1] Istvánovics V, Honti M, Osztoics A, et al. Continuous monitoring of phytoplankton dynamics in Lake Balaton (Hungary) using on-line delayed fluorescence excitation spectroscopy. *Freshwater Biology*, 2005, 50 (12): 1950 - 1970.
- [2] 谢钦铭,李长春,彭赐莲. 鄱阳湖浮游藻类群落生态的初步研究 [J]. *江西科学*, 2000, 18 (3): 162 - 166.
- [3] Honti M., Istvánovics V. and Osztoics A. (2005) Measuring and modelling in situ dynamic photosynthesis of various phytoplankton groups. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 29: 194 - 196.
- [4] Honti M, Istvánovics V, Osztoics A. Stability and change of phytoplankton communities in a highly dynamic environment—the case of large, shallow Lake Balaton (Hungary). *Hydrobiologia*, 2007, 58 (1): 225 - 240.
- [5] Honti M, Istvánovics V, Kozma Z. Assessing phytoplankton growth in River Tisza (Hungary). *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 2008, 30 (1): 87 - 89.
- [6] Istvánovics V. and Honti M. (2008) Longitudinal variability in phytoplankton and basic environmental drivers along Tisza River, Hungary. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 30 (1): 105 - 108.

作者简介:熊丽黎(1984—),女,江西省水文局,联系地址:江西省南昌市站前西路 329 号江西省水文局,邮编:330002,电话:13870870482, E-mail: audrey-6834081@163.com

资助项目:水利部“948”项目(201109)资助。