

· 监测技术 ·

DOI:10.3969/j.issn.1674-6732.2021.03.004

太湖蓝藻水华的自动监测和手工监测比对分析

钟声

(江苏省环境监测中心, 江苏 南京 210019)

摘要: 对夏季太湖野外水华蓝藻样本进行梯度稀释, 将自动监测法与手工监测法(人工镜检法和分光光度法)进行比对分析, 同时通过对野外样品的连续监测对实验结果进行验证。结果表明, 对于以微囊藻为绝对优势种的夏季太湖水体, YSI - 6600型和EXO2型便携式水质监测仪测得的叶绿素与人工镜检法测得的藻密度的调整后相关系数(R_{adj}^2)均值分别为0.906和0.936, 高于它们与分光光度法测得的叶绿素a的 R_{adj}^2 值(0.816, 0.789), 且这2种指标在各蓝藻浓度区段的回归系数变化较小, 变异系数分别为0.24和0.19, 可根据回归方程得到的自动监测法测得的叶绿素, 预测人工镜检法测得的藻密度。对同期同点位野外实际水样的监测结果表明, YSI - 6600便携式水质监测仪测得的叶绿素与人工镜检法测得的藻密度、分光光度法测得的叶绿素a的 R_{adj}^2 分别为0.899和0.769。相较于分光光度法, 自动监测法在夏季太湖蓝藻水华的监测预警中具有更大优势。

关键词: 蓝藻水华; 藻密度; 叶绿素; 线性相关性; 自动监测法; 人工镜检法; 分光光度法; 太湖

中图分类号:X832

文献标志码:B

文章编号:1674-6732(2021)03-0019-05

Comparison on Monitoring Methods of Cyanobacterial Blooms by Automatic Monitoring and Manual Monitoring in Lake Taihu

ZHONG Sheng

(Jiangsu Provincial Environmental Monitoring Center, Nanjing, Jiangsu 210019, China)

Abstract: In this study, the gradually diluted field cyanobacteria samples from Lake Taihu in summer, were used to compare the automatic monitoring method with manual monitoring method (manual microscopy and spectrophotometry), meanwhile, the experimental results are verified by continuous monitoring of field samples. The results showed that, in summer Lake Taihu dominated with *Microcystis* spp., the mean values of linear correlation coefficient (R_{adj}^2) between the chlorophyll concentrations determined by YSI - 6600 and EXO2 portable water quality monitoring instruments and algae density determined by the manual microscopy in four algae concentration sections were 0.906 and 0.936, higher than those between chlorophyll concentrations and chlorophyll a concentrations determined by spectrophotometry (0.816, 0.789). Furthermore, the regression coefficients between these two indexes varied slightly in four algae concentration sections, with the coefficient of variation of 0.24 and 0.19, respectively. According to the chlorophyll determined by automatic monitoring method based on the constructed regression equation, to predict algae density determined by manual microscopy method. The synchronous monitoring results showed that the values of linear correlation coefficient between the chlorophyll concentrations determined by instruments and algae density determined by manual microscopy, and chlorophyll measured by spectrophotometry, were 0.899 and 0.769, respectively. Hence, the automatic monitoring method is more suitable in monitoring and early warning of cyanobacterial blooms in Lake Taihu in summer compared with the spectrophotometry.

Key words: Cyanobacterial blooms; Algal density; Chlorophyll; Algal Linear correlation; Automatic monitoring method; Algal Manual microscopy method; Spectrophotometry; Lake Taihu

由富营养化引起的蓝藻水华是当前我国乃至世界所面临的重大环境议题, 在全球气温升高的背

景下, 蓝藻水华正在全球水体中快速扩张^[1-2]。在我国“三湖一库”等重要内陆水体, 蓝藻水华常年

收稿日期:2021-01-14; 修订日期:2021-04-21

基金项目:江苏省环境监测基金资助项目(2003)

作者简介:钟声(1983—), 男, 高级工程师, 硕士, 主要从事自动监测和应急监测工作。

发生^[3~6],直接威胁到区域内居民的供水安全。对水华的监测预警是判断水华发展趋势以及制定相应用对策的重要前提,其作用在水源地饮用水安全保障中尤显突出。

对蓝藻水华的常规监测手段主要有人工镜检法和色素定量法,根据检测原理的不同,后者又可以分为分光光度法和荧光定量法。人工镜检法是最传统的藻类定量方法,其优点是结果直接,可以提供丰富的分类学和形态学信息,但其缺点也显而易见,不仅过程耗时,且对操作人员业务水平的依赖程度高,因此难以满足应急管理需求。色素定量法由于检测周期短,在结果的时效性上远胜于人工镜检法,尤其是荧光定量法近几年来得到了快速发展,基于该原理开发的在线监测仪器已经在世界范围内得到了广泛应用^[7~9]。但由于荧光定量法易受到藻种组成、藻团大小、环境条件等因素的影响,其结果的精确性和可靠性时常受到质疑^[10~12]。

人工镜检法和丙酮萃取分光光度法作为标准方法,其操作流程已规范化^[13~14],而基于荧光定量法的自动监测方法目前仍无标准可参照。目前针对藻类定量方法之间的相关性研究多围绕叶绿素 a 与藻密度展开^[15~16],鲜有涉及自动监测方法的研究。由于太湖蓝藻水华监测任务时间周期长、工作量大,相关监测和管理部门已将自动监测方法常态化应用于水华监测工作中^[17],因此将自动监测方法与手工监测方法进行比对,以检验其适用性是十分迫切且必要的。现通过对上述 3 种监测方法(自动监测法、人工镜检法和分光光度法)所测叶绿素浓度和藻密度指标进行相关性分析,着重考察和评估基于荧光定量法的常用藻类自动监测仪器在夏季太湖蓝藻水华监测中的适用性。

1 研究方法

1.1 实验设计及仪器

实验设计:于 2020 年 8 月 26 日在太湖梅梁湾梅梁湖点位(东经 120.17306°,北纬 31.46889°)打捞富集了高浓度藻液,用分光光度法对藻液初始浓度进行定量,所得叶绿素 a 质量浓度为 3 330 μg/L。按不同比例将原藻液进行稀释,根据稀释倍数,得到 4 种浓度区段的藻液,分别为低质量浓度(1~30 μg/L)、中质量浓度(30~100 μg/L)、较高质量浓度(100~300 μg/L)以及高质量浓度(100~600

μg/L)。每个浓度区段所包含的浓度梯度不少于 5 个,每个梯度设 3 组平行。于 2020 年 8 月 20—27 日在同点位每日采集 1 次水样,带回实验室后进行分析。

实验仪器:含 6025 型和 6131 型荧光传感器的 YSI - 6600 便携式水质监测仪(美国 YSI 公司);含 599102 - 01 型双通道荧光传感器的 EXO2 便携式水质监测仪(美国 YSI 公司)。

1.2 样品分析及数据分析

样品分析:参考文献[18~19]对原藻液中藻种进行分类鉴定,分别用 3 种方法对配置好的不同浓度藻液进行定量分析,其中人工镜检法测定藻密度($D_{\text{镜检}}$)参考文献[13],丙酮萃取分光光度法测定叶绿素 a 浓度($\text{Chl. a}_{\text{丙酮}}$)参考文献[14]。YSI 叶绿素浓度、YSI 藻密度($\text{Chl}_{\text{YSI}}, D_{\text{YSI}}$)数据使用 YSI - 6600 便携式水质监测仪测定,EXO 叶绿素浓度、EXO 藻密度($\text{Chl}_{\text{EXO}}, D_{\text{EXO}}$)数据使用 EXO2 便携式水质监测仪测得。叶绿素仪器探头测量范围为 0~400 μg/L,分辨率 0.1 μg/L;藻密度仪器探头测量范围为 0~2 × 10⁸ 个/L。

数据分析:利用 Microsoft excel 2019 进行数据整理,利用 Origin 2019 (OriginLab, 美国) 进行数据分析和制图。

2 结果与分析

2.1 原藻液中藻种组成

夏季太湖梅梁湖水样中的藻种组成鉴定结果见表 1。由表 1 可见,微囊藻在夏季太湖梅梁湖水样中为绝对优势种,占所有藻种的比例为 90.9%,其中惠氏微囊藻占比最高,为 33.2%,其余依次为铜绿微囊藻、水华微囊藻、挪氏微囊藻、水华长孢藻。在夏季太湖梅梁湖水样中,水华蓝藻主要为微囊藻属和长孢藻属。

表 1 夏季太湖梅梁湖水样中的藻种组成

藻种名称	比例/%
水华微囊藻 (<i>Microcystis flos-aquae</i>)	13.5
鱼腥微囊藻 (<i>Microcystis ichthyoblae</i>)	2.1
片状微囊藻 (<i>Microcystis panniformis</i>)	1.2
惠氏微囊藻 (<i>Microcystis wesenbergii</i>)	33.2
铜绿微囊藻 (<i>Microcystis aeruginosa</i>)	25.1
挪氏微囊藻 (<i>Microcystis novacekii</i>)	13.4
微囊藻属 (<i>Microcystis</i> spp.)	2.4
水华长孢藻 (<i>Dolichospermum flos-aquae</i>)	9.0
其他	0.1

2.2 自动监测法与人工镜检法检测结果的相关性

两款仪器测定的叶绿素浓度(Chl_{YSI} 、 Chl_{EXO})与人工镜检法测定的藻密度($D_{\text{镜检}}$)结果,在各藻液浓度区段内都存在显著的线性相关性,其中 Chl_{YSI} 与 $D_{\text{镜检}}$ 的调整后相关系数(R^2_{adj})均值为0.906, Chl_{EXO} 与 $D_{\text{镜检}}$ 的 R^2_{adj} 均值为0.936(表2)。 D_{YSI} 与 $D_{\text{镜检}}$ 在中、低浓度区段内表现出显著的线性相关性,在较高、高浓度区段线性相关性不显著($n=21, p=0.382; n=30, p=0.543$)。 D_{EXO} 与 $D_{\text{镜检}}$ 在整个浓度区段均表现出显著的线性相关性,其中在低、中和较高浓度区段的相关性更高。当 $\text{Chl. a}_{\text{丙酮}}=30 \sim 100 \mu\text{g/L}$ 时,仪器检测结果与人工镜检法检测结果的线性相关性最高, R^2_{adj} 均值达到0.928。

表2 自动监测法与人工镜检法检测结果的线性相关性

方法指标	藻液浓度区段	线性回归系数	R^2_{adj}	n	p
$D_{\text{镜检}} - \text{Chl}_{\text{YSI}}$	低	4 430.37	0.895	18	<0.001
	中	4 051.11	0.838	15	<0.001
	较高	4 406.78	0.960	21	<0.001
	高	6 616.47	0.930	30	<0.001
$D_{\text{镜检}} - \text{Chl}_{\text{EXO}}$	低	4 265.41	0.877	18	<0.001
	中	5 494.06	0.958	15	<0.001
	较高	4 666.44	0.956	21	<0.001
	高	6 543.81	0.952	30	<0.001
$D_{\text{镜检}} - D_{\text{YSI}}$	低	0.75	0.906	18	<0.001
	中	4.42	0.964	15	<0.001
	较高	19.68	-0.010	21	0.382
	高	38.97	-0.022	30	0.543
$D_{\text{镜检}} - D_{\text{EXO}}$	低	0.46	0.905	18	<0.001
	中	4.57	0.953	15	<0.001
	较高	0.75	0.851	21	<0.001
	高	1.62	0.552	30	<0.001

2.3 自动监测法、人工镜检法与分光光度法检测结果的相关性

Chl_{YSI} 、 Chl_{EXO} 与 $\text{Chl. a}_{\text{丙酮}}$ 检测结果的线性相关性,在低浓度区段均较低,而在其他浓度区段均较高,类似的情况也出现在 $D_{\text{镜检}}$ 与 $\text{Chl. a}_{\text{丙酮}}$ 检测结果的相关性中(表3)。同样,当藻液浓度处于中浓度区段时, $\text{Chl. a}_{\text{丙酮}}$ 与 Chl_{YSI} 、 Chl_{EXO} 、 $D_{\text{镜检}}$ 的线性相关性达到最大值, R^2_{adj} 均值达到0.931。

2.4 自动监测法与人工镜检法的线性拟合

在各藻液浓度区段, Chl_{YSI} 、 Chl_{EXO} 与 $D_{\text{镜检}}$ 的回归系数波动相对较小,变异系数分别为0.24和0.19,而其他指标间的回归系数波动较大,变异系

数均>0.5,见图1(a)(b)。因此,可以在全浓度区段内用人工镜检法测得的藻密度结果对两款仪器测得的叶绿素浓度进行线性拟合。

表3 自动监测法、人工镜检法与分光光度法检测结果的线性相关性

方法指标	藻液浓度区段	线性回归系数	R^2_{adj}	n	p
$\text{Chl. a}_{\text{丙酮}} - \text{Chl}_{\text{YSI}}$	低	8.83	0.617	18	<0.001
	中	8.08	0.890	15	<0.001
	较高	2.42	0.890	21	<0.001
	高	4.76	0.866	30	<0.001
$\text{Chl. a}_{\text{丙酮}} - \text{Chl}_{\text{EXO}}$	低	7.32	0.432	18	0.002
	中	10.72	0.969	15	<0.001
	较高	2.55	0.877	21	<0.001
	高	4.68	0.876	30	<0.001
$D_{\text{镜检}} - \text{Chl. a}_{\text{丙酮}}$	低	346.00	0.650	18	<0.001
	中	499.27	0.935	15	<0.001
	较高	1 594.69	0.811	21	<0.001
	高	1 228.24	0.830	30	<0.001

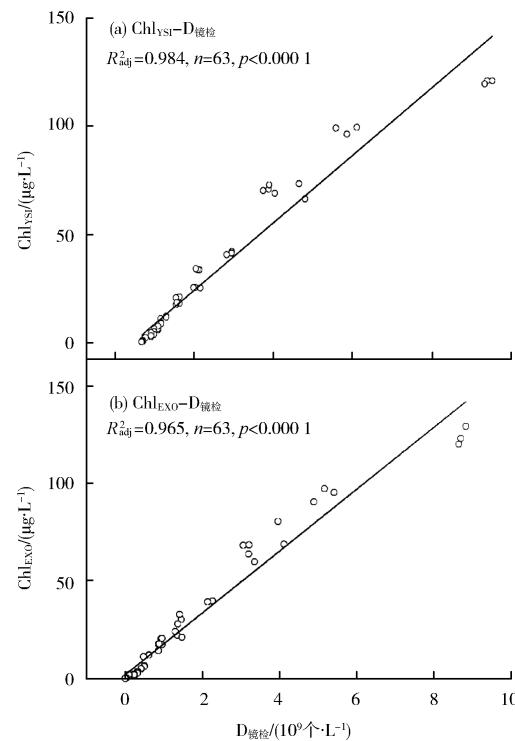


图1 自动监测法与人工镜检法的线性拟合

Chl_{YSI} 、 Chl_{EXO} 与 $D_{\text{镜检}}$ 的回归方程见式(1)–(2):

$$\text{Chl}_{\text{YSI}} = 1.563 \times 10^{-4} \times D_{\text{镜检}} + 3.232 \quad (1)$$

$$\text{Chl}_{\text{EXO}} = 1.585 \times 10^{-4} \times D_{\text{镜检}} + 1.836 \quad (2)$$

2.5 野外实际样品的线性拟合

对同期同点位的野外实际样品进行检测,结果

表明, Chl_{YSI} 、 $\text{Chl. a}_{\text{丙酮}}$ 及 $D_{\text{镜检}}$ 之间仍然存在显著的线性相关性, 但相较于上述梯度稀释实验结果, 其相关性均较低。野外实际样品的 Chl_{YSI} 与 $\text{Chl. a}_{\text{丙酮}}$ 的 R^2_{adj} 值为 0.769, 低于 Chl_{YSI} 与 $D_{\text{镜检}}$ 的 R^2_{adj} 值 (0.899), 见图 2(a)(b)。

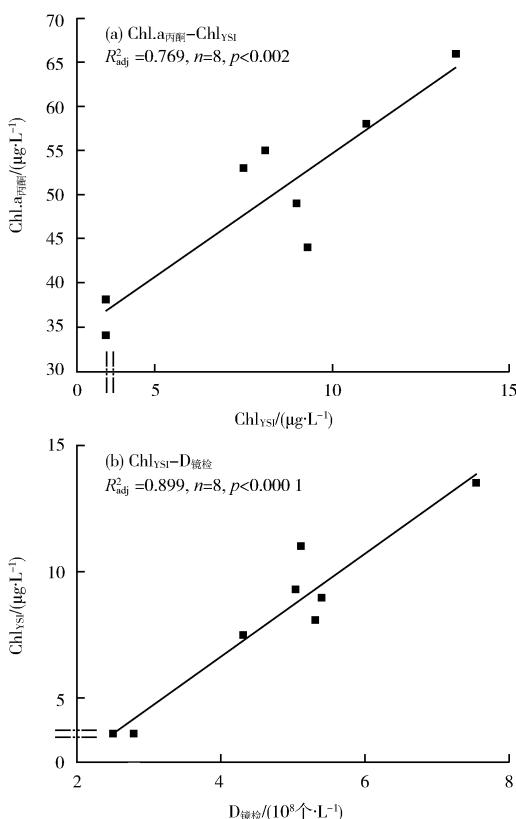


图2 野外实际样品的线性拟合

3 讨论

YSI - 6600 型和 EXO2 型便携式水质监测仪是目前我国环境监测部门使用较多的水质参数测量仪器, 前者的 6025 型和 6131 型传感器以及后者的 599102 - 01 型双通道传感器均基于荧光测量技术, 可直接检测活体藻细胞中特定色素的荧光, 从而实现对水体中藻类的定量检测^[20], 目前已被应用于太湖蓝藻水华的自动在线监测预警工作中^[17]。

3.1 各方法指标间的相关性

两款仪器测定的叶绿素 (Chl_{YSI} 、 Chl_{EXO}) 与人工镜检法测定的藻密度 ($D_{\text{镜检}}$)、分光光度法测定的叶绿素 a ($\text{Chl. a}_{\text{丙酮}}$) 均存在显著的线性正相关。值得注意的是, Chl_{YSI} 、 Chl_{EXO} 与 $D_{\text{镜检}}$ 在所有浓度区段均存在较高的线性相关性。已有研究表明, 对于

以微囊藻为绝对优势种的水体, 基于活体荧光定量法的仪器测量值与其他常规方法指标(如生物量、藻密度和叶绿素 a)之间存在与本研究类似的高相关性, 区别在于不同研究所涉及的藻密度存在差异^[7, 21]。野外微囊藻通常以藻团形式存在, 在人工镜检计数前, 若不将藻团打散, 检测结果会出现严重偏差。尽管藻团同样会对活体荧光定量结果产生不利影响^[22], 但这种影响有限, 不会对仪器测量结果的线性产生根本性影响。

相比 Chl_{YSI} 和 Chl_{EXO} , $\text{Chl. a}_{\text{丙酮}}$ 在低浓度区段与 $D_{\text{镜检}}$ 的线性相关性较差。由于分光光度法测定叶绿素 a 前, 需要采取样品过滤、破碎、萃取等一系列预处理步骤, 势必会产生系统误差和损耗。在本研究设置的低浓度区段中, 有 3 个浓度梯度低于文献[14]中的测定下限 (8 μg/L)。有研究表明, 荧光法定量的灵敏度要高于分光光度法, 且检测限低于分光光度法^[23]。因此, 对于低浓度藻液, 两款仪器检测结果的精密度和稳定性会更高。

对同期同点位野外样品采用 3 种方法检测, 结果表明, Chl_{YSI} 与 $D_{\text{镜检}}$ 、 $\text{Chl. a}_{\text{丙酮}}$ 的相关性总体趋势与梯度稀释实验结果保持一致, 但相关程度较弱。可能的原因是, 实验中使用纯水稀释, 且藻类种群基本保持不变, 相比之下, 在藻类垂向迁移、风浪扰动等作用下, 野外水体情况复杂, 且藻类群落变化较大。

3.2 藻液浓度对回归系数的影响

本研究中高浓度区段是由较高浓度区段的 7 个梯度增加 3 个高浓度梯度构成, 尽管配置的最高藻液梯度未超出荧光传感器的测量范围, 但增加的 3 个梯度分别使两款仪器的线性回归系数 ($D_{\text{镜检}} - \text{Chl}_{\text{YSI}}$ 、 $D_{\text{镜检}} - \text{Chl}_{\text{EXO}}$) 增大了 50.14% 和 40.23%。由于高浓度藻液会吸收大量的激发光而导致荧光的非线性响应^[24], 因此, 应慎重使用高浓度野外样品对仪器进行校准和系数标定, 这些高浓度值会产生很强的“杠杆效应”^[25], 导致回归系数发生较大变化。

由于蓝藻的漂移积聚, 在夏季太湖某些水域, 叶绿素 a 浓度会达到相当高的水平, 如本研究中蓝藻样品采集点位, 表层 $\text{Chl. a}_{\text{丙酮}}$ 有时 > 2 000 μg/L, 远超本研究所设浓度梯度的最大值。尽管在高浓度范围内, $D_{\text{镜检}}$ 仍可能会与 Chl_{YSI} 、 Chl_{EXO} 存在一定的线性相关性, 但由于其回归系数较其他浓度区段会发生较大变化, 因此, 需针对此浓度区段单独设

置梯度来构建两者之间的相关性,以提高回归模型的预测准确性。

4 结论

(1) 针对夏季太湖水样研究发现,在采用人工梯度稀释的各蓝藻浓度区段内, Chl_{YSI} 、 Chl_{EXO} 与 $D_{\text{镜检}}$ 均具有很高的线性相关性。

(2) Chl_{YSI} 、 Chl_{EXO} 与 $D_{\text{镜检}}$ 在各蓝藻浓度区段的回归系数变化相对较小,而其他指标间的回归系数变化较大。对同期同点位的野外实际样品进行检测,其结果的总体趋势与梯度稀释实验结果保持一致。因此,在藻类种群和聚集形态相对稳定的监测点位,可以根据本研究构建的回归方程[式(1)–(2)]预测 Chl_{YSI} 、 Chl_{EXO} 对应的 $D_{\text{镜检}}$ 。

(3) 建立了自动监测法(仪器荧光法)和人工镜检法的定量关系,可指导夏季太湖蓝藻水华的监测预警。但还须对其他季节和更多点位的样本开展进一步研究,才能得出更全面、可靠的结论。

[参考文献]

- [1] PAERL H W, HUISMAN J. Blooms like it hot [J]. *Science*, 2008, 320: 57–58.
- [2] PAERL H W, HUISMAN J. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms [J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2009(1): 27–37.
- [3] 张民, 阳振, 史小丽. 太湖蓝藻水华的扩张与驱动因素[J]. 湖泊科学, 2019, 31(2): 336–344.
- [4] 张民, 史小丽, 阳振, 等. 2012—2018年巢湖水质变化趋势分析和蓝藻防控建议[J]. 湖泊科学, 2020, 32(1): 11–20.
- [5] 鲁韦坤, 余凌翔, 欧晓昆, 等. 滇池蓝藻水华发生频率与气象因子的关系[J]. 湖泊科学, 2017, 29(3): 534–545.
- [6] 杨敏, 张晟, 胡征宇. 三峡水库香溪河库湾蓝藻水华暴发特性及成因探析[J]. 湖泊科学, 2014, 26(3): 371–378.
- [7] GREGOR J, MARSALEK B, SIPKOVA H. Detection and estimation of potentially toxic cyanobacteria in raw water at the drinking water treatment plant by *in vivo* fluorescence method [J]. *Water Research*, 2007, 41: 228–234.
- [8] BRIENT L, LENGRONNE M, BERTRAND E, et al. A phycocyanin probe as a tool for monitoring cyanobacteria in freshwater bodies [J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2008, 10: 248–255.
- [9] MCQUAID N, ZAMYADI A, PRÉVOST M, et al. Use of *in vivo* phycocyanin fluorescence to monitor potential microcystin – producing cyanobacterial biovolume in a drinking water source [J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2011, 13: 455–463.
- [10] BOWLING L, RYAN D, HOLLIDAY J, et al. Evaluation of *in situ* fluorometry to determine cyanobacterial abundance in the Murray and Lower Darling Rivers, Australia [J]. *River Research and Applications*, 2012, 29: 1059–1071.
- [11] KONG Y, LOU I, ZHANG Y, et al. Using an online phycocyanin fluorescence probe for rapid monitoring of cyanobacteria in Macau freshwater reservoir [J]. *Hydrobiologia*, 2014, 741: 33–49.
- [12] BERTONE E, BURFORD M A, HAMILTON D P. Fluorescence probes for real – time remote cyanobacteria monitoring: A review of challenges and opportunities [J]. *Water Research*, 2018, 141: 152–162.
- [13] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法 [M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 649–653.
- [14] 中华人民共和国环境保护部. 水质叶绿素 a 的测定 分光光度法:HJ 898 — 2017[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2018.
- [15] 吕洪刚, 张锡辉, 郑振华, 等. 原水藻与叶绿素 a 定量关系的研究 [J]. 给水排水, 2005, 31(2): 26–30.
- [16] 于海燕, 周斌, 胡尊英, 等. 生物监测中叶绿素 a 浓度与藻类密度的关联性研究 [J]. 中国环境监测, 2009, 25(6): 40–43.
- [17] 丁建清, 张军毅. YSI 6600 传感器在太湖蓝藻预警工作中的应用 [J]. 环境监测管理与技术, 2011, 23(1): 67–70.
- [18] 胡鸿钧. 水华蓝藻生物学 [M]. 北京: 科学出版社, 2011.
- [19] 无锡市环境监测中心站. 太湖常见藻类图集 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2017.
- [20] BEUTLER M, WILTSHERE K H, MEYER B, et al. A fluorometric method for the differentiation of algal populations *in vivo* and *in situ* [J]. *Photosynthesis Research*, 2002, 72: 39–53.
- [21] IZYDORCZYK K, TARCZYNKA M, JURCZAK T, et al. Measurement of phycocyanin fluorescence as an online early warning system for cyanobacteria in reservoir intake water [J]. *Environmental Toxicology*, 2005, 20: 425–30.
- [22] CHANG D W, HOBSON P, BURCH M, et al. Measurement of cyanobacteria using *in – vivo* fluoroscopy—effect of cyanobacterial species, pigments, and colonies [J]. *Water Research*, 2012, 46: 5037–5048.
- [23] SOBIECHOWSKA – SASIM M, STOŃ – EGIERT J, KOSAKOWSKA A. Quantitative analysis of extracted phycobilin pigments in cyanobacteria—an assessment of spectrophotometric and spectrofluorometric methods [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2014, 26 (5): 2065–2074.
- [24] 许金钩, 王尊本. 荧光分析法 [M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2006: 12–13.
- [25] MONTGOMERY D C, PECK E A, Vining G G. Introduction to Linear Regression Analysis [M]. 5th Edition. Wiley, 2012.