

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2025.05.010

# 济南市重点水域硅藻检验研究

孙来晶<sup>1</sup> 尹旭晨<sup>2</sup> 张磊磊<sup>3</sup><sup>1</sup> 山东警察学院刑事科学技术学院, 济南 250200; <sup>2</sup> 德州市公安局德城分局刑侦大队, 德州 253011;<sup>3</sup> 山东省公安厅刑事侦查总队, 济南 250001)

**摘要** **目的** 探究济南市重点水域硅藻分布特征, 为确定是否溺死及溺死地点提供参考。**方法** 采集济南市几处重点水域的水样, 运用基于滤膜富集的真空抽滤技术与扫描电镜联用的方法对水样进行检测, 得出硅藻特征数据。**结果** 小清河水域检见硅藻平均含量和硅藻种属数量最多, 分别为 26 805 个/50 mL 和 19 种; 黄河水域检见硅藻平均含量和硅藻种属数量最少, 分别为 24 个/50 mL 和 4 种; 小环藻属为大多数水域的优势属, 其它水域优势属还有舟形藻属、菱形藻属、针杆藻属、曲壳藻属和海链藻属。**结论** 济南市重点水域硅藻特征有较大差异, 可为溺死诊断及落水地点推断提供科学依据。

**关键词** 溺死; 硅藻检验; 滤膜富集; 真空抽滤; 扫描电镜

中图分类号: D919.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2025)10-433-05

## Study of diatoms test in key water bodies in Jinan

SUN Laijing<sup>1</sup>, YIN Xuchen<sup>2</sup>, ZHANG Leilei<sup>3</sup><sup>1</sup> College of Criminal Science and Technology, Shandong Police College, Jinan 250200, China;<sup>2</sup> Criminal Investigation Brigade of Decheng Branch, Dezhou Public Security Bureau, Dezhou 253011, China;<sup>3</sup> Criminal Investigation Corps of Shandong Provincial Public Security Department, Jinan 250001, China)

**Abstract: Objective** To explore the distribution characteristics of diatoms in key water bodies of Jinan, providing reference for determining drowning incidents and the locations where drowning occurred. **Methods** Water samples were collected from several key water bodies in Jinan. The samples were tested using a method combining vacuum filtration technology based on filter membrane enrichment with scanning electron microscopy, resulting in diatom characteristic data. **Results** The Xiaoqing River water body exhibited the highest average diatom density and the richest diatom species, with 26,805 cells/50mL and 19 species, respectively. In contrast, the Yellow River water body showed the lowest average diatom content, with only 24 cells/50mL and 4 species. Cyclotella was the dominant genus in most water bodies, while other dominant genera included Navicula, Nitzschia, Synedra, Achnanthes and Thalassiosira. **Conclusion** The diatom characteristics in key water bodies of Jinan show significant differences, which can provide a scientific basis for the diagnosis of drowning and the estimation of the drowning site.

**Keywords:** Drowning; Diatom test; Filter membrane enrichment; Vacuum filtration; Scanning electron microscope

济南市水域众多, 法医检案中水中尸体常见, 水中腐败尸体的死因鉴定一直是工作中的难题。硅藻在水域中分布广泛, 从肝、肾、脑、骨骼、牙齿等多个脏器检出硅藻, 是鉴定水中尸体是否溺亡的关键。硅藻检验是法医学中诊断溺死的关键方法之

一, 硅藻的硅质细胞壁具有不同的形态和良好的耐腐蚀性, 能在组织器官中存留较长时间, 可以作为硅藻分类的依据<sup>[1-2]</sup>。近年来对硅藻的研究主要体现在硅藻检验方法的改进, 以及对不同区域硅藻特征数据的完善, 以珠江、长江为代表的南方主要水系硅藻特征数据库已基本建立。本文选取济南市内水中尸体多发的水域, 采用基于滤膜富集的真空抽滤技术与扫描电镜联用的方法开展硅藻检验, 进

[基金项目] 山东省重点研发计划(重大科技创新工程)项目(2021CXGC011305)

一步完善济南市重点水域中硅藻特征的数据,为水中尸体案件的侦办提供重要参考<sup>[3-4]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

EM ACE200 型离子溅射仪(徕卡公司,德国)、Quanta650 型扫描电子显微镜(FEI 公司,美国)、MW3000 微波消解仪(Anton Paar 公司,奥地利)、HL-6 型多联真空抽滤仪(珠海黑马医学仪器有限公司,中国)、甲醛(分析纯,莱阳市康德化工有限公司)、无水乙醇(分析纯,天津恒兴化学制造有限公司)、浓硝酸(分析纯,昆山金城试剂有限公司)、30%过氧化氢溶液(默克股份两合公司)、超纯水、Y220 一次性抽滤杯(内含滤膜)(珠海市祥臻生物科技有限公司)<sup>[5]</sup>。

### 1.2 方法

**1.2.1 水样采集** 1)采集时间及地点。2023 年 6 月份于济南市小清河水域、黄河水域、绣源河水域、南部山区水域以及济南城区大明湖水域等 5 个不同水域取水样,每个水域选择 2~3 个采样点。采样点分别是 A1-小清河泺口段,A2-小清河将军路段;B1-黄河建邦大桥,B2-黄河母亲河公园;C1-绣源河 1,C2-绣源河 2;D1-南部山区卧虎山水库,D2-南部山区锦绣川水库;E1-护城河环城公园,E2-大明湖,E3-王府池子。

2)取样方法。于每个取样地点各取岸边、离岸边 1 m 表面、离岸边 1 m 水下 1 m 处水样 500 mL,加 1 mL 甲醛水溶液后贴好标签,于 4 ℃ 冷藏箱中避光保存。采样过程中避免盛装水样的容器重复使用,取样前用采样点的水样冲洗 2~3 次,保证水样不被污染。

**1.2.2 水样硅藻种属、含量的检测** 1)水样的处理。本次实验采用基于滤膜富集的真空抽滤技术与扫描电子显微镜联用的方法检测水样中的硅藻含量、种属,采用随机抽样的方法选择多组不同视场并拍摄得到图像;同时拍摄硅藻的细目照片<sup>[5]</sup>。具体操作步骤如下:

微波消解。取出 50 mL 水样,加入 8 mL 浓硝酸和 2 mL 过氧化氢,将混合所得液体置于消解管中,在微波消解仪中以 100 ℃ 加热 50 min,消解完成后冷却至室温。

真空抽滤。将消解完成所得的液体与超纯水以 1:5 的比例混合,倒入有机膜抽滤杯中,用多联

真空抽滤仪进行真空抽滤。抽滤完成后加入 50 mL 超纯水继续抽滤,使滤膜表面接近中性,最后加入 20 mL 无水乙醇抽滤,使滤膜干燥。

电镜检测。用离子溅射仪在干燥后的滤膜上镀一层金膜,利用牛津能谱仪的 GSR 软件,在滤膜有效抽滤范围内以圆形区域(半径为 8 mm)自动采集图片,扫描电镜和能谱仪工作参数:加速电压为 20 kV 或 25 kV,工作距离约 10 mm,放大倍数 800 倍。在利用 GSR 软件采集完图片后,分别以 10 个不同视场(每个视场为 372.3 μm×320.2 μm)作为起始视场,采取等距法挑选出 10 组(每组 20 个视场),对 10 组视场分别进行硅藻含量和种属分类统计,并以此计算出整个水样中硅藻的数量以及种属<sup>[5]</sup>。

2)硅藻玛格列夫(Margalef)丰富度指数(d)的测定。玛格列夫(Margalef)丰富度指数是一种用于评估生态系统物种丰富程度的生物多样性指标。计算公式为:

$$d = \frac{(S-1)}{\ln N}$$

计算中采取每个采样点 3 份水样的平均值。其中,S 为物种数,N 为总个体数。

3)硅藻香农-威纳(Shannon-Wiener)多样性指数(H)的测定。香农-威纳(Shannon-Wiener)多样性指数用于衡量群落中物种的多样性。计算公式为:

$$H = -\sum_{i=1}^s P_i \times \ln P_i \quad P_i = \frac{n_i}{N}$$

计算中采取每个采样点 3 份水样的平均值。其中, $P_i$  为第 i 个物种的个体比例。

4)硅藻均衡度指数(E)的测定。均衡度指数(E)是衡量群落中物种分布均匀性的一个指标,它描述的是群落中不同物种个体数的相似性或均匀性。通过估计群落的理论上的最大香农-威纳多样性指数( $H_{max}$ ),然后以实际的多样性指数与  $H_{max}$  的比值,作为均衡度指数。计算公式为:

$$E = \frac{H}{H_{max}}$$

$$H_{max} = \log_2 S$$

计算中采取每个采样点 3 份水样的平均值。其中,S 为物种数。

5)硅藻辛普森(Simpson)多样性指数(D)的测定。辛普森(Simpson)多样性指数是生态学中用来

衡量群落多样性的一个指标,他更侧重于群落中物种的相对优势或支配程度。辛普森多样性指数描述从一个群落种连续两次抽样所得到的个体数属于同一种的概率。计算公式为:

$$D = 1 - \sum_{i=1}^s P_i^2$$

计算中采取每个采样点 3 份水样的平均值。其中,  $P_i$  为第  $i$  个物种的个体比例。

6) 硅藻物种优势度指数(Y)的测定。优势度指数是在群落的类群组成基础上进一步推算出来以表达群落组成状况的指标。优势度指数越大,表明生物群落内不同种类生物数量分布越不均匀,优势生物的生态功能越突出<sup>[6]</sup>。物种优势度指数可以反映出样本中的优势硅藻种属及其优势率,当  $Y > 0.02$  即为优势种群,计算公式为:

$$Y = \frac{n_i}{N} \times f_i$$

计算中采取每个采样点 3 份水样的平均值。其中,  $f_i$  为第  $i$  个物种在样本中出现的频率。

## 2 结果

### 2.1 各水域硅藻含量及种属分布

本次实验中 11 个采样点共检出 20 种不同的硅藻,分别为小环藻属、舟形藻属、菱形藻属、针杆藻属、直链藻属、曲壳藻属、异极藻属、海链藻属、圆筛藻属、桥弯藻属、冠盘藻属、尾管藻属、双壁藻属、双菱藻属、菱板藻属、卵形藻属、布纹藻属、等片藻属、波缘藻属、脆杆藻属。不同采样点检出的硅藻数量及硅藻数量的差异性见表 1。

表 1 不同采样点检出的硅藻数量

采样点	岸边 (个/50mL)	离岸 1 米表面 (个/50 mL)	离岸 1 米水下 1 米处(个/50 mL)
A1	31 801	27 513	30 860
A2	13 411	13 747	43 499
B1	27	19	30
B2	21	11	38
C1	6 321	6 758	8 578
C2	1 069	1 378	1 240
D1	22 980	7 423	29 155
D2	6 910	9 427	13 331
E1	469	619	524
E2	1 370	2 757	3 031
E3	4 967	2 194	2 209

2.1.1 不同水域硅藻含量及种属数量的差异 小清河水域中检出的硅藻种属数量最多,为 19 种;黄河水域中检出的硅藻种属数量最少,为 4 种。小清河泺口段采样点检见硅藻平均含量最高,为 30 058 个/50 mL;黄河母亲河公园采样点检见硅藻平均含量最少,为 23 个/50 mL。综合来看,小清河水域检见硅藻平均含量最多,为 26 805 个/50 mL,黄河水域检见硅藻含量最少,为 24 个/50 mL。

2.1.2 同一河流不同位置硅藻含量的差异 同一条河流不同位置的水质、温度、pH 值等环境因素不尽相同,这也导致同一河流不同位置硅藻含量稍有差异。如绣源河,C1 采样点检见硅藻含量为 7 219 个/50 mL,C2 采样点检见硅藻含量为 1 229 个/50 mL,差异较大;其它两条河流小清河、黄河的两个采样点检见硅藻含量差异较小。

2.1.3 同一采样点不同位置硅藻含量的差异 从检见的硅藻数量来看,大多数采样点岸边处及离岸水下处硅藻含量较多,少数采样点离岸表面处硅藻含量最多,得不出统一的规律。后续可以通过定点采集多个深度的水样,检测硅藻含量并计数,得出规律。

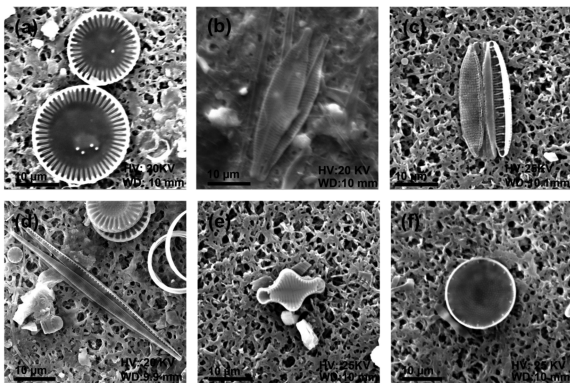
2.1.4 不同水域硅藻优势藻属分布 根据物种优势度指数可以得出,小环藻属为大多数水域的优势藻属,其它水域优势种还有舟形藻属、菱形藻属、针杆藻属、曲壳藻属,另外绣源河 C1 采样点处优势种为海链藻属。同一水域不同采样点硅藻的优势藻属大致相同,不同水域优势藻属稍有差别,即使优势藻属相同,其优势度也有差异(见表 2)。

表 2 不同水域采样点优势藻属

采样点	优势藻属(优势度)
A1	小环藻属(0.0415)
A2	小环藻属(0.0438)
B1	小环藻属(0.1086)、舟形藻属(0.0888)、菱形藻属(0.0428)
B2	小环藻属(0.0857)、舟形藻属(0.1429)、菱形藻属(0.1048)
C1	海链藻属(0.1109)
C2	小环藻属(0.0249)、针杆藻属(0.0534)
D1	针杆藻属(0.0995)
D2	针杆藻属(0.1143)
E1	曲壳藻属(0.0412)、舟形藻属(0.0373)
E2	针杆藻属(0.0369)、小环藻属(0.0203)
E3	舟形藻属(0.0307)、曲壳藻属(0.0283)

不同水域硅藻优势藻属电镜下的形态图像,如

图 1 所示。



注:a 图为小环藻属;b 图为舟形藻属;c 图为菱形藻属;d 图为针杆藻属;e 图为曲壳藻属;f 图为海链藻属。

图 1 电镜下不同水域优势藻属形态

### 2.2 各水域硅藻生物指数

对于大多数采样点,玛格列夫指数、香农-威纳多样性指数与辛普森指数反映的硅藻种群的多样性大致相同,一般同时呈现出多样性高或多样性低的特征。比如小清河、绣源河水域,多样性指数均较高,因存在较明显的优势种,均衡度指数较低;黄河水域检出的硅藻含量较少,但群落由小环藻、舟形藻等少数种属主导,其均衡度指数较高,可能与物种总数过少有关;南部山区水库物种多样性较低,均衡度指数也较低;济南城区大明湖、护城河等水域物种多样性指数较高,均衡度指数同样较高,各硅藻种属分布比较均匀<sup>[7]</sup>。见图 2。

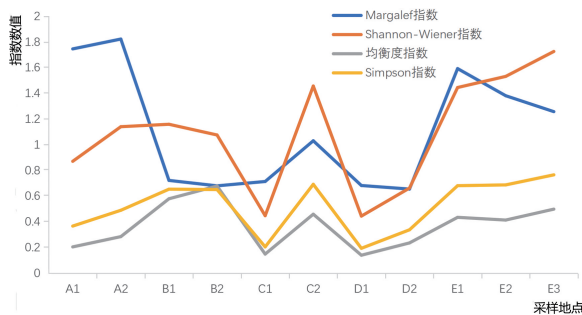


图 2 各采样点硅藻生物指数对比图

### 3 讨论

济南市水域众多,分布广泛,办案中常遇到水中尸体,以夏季居多,多分布在小清河、黄河济南段、南部山区水库等水域。判断死者是否为溺水死亡以及确定落水地点是解决此类事件的关键。硅

藻检验是水中尸体法医学检验的重要手段,掌握相关水域硅藻的含量、种属等特征,对侦查办案具有重要的作用。

#### 3.1 不同水域硅藻含量及种属差异性

小清河水域检见硅藻的含量最多、种属最丰富,城区护城河公园水域检见硅藻含量相对较少,南部山区水域及城区大明湖水域硅藻种属丰富度较高。小环藻属为大多数水域的优势种属,南部山区水域的优势种属为针杆藻属,城区各水域优势种属主要为舟形藻属、曲壳藻属。不同水域的水文条件不同,各项理化性质的指标也不相同,这就导致各水域硅藻在含量及种属分布上产生差异。

黄河水域两处采样点检出的硅藻含量很低,较其它水域检出的硅藻含量差异较大,但其群落并非无规律可循,它由小环藻属、舟形藻属等少数几个种属主导。这一特征同样具有重要的识别意义。泥沙对水体透明度产生影响进而影响硅藻的光合作用,泥沙对水体的 pH 值具有很强的缓冲能力,少量泥沙对硅藻的生长有一定的促进作用,随着泥沙粒径的增加则对硅藻生长产生一定抑制,硅藻最大峰值减小<sup>[8]</sup>。本实验中,在黄河水域两处采样点水体含沙量均较大,超过了一定的阈值,较高的不透明度影响了硅藻的光合作用,不利于硅藻的生长,导致从这两处取得的水样检见的硅藻含量较低、种类较少。但本研究中由于样本较少,结果可能具有偶然性,有待后续进一步的研究证实。

在遇到水中有腐败尸体案件时,可通过检验尸体脏器中硅藻的含量和种属特征,与发现尸体水域的硅藻特征进行比对,判断是否为溺亡地点。如果不相同,则可与上述其他水域中的硅藻特征进行比对,进一步推断溺水地点。

#### 3.2 影响硅藻含量及种属分布的因素

硅藻的生长受诸多因素如水温、光强、氮磷等营养盐含量、酸碱度及水体自身的水文条件等影响且硅藻对环境比较敏感,当水体的流量、流速、酸碱度、含沙量等理化条件变化时,水中硅藻的含量及种属就会发生相应的变化,这也解释了为什么同一条河流不同流域硅藻的含量、种属稍有差异。硅藻分布有明显的季节性,据杜宇等<sup>[9]</sup>对辽宁省内部分水域硅藻分布随季节变化规律的研究发现,硅藻含量及种属数 12-2 月最低,5 月和 10 月为双高峰期。本研究中水样采集时间为夏季,所获数据为此时期的精准鉴定提供了依据。未来建立涵盖四

季的动态数据库,将能提供更全面的时间维度参考。

### 3.3 实验过程中可能存在的误差分析

**3.3.1 关于水样** 水样采集过程中是否受到污染,需要同时注意多种因素,如盛装水样的容器在取样前是否用采样点水样冲洗数次,水枪、水带等耗材在使用后是否及时更换;抽滤开始,从盛装水样的容器中取水样时是否先将水样摇匀并从容器中央处取水样<sup>[10]</sup>。

**3.3.2 关于消解温度及时间** 刘景建<sup>[11]</sup>对温度与时间对硅藻的影响的研究指出,在使用微波消解法处理水样时,过高的温度及过长的消解时间均会导致硅藻的回收数量减少。本次实验采用的消解温度为 100 ℃,消解时间为 50 min,消解温度与时间均在适宜范围内。不同种类的硅藻对高温的耐受程度不一样,对所有水样在相同的条件下消解,可能有少数硅藻在消解过程中破裂,对实验结果产生一定影响。

**3.3.3 关于随机采集的图像** 真空抽滤可以使硅藻较均匀分布在滤膜的有效抽滤面积内,在计数时,应选择足够多的视场,否则某些本来就稀少的硅藻种属极有可能被遗漏,导致数据缺失。本实验选取 50 ml 水样进行抽滤,尽量保证各硅藻种属都具有一定的数量,同时在滤膜有效抽滤面积内随机选择 100 个视场拍摄采集照片,尽量降低了误差。

**3.3.4 关于人员和设备** 实验技术人员工作经验不同,对电镜等设备的操作熟练程度也有差异,给硅藻特征的识别带来一定的影响。另外,不同实验室对实验设备的维护和校准要求不同,也可能对硅藻数据的记录产生影响。今后应加强对实验人员的技术培训,进一步完善实验室认证认可体系,强化检验的过程控制和结果控制,提高对检验质控的监管。

### 3.4 硅藻检验技术的展望

当前硅藻检验中,硅藻数量的计数一般需要人工进行。随着人工智能技术的发展,基于深度学习的硅藻自动检测技术,能够对视野中的硅藻自动识别并计数,有效提高硅藻检验的速度和准确率,是今后研究的重点方向<sup>[12]</sup>。另外,随着 DNA 检验技术的普及,利用 DNA 技术检测硅藻 DNA 序列,如检测 16srDNA (小核糖体亚单位编码基因) 和 SSU (核糖体小亚基基因) 等,具有灵敏度高、特异性强

的特点,也可准确检测硅藻的种属<sup>[13]</sup>。

本文主要检测了济南市几处重点水域硅藻的特征,进一步完善了济南市的硅藻特征数据,为水中尸体的死因鉴定及落水地点的推断,提供了重要依据。今后如能建立全省乃至全国重点水域硅藻的特征数据库,则对水中尸体的协查更具实际意义,这需要多个地区协作完成。

利益冲突:所有作者均申明不存在利益冲突。

### 参考文献:

- [1] 窦姚依依,聂胜洁,孔维珠,等.法医学硅藻检验技术近年来的应用发展[J].中国法医学杂志,2024,39(2):204-208. DOI:10.13618/j.issn.1001-5728.2024.02.016.
- [2] 王玉仲.滤膜富集-光镜检验硅藻技术的建立及其法医学应用[D].广州:南方医科大学,2015.
- [3] 刘景建,杜宇坤,赵建,等.消解温度与时间对硅藻检验结果的影响[J].法医学杂志,2022,38(1):77-81. DOI:10.12116/j.issn.1004-5619.2021.410611.
- [4] 王如武,张丽华,邱越,等.硅藻法医检验方法改进[J].中国法医学杂志,2024,39(4):492-495,499. DOI:10.13618/j.issn.1001-5728.2024.04.022.
- [5] 李鹏,张妍,胡琨,等.德州市水域中硅藻分布的研究[J].刑事技术,2021,46(2):140-145. DOI:10.16467/j.1008-3650.2021.0037.
- [6] 苏潇男,韩笑,方赞,等.京杭大运河济宁段秋冬季硅藻分布及法医学应用[J].中国法医学杂志,2020,35(3):290-295. DOI:10.13618/j.issn.1001-5728.2020.03.011.
- [7] 杨青,唐厚全,张水燕,等.污染治理前后小清河上游浮游植物群落变化与水质评价[J].中国环境监测,2024,40(1):151-164. DOI:10.19316/j.issn.1002-6002.2024.01.17.
- [8] 张显忠.三峡库区重庆段泥沙对硅藻生长影响试验研究[D].重庆:重庆大学,2006.
- [9] 杜宇,霍长野,张子铭,等.辽宁清河、棋盘山两座水库中硅藻种群及数量变化规律的法医学研究[J].刑事技术,2013(6):11-15. DOI:10.3969/j.issn.1008-3650.2013.06.004.
- [10] 刘萌妍,赵伟,赵怡.硅藻检验方法及其在法医学溺死诊断中的应用现状[J].刑事技术,2019,44(4):343-346. DOI:10.16467/j.1008-3650.2019.04.013.
- [11] 刘景建.温度与时间对硅藻的影响及溺死尸体肺组织与水样中硅藻的特征分析[D].昆明:昆明医科大学,2022.
- [12] 吴彬聪.基于深度学习的海洋硅藻识别方法研究[D].杭州:杭州电子科技大学,2021.
- [13] 刘鑫.硅藻检测在溺死鉴定中的应用[J].科技资讯,2017,15(33):217,225. DOI:10.16661/j.cnki.1672-3791.2017.33.217.

(收稿日期 2024-10-20)

(本文编辑:石俊强)