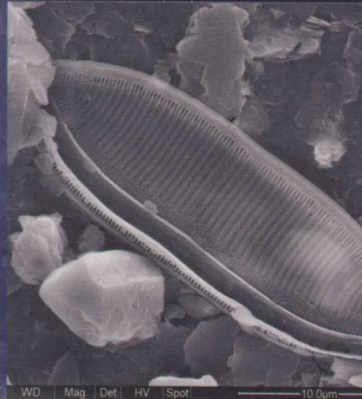
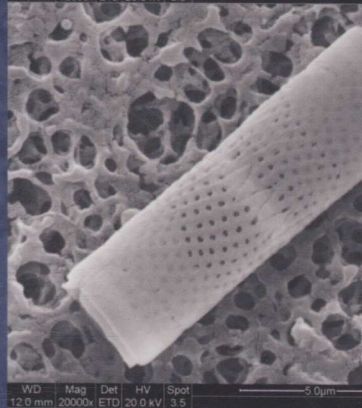
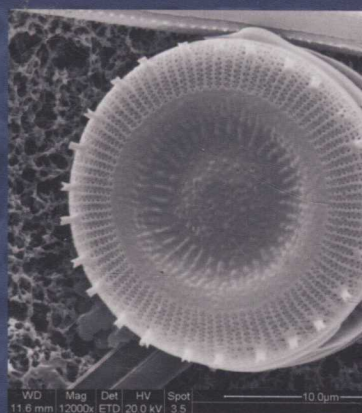


法医硅藻学 扫描电镜图谱

胡孙林 刘超 温锦锋◎编著

*Fayi Guizaoxue
Saomiao
Dianjing Tupu*

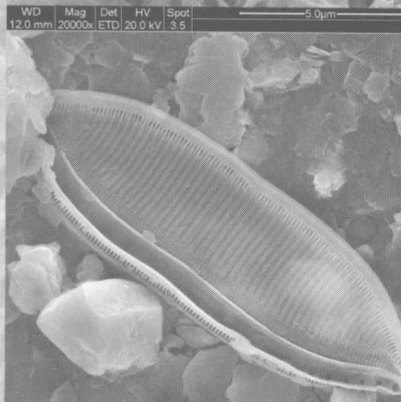
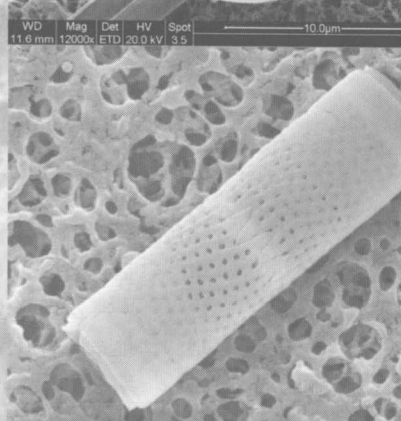
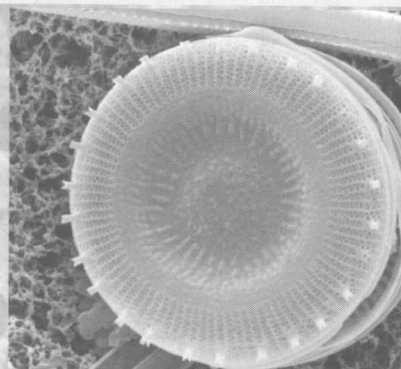


D919.4-64
20141

阅 览

法医硅藻学 扫描电镜图谱

胡孙林 刘超 温锦锋◎编著



中山大学出版社
· 广州 ·

版权所有 翻印必究

图书在版编目 (CIP) 数据

法医硅藻学扫描电镜图谱/胡孙林, 刘超, 温锦锋编著. —广州: 中山大学出版社, 2014. 1

ISBN 978 - 7 - 306 - 04752 - 6

I. ①法… II. ①胡… ②刘… ③温… III. ①硅藻纲—应用—法医学鉴定
IV. ①D919.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 288451 号

出版人: 徐 劲

策划编辑: 周建华

责任编辑: 曹丽云

封面设计: 林绵华

责任校对: 杨文泉

责任技编: 何雅涛

出版发行: 中山大学出版社

电 话: 编辑部 020 - 84111996, 84113349, 84111997, 84110779

发行部 020 - 84111998, 84111981, 84111160

地 址: 广州市新港西路 135 号

邮 编: 510275 传 真: 020 - 84036565

网 址: <http://www.zsup.com.cn> E-mail: zdcbs@mail.sysu.edu.cn

印 刷 者: 佛山市浩文彩色印刷有限公司

规 格: 787mm × 1092mm 1/16 10.75 印张 240 千字

版次印次: 2014 年 1 月第 1 版 2014 年 1 月第 1 次印刷

定 价: 39.00 元

如发现本书因印装质量影响阅读, 请与出版社发行部联系调换

内容简介

本书介绍了法医硅藻学中水样采集、硅藻提取和扫描电镜观察的方法，概述了我国主要水域的硅藻分布情况，编集了我国主要水域溺死相关硅藻的扫描电镜图谱。本书可作为法医硅藻检验参考用书，适用于硅藻检验人员、法医病理学者、刑事侦查人员等，亦可供环境学、生物学、生态学等领域从事硅藻研究的大专院校师生和科技工作者参考。

序

水中尸体的死因诊断是法医检验案件中的难点，尤其对于水中高度腐败的尸体，由于各种溺死早期现象（如肺气肿，口、鼻部有蕈样泡沫等典型征象）已不复存在，其死因诊断成为世界公认的法医学难题之一。目前，硅藻检验被法医学界普遍认为是水中腐败尸体溺死诊断最有效的方法（“金标准”）。由于大部分水中尸体发现时已高度腐败，因此，硅藻检验在法医学溺死诊断中的作用尤为重要。长期以来，法医学硅藻检验面临的问题主要包括：①从脏器检材中提取硅藻时，硅藻损失严重，导致硅藻回收率低、检验灵敏度差、假阴性率高；②溺死尸体肝、肾、骨髓等脏器组织内的硅藻一般具有个体小、含量低的特点，常规硅藻检验采用光镜检测硅藻，然而受光镜放大倍数所限，易出现漏检、误检问题；③在解剖提取以及实验室检验过程中，脏器检材易被污染，导致检验结果为假阳性，从而影响死因诊断和案件定性；④硅藻检验时需对所检测的硅藻进行种属鉴定，而法医检验人员通常缺乏硅藻分类学专业知识，需硅藻分类学专家协助，这在一定程度上制约了硅藻检验在溺死诊断中的应用。

刘超教授、胡孙林高级工程师和温锦锋高级工程师对法医学硅藻检验问题进行了长期研究，取得了较为丰硕的成果。他们建立了一种基于微波消解、真空抽滤、扫描电镜的硅藻检验新方法，该方法具有灵敏度高、高效、准确、防污染等特点，很好地解决了上述相关难题，大大提高了硅藻检验在溺死诊断中的应用价值。此次，他们编写本书，重点解决水中尸体脏器和水样中硅藻的分类、比对问题。扫描电镜具有景深大、放大倍数大、分辨率高、自动化程度高等优点，特别适用于硅藻（尤其微型硅藻）的检测和种属鉴定。随着扫描电镜在法医鉴定部门的不断普及，应用扫描电镜进行硅藻检验必将成为一种趋势。他们收集了全国各地的水样，并应用扫描电镜进行分析，全面调查了我国主要水域的硅藻分布特点；在此基础上，他们结合法医学实践经验，编写了溺死相关硅藻的扫描电镜图谱。一般情况下，借助本书，法医学硅藻检验人员无须硅藻分类学专家的协助即可独立完成硅藻的检测和种属比对工作，因此本书具有很强的实用性。

目前，包括法医学在内的各学科领域尚未有著作对我国主要水域硅藻分布作全面系统的介绍，亦无系统的硅藻扫描电镜图谱，本书的出版填补了该空白。在完成本书过程中，三位编著者付出了辛勤的劳动，同时，全国各地公安部门和相关科研院所

水样采集、前处理以及硅藻种属鉴定方面给予了大力支持与帮助，因此它是集体智慧和劳动的结晶。我希望，法医学工作者能充分利用硅藻检验研究领域的新成果，不断推动硅藻检验新技术的应用与发展，从而为我国法医学溺死诊断水平的提高作出新的贡献。

重庆医科大学副校长、教授、博士生导师



2013年10月

前 言

硅藻 (Diatom) 是一种水生单细胞植物, 广泛分布于海洋、湖泊、江河、水库、池塘、沟渠、水坑等自然水体, 部分亦生长于潮湿的土壤和其他物体表面。硅藻的大小不一, 从几微米至数毫米, 具有形状各异、由二氧化硅和果胶质组成的外壳 (细胞壁), 壳面具有特定的对称纹饰与精细的微观结构, 由此产生了非常多的、具有形态学差异的硅藻种类。硅藻细胞壁的形态结构具有特定性、稳定性、多样性的特点, 是硅藻种类鉴定的重要依据。除形态特性外, 硅藻还具有诸多其他重要特性, 包括生物量巨大、对生活环境变化敏感、指示古环境 (对化石硅藻而言) 等, 这些特性使得硅藻在赤潮监测、水产养殖、水质监测、资源调查、古环境分析、石油勘探、法医鉴定等领域具有广泛的应用。

硅藻检验应用于溺死诊断至今已有 100 多年的历史, 然而一直以來, 硅藻检验的价值备受争议。1998 年, 由加拿大法医病理学家 Michael S. Pollanen 在其所著的《法医硅藻学与溺死》(Forensic Diatomology and Drowning) 一书中首次对硅藻检验的科学性和法医学原理进行了全面论述。在该书中, 作者提出了法医硅藻学的概念, 其内容包括硅藻检验诊断溺死的原理、有效性、实用性以及硅藻检验方法、程序等。目前, 硅藻检验被普遍认为是一种较为可靠的溺死诊断手段, 尤其对于水中腐败尸体的死因诊断, 被视为最有效的方法。关于硅藻检验的适用性, 我国经典的法医病理学教材均作了明确说明——在严格控制污染后, 必须在肺及封闭器官 (肝、肾、骨髓等) 中同时检出硅藻且硅藻种类与现场水样中的硅藻种类一致, 才能鉴定为溺死; 而且, 2009 年, 我国颁布的关于硅藻检验的行业标准《人体组织器官中硅藻硝酸破机法检验》(GA/T 813—2008) 规定, 硅藻检验中必须对水样和脏器中硅藻种类进行比对。因此, 硅藻种属鉴定是硅藻检验中必不可少的环节。然而硅藻的种属鉴定需要较高的硅藻分类学专业技术水平, 一般由硅藻学家完成, 这大大制约了硅藻检验在法医学溺死诊断中的应用。编著者经研究发现, 扫描电镜有助于法医检验人员独立完成硅藻种属的比对, 这是因为利用扫描电镜可获得脏器和水样所含硅藻的高分辨扫描电镜照片, 检验人员只需进行简单的形态比较, 即可判断两者中的硅藻种类是否一致; 尽管如此, 在法医学实践中, 为确定硅藻种属, 检验人员仍迫切需要专门的硅藻扫描电镜图谱作为指南。然而, 目前尚未有一本能满足法医检验鉴定需要的硅藻图谱。基于此, 编著者在公安部重点研究计划项目 (2010ZDYJGDST017)、公安部科技强警基础专项项目 (2012GABJC011) 的资助下开展我国主要水域 (黄河、长江、珠江以及其

他河流和主要湖泊)所含硅藻种属的调查工作,并结合法医学实践中溺死尸体的硅藻检验结果,完成了目前的这部著作。

本书主要分为三部分,第一部分介绍了水样采集、硅藻提取和扫描电镜检测方法;第二部分按我国主要河流(包括黄河、长江、珠江以及其他河流)的地理位置、流经顺序和湖泊所在省(自治区、直辖市)行政区划排序,依次介绍了各省(自治区、直辖市)内主要河流和湖泊的硅藻分布情况;第三部分在第一、第二部分的基础上,结合我国主要水域溺死尸体硅藻检验结果,编集了我国主要水域溺死相关硅藻的扫描电镜图谱。须提及的是,我国河流、湖泊众多,而由于时间、精力有限,编者未能对我国所有水系的硅藻分布情况进行全面系统的调研,本书尚未涉及的水域的硅藻分布情况有待于以后进一步研究。

对于本书的编写出版工作,公安部刑事侦查局给予了高度重视,专门发文要求全国各地公安部门协助水样采集工作;全国各地公安部门的法医同行、中山大学和南方医科大学法医系的研究生以及珠江水利委员会的硅藻学专家在水样采集和硅藻种属鉴定方面分别做了大量工作,特此致谢!

本书可作为法医硅藻检验参考用书,适用于硅藻检验人员、法医病理学者、刑事侦查人员等,亦可供环境学、生物学、生态学等领域从事硅藻研究的大专院校师生和科技工作者参考。

由于编者水平所限,不足之处在所难免,恳请读者批评指正。

编者

2013年10月

目 录

一、水样采集、硅藻提取与扫描电镜检测方法	1
(一) 水样采集	1
(二) 硅藻提取	1
(三) 扫描电镜检测方法	2
二、我国主要水域硅藻分布	4
(一) 黄河流域各地段硅藻分布情况	4
1. 青海省	4
2. 甘肃省	5
3. 宁夏回族自治区	6
4. 内蒙古自治区	7
5. 山西省	7
6. 陕西省	9
7. 河南省	9
8. 山东省	11
(二) 长江流域各地段硅藻分布情况	12
1. 青海省	12
2. 西藏自治区	12
3. 四川省	13
4. 云南省	14
5. 重庆市	14
6. 湖北省	18
7. 湖南省	19
8. 江西省	20
9. 安徽省	21
10. 江苏省	21
11. 上海市	23
(三) 珠江流域各地段硅藻分布情况	24
1. 云南省	25

2. 贵州省	26
3. 广西壮族自治区	27
4. 广东省	28
5. 江西省	32
(四) 其他河流硅藻分布情况	33
1. 浙江省境内河流	33
2. 新疆维吾尔自治区境内河流	34
(五) 我国主要湖泊硅藻分布情况	35
1. 内蒙古自治区	35
2. 上海市	36
3. 江苏省	36
4. 浙江省	38
5. 安徽省	38
6. 江西省	38
7. 山东省	39
8. 湖北省	39
9. 湖南省	40
10. 重庆市	41
11. 云南省	41
12. 青海省	42
13. 新疆维吾尔自治区	42
三、我国主要水域溺死相关硅藻扫描电镜图谱	44
(一) 中心纲 (Centriales)	44
1. 冠盘藻属 (<i>Stephanodiscus</i>)	44
2. 海链藻属 (<i>Thalassiosira</i>)	50
3. 小环藻属 (<i>Cyclotella</i>)	53
4. 圆筛藻属 (<i>Coscinodiscus</i>)	58
5. 直链藻属 (<i>Melosira</i>)	62
(二) 羽纹纲 (Pennatales)	65
1. 波缘藻属 (<i>Cymatopleura</i>)	65
2. 布纹藻属 (<i>Gyrosigma</i>)	67
3. 窗纹藻属 (<i>Epithemia</i>)	70
4. 脆杆藻属 (<i>Fragilaria</i>)	71
5. 等片藻属 (<i>Diatoma</i>)	73
6. 短缝藻属 (<i>Eunotia</i>)	76
7. 辐节藻属 (<i>Stauroneis</i>)	79

8. 菱板藻属 (<i>Hantzschia</i>)	80
9. 菱形藻属 (<i>Nitzschia</i>)	83
10. 卵形藻属 (<i>Cocconeis</i>)	87
11. 美壁藻属 (<i>Caloneis</i>)	92
12. 平板藻属 (<i>Tabellaria</i>)	93
13. 桥弯藻属 (<i>Cymbella</i>)	95
14. 曲壳藻属 (<i>Achnanthes</i>)	99
15. 双壁藻属 (<i>Diploneis</i>)	104
16. 双菱藻属 (<i>Surirella</i>)	107
17. 双眉藻属 (<i>Amphora</i>)	112
18. 弯楔藻属 (<i>Rhoicosphenia</i>)	113
19. 异极藻属 (<i>Gomphonema</i>)	115
20. 羽纹藻属 (<i>Pinnularia</i>)	119
21. 针杆藻属 (<i>Synedra</i>)	122
22. 舟形藻属 (<i>Navicula</i>)	126
参考文献	132
附录一 硅藻专业术语解释	133
附录二 水样采集点分布图	136
1. 山西省	138
2. 内蒙古自治区	139
3. 上海市	140
4. 江苏省	141
5. 浙江省	142
6. 安徽省	143
7. 江西省	144
8. 山东省	145
9. 河南省	146
10. 湖北省	147
11. 湖南省	148
12. 广东省	149
13. 广西壮族自治区	150
14. 重庆市	151
15. 四川省	152
16. 贵州省	153
17. 云南省	154

18. 西藏自治区 155

19. 陕西省 156

20. 甘肃省 157

21. 青海省 158

22. 宁夏回族自治区 159

23. 新疆维吾尔自治区 160

一、水样采集、硅藻提取与扫描电镜检测方法

(一) 水样采集

1. 采样点与采样时间

水样采样点分布及各采样点的采样时间见本书“二、我国主要水域硅藻分布”与附录二。

2. 采样工具与试剂

采样工具与试剂包括有机玻璃采水器（或干净水桶，使用前用采样点的水冲洗3次）、干净塑料瓶、一次性刷子、一次性塑料吸管、福尔马林溶液等。

3. 采样方法

按以下两种方法分别采集水样：

方法一，直接采取各采样点水样 1 000 mL，用干净塑料瓶盛装（简称“直接提取法”）；方法二，用一次性刷子反复刮擦采样点与水接触的岸堤（或水中石头、生长的水草等），取混浊液 500 mL，用干净塑料瓶盛装（简称“刮擦提取法”）。

4. 水样保存

水样加福尔马林溶液后室温保存（注：每 500 mL 水样加 1 mL 福尔马林溶液）。

(二) 硅藻提取

1. 仪器和试剂

仪器和试剂包括：DS-360 智能石墨消解仪（广州胜谱公司）；MW 3000 型微波消解仪（奥地利 Anton Parr 公司）；多联真空抽滤装置（自制，采用天津津腾公司生产的尼龙滤膜，其规格为：直径 25 mm，孔径 0.45 μm ，抽滤区域直径为 16 mm）；SCD 005 离子溅射仪（德国 Leica 公司）；无水乙醇、浓硝酸、30% 过氧化氢（均为

分析纯，广州化学试剂厂）。

2. 水样消解

取水样 50 mL，置于消解管内，分别加入 8 mL 浓硝酸和 2 mL 30% 双氧水后进行消解。石墨消解仪温控条件为：15 min 内将温度由室温上升至 110 ℃，保持 60 min 后停止加热；待水样自然冷却至室温后，加 40 mL 超纯水稀释。

最终所制样品经扫描电镜观察，如发现硅藻有机质消解不完全并影响硅藻的识别和种属鉴定，则调整石墨消解仪参数或采用微波消解仪对水样进行消解。

3. 真空抽滤

采用多联真空抽滤装置对消解后的水样进行抽滤（真空度设为 400 mmHg^①），水样抽滤完后，加 50 mL 超纯水继续抽滤使滤膜表面接近中性，再加 10 mL 乙醇抽滤以去除滤膜内水分，最后取出滤膜。

4. 镀膜

将滤膜粘于扫描电镜样品座表面，在离子溅射仪中镀金或铂膜，控制膜厚为 10 nm~20 nm。

（三）扫描电镜检测方法

1. 仪器

扫描电镜仪器为 FEI Quanta 600 型扫描电镜（美国 FEI 公司）配 EDAX Genesis 7000 型能谱仪（美国 EDAX 公司）。

2. 硅藻定性定量分析

采用扫描电镜—能谱仪对水样中的硅藻进行定性定量分析（注：直接提取法采集的水样用于定量分析，即分析水样中硅藻的含量；刮擦提取法采集的水样用于定性分析，即分析水样中硅藻的种属）。具体过程为：在扫描电镜分析程序中，选择滤膜圆心处为中心，在 400× 下划分视场（如图 1-1 所示），调好焦距，运行 EDAX 能谱仪的图像自动采集程序，待所有视场的图像采集完后，以人工方式对每个视场图像上的硅藻进行搜寻，并回访感兴趣视场，在高倍数下拍摄硅藻高分辨扫描电镜图像，最后鉴定所检出的硅藻种属并统计硅藻检测结果。所采用的分析参数如表 1-1 所示。水样中硅藻的含量采用以下公式计算：

$$C = N / (V \times 91\%) \quad (1)$$

① 1 mmHg = 133.322 4 Pa。

式中： C 为水样中硅藻的含量，单位：个/mL 水样； N 为所检测的硅藻总数，单位：个； V 为水样的体积，单位：mL。

由于部分水样泥沙含量很高，且难以分离，影响硅藻的定性定量分析，本书“二、我国主要水域硅藻分布”的硅藻定性定量数据仅供参考。

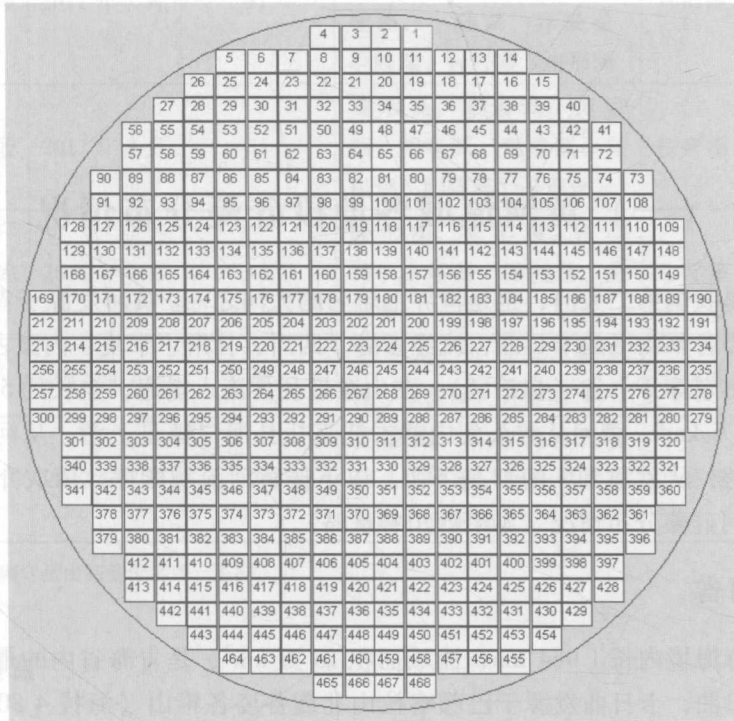


图 1-1 400 × 下滤膜视场划分示意

表 1-1 分析参数设置

参 数	设定值
加速电压	20 kV
工作距离	20 mm
束斑大小	6.0
放大倍数	400 ×
图像分辨率	1 024 × 800
扫描区域直径	16 mm
视场总数 (占滤膜区域面积百分比)	468 个 (91%)
每个视场大小	0.707 mm × 0.553 mm
每个视场图像采集耗时	约 10 s
所有视场图像采集耗时	约 1.3 h

二、我国主要水域硅藻分布

(一) 黄河流域各地段硅藻分布情况

黄河，是我国第二大河，也是世界上著名的大河之一。黄河发源于青海省巴颜喀拉山北麓各姿各雅山下的卡日曲，流经青海、四川、甘肃、宁夏、内蒙古、陕西、山西、河南、山东等9个省（自治区），在山东垦利县流入渤海，全长约5 464 km，流域面积79.5万 km²。黄河从源头到内蒙古托克托县河口镇是上游，从河口镇到河南省孟津是中游，从孟津到入海口是下游。以下按黄河流域顺序，依次介绍各省（自治区）段黄河硅藻分布情况（本节四川省从略）。

1. 青海省

黄河在青海境内长1 964 km，流域面积15万 km²，是青海省内的最大河流。黄河正源为卡日曲，卡日曲发源于巴颜喀拉山北麓各姿各雅山（海拔4 800 m），东流至星宿海与约古宗列曲汇合，贯穿扎陵湖和鄂陵湖后，湍急东下，流往果洛，在甘青川边境作180°大转弯，掉头西流，在海南州又折弯东流，于民和县官亭出省境。

黄河青海段采样点、采样时间及硅藻分布情况如表2-1所示。

表2-1 黄河青海段硅藻分布情况

采样点	采样时间	硅藻含量 (个/10 mL)	所含硅藻属	优势属
玉树卡日曲	2012年7月	17	菱形藻、卵形藻、美壁藻、异极藻、舟形藻	舟形藻
扎陵湖	2012年7月	26	冠盘藻、曲壳藻、双壁藻、舟形藻	舟形藻
鄂陵湖	2012年7月	22	卵形藻、桥弯藻、双壁藻、小环藻、舟形藻	舟形藻、卵形藻

续表 2-1

采样点	采样时间	硅藻含量 (个/10 mL)	所含硅藻属	优势属*
果洛州黄河乡段	2012年7月	31	冠盘藻、菱形藻、卵形藻、桥弯藻、曲壳藻、双壁藻、小环藻、异极藻、羽纹藻、针杆藻、舟形藻	舟形藻、菱形藻
果洛州门堂乡段	2012年7月	35	菱形藻、卵形藻、美壁藻、桥弯藻、双菱藻、异极藻、圆筛藻、舟形藻	桥弯藻、舟形藻
同德县巴沟水库	2012年7月	48	菱形藻、卵形藻、桥弯藻、小环藻、异极藻、舟形藻	小环藻
龙羊峡段	2012年7月	26	冠盘藻、海链藻、菱形藻、双菱藻、直链藻	冠盘藻、菱形藻
积石峡段	2012年7月	21	菱形藻、桥弯藻、双菱藻、小环藻、针杆藻、直链藻、舟形藻	小环藻

注：* 优势属按各属含量由高到低排序，下同。

2. 甘肃省

黄河在甘肃省境内有黄河干流、渭河、泾河、洮河、湟水等5个水系，流域面积14.5万 km²。黄河甘肃段干流全长913 km，流经甘肃省甘南、临夏、兰州、白银等州（市）。

黄河甘肃段采样点、采样时间及硅藻分布情况如表2-2所示。

表 2-2 黄河甘肃段硅藻分布情况

采样点	采样时间	硅藻含量 (个/10 mL)	所含硅藻属	优势属
永靖县段	2012年7月	56	波缘藻、布纹藻、冠盘藻、菱形藻、卵形藻、桥弯藻、曲壳藻、小环藻、针杆藻、舟形藻	菱形藻、舟形藻
临洮县段	2012年7月	39	窗纹藻、短缝藻、菱形藻、卵形藻、美壁藻、桥弯藻、小环藻、针杆藻、舟形藻	舟形藻