

湖泊沉积物的野外采集方法

Field Sampling Method of Lake Sediment

胡婷^{1,2}, 朱立峰², 王建军^{1,*}

¹中国科学院南京地理与湖泊研究所, 南京市, 江苏省, 中国; ²生命科学学院, 南京师范大学, 南京市, 江苏省, 中国

*通讯作者邮箱: jjwang@niglas.ac.cn

引用格式: 胡婷, 朱立峰, 王建军. (2021). 湖泊沉积物的野外采集方法. *Bio-101* e2003789. Doi: 10.21769/BioProtoc.2003789.

How to cite: Hu, T., Zhu, L. F. and Wang, J. J. (2021). Field Sampling Method of Lake Sediment. *Bio-101* e2003789. Doi: 10.21769/BioProtoc.2003789. (in Chinese)

摘要: 湖泊河流等水体生态系统的沉积物富含微生物资源, 对生物地球化学循环和生物多样性的维持起着非常重要的作用。采集的沉积物能否反映采样位点的真实情况对科研结果有着不可忽视的影响。本方法详细的描述了湖泊沉积物野外采样的前期准备工作、采样区域勘查工作、原位样本采集工作以及样品的分割和保存工作。利用重力柱状采泥器, 可采集湖泊中小于 100 cm 深的沉积物, 并对沉积物样品进行分层处理以用于后期的沉积物理化因子及微生物分析, 以及用来研究不同深度的沉积物中微生物的多样性和群落结构, 为微生物群落在湖泊沉积物中的垂向分布及其介导的元素地球化学循环提供理论依据。深水 (水深大于 6 m) 区域, 可安装尾翼和配重, 连接绳索, 防止重力柱状采泥器掉入水中丢失。该方法适用于采集河流、湖泊、池塘的水下沉积物 (底泥、底质、污泥)、沼泽土和泥炭土。

关键词: 湖泊, 沉积物, 微生物群落, 采泥器, 野外采样

材料与试剂

1. 20 ml 塑料采样瓶 (koraba)
2. 7 号 (110 mm x 160 mm x 0.08 mm) 无菌聚乙烯自封袋 (美翔牌)
3. 12 号 (340 mm x 450 mm x 0.08 mm) 无菌聚乙烯自封袋 (美翔牌)

4. 一次性小勺 (10 cm x 2 cm)
5. 小刀 (得力)
6. 无菌乳胶手套和橡胶手套 (海门市扬子医疗器械有限公司)
7. 便携式可调节救生衣 (江苏梅卡瓦安防科技有限公司, catalog number: 5564-1)
8. 长筒水鞋 (旭升塑胶制品有限公司, catalog number: 3531)
9. PVC 收纳箱 (得力)
10. 笔记本 (得力)
11. 圆珠笔、2B 铅笔、中性笔、防水马克笔、防磨马克笔 (得力)
12. 75%酒精 (南京化学试剂股份有限公司)
13. 烧杯 (SHUNIU, 500 ml)
14. 保鲜袋和保鲜膜 (妙洁)
15. 便签纸 (得力)

仪器设备

1. 立式蒸汽灭菌器 (江苏登冠医疗器械有限公司, 力辰科技, model: DGL-35B)
2. 电热恒温鼓风干燥箱 (上海森信实验仪器有限公司, model: DGG-9053A 型)
3. 车载冰箱 (MOBICOOL, model: C18 DC) 或者小型液氮罐
4. 手持水深自动测量仪 (北京宇艾奇电子科技有限公司, model: SQ008134)
5. 手持 GPS 定位仪 (GARMIN, GPSMAP 631sc) 和 7 号电池 (南孚)
6. 冷冻干燥机 (北京博医康实验仪器有限公司, model: FD-1A-50)
7. 重力柱状采泥器 (配有采样管、延长杆、顶锤、绳索、刮刀和尾翼配重)
8. 智能手机 (HUAWEI P40 Pro)
9. 个人电脑 (HUAWEI MateBook14)

软件

1. Microsoft Office Excel (v2019)
2. ArcGIS (v10.2)

实验步骤

一、实验室准备工作

1. 准备

购置采样所需仪器耗材并检查调试是否能正常使用。

2. 灭菌

将若干 20 ml 塑料采样瓶装入保鲜袋中，扎紧保鲜袋，放入立式蒸汽灭菌器中，设置灭菌温度 121 °C、灭菌时间 30 min，灭菌结束后取出装有塑料采样瓶的保鲜袋，直接放入干燥箱中干燥，设置干燥箱温度 40 °C、干燥时间 6 h。

将若干一次性小勺和小刀放入烧杯中，倒入 75% 的酒精淹没小勺和小刀，用保鲜膜将烧杯封口 (防止酒精挥发)，浸泡 30 min，然后取出小勺和小刀放入干燥箱中干燥。

3. 采样点的选取

通过 google 地球以及相关文献资料，对采样湖泊进行详细了解，可以按照受人类活动影响程度的不同进行采样点的布设、也可以考虑湖泊不同湖区的水体水质进行分区采样。或者采取横断面方式进行采样点设置，同时也要考虑湖泊面积、湖泊深度以及水草密度，船只出行是否方便，天气状况、水路状况等因素。

用 ArcGIS 软件将选取好的采样点绘制到地图上，获得采样点地区的经纬度，然后汇总到表格里，导入到手持 GPS 定位系统中。

4. 其他

对于有生态保护区的采样区域，提前开好单位介绍信，然后到当地联系保护区管理局开具证明，方可进入保护区进行采样。

对于需要邮寄样品或者随行托运的情况，也需要提前开好单位介绍信，证明样品无毒无害，方可进行样品的运输。

二、野外采样工作

1. 踩点

到达采样地之后，首先对采样湖泊进行踩点，检查采样点现场状况是否符合采样标准，以及能否进行实地采样。确定采样地区沉积物的状态，如沉积物呈现稀泥状态，先尝试一下能否用重力柱状采泥器采集到样品，如不能则换其他方法采样。

如果适合进行采样，则联系当地的渔民船只，确定租船时间和上船人数。查看天气状况，预估上船采样时长，制定采样过程中的往返、住宿、吃饭等计划。

2. 采样及分样

在上船之前，将 7 号无菌聚乙烯自封袋进行编号 (图 1)，使用防水马克笔在自封袋前后面均标注序号，以避免部分序号被蹭掉，从而无法识别样品。然后将已编号的 7 号自封袋使用 12 号自封袋进行分装，每个 12 号自封袋装一个样点所需的 7 号自封袋，并在 12 号自封袋前后面标注样点号，这样做可以节省在船上的工作时长，也可以避免上船后因为自封袋被湖水打湿写不上编号的情况。将已命名的自封袋、GPS 定位仪、手套、笔记本和各种笔等，装到 PVC 透明收纳箱内。车载冰箱提前插电预冷，冻好冰袋，便于在野外保存样品。穿好救生衣和长筒水鞋。检查重力柱状采泥器各部分是否完整、其他配件是否齐全。

将材料器材搬运到船上，采样人员上船。根据 GPS 定位系统 (图 1) 中采样点经纬度信息将船开到指定采样点。首先对采样点周围进行拍照，一般前后左右拍四张照片 (图 2)。使用手持水深自动测量仪测量水体深度，并记录在笔记本上，当水体深度超过 6 m 时重力柱状采泥器需要安装尾翼和配重。将采泥器手柄连接的绳索与船体绑在一起，之后“采样人员 1”戴橡胶手套开始组装重力柱状采泥器，将采泥器手柄下方的两个螺旋杆拧松，装上采样管，然后旋转两个螺旋杆直到拧紧为止，用手拉动采样管，当采样管拉不下来时说明已安装好。将球形塞连接的挂绳与采泥器手柄下方的支架连接起来，确保挂绳没有打弯儿和松动，此时球形塞的状态是悬挂在采样管的一侧。“采样人员 1”竖直将采泥器放入湖水中，等待采泥器自由下落，当轻轻拉动绳索有拉不动的感觉时，说明采泥器已经下降到最底端，此时将采泥器从湖底中拉上来。此过程需要一直保持采泥器竖直状态，被拉上来的采泥器的采样管下半部是采集到的沉积物样品，上半部分是空管，球形塞堵在了采样管的下端管口(Poulton, 1995; EPA, 2001)。

将沉积物柱与采样管分离的过程需要两到三人操作完成，首先“采样人员 1”握着采泥器保持竖直状态，“采样人员 2”将球形塞剥离并迅速将顶锤堵在采样管的下端管口，测量沉积物的柱长并记录。“采样人员 1”将两个螺旋杆拧松采样管从采泥器支架上脱离下来 (保持竖直状态)，“采样人员 2”将延长杆与顶锤连接，推动顶锤使沉积物样品自下而上被慢慢推出来，“采样人员 3”戴无菌乳胶手套以 1 cm (根

据科研需要也可以选择 0.5 cm、1.5 cm 或者 2 cm 等间隔为单位进行分割) 间隔为单位连续分割沉积物样品。用刮刀切取 0–1 cm、1–2 cm、2–3 cm……的沉积物样品装入已经写好编号的 7 号自封袋中, 注意装到自封袋底部的一个角落里, 避免样品糊满整个袋子内壁 (图 3)。上层的沉积物普遍呈现淤泥状, 比较软不成形, 建议使用坚硬的、大号的刮板分割样品, 使切好的样品分离到刮板上, 然后转移到自封袋中。另外, 不建议将沉积物柱子整体推出后分割, 这样做不易保持柱子的完整性且容易造成样品污染。

沉积物柱分割结束后将该采样点的所有 7 号自封袋样品装入写好编号的 12 号自封袋密封保存, 放入车载冰箱中低温保存。用湖水清洗干净采样管和顶锤, 接下来进行平行采样或者到下一个采样点采样。所有采样结束后收起采样工具和所采集的样品, 下船上岸。

接下来, 将采集到的沉积物从 7 号自封袋转移到 20 ml 的塑料采样瓶中。首先需要在塑料采样瓶上写编号, 在每 2 个塑料采样瓶 (每个 7 号自封袋的样品装入 2 个塑料采样瓶中) 的瓶盖和瓶身上用防磨马克笔写上与 7 号自封袋相同的编号。然后从车载冰箱中取出样品, 采样人员戴无菌乳胶手套, 用准备好的小刀在 7 号自封袋底部划开, 用小勺挖出样品转移到写好编号的塑料采样瓶中, 之后拧紧瓶盖, 注意塑料采样瓶不要装的太满, 因为后期冷冻保存时样品体积会膨胀变大。将同一个采样点所有装好样品的塑料采样瓶放入两个保鲜袋中 (编号相同的塑料采样瓶分别放入两个保鲜袋), 贴上标签纸, 写清楚具体采样地点、采样深度和采样时间, 扎紧保鲜袋 (图 4), 放入车载冰箱中保存。将车载冰箱送到当地的快递点邮寄或者随行托运, 带回实验室。到达实验室后, 其中一袋样品冷冻 ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) 保存, 另一袋样品冷藏 ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) 保存, 直到后期进行样品的微生物 (冷冻样品) 和间隙水 (冷藏样品) 分析 (Wang *et al.*, 2013)。

三、采样记录

采样点照片上传到个人电脑中保存, 采样地点、样品编号、采样深度、采样时间、样品数量和水体深度记录到笔记本上, 然后整理到 excel 表格中, 将照片和表格放到专门的文件夹下保存。

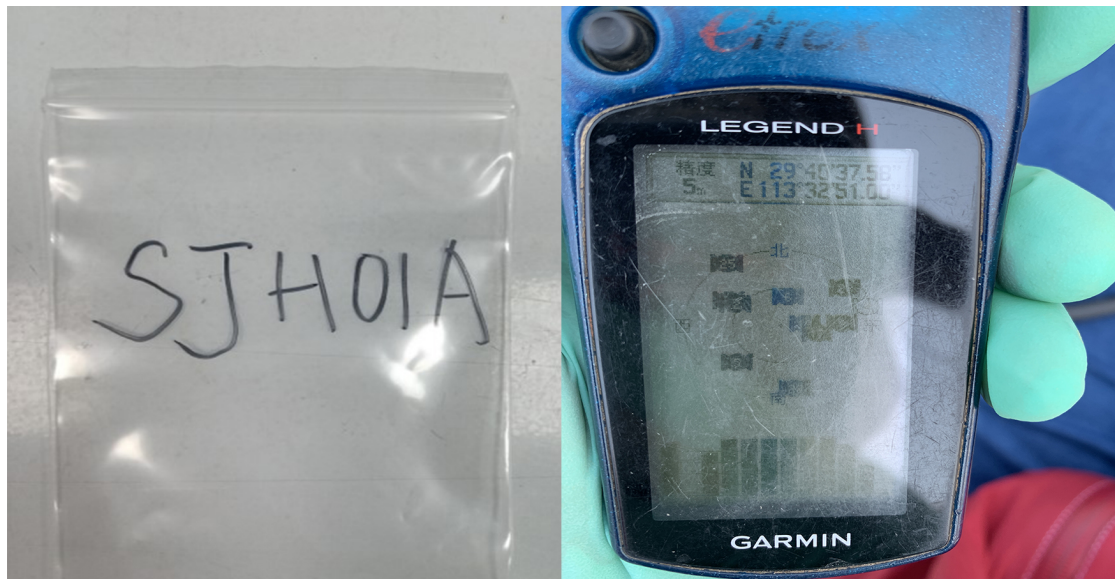


图 1. 写编号和 GPS 定位



图 2. 采样点四周照片

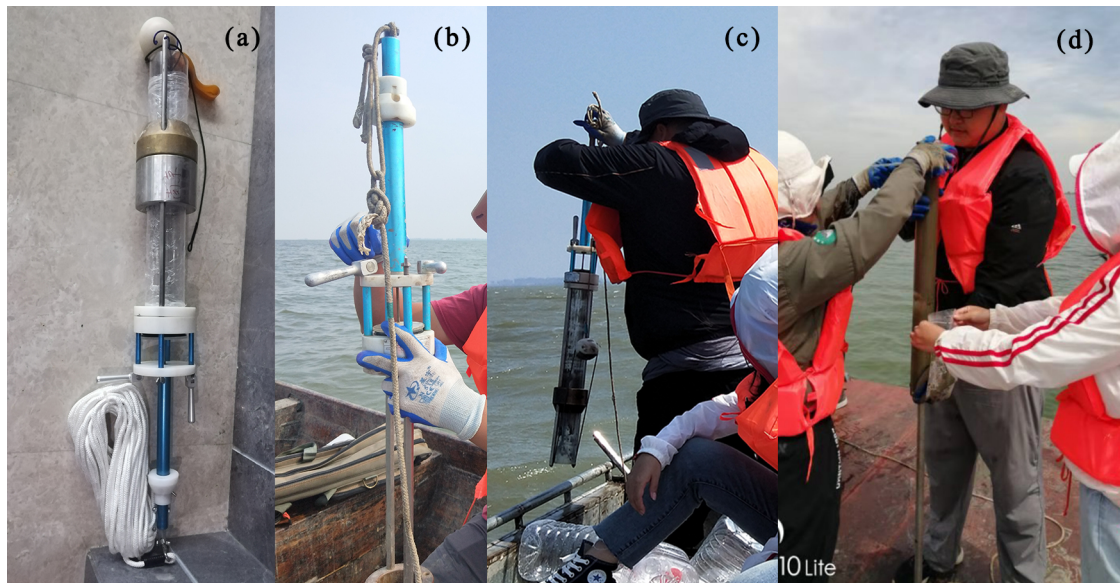


图 3. 沉积物采集过程 (a) 重力柱状采泥器; (b) 重力柱状采泥器 (未安装采样管); (c) 安装好的采泥器准备放入湖水中; (d) 分割沉积物样品。



图 4. 分装好的沉积物样品

致谢

本工作得到国家自然科学基金 (91851117) 的支持。

参考文献

1. Poulton B C. (1995). [Handbook of Techniques for Aquatic Sediments Sampling](#). *Aquatic Toxicology*, 33(1):90-92.
2. U.S. EPA. (2001). [Methods for Collection, Storage and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses: Technical Manual](#). EPA 823-B-01-002. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC.
3. Wang, J., Shen, J., Wu, Y., Tu, C., Soininen, J., Stegen, J. C., He, J. Liui, X., Zhang, L. and Zhang, E. (2013). [Phylogenetic beta diversity in bacterial assemblages across ecosystems: deterministic versus stochastic processes](#). *The ISME Journal*