

# 中国环境监测总站文件

总站水字〔2022〕33号

## 关于印发《水生态监测技术要求淡水着生藻类》 (试行)的通知

各省、自治区、直辖市生态环境监测中心(站),新疆生产建设兵团生态环境监测中心站,各流域海域生态环境监督管理局生态环境监测与科学研究中心:

为加快构建全国水生态监测技术体系,统一监测与评价技术要求,中国环境监测总站组织编制了《水生态监测技术要求淡水着生藻类》(试行),现予以印发,请遵照执行。试行期间若有意见和建议,请及时反馈我站。

联系人:丁页、李墨

电话:010-84943028; 84943125;

地址:北京市朝阳区安外大羊坊8号院乙

邮编:100012

邮箱:[water@cnemc.cn](mailto:water@cnemc.cn)

附件：《水生态监测技术要求 淡水着生藻类》（试行）



抄送：水司，监测司

# 水生态监测技术要求 淡水着生藻类（试行）

Technical specifications for aquatic ecological monitoring —  
Fresh Water Periphytic Algae  
（发布稿）

# 目 次

前言.....	ii
1 适用范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 监测原则及流程.....	2
5 试剂和材料.....	3
6 仪器和设备.....	4
7 监测方法.....	4
8 结果计算与表示.....	10
9 质量保证和质量控制.....	10
附录 A（资料性附录）采样工具及其适用条件.....	13
附录 B（资料性附录）着生藻类现场采集记录表.....	16
附录 C（资料性附录）着生藻类检测记录表.....	17
附录 D（资料性附录）分类检索参考资料.....	20

## 前言

本技术要求规定了淡水着生藻类的样品采集、保存、运输、分析、质量保证与质量控制等监测要求。  
本技术要求为首次发布。

本技术要求附录A~附录D为资料性附录。

本技术要求起草单位：中国环境监测总站、生态环境部珠江流域南海海域生态环境监督管理局生态环境监测与科学研究中心、浙江省生态环境监测中心、江苏省泰州环境监测中心。

# 水生态监测技术要求 淡水着生藻类

## 1 适用范围

本技术要求规定了淡水着生藻类水生态监测的主要内容和方法。

本技术要求适用于水生态业务化监测和评价为目的的淡水河流、河口、湖泊、水库等水体中着生藻类的监测。

## 2 规范性引用文件

本技术要求引用了下列文件中的条款。凡是不注日期的引用文件，其有效版本适用于本技术要求。  
HJ/T 91 地表水和污水监测技术规范

## 3 术语和定义

### 3.1 着生藻类 Periphytic Algae

生长在浸没于水中的各种基质表面上的微型藻类植物。根据基质的不同，着生藻类可分为附石藻类、附植藻类、附砂藻类、附泥藻类和附动藻类等。淡水中着生藻类以硅藻门（Bacillariophyta）为主，其次包括绿藻门（Chlorophyta）、蓝藻门（Cyanophyta）、隐藻门（Cryptophyta）和裸藻门（Euglenophyta）等。

### 3.2 硅藻 Diatom

一类细胞壁高度硅质化的真核藻类，细胞壁由上下两个硅质外壳嵌套组成，壳面纹理是其重要分类特征。目前该类群在水生态监测中被广泛应用。

### 3.3 分类单元 Taxon

物种分类工作中的客观操作单位，有特定的名称和分类特征，包括门（Phylum）、纲（Class）、目（Order）、科（Family）、属（Genus）、种（Species）等。

### 3.4 密度 Density

单位面积或体积内某分类单元或全部着生藻类分类单元的个体数量。

### 3.5 相对密度 Relative density

在某样品的检测计数中，每个分类单元的细胞数量与计数细胞总数的比值即为该分类单元的相对密度。

### 3.6 基质 Substratum

着生藻类定居、建群发展的介质（载体）。按基质的来源，可分为天然基质和人工基质。

## 4 监测原则及流程

### 4.1 总体原则

#### 4.1.1 科学性

监测断面（点位）及监测结果应具有代表性，能够全面反映监测区域着生藻类的整体状况。

#### 4.1.2 可行性

淡水着生藻类监测应综合考虑人力、资金和后勤保障等条件，充分利用现有资源，立足于监测目标，优化监测点位布设，优先采用效率高、成本低的监测方法。

#### 4.1.3 保护性

监测应以生态保护和恢复为最终目标，在监测过程中应避免对河湖生态环境造成破坏，避免超出客观需要的采样。

#### 4.1.4 持续性

考虑到生物群落演替长期性、复杂性等特点，监测点位、方法、时间和频次等一经确定，应尽量保持持续性，便于对生态环境状况持续跟踪。

#### 4.1.5 安全性

现场监测工作具有一定的安全风险，采样人员应接受相关专业培训，并做好安全防护措施，确保在安全的前提下开展工作。

### 4.2 监测流程

淡水着生藻类监测流程见下图。

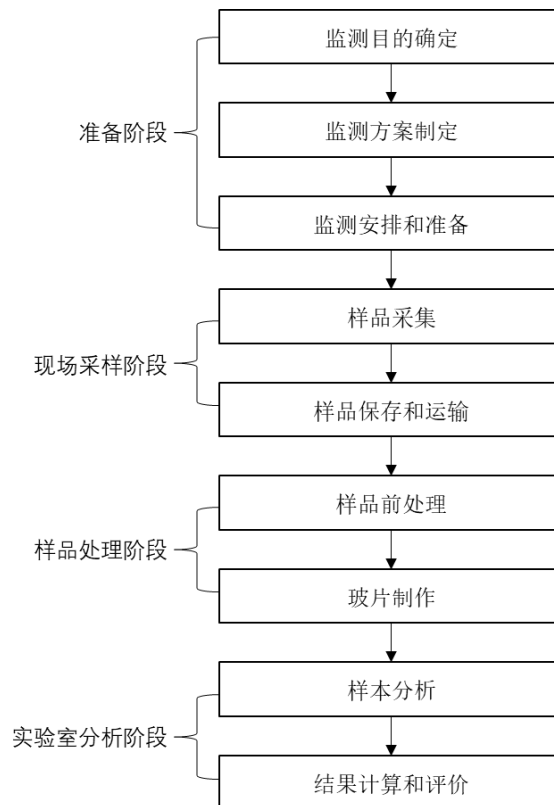


图1 监测流程图

## 5 试剂和材料

所有试剂均应符合国家标准分析纯试剂、实验用水为蒸馏水或同等纯度的水。

### 5.1 样品固定保存剂

5.1.1 甲醛溶液<sup>1)</sup>： $\phi(\text{HCHO}) = 37\% \sim 40\%$ 。

5.1.2 鲁哥氏液：60g 碘化钾溶于少量水中，待完全溶解后，加入 40g 碘，摇动至碘完全溶解，加蒸馏水定容到 1000mL，贮存于磨口棕色试剂瓶中。可加入 5% 冰醋酸，以防止藻类收缩变形。

### 5.2 实验室处理

5.2.1 甘油（丙三醇）。

5.2.2 浓盐酸：市售，浓度为 36%~38%。

5.2.3 浓硝酸：市售，浓度为 68%。

5.2.4 过氧化氢：30% 水溶液。

5.2.5 Naphrax 硅藻胶：一种折射率为 1.73 的合成树脂，作为硅藻壳封固剂。

5.2.6 加拿大树胶。

5.2.7 二甲苯或甲苯<sup>2)</sup>。

1) 注意：在操作时要注意甲醛溶液对身体的危害，避免吸入或接触皮肤。

2) 注意：在操作时要注意二甲苯溶液对身体的危害，避免吸入或接触皮肤。



## 6 仪器和设备

### 6.1 样品采集

#### 6.1.1 采样器

应根据生境条件选择合适的采样工具，各采样工具规格、使用方法及适用条件参照附录 A。常见的采样工具包括硬质毛刷或硬毛牙刷、镊子、刮刀、抹刀、不锈钢勺、剪刀、硅藻计、载玻片、搪瓷盘、注射器、透明管、筛绢网兜（孔径为 0.064mm）、洗瓶、三角漏斗、培养皿、移液器、毛细管、自封袋。

#### 6.1.2 样品瓶

塑料材质样品瓶，50mL、100mL、500mL。

#### 6.1.3 其它采样设备

冷藏箱、铅笔、记号笔、防水标签纸、现场记录表、GPS 定位仪、便携式多参数水质检测仪。

### 6.2 实验室处理

水浴锅、移液器、烧杯、天平、试管（带塞）、试管夹、试管架、防酸手套、离心机、离心管、振荡器、微波消解仪、加热板。

### 6.3 硅藻封片

载玻片：规格 76 mm×26 mm，厚 0.8 mm~1.2 mm。

盖玻片：方形边长 18~22mm、圆形直径 12~16mm。

其它：胶头滴管、镊子、加热板、标本盒。

### 6.4 实验室分析

生物显微镜：配备 10×、20×、40×、100×（油镜）物镜及 10×、15×目镜的光学显微镜，建议配备 DIC 微分干涉显微镜。

0.1mL 浮游生物计数框。

其它：镊子、100~200 μL 移液器、胶头滴管、计数器等。

## 7 监测方法

### 7.1 采样位置选择

采样点位应根据监测研究目的、水体自然生态类型、人类干扰的空间特性和点位周边生态环境等因素确定。着生藻类的采样点位应尽量与底栖动物及常规理化监测采样点位保持一致，以保持监测数据的可获得性和监测结果的可比性。

着生藻类采样应在河流采样点位上下游 50m 的河段范围内开展；若针对湖泊的着生藻类监测，宜在可涉水湖滨带开展；在无可涉水河岸的河流或存在明显消落带的水库可考虑在监测点位采用人工基质进行硅藻样品采集。

通常情况下，所选采样生境应满足以下微环境条件：

a) 采样位置应有良好的光照条件，避免在有阴影或树荫遮挡的区域采样。

b) 采样基质应在水中浸没足够长的时间，以确保着生藻类群落发育至与其环境保持平衡。建议浸没时间至少 15 天，但具体时间取决于基质表面生物膜生长情况。

c) 对可涉水河段，尽量靠近河道中泓采样，以避免收集到临时排污物；对不可涉水的河段及湖（库），可在可涉水的河岸带或湖（库）滨带采样。

d) 应尽量靠近主河道采集，尽量避免在静水区或流速缓慢区域采样。

e) 采样位置应尽量远离河流汇入口或入湖河流和明显人为干扰区域；湖泊着生藻类采样应在与湖区有水体交换的湖滨带设点，避免在封闭湖湾采样，除非以监测其生态状况为目的。

f) 若无法满足以上条件，则选择其它生境并记录该情况。

## 7.2 调查时间与次数

每年至少监测一次，建议枯水期或平水期开展监测；也可根据监测目的调整采样频次，按水期、季节或月度等开展监测。

注：丰水期水位变化较大，采样操作难度高，且无法确定采集到的基质是否有足够的浸没时间使着生藻类群落发育稳定；如丰水期开展监测，需保证水位至少稳定 15 天后采样。北方地区生物群落受冬季温度影响呈单一化，宜选择比较适宜生物生长、繁殖的时期进行监测。

## 7.3 采样方法

### 7.3.1 基质选择原则

建议采用单一生境法，即每个采样点位尽量选择采集同一基质类型的样品，保证各点位间监测结果可比性。也可根据监测目的，采用多生境法，即从调查河段内所有可达的生境和基质中采集着生藻类，获得一个能够代表该河段内现存着生藻类群落的混合样品。

着生藻类可以在大多数水下基质表面生长，其群落组成因其附着基质而异。在保证采样安全的前提下，建议在河床或湖滨带优先选择天然存在的可从水中移出的坚硬基质（如卵石、砾石和岩块等）。其次，可对码头和桥墩等稳定的人造基质的垂直面进行取样，取样区域应为基质水下非木质结构部分；或选择其它人造基质的硬表面取样，如瓷砖、砖块、人造石板等。若调查河段无法满足上述两类采样基质，则选择从沉水植物或挺水植物的水下部分采集。需保证以上基质已经在水中浸没足够长的时间（至少 15 天），以确保基质表面着生藻类群落发育稳定。

当调查河段无以上任何满足采集条件的基质时，可选择投放人工基质，放置至少 15 天，以确保基质表面着生藻类群落发育稳定。

着生藻类样品应从以上基质与水体接触的上表面收集。建议采用半定量方法采集，如需计算密度或生物量等指标时记录基质表面采集面积。

如无法在现场完成从可移动基质上采集着生藻类，可将基质放入适当的洁净容器中，并加入固定剂后带回实验室作进一步处理。

### 7.3.2 原位基质法

#### 7.3.2.1 天然坚硬基质

一般来说，卵石（64-256 mm）是取样的首选基质，其满足了采样所要求的基质稳定性和可操作性；也可以使用砾石（16-64 mm）和岩块（>256 mm）。在采集过程中，要至少采集 5 块卵石，如果没有卵石，那么应该采集 5 块岩块或 10 块砾石，取样面积至少达到 100cm<sup>2</sup>。

将采集获得的基质在水中轻轻晃动，以清除松散附着的表面污染物（如泥沙、有机碎屑和死亡生物个体），将基质从水中取出并置于洁净搪瓷盘中，用装有蒸馏水或无藻水的洗瓶轻微冲洗基质表面以清除基质表面松散泥沙，使用干净的硬质毛刷或者硬毛牙刷用力刮刷基质表面 30 秒以上，至基质表面无肉眼可见的生物着生印迹；刮刷过程中用洗瓶冲洗基质表面，将刷取获得的着生藻类生物膜收集于搪瓷盘中；最终将盘中褐色混浊液完全收集入样品瓶中，并用少量蒸馏水或无藻水冲洗搪瓷盘并收集于样品瓶中；在样品瓶上贴上与样品相关的详细标签。

#### 7.3.2.2 人造稳定基质

在缺少天然坚硬基质的情况下，可利用人造稳定基质（如桥墩、板柱、码头、堤坝处）进行采样，考虑水位波动和波浪的影响，建议取样水深约为 30cm。需要注意的是，应避免选择木质人造基质。

对这类基质垂直面可采用带筛绢网兜的长柄刮刀进行采样，采样前先用刮刀搅动采样面附近水体，以清除松散附着的表面污染物（如泥沙、有机碎屑和死亡生物个体）；用刮刀反复多次刮擦载体表面以获取着生藻类，取样面积至少 100 cm<sup>2</sup>；采样完成后，用洗瓶将粘附在刀刃上和网兜内的生物膜冲洗到搪瓷盘中并收集至样品瓶中；在样品瓶上贴上与样品相关的详细标签。

其它可移出水面的 人造基质（如瓷砖、砖块、人造石板等）的硬表面可参考 7.3.2.1 方法进行采样。

#### 7.3.2.3 水生植物载体

采集至少五株沉水植物或截取挺水植物水下茎部分，在水中轻轻晃动以清除松散附着的表面污染物后放入密封袋或容器中，加入蒸馏水或无藻水后通过剧烈震荡、搅拌或揉拭来获取附着其表面的着生藻类，从袋中取出大型植物，将袋中的液体装入样品瓶中；若截取获得的挺水植物水下茎部分足够坚硬，可使用 7.3.2.1 方法进行采样。对于大型丝状藻，可将其置于搪瓷盘中，轻轻揉拭、挤压，将获取的悬浊液收集在样品瓶中。将上述获得的样品瓶贴上与样品相关的详细标签。

经采样的水生植物若能现场辨识，则记录该植物种类和生长生境。

#### 7.3.2.4 其它基质

对于河床中不可移动的天然基质（如基岩、巨石），可采用连接了橡胶导管的注射器对其进行取样；用导管一端以刮擦基质表面，同时拉回注射器柱塞，将刮取的着生藻类吸入注射器；将注射器中的液体转移至样品瓶中，如此重复采集多次。将上述获得的样品瓶贴上与样品相关的详细标签。

沉积物（泥沙、淤泥）中沉降了大量有机碎屑和生物残骸，其中多为食腐性生物群落，可能无法真实反映水质状况，一般不作为着生藻类采样基质；但如果调查河段没有合适的采样基质时，也可从沉积物中采集着生藻类；将培养皿倒置在沉积物上，在培养皿下插入抹刀，将沉淀物收集在培养皿中；将培养皿从河中取出，同时将抹刀固定在培养皿下，并冲洗到样品瓶中；也可以用勺子、镊子、毛细管或移液器收集沉积生境的样品，如使用连接透明导管的注射器吸取底质表面约 1 cm 厚的松软沉积物，转移至样品瓶中，贴上与样品相关的详细标签。

#### 7.3.3 人工基质法

当调查区域无 7.3.2 所述基质条件时，则选择投放人工基质以获取该调查区域着生藻类样品。推荐采取硅藻计作为人工基质材料，也可以根据实际情况使用其它材料作为人工基质。

人工基质的投放应避免溪流中的急流和漩涡，可与河中固定物相连，通过调节绳子的长短保证基质浸没水中，浸没深度约 20~30cm。要求尽量将人工基质隐藏，避开走航、观光河流的主干道，最大限度地降低被破坏风险。定期了解着生藻类建群情况，如采样前发生洪水或冲刷等情况，待水体平稳后，需重新安置人工基质，如样品丢失应及时补样，条件允许可以雇周边人员照看。放置时间至少 15 天，以

确保基质表面着生藻类群落发育稳定与其环境保持平衡。人工基质投放受到水文条件和人为因素影响，容易发生损坏和遗失，应在每个站位重复投放至少 3 个硅藻计，每个硅藻计应至少包含 5 个玻片，尺寸为 76×26 mm（ISO 8037-1-1986），建议采用磨砂材质玻片便于着生藻类固着生长。

待满足投放时间后，将硅藻计中的玻片按照 7.3.2.1 方法描述，刷取后收集入样品瓶中，将获得的样品瓶贴上与样品相关的详细标签。

### 7.3.4 现场信息记录

#### 7.3.4.1 样品标签

应在样品容器（塑料袋、样品瓶）外部贴好标签；如有必要，可使用铅笔或不可擦除的记号笔在防水纸上记录标签，放在样品容器内。样品标签应提供以下信息：采样点位、样品编号、取样基质、采样人员和日期、固定液类型。

#### 7.3.4.2 采样现场记录

每个采样点位应填写现场记录表。

第一次调查或取样时，需详细描述采样现场地点标识，应记录的信息包括水道/河段名称、地点名称、地点代码、经纬度、或周边永久性标记和岸边稳定物体，应明确定义采样点的位置，以便其他调查人员可以准确地重新定位；如果必要，还应拍摄现场周边照片以辅助确定采样点的相对位置。

除此之外，现场记录信息包括：

- a) 采样日期；
- b) 采样人员的姓名；
- c) 取样方法、取样基质、对应样品编号；
- d) 天气状况（天气、气温）；
- e) 水质参数（水温、pH、溶解氧、盐度、电导率、总溶解固体等）。

应记录的其它信息取决于调查类型和地点类型。取样后，检查所有标签和现场记录表上记录的信息的准确性和完整性。

现场记录表参见附录 B。

### 7.3.5 样品保存与运输

如果样本在 24 小时内被带到实验室并可马上处理，则可将样品遮光冷藏保存；若无法满足，则有必要在现场添加固定剂，以防止微生物生长或硅藻的化学溶解。应根据后续实验处理分析及监测评价的需要对样品进行固定：如需分析全门类类的藻类，按 10~15% 比例加入鲁哥试液；如仅需分析硅藻群落结构，按 1%~4% 体积比加入甲醛溶液；样品如需长期保存按 1%~4% 体积比加入甲醛溶液，实际体积根据样品情况调整。

在将样品带回实验室或物流运输时，应注意样品瓶的密封和缓冲保护，防止在运输过程中样品瓶破损导致样品流失。

## 7.4 实验室处理及分析

若采集到的着生藻类样品中含有大量的泥沙，可剧烈摇匀后短暂静置 30s 使泥沙迅速沉淀至样品瓶底，吸取液体中下部的样品进行下一步处理。着生藻类样品应根据监测评价所需选择不同的处理分析方法，一般可按硅藻类和全藻类进行处理及分析。

注：由于着生藻类样品中多含有大量的泥沙，需静置使其迅速沉淀至样品瓶底，以减少大量杂质对鉴定造成的干扰，静置的同时会导致藻类轻微沉降，宜吸取液体中下部的样品。

#### 7.4.1 硅藻类样品

##### 7.4.1.1 预处理

由于硅藻种类的形态学鉴定主要依据其纹饰和壳体形状，应在鉴定之前，对样品进行预处理，以去除藻体中的原生质，只保留主要由二氧化硅组成的硅质外壳。预处理的方法很多，只要保持试剂之间的比例，数量是可以调整的，以适应不同的条件。预处理常用方法有以下三种，可根据实际情况选取适合的方式。

##### 7.4.1.1.1 方法一：双氧水法

双氧水法操作步骤如下：

- a) 摇匀硅藻样品，取 2~3 ml 样品放入 20 ml 玻璃试管中，可根据硅藻密度酌情调整取样量；
- b) 在试管中加入 4 倍体积的过氧化氢，试管加塞，水浴（90℃±5℃）加热 3~6 个小时以去除有机物质，如样品杂质较多，可延长加热时间，最终得到白色悬浊液；
- c) 将试管从水浴锅中取出，添加几滴盐酸以去除剩余的过氧化氢和碳酸盐，并用蒸馏水清洗试管侧壁，此步骤需在通风橱中进行。

##### 7.4.1.1.2 方法二：微波硝酸消解法

微波硝酸消解法操作步骤如下：

- a) 摇匀硅藻样品，吸取 10~15 ml 样品至离心管内，3000 r/min 离心 5 min，去上清液后将离心管内的沉淀物转至消解管内；如果野外采集的样品里有大型植物如水草、苔藓或移液枪不能吸取的其它物质，首先震荡标本瓶，尽可能使附着在这些基质上的硅藻脱落，然后在吸取完 10ml 液体以后，再用镊子镊取少许水草、苔藓等基质装入消解管中等待下一步处理；
- b) 在消解管内加入 10 ml 浓硝酸，盖好消解管的内外盖后放入消解仪内，选择 180℃ 程序消解 2 个小时，消解过程应在通风橱内进行；
- c) 待消解完成后，将消解管在通风橱下开盖冷却，然后将冷却的样品转移到玻璃试管中。

##### 7.4.1.1.3 方法三：三酸法

三酸法操作步骤如下：

- a) 摇匀硅藻样品，吸取 10~15 ml 样品至离心管内，3000 r/min 离心 5 min，去上清液后将离心管内的沉淀物转至消解管内；
- b) 在通风橱中进行以下操作：
  - 1) 用试管夹夹住试管在酒精灯上加热，至标本中的液体全部蒸发；
  - 2) 加入 3~4 滴浓盐酸继续加热，至颜色变深，液体大部分蒸发；
  - 3) 加入 2~4 滴浓硫酸加热，至试管中的液体逐渐变黑，并产生大量气泡；
  - 4) 加热直至试管中的液体变为炭黑色，不再产生气泡并伴有白色气体冒出；
  - 5) 加入 2~3 滴浓硝酸，此时反应剧烈并伴有响声，有大量棕红色气体冒出；
  - 6) 继续加热直至沉淀物变为淡黄色或无色，气体变为白色。

##### 7.4.1.2 样品清洗

将预处理后的样品静置沉降 24h，移除上清液，向试管中加入蒸馏水，混匀后静置沉降，移除上清液。如此反复操作 3~5 次，至悬浮液接近中性。清洗工作也可以通过离心分离的方式进行，将预处理后的样品转移至离心管内，3000 r/min 离心 5 min。

#### 7.4.1.3 样品干燥

最后一次沉降或离心结束后，加入 95%酒精稀释至合适浓度混匀；合适浓度可通过在光线照射下，悬浮液中的颗粒应是可见的来大致判断。如果悬浮液呈乳白色或浑浊，加入 95%酒精降低其浓度，以保证玻片中硅藻细胞不重叠，分布均匀；如果悬浮物非常稀，则再次浓缩样品。

吸取稀释后的水样滴加在清洗干净的盖玻片上，直至水样覆盖整个盖玻片而不溢出。

将滴加水样的盖玻片在室温环境下进行干燥处理，干燥时可将玻片用罩子罩住以免样品被污染。干燥工作可通过在加热板或烘箱中干燥盖玻片的方式来提速，建议温度不超过 50℃。

#### 7.4.1.4 初步检测

将干燥后的盖玻片放在载玻片上，在显微镜 10×40 倍数下观察，以每个视野中平均出现 30-50 个硅藻壳面为宜，若单个视野中出现的硅藻细胞过多或过少则调整样品稀释度，重新干燥处理样品。

#### 7.4.1.5 制片

在载玻片上滴一滴封片胶 (Naphrax)，将检验合格的盖玻片有硅藻的一面朝下放到封片胶上，使胶慢慢散开，接近或完全扩散到整张盖玻片上；将载玻片放到电热板或光波炉上加热，待封片胶溶化后继续加热直至气泡消失，迅速将载玻片取下，用镊子或玻璃棒轻轻按压盖玻片以除去玻片中残留的气泡，并使得硅藻细胞分散在同一个层面上；待玻片冷却后进行质量检查，合格的玻片标本应尽可能少的含有矿物晶体、泥沙杂质和气泡，盖玻片应完全充满封片胶，在显微镜 10×40 倍数下观察，玻片中硅藻细胞应分布较均匀，密度适中。

在玻片上贴好标签，记录样品的详细信息。

#### 7.4.1.6 种类鉴定

将制作合格的硅藻玻片置于光学显微镜 10×100 倍油镜下观察，鉴定分析至属或种，其中优势种应尽量鉴定到种；对于部分个体较小的优势种类，若光学显微镜无法鉴定种类，有条件情况下可借助电子显微镜鉴定分析。观察的视野在玻片中应尽可能地分布均匀，可通过呈“己”字形来移动载物台。每个视野内所有完整及破损面积不超过 1/4 的硅藻细胞都要鉴定和计数，至少计数 400 个硅藻细胞。

种类鉴定使用的文献和工具书参见附录 D。

#### 7.4.1.7 结果记录

结果记录鉴定分类单元学名及相应计数个数，鉴定记录表格参见附录 C。

#### 7.4.1.8 样品保存

将稀释至合适浓度的硅藻样品转移至干净的小瓶中，加入终浓度为 1%的甲醛防止真菌生长，贴好标签，样品可长期保存。

制作成玻片的标本放入标本盒中，可长期保存。

### 7.4.2 全藻类样品

#### 7.4.2.1 预处理

全藻类样品可参考浮游植物样品处理方法。

##### 7.4.2.1.1 方法一：常规制片法

将采集到的样品根据其样品中个体密度沉淀、浓缩至适宜体积。观察时，将样品充分摇晃均匀后静置 5~10s，用移液枪吸取液体中间略偏下位置的样品 0.1 ml 置于浮游生物计数框中，制成临时装片鉴定、计数。

#### 7.4.2.1.2 方法二：甘油制片法

甘油制片法操作步骤如下：

- ①配置甘油封片试剂：按照甲醛：甘油：蒸馏水的体积比为 4：10：86 配置甘油封片试剂；
- ②按照一份（滴）样品加两份（滴）甘油封片试剂的比例置于浮游生物计数框中；
- ③待蒸馏水挥发后（根据室温、湿度条件不同有一定的差异，一般为 24h），补充加封片试剂一次（两份/两滴）；
- ④待蒸馏水再次挥发后盖上盖玻片置于显微镜下进行鉴定，使用时间与外界条件有关，一般为 2~3d。

注：由于从事生物监测时间较短的人员开展种类鉴定工作较为困难，而受空气、光源等因素影响，临时装片样品中的水分可能快速挥发，影响对样品的观察。因此也可以将样品制成甘油封片，减少鉴定中因外界因素产生的困难。

#### 7.4.2.2 镜检、计数和结果记录

全藻类样品的分析、计算参考已发布的浮游植物测定标准。

## 8 结果计算与表示

### 8.1 半定量样品

半定量采样结果采用物种相对密度进行计算。

根据鉴定、计数结果，按照式（1）计算着生藻类的相对密度。

$$D_i = d_i/d_T \dots\dots\dots(1)$$

式中： $D_i$ —i 种相对密度；

$d_i$ —i 种计数个体数，cells；

$d_T$ —总计数个体数，cells。

示例：某样品共镜检着生藻类细胞个数 400 cells，其中 a 种检出 80 cells，则 a 种相对密度为 80/400=0.2。

### 8.2 定量样品

定量采集的样品按照下式计算原基质单位面积上着生藻类个体数量，按公式（2）计算：

$$N_i = \frac{n_i \times V_1}{V_2 \times S} \dots\dots\dots(2)$$

式中： $N_i$ —i 种密度，即单位面积个体数量，cells/cm<sup>2</sup>；

$n_i$ —i 种计数个体数，cells；

$V_1$ —样品定容体积，ml；

$V_2$ —样品镜检观察体积，ml；

$S$ —采样面积，cm<sup>2</sup>。

## 9 质量保证和质量控制

## 9.1 野外采样

### 9.1.1 样品采集

制定合理的采样计划，用符合质量要求的合适的仪器设备采样，采样地点以 GPS 定位为准，保证采集样品的代表性和可比性。

采集现场负责人对采样点位、采样实施、采集效果进行评估。

严格按照采样方法采集着生藻类样品，并正确填写现场采样记录表及样品标签。

采样结束后，及时清洗需重复使用的采样设备，并仔细检查，防止采样污染。

### 9.1.2 样品保存与运输

现场及时处理及保存样品，按要求添加合适的保存剂以保证着生藻类个体被固定。

样品运输过程中应避免强光照射及强烈震动，确保样品无破损、无污染。

### 9.1.3 信息记录

现场记录信息应包括样品编号、日期、水体名称、采样位置、生境特征、采样基质、采样量以及采样人姓名等。

信息记录必须完整、规范、清晰。

## 9.2 实验室分析

### 9.2.1 生物鉴定

从事着生藻类样品检测的人员必须经过相关培训和课程，具备一定的生物鉴定专业知识。

建议以流域为单位开展着生藻类名录和图谱库数据平台建设，流域内分析鉴定应基于统一的分类资料进行，命名需与权威资料中的名称一致。

对于样品中的优势种、存疑或不确定种应拍摄照片或视频，请分类学专家对该物种进行确认。新种、新记录种必须留出典型、完好的标本，永久保存，并请分类学专家进行确认。

定期邀请相关专业的分类学家和生态学家检查鉴定结果的合理性。

### 9.2.2 人员比对

由内部检测技术人员或邀请外部分类专家开展人员比对，比对样品应为同一玻片。

#### 9.2.2.1 分类鉴定差异比对

抽取一定比例的样品（如 10%），分别由 2 名技术人员或 1 名技术人员和 1 名质控专家重复计数，以分类鉴定误差率（Percent taxonomic disagreement, PTD）来评估分类鉴定结果的准确性，计算公式如下：

$$PTD = \left( 1 - \frac{comp_{pos}(n_1, n_2)}{max(n_1, n_2)} \right)$$

式中，PTD—分类鉴定误差率，%；

$comp_{pos}(n_1, n_2)$ —两名人员鉴定结果一致的分类单元个体数，cells；

$max(n_1, n_2)$ —两名人员鉴定结果中个体计数值较大者，cells。

#### 9.2.2.2 计数差异比对

定量样品随机抽取一定比例的样品（如 10%）作平行测定，以计数差异率（Percent difference in enumeration, PDE）以评估计数精密度，计算公式如下：

$$PDE = \frac{|N_1 - N_2|}{N_1 + N_2} \times 100\% \dots \dots \dots (3)$$



式中,  $PDE$ —计数误差率, %;

$N_1$ —平行样 1 测定结果, cells/cm<sup>2</sup>;

$N_2$ —平行样 2 测定结果, cells/cm<sup>2</sup>。

#### 9.2.2.3 控制目标

可根据监测目的制定人员比对质控目标, 如  $PDE \leq 30\%$ 、 $PTD \leq 40\%$ 。

#### 9.2.3 结果记录

详细记录样品信息(名称、属性、固定剂情况等)、方法依据及关键技术参数(包括样品体积、浓缩或稀释情况、取样体积、镜检范围等)。

样品镜检记录包括物种学名、计数数量及结果计算方法等信息。其中, 物种学名记录以拉丁名为准, 并记录通用中文学名。

#### 9.2.4 样品保存及处置

按照要求保存样品, 每隔几周定期检查固定液, 必要时进行添加, 样品至少保留 4 个月以上, 有条件的实验室可长期保存。

硅藻玻片应标记样本标签, 置于标本盒中保存。

附录 A  
(资料性附录)  
采样工具及其适用条件

着生藻类样品采样工具及其适用条件和使用方法见表 A.1。

表A.1 采样工具及其适用条件和使用方法

采样工具	规格	适用条件	使用方法	示例图片
硬质毛刷	猪鬃刷 (4 cm×2 cm)	可移动天然坚硬基质	使用干净的硬质毛刷或者硬毛牙刷用力刷基质表面(刷取时,持续刮刷 30 秒以上),刷取着生藻类生物膜,至基质取样范围表面无肉眼可见的着生印迹。刷取完毕后用蒸馏水或无藻水冲洗刷毛上的藻类,将其一并收集。为避免样品交叉污染,该工具不建议循环使用。	图 A.1
硬毛牙刷	碳纤维硬毛材质			图 A.2
解剖刀	4#刀柄 (14 cm)	可移动天然坚硬基质	刮取可移动天然坚硬基质表面较厚的着生藻类生物膜。	图 A.3
刮刀	/	人造稳定基质	用带有筛绢网兜的刮刀刮取载体表面,获取着生藻类。应该刮至少 100 cm <sup>2</sup> 的面积。然后,将粘附在刀刃上和网兜内的生物膜直接移至样品瓶中	图 A.4
抹刀	宽>7 cm	泥沙基质	将培养皿倒置在沉淀物上。通过在培养皿下插入抹刀,将沉淀物收集在培养皿中。将培养皿从河中取出,同时将抹刀固定在培养皿下,并冲洗到样品瓶中。	图 A.5
培养皿	7 cm			
注射器	100-300 mL	不可移动天然坚硬基质	用连接了透明管的注射器抽取以刮擦形式采集的基质表面着生藻类样品。用透明管口擦取着生藻类的同时拉回注射器柱塞,将刮取的着生藻类吸入注射器;将注射器中的液体转移至样品瓶中,如此重复采集多次。	图 A.6
透明胶管	长 30-100 cm 直径 0.5 cm			
密封袋	11#	水生植物载体	采集沉水植物(至少五株),轻微冲洗后放入密封袋中,加入蒸馏水或无藻水后剧烈震荡或搅动植物,以获取附着的藻细胞,从袋中取出大型植物,将袋中的液体装入样品瓶中。	图 A.7
硅藻计	纳片量至少 5 片; 总面积不少于 100 cm <sup>2</sup>	人工基质	将硅藻计部署入靠近下层水的深度,以确保它们不会干扰河流或湖泊使用者的活动,并最大限度地降低被破坏风险。投放时间不少于 15 天,以便使着生藻类很好的附着以及与水环境平衡。此外,应在每个站位重复投放至少 3 个硅藻计,每个硅藻计应至少包含 5 个玻片,以考虑到由于遗失或破坏造成的潜在损失。	图 A.8



图A.1 硬质毛刷



图A.2 硬毛牙刷



图A.3 解剖刀



图A.4 带有筛绢网兜的刮刀



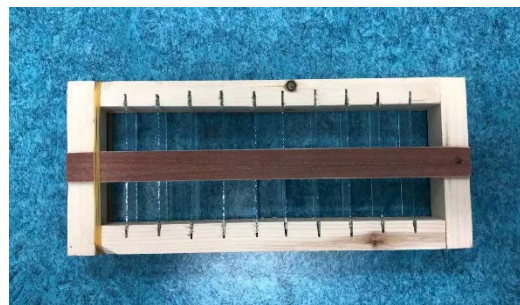
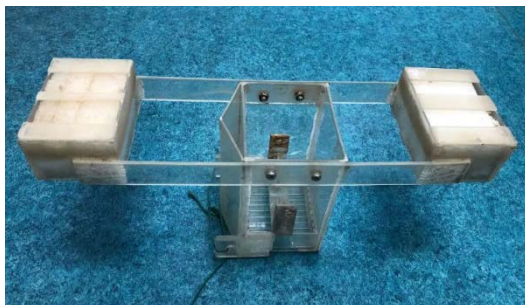
图 A.5 抹刀和培养皿



图 A.6 注射器软管抽取装置



图A.7 密封袋



图A.8 硅藻计

附录 B  
(资料性附录)

着生藻类现场采集记录表

着生藻类采样现场记录表见表 B.1。

表B.1 着生藻类采样记录表

断面名称:	地点:	
所属河流:	采样日期:	
批次编号:	经纬度: E _____ N _____	
河段长度: _____ m	河段宽度: _____ m	水深: _____ m
天气状况	天气_____ 气温_____℃	
水体参数	水温 _____℃ ; pH _____; 盐度_____; 溶解氧 _____mg/L; 电导率 _____μs/cm; 总溶解固体_____mg/L。	
采样方式	<input type="checkbox"/> 涉水 <input type="checkbox"/> 岸边 <input type="checkbox"/> 船上	
采样位置	<input type="checkbox"/> 左岸 <input type="checkbox"/> 中泓 <input type="checkbox"/> 右岸	
样品采集	原位基质法	<p><b>单一基质法:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>●天然坚硬基质: <input type="checkbox"/>卵石 <input type="checkbox"/>砾石 <input type="checkbox"/>岩块</li> <li>●人造稳定基质: <input type="checkbox"/>桥墩 <input type="checkbox"/>板柱 <input type="checkbox"/>码头 <input type="checkbox"/>堤坝</li> <li>●水生植物载体: <input type="checkbox"/>沉水植物 <input type="checkbox"/>挺水植物 植物种类_____</li> <li>●其它基质: <input type="checkbox"/>基岩/巨石 <input type="checkbox"/>沉积物(泥沙、淤泥)</li> </ul> <p>采样面积_____cm<sup>2</sup></p> <p>注(卵石: 64-256 mm 砾石: 16-64 mm 岩块&gt;256 mm)</p>
	复合基质法	<p><b>复合基质法:</b></p> <p><input type="checkbox"/>卵石_____% <input type="checkbox"/>砾石_____% <input type="checkbox"/>岩块_____%  <input type="checkbox"/>桥墩_____% <input type="checkbox"/>板柱_____% <input type="checkbox"/>码头_____%  <input type="checkbox"/>堤坝_____% <input type="checkbox"/>沉水植物_____% <input type="checkbox"/>挺水植物_____%  <input type="checkbox"/>其它( )_____%</p>
	人工基质法	<p><input type="checkbox"/>硅藻计 <input type="checkbox"/>其它( )</p> <p>采样面积_____cm<sup>2</sup></p>
备注		
采样人员:	复核人员:	现场负责人:

附录 C  
(资料性附录)  
着生藻类检测记录表

着生藻类半定量样品检测记录表见表 C.1, 定量样品检测记录表见表 C.2。

表C.1 着生藻类半定量计数记录表

专题名称:                      样品类型:                      任务书编号:                      第 页 共 页

检测项目:	检测方法:	仪器名称:	仪器编号:
放大倍数:	点位名称:	采样时间:	
检测值 (cells)	数量	计数个体数 $d_i$ (cells) (以“正”字记录)	小计 (cells)
种 类 名 称			
种类 1			
种类 2			
种类 3			
种类 4			
种类 5			
种类 6			
种类 7			
种类 8			
.....			
.....			
.....			
.....			
以下空白			
总计个体数 $d_T$ (cells)			
备注:			
检验:                                      校核:                                      审核:			
年    月    日                      年    月    日                      年    月    日			

表 C.2 着生藻类定量计数记录表

专题名称:                      样品类型:                      任务书编号:                      第 页 共 页

检测项目:	检测方法:	仪器名称:	仪器编号:
放大倍数:	点位名称:	采样时间:	
检测值 (cells)	点 位	点位 1	
		种类名称	
采样面积 $S$ (cm <sup>2</sup> )			
样品定容体积 $V_1$ (mL)			
检测观察体积 $V_2$ (mL)			
种类	计数个体数 $n_i$ (cells) (以“正”字记录)		小计 (cells)
种类 1			
种类 2			
种类 3			
种类 4			
种类 5			
种类 6			
种类 7			
种类 8			
.....			
.....			
以下空白			
备注:			
检验:                                      校核:                                      审核:			
年    月    日                                      年    月    日                                      年    月    日			

表C.3 着生藻类检测质控记录表

专题名称: 样品类型: 任务书编号: 第 页 共 页

检测项目:	检测方法:	仪器名称:	仪器编号:
放大倍数:	点位名称:	采样时间:	
质控信息		比对 1	比对 2
检测人员			
检测日期			
结果		比对 1	比对 2
定量 样品结果	检测结果 $N$ (cells/cm <sup>2</sup> )		
	计数差异率 $PDE$		
半定量 样品结果	种类 1		
	种类 2		
	种类 3		
	种类 4		
	种类 5		
	种类 6		
	.....		
	合计 $n$		
	分类一致数 $Comp_{pos}$		
	分类鉴定误差率 $PTD$		
质控内容	质控目标: PDE: _____ PTD: _____		
	计数误差率 $PDE = \frac{ N_1 - N_2 }{N_1 + N_2} \times 100\%$ $N_1$ —平行样 1 测定结果, cells/cm <sup>2</sup> ; $N_2$ —平行样 2 测定结果, cells/cm <sup>2</sup> 。	分类鉴定误差率 $PTD = \left( 1 - \frac{comp_{pos}(n_1, n_2)}{\max(n_1, n_2)} \right)$ $comp_{pos}(n_1, n_2)$ —两名人员鉴定结果一致的分类单元个体数, cells; $\max(n_1, n_2)$ —两名人员鉴定结果中个体计数值较大者, cells。	
	质控结果: <input type="checkbox"/> 合格 <input type="checkbox"/> 不合格		
检验:	校核:	审核:	
年 月 日	年 月 日	年 月 日	



附录 D  
(资料性附录)  
分类检索参考资料

- [1] 中国科学院中国孢子植物志编辑委员会. 中国淡水藻志(1-23卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1988-2018.
- [2] 胡鸿均, 魏印心. 中国淡水藻类—系统、分类及生态[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [3] KREMMER K, LANGE-BERTALOTH. 欧洲硅藻鉴定系统[M]. 刘威, 朱远生, 黄迎艳, 译. 广州: 中山大学出版社, 2012.
- [4] 水利部水文局. 中国内陆水域常见藻类图谱[M]. 武汉: 长江出版社, 2012.
- [5] 翁建中, 徐恒省. 中国常见浮游藻类图谱[M]. 上海: 上海科技出版社, 2010.
- [6] 王全喜, 曹建国, 刘妍, 等. 上海九段沙湿地自然保护区及其附近水域藻类图集[M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [7] 王全喜, 邓贵平. 九寨沟自然保护区常见藻类图集[M]. 北京: 科学出版社, 2017.
- [8] 朱惠忠, 陈嘉佑. 中国西藏硅藻[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [9] 范亚文, 刘妍. 兴凯湖的硅藻[M]. 北京: 科学出版社, 2016.
- [10] 刘静, 韦桂峰, 胡韧, 等. 珠江水系东江流域底栖硅藻图集[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2013.
- [11] 周凤霞, 陈剑虹. 淡水微型生物图谱[M]. 北京: 化学工业出版社, 2016.
- [12] 韩茂森, 束蕴芳. 中国淡水生物图谱[M]. 北京: 海洋出版社, 1995.
- [13] 辽宁省水利厅. 大伙房水库水生动植物图鉴[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2012.