

ICS 65.150

CCS A40/49

DB21

辽宁省地方标准

DB 21/ XXXXX—XXXX

海洋浮游植物调查与分析技术指南

Technical guidelines for marine phytoplankton survey and analysis

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

文稿版次选择

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

辽宁省市场监督管理局 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由辽宁省自然资源厅提出并归口。

本文件起草单位：辽宁省海洋水产科学研究院。

本文件主要起草人：宋广军、宋伦、吴金浩、王召会、王昆、李楠、刘桂英、李爱、李安龙。

本文件发布实施后，任何单位和个人如有问题和意见建议，均可以通过来电和来函等方式进行反馈，我们将及时答复并认真处理，根据实际情况依法进行评估及复审。

归口管理部门通讯地址：辽宁省自然资源厅(沈阳市皇姑区北陵大街29号)，联系电话：024-62789175。

文件起草单位通讯地址：辽宁省海洋水产科学研究院(大连市沙河口区黑石礁街50号)，联系电话：0411-84691609。

海洋浮游植物调查与分析技术指南

1 范围

本标准规定了海洋浮游植物调查基本原则、样品采集、样品分析方法、质量控制以及浮游植物群落评价标准等内容。

本标准适用于辽宁省近岸海域海洋浮游植物拖网调查与分析。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件。不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 17378.7 海洋监测规范 第7部分：近海污染生态调查和生物监测

GB/T 12763.6 海洋调查规范 第6部分：海洋生物调查

GB/T 12763.9 海洋调查规范 第9部分：海洋生态调查指南

HY/T 147.5 海洋监测技术规程 第5部分：海洋生态

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 海洋浮游植物 marine phytoplankton

海洋浮游植物指生活于海洋中、缺乏自主运动能力或仅有微弱游动能力，主要随水流漂浮的微小藻类。

4 调查基本原则

依据任务目的确定调查范围，以最少数量站位，所获取的数据能满足调查目的需要。如与水质调查同步进行，海洋浮游植物调查站位不低于水质调查站位的60%。

一致性和可比性原则：同一调查海域采样选择的季节、采样深度、水文、水质宜一致，确保样品的一致性和可比性。

整体性和连续性原则：从调查海域环境总体考虑，宜沿用历史调查站位，确保样品的整体性和连续性。

代表性和科学性原则：选择具有代表性的海域和采样时间布设断面，符合生态学和环境科学的基本原理和要求，确保样品的代表性和科学性。

5 样品采集

5.1 采集器材与试剂

5.1.1 网具

浮游植物调查，需要拖网采样。所使用网具为浅水Ⅲ型浮游生物网，网具规格符合GB17378的规定。网底管所用筛绢套与浮游生物网网衣的筛绢规格一致。

5.1.2 流量计

用于测量浮游生物网滤水量，使用时安装于网口半径的中点，流量计使用前需进行检定和校准。

5.1.3 铅锤

根据水流和风浪大小选择规格10kg~20kg铅锤，系于浅水Ⅲ型网网底管下部，保持采样过程中网具垂直于水面。

5.1.4 采样瓶

选择规格为500mL以上广口塑料瓶，用于收集浮游植物样品。

5.1.5 固定剂

样品固定使用鲁哥氏液（Lugol' solution）或甲醛溶液。

鲁哥氏液：100g碘化钾溶于1L蒸馏水，加入50g碘使其溶解，再加入100mL冰醋酸配制而成。

甲醛溶液：质量分数37%~40%。

采样后，应及时按每升样品加6mL~8mL碘液或按样品体积5%加入甲醛溶液进行固定。用碘液固定的样品如需要长期保持，需补充加入甲醛溶液。

5.2 采样操作

5.2.1 准备工作

船只到达调查站位时，应先核对站位，待船停稳后，测其实际水深，确定采样层次及钢丝绳应放长度，做好现场采样记录。

每次下网前应检查网具是否破损，检查网底管和流量计是否处于正常状态，如发现异常应及时修理或更换。

5.2.2 垂直拖网采样

下网：记录流量计转数，将网具系上适当重量铅锤，放网垂直入水，网口入水后，下网速度不能超过1m/s，以钢丝绳保持紧直为准，当网具接近海底时，绞车应减速，当铅锤着底，钢丝绳出现松弛时，应立即停车，记录下网绳长。

起网：网具到达海底后立即起网，速度保持在0.5m/s左右，网口未露出水面前不可停车。网口离开水面应减速并及时停车，防止网具碰刮船底或卡环碰撞滑轮，使钢丝绳绞断，网具失落。记录好出水后流量计转数。

收集样品：把网升至适当高度，用冲水设备自上而下反复冲洗网衣外表面，使粘附于网衣上的样品集中于网底管内，将网收入甲板，开启网底管活门，把样品收集入样品瓶中，再关闭网底管活门，冲洗筛绢套数次，直至残留样品全部收入瓶中。用固定剂对样品进行固定。

5.2.3 注意事项

- 每次调查网具需带2-3套备用；
- 拖网过程中出现翻网、网底管触底，需要重新采样；
- 拖网时钢丝绳倾角超过45度，需要增加铅锤重量，重新采样；
- 拖网时网具刮船底或网衣破损，需要更换网具，重新采样；
- 拖网时采集到大块垃圾、大型水母类，需要清洗网具，重新采样；
- 冲洗网衣外表面切勿将冲洗海水进入网口。

6 样品分析方法-显微镜检法

6.1 设备与器材

正置或倒置生物显微镜：物镜 4×、10×、20×、40×，目镜 10×或 16×；微量移液器：100~1000μL；0.1mL 浮游植物计数框：面积 20mm×20mm，框内划分横竖各 10 行格，共 100 个小方格；盖玻片：面积 22mm×22mm，厚度小于 0.2mm；量筒：50mL 和 500mL 各 1 个；计数器。

6.2 样片制备

将样品静置 24 小时以上，用包扎有 JF62 或 JP80 号的筛绢的吸管，轻轻吸去上清液，根据样品中浮游植物浓度，将样品浓缩至适当体积，通常浓缩至 50~250mL。将样品摇匀，用微量移液器取 0.1mL 样品注入 0.1ml 浮游植物计数框中，用盖玻片将计数框完全盖住，无气泡，进行预检。观测样片中浮游植物细胞总数低于 500 个，应进一步浓缩样品，如浮游植物细胞总数高于 10000 个，则应稀释样品，重新制备样片，最终使 0.1ml 计数框中的浮游植物细胞总数在 500~10000 之间。

6.3 显微镜计数

制备好的样片，在 40×物镜下进行种类鉴定和细胞计数。浮游植物细胞总数在 500~1500 个，全片计数，逐一观测浮游植物计数框中 100 个小方格；细胞总数在 1500~5000 个，半片计数，逐一观测 50 个小方格；细胞总数在 5000~10000 个，随机抽取一定数量的小方格进行计数；将数量换算为全片数量并记入原始记录表。

6.4 结果计算

样品中浮游植物的细胞密度，按照公式（1）进行计算。

$$N = \frac{nV'}{0.1 \times V} \quad (1)$$

式中：

N——每立方米水体中浮游植物细胞密度，单位为 cell/m³；

n——取样计数所得的细胞数，单位为 cell；

V'——样品浓缩后的体积，单位为 mL；

V——网采样品的滤水体积，单位为 m³；

7 质量控制

7.1 浮游植物均匀性

样品在取样前要充分摇匀，同时在开始显微镜计数前，应确认浮游植物在计数框中分布的均匀性。

7.2 最少计数量

在单次测定中，浮游植物细胞总计数量不少于500个。

7.3 计数注意事项

计数时以种为单位分别计数。优势种、常见种、赤潮生物种应力求鉴定到种；凡失去色素或不足一半的残体，不在计数之列；对进入浮游植物中的底栖种类，均按细胞计数。

8 浮游植物群落评价标准

浮游植物细胞密度分级评价标准参见表1。

表1 浮游植物细胞密度分级评价标准

评价等级	I	II	III	IV	V
细胞密度 ($\times 10^4 \text{cells/m}^3$)	<20	20~50	50~75	75~100	>100
分级描述	低	较低	较丰富	丰富	非常丰富

浮游植物多样性指数计算方法按GB/T 12763.9执行，浮游植物多样性分级评价标准参见表2。

表2 浮游植物多样性分级评价标准

评价等级	I	II	III	IV	V
多样性指数	<0.6	0.6~1.5	1.5~2.5	2.5~3.5	>3.5
分级描述	差	一般	较好	丰富	非常丰富

附录A

海洋浮游植物现场调查记录表

海洋浮游植物现场调查记录表A.1。

表A.1 海洋浮游植物现场调查记录表

项目名称：			调查海区：		采样日期：		
序号	站位	采样时间	水深 (m)	流量计转数		坐标	
				初始：	终了：	东经：	北纬：
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
备注：							

采样者：_____ 记录者：_____ 核对者：_____

附录B

海洋浮游植物定量分析记录表

海洋浮游植物定量分析记录表B.1。

表B.1 海洋浮游植物定量分析记录表

项目名称:			仪器编号:	
样品体积:		(mL)	滤水量:	(m ³)
浓缩体积:		(mL)	计数体积:	(mL)
采样日期:			分析日期:	
序号	中文名	拉丁名	细胞数量/个	细胞密度 /($\times 10^4$ cells \cdot m ⁻³)
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
硅藻种数/种			细胞密度/($\times 10^4$ cells \cdot m ⁻³)	
甲藻种数/种			细胞密度/($\times 10^4$ cells \cdot m ⁻³)	
其他/种			细胞密度/($\times 10^4$ cells \cdot m ⁻³)	
总计/种			总密度/($\times 10^4$ cells \cdot m ⁻³)	
备注				

采样者: _____ 记录者: _____ 核对者: _____