

水生态监测技术要求

淡水浮游植物（试行）

Technical specifications for aquatic ecological monitoring-
freshwater phytoplankton

（发布稿）

中国环境监测总站

2022年1月

目 次

| | |
|----------------------|----|
| 前 言..... | 1 |
| 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..... | 3 |
| 7 样品..... | 4 |
| 8 分析步骤 | 6 |
| 9 结果计算与表示..... | 8 |
| 10 质量保证和质量控制 | 8 |
| 附录 A（资料性附录） 记录表..... | 10 |
| 附录 B（资料性附录） 记录表..... | 10 |
| 附录 C（资料性附录） 记录表..... | 12 |
| 附录 D（资料性附录） 记录表..... | 13 |
| 附录 E（资料性附录） 记录表..... | 14 |
| 浮游植物分类鉴定参考书目 | 15 |

前 言

本技术要求规定了淡水浮游植物的样品采集、保存、运输、分析、质量保证和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E为资料性附录。

本技术要求起草单位：中国环境监测总站、浙江省生态环境监测中心、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、湖南省洞庭湖生态环境监测中心、江苏省苏州环境监测中心、山东省济南生态环境监测中心。

水生态监测技术要求 淡水浮游植物

1 适用范围

本技术要求规定了淡水浮游植物的样品采集、保存、运输、分析、质量保证和质量控制等监测要求。

本技术要求适用于以水生态业务化监测和评价为目的的湖泊、水库、河流等水体（不包含咸淡水交汇区）中淡水浮游植物的监测。

2 规范性引用文件

本技术要求引用了下列文件或其中的条款。凡是不注日期的引用文件，其有效版本适用于本标准。

GB/T 14581 水质 湖泊和水库采样技术指导

HJ/T 91 地表水和污水监测技术规范

HJ 494 水质 采样技术指导

HJ 1215 水质 浮游植物的测定 滤膜-显微镜计数法

HJ 1216 水质 浮游植物的测定 0.1ml计数框-显微镜计数法

SL 733 内陆水域浮游植物监测技术规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本技术要求。

3.1

浮游植物 phytoplankton

在水中营浮游生活的微小藻类植物，通常浮游植物就是浮游藻类，包括原核的蓝藻和其它各类真核藻类。

3.2

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，主要包括门（Phylum）、纲（Class）、目（Order）、科（Family）、属（Genus）、种（Species）等。

3.3

计数单位 counting unit

显微镜视野下选择计数的最小单元，如细胞。

3.4

浮游植物密度 density of phytoplankton

单位体积的浮游植物的细胞数，cells/L。

3.5

生物量 biomass

单位体积内某种（类）或全部淡水浮游植物的湿重。

3.6

水华 water blooms

水体中浮游植物大量繁殖引起水体表观颜色明显改变的一种自然生态现象。

4 监测原则及流程

4.1 科学性原则

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淡水浮游植物的整体状况。

选择具有代表性的采样点位是项很复杂而困难的工作。因此必须掌握选定区域的各种资料，这些资料可从历史调查记录中获得，必要时需要进行实地勘测，而全面了解采样对象、采样点位本身及周围各种环境参数。

4.2 可操作性原则

淡水浮游植物监测需要综合考虑人力、资金和后勤保障等条件，充分利用现有资源，立足于环境监测业务及环境管理需求。

4.3 持续性原则

考虑到生物群落演替具有长期性、复杂性等特点，建议监测断面（点位）、方法、时间和频次等一经确定，应保持延续性，对水生态环境状况进行持续跟踪。

4.4 保护性原则

监测以保护和恢复为最终目标，因此在监测过程中应避免对野生生物造成伤害，避免超出客观需要的采样。

4.5 安全性原则

野外监测相关人员应接受专业培训，并做好安全防护措施。

4.6 监测流程

浮游植物监测流程见图1。



图1 浮游植物监测流程

5 试剂和材料

除非另有说明,分析时均使用符合国家标准和分析纯试剂,实验用水为新制备的去离子水或蒸馏水。

5.1 碘 (I₂)。

5.2 碘化钾 (KI)。

5.3 鲁哥氏碘液:称取 60 g 碘化钾 (5.2) 溶解在 100 ml 蒸馏水中,加入 40 g 碘 (5.1),充分搅拌使其完全溶解,加水定容至 1000 ml,转移至棕色磨口玻璃瓶。鲁哥氏液在室温避光条件下保存。

5.4 甲醛溶液: $w(\text{HCHO})=37\% \sim 40\%$ 。

5.5 滤膜-显微镜计数法相关试剂和材料依据 HJ 1215。

6 仪器和设备

6.1 25 号浮游生物网:网孔直径为 0.064 mm,网呈圆锥形,网口套在环上,网底端有出水开关活塞。

6.2 定性采样瓶:30 ml~100 ml 广口聚乙烯瓶。

6.3 采水器:采水器为圆柱形,上下底面均有活门。采水器沉入水中,活门可自动打开。容量和深度规格要满足采样要求。

6.4 塞氏盘:黑白盘。配重锤及带刻度的绳索。

6.5 定量采样瓶:1 L~2 L 广口聚乙烯瓶或塑料桶。

6.6 浓缩装置:1 L~2 L 具刻度直型漏斗和铁架台,直型漏斗 50 ml 处有标记。

6.7 筛绢:网孔直径 0.064 mm。

6.8 虹吸装置:由吸耳球、虹吸软管、硬质玻璃管或塑料管组成,玻璃管前段以筛绢 (6.7) 封口。

6.9 冷藏箱。

6.10 载玻片： 26 mm×76 mm。

6.11 盖玻片： 25 mm×25 mm； 22mm×22mm。

6.12 正置显微镜或倒置显微镜：物镜 4×、10×、20×、40×、100×；目镜 10×或 15×，带摄影系统。

6.13 浮游生物计数框：0.1ml 框，内框 20 mm×20 mm，横竖划分为 10×10 行，共 100 个计数小格，每个计数小格内框为 2 mm×2 mm。

6.14 目镜分划板：网格型或十字型或工字型。

6.15 计数器。

6.16 镜台测微尺：1 mm/100 Div。

注：Div 指等分格，1 mm/100 Div 即 1 mm 等分成 100 格。下述 Div 同。

6.17 一般实验室常用设备：去离子水设备、不同规格量筒、离心管、微量移液管或移液器、巴斯德吸管或胶头滴管、烧杯、玻璃搅拌棒等。

6.18 超声发生装置：频率 40kHz 可调。

6.19 一般防护设备：救生衣、水裤、防水服、防晒服、防寒服、劳保鞋、橡胶手套、急救包。

7 样品

7.1 点位布设

点位布设按照 GB/T 14581、HJ/T 91 和 HJ 494 的相关规定执行。需同时考虑监测目的。

7.2 采样层次

浮游植物分层采样应满足以下要求：

a) 对于水深小于 5 m 或者混合均匀的水体，在水面下 0.5 m 处布设一个采样点；

b) 当水深为 5 m~10 m 时，分别在水面下 0.5 m 处和透光层底部各布设一个采样点（透光层深度以 3 倍透明度计），进行分层采样或取混合样；

c) 当水深大于 10 m 时，分别在水面下 0.5 m、1/2 透光层处及透光层底部各布设 1 个采样点，进行分层采样或取混合样。

分层采样应满足监测要求。

7.3 采样频次

监测频次取决于监测目的。一般情况下，监测频次按照季节、水期（丰水期、平水期、枯水期）或月份确定。监测频次确定需同时考虑下列事项：

a) 若进行逐季或逐月监测，各季或各月监测时间间隔应基本相同。

b) 同一水体的监测应使水质、水文及生物采样时间保持一致。

7.4 样品的采集

7.4.1 定性样品

使用 25 号浮游生物网（6.1）在水体表层至 0.5 m 水深处以 20 cm/s~30 cm/s 的速度做“∞”形往复、缓慢拖动约 1 min~3 min，将浮游生物网提出水面，定性样品被收集在网底部容器中，将底端出口伸入定性采样瓶（6.2），打开底端活塞开关收集定性样品。

需获取不同水层定性样品时，直接用 25 号浮游生物网（6.1）过滤该水层水样即可。

定性样品采集完成后应及时清洗 25 号浮游生物网（6.1）。

7.4.2 定量样品

使用采水器（6.3）定量采集 1 L~2 L 水至定量采样瓶（6.5）中，记录定量样品体积。定量样品采集完成后，应在样品瓶液面至瓶盖间留有一定空间以便摇匀。定性样品和定量样品标签应包含采集项目（浮游植物定量或浮游植物定性）、样品编号、采样日期、采样点位和采样体积。现场记录表格按照附录 A 填写。

注 1：当浮游植物（如蓝藻）浮在水面或成片、条带分布，需采集此藻类密集区域的水样作为峰值参考。

注 2：定量样品采集应在定性样品采集之前。

7.5 样品固定和保存

7.5.1 定性样品

定性样品采集后应立即加入鲁哥氏液（5.3）固定，用量为水样体积的 1.0%~1.5%。当需镜检活体样本时不加固定剂。

已固定的定性样品可室温避光保存，保存时间不超过 3 周；1 °C~5 °C 冷藏避光条件下可保存 12 个月。活体样品应保存在 4 °C~10 °C 环境条件下，保存时间不超过 36 h。

注：活体样本应放入冷藏箱（6.9）中运输。

7.5.2 定量样品

定量样品采集后应立刻加入鲁哥氏液（5.3）固定，用量为水样体积的 1.0%~1.5%。保存期限同 7.5.1。

样品在保存过程中，应每周检查鲁哥氏液（5.3）的氧化程度，如果样品颜色变浅，应向样品中补加适量的鲁哥氏液（5.3），直至样品颜色恢复为黄褐色。

注 1：长期保存样品，应加入甲醛溶液（5.4），用量为水样体积的 4%。甲醛使用需采取安全保护措施。

注 2：样品检测完成后是否需长期保存取决于监测要求。

7.6 样品运输

根据采样记录核对样品。运输中应确保样品无破损、无污染。

7.7 样品处理

7.7.1 沉淀浓缩

将全部定量样品摇匀倒入浓缩装置（6.6）中，室温静置 24 h~48 h。用虹吸装置（6.8）吸取上清液，直至浮游植物沉淀物处于 50 ml 标记线左右。旋开浓缩装置（6.6）底部活塞，将浮游植物沉淀物收集在 100 ml 量筒中，再用少许上清液冲洗浓缩装置（6.6）1~3 次，将冲洗水一并收集在量筒中，读取量筒中样品体积，即为浓缩体积，将浓缩液转入离心管中（6.17）。静置初期，应适时轻敲浓缩装置（6.6）器壁减少吸附。虹吸过程中，吸液口与浮游植物沉淀物间距离应大于 3 cm。

注：样品也可在原定量采样瓶（6.5）中直接浓缩，具体操作步骤与浓缩装置同。

7.7.2 超声处理

当样品有大量细胞团（如微囊藻）存在时，可通过超声处理将细胞团打散。取混匀的适量定量样品（30 ml 左右）于离心管（6.17）中，用超声发生装置（6.18），40 kHz 条件下超声 10 min，显微镜下观察样品，若仍有大量未分散的细胞团，需延长超声处理，直至大部分细胞团分散。

7.7.3 硅藻酸化处理

若需对样品中硅藻内含物做酸化处理，按照《水生态监测技术要求 淡水着生藻类》第7.4.1.1执行。

7.7.4 滤膜封片制备

若需快速测定样品中浮游植物，可选择滤膜-显微镜计数法。其原理是样品通过一定孔径的滤膜，群体、丝状体及单细胞浮游植物截留在滤膜上，滤膜经透明处理后在显微镜下镜检。滤膜装片按照 HJ 1215 第 8.1.5 执行。

7.8 样品标识和记录

经前处理的样品标签应包含样品编号、采样日期、采样点位、采样体积及浓缩体积等相关信息并记录。

8 分析步骤

8.1 定性分析

用微量移液器或巴斯德吸管（6.17）在样品瓶底部吸取60 μL 左右的定性样品，滴于载玻片（6.10）上，盖上盖玻片（6.11），制成临时装片，在显微镜（6.12）下观察。优势种类鉴定到种，其他种类至少应鉴定到属。部分鉴定参考资料见参考文献。每个样品应观察不少于2~3个装片，实验室分析表格按照附录B填写。

注 1：种类鉴定除用定性样品观察外，还可吸取已经完成定量分析的定量样品进行观察。

注 2：若有已发布浮游植物测定标准，按相关标准执行。

8.2 定量分析

8.2.1 预检

用移液器（6.17）定量吸取0.1 ml混匀样品，注入浮游植物计数框（6.13）中，盖上盖玻片（6.11），静置片刻，无气泡方可观察样品，如有气泡应重新取样。随机选取若干计数小格或视野，初步估计浮游植物的数量。

8.2.2 显微镜标定

计数前标定显微镜（6.12），确定计数视野面积。显微镜（6.12）标定设备包括目镜分划板（6.14）和1 mm镜台测微尺（6.16）。用镜台测微尺测量标定一定放大倍数下的视野直径，然后按照圆面积计算公式求得视野面积。或者由所用目镜的视场数除以物镜放大倍数求得视野直径，再按照圆面积计算公式求得视野面积。

注：标定显微镜和视野面积的具体操作方法按照HJ 1215 附录B和HJ 1216 附录B执行。

8.2.3 显微计数

将样品充分摇匀，用移液器吸取0.1 ml样品到0.1ml 计数框（6.13）中，盖上用盖玻片（6.11），静置片刻，无气泡方可观察样品，如有气泡应重新取样。将装片置于显微镜（6.12）载物台上进行镜检计数。记录显微镜视野下浮游植物种类及数量，其中丝状体和似球形群体通过估算获得细胞数，估算方法按照HJ 1215 附录C执行。为减少工作量，每次抽样，一般不对整个计数框内的浮游植物全部计数，只需选取其中一部分计数，选取过程是一个次级抽样过程，应做到在计数框的区域内均匀抽样。对于藻类密度很低（ 10^4 cells/L及以下）的样品，需全片计数。标本片应尽快完成镜检，标本片如出现气泡需再次装片。

计数一般从0.1ml 计数框(6.13)的右下角开始，并约定计数规则。计数小格左对角边缘区域不予计数，右对角边缘区域的藻类予以计数，计数规则见图2。实验室分析表格按照附录C填写。

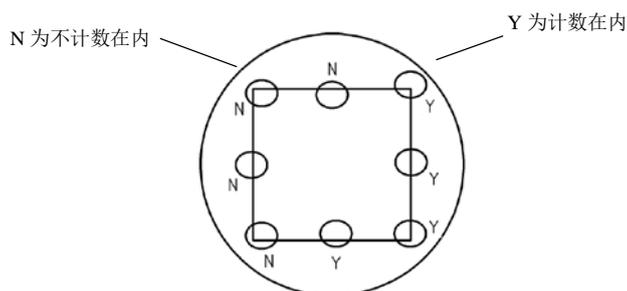


图2 视野计数约定规则

可供选择的计数方法如下：

a.行格法

按照0.1 ml计数框（6.13）上的第二、五、八行共30个计数小格进行藻类分类计数，计数方法见图3。

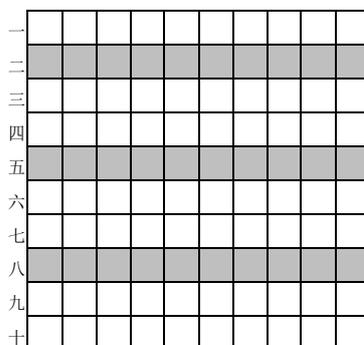
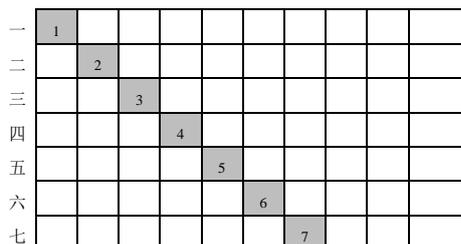


图3 行格法

b.对角线法

按照0.1 ml计数框（6.13）对角线上的计数小格进行藻类分类计数，每0.1 ml样品计数5或10格，直至达到30个小格，计数方法见图4。



| | | | | | | | | | | |
|---|--|--|--|--|--|--|--|---|---|----|
| 八 | | | | | | | | 8 | | |
| 九 | | | | | | | | | 9 | |
| 十 | | | | | | | | | | 10 |

图4 对角线法

c.视野法

计数的视野数目应根据样品中浮游植物数量的多少来确定。计数视野在计数框(6.13)内尽量均匀分布。一般地，低密度样本（ 10^6 cells/L及以下），计数视野数不少于20个；中密度样品（ 10^7 cells/L~ 10^8 cells/L以下），计数的视野数不少于20个；高密度样品（ 10^8 cells/L及以上），计数视野数不低于10个即可。

9 结果计算与表示

9.1 0.1ml 计数框法

当使用计数框法(6.13)对样品计数时，样品中浮游植物细胞密度（cells/L），按照公式（1）进行计算：

$$N = \frac{A}{A_c} \times \frac{n}{V} \times \frac{V_1}{V_0} \times 1000 \dots \dots \dots (1)$$

式中：N——样品中浮游植物细胞密度，cells/L；

A——计数框面积，mm²；

A_c——计数面积：计数方式为对角线、行格和全片时，计数面积分别为 A/10、3A/10 和 A；计数方式为随机视野时，为计数的总视野面积，mm²；

n——浮游植物细胞显微镜计数量，cells；

V——计数框容积，ml；

V₀——稀释或浓缩前的取样体积，ml；

V₁——稀释或浓缩后的体积，ml；

1000——体积换算系数，ml/L。

9.2 滤膜-显微镜计数法

使用滤膜-显微镜计数法计数时，样品中浮游植物细胞密度计算方法按照HJ 1215 第9执行。

9.3 生物量分析

浮游植物生物量分析采用体积测量法，然后换算成生物量。生物量具体分析按照SL 733 6.5执行。按照附录D填写浮游植物生物量分析记录。

10 质量保证和质量控制

10.1 样品的采集：按照监测方案实施样品采集。制定合理的采样操作方案，确定采样时间、采样点位和采样层次，用符合质量要求的统一设备采样，采水量尽量保持一致，以保证采集的样品具有代表性和可比性。保证所有野外设备处于良好运行状态，须制定常规检查、维护和校准计划，确保野外监测数据质量。合理安排各类样品采集顺序，避免生物类群在采集前受到较大扰动。及时在现场固定样品，清点样

品数量，正确填写样品标签。每次采样前后及时清洗所有接触过样品的采样设备，并仔细检查，防止污染。

10.2 最小计数量：每个样品浮游植物优势种种类计数最少 100 cells~150 cells。根据样品优势度指数 Y' 判别样品浮游植物优势种， Y' 值最高的种类为该样品浮游植物优势种。按照公式（2）计算 Y' 值。

$$Y' = \frac{n'_i f'_i}{N'} \dots \dots \dots (2)$$

式（2）中：

- Y' ——样品优势度值；
- n'_i ——样品中第 i 种的个体数。
- N' ——样品中物种的总个体数。
- f'_i ——第 i 种在样品中出现的频率。

注：物种优势度指数 Y 是针对调查区域或断面所有采样点的物种优势度，根据 Y 各参数物理意义、将参数对象稍作改动得出样品优势度指数 Y' 。按照样品优势度指数 Y' 判断样品浮游植物优势种。一般将 Y' 值最高种类确定为浮游植物优势种。

10.3 每批次样品中，随机抽取 10% 的样品做平行测定，用计数差异百分比（Percent Difference in enumeration, PDE）评估计数精密度，用物种分类差异百分比（Percent Taxonomic Disagreement, PTD）评估分类精密度。计数差异百分比 PDE 按照公式（3）计算。

$$PDE = \frac{|\bar{N}_1 - \bar{N}_2|}{\bar{N}_1 + \bar{N}_2} \dots \dots \dots (3)$$

式（3）中：

- PDE——计数差异百分比，%；
- \bar{N}_1 ——平行样 1 测定结果的均值，cells/L；
- \bar{N}_2 ——平行样 2 测定结果的均值，cells/L。

物种分类差异百分比按照公式（4）计算。

$$PTD = \left(1 - \frac{comp_{pos}}{N}\right) \times 100\% \dots \dots \dots (4)$$

式（4）中：

- PTD——物种分类差异百分比，%；
- $comp_{pos}$ ——物种分类单元一致的数量，个；
- N ——物种分类单元较多一方的数量，个。

一般计数差异百分比控制在 $PDE \leq 30\%$ ，分类差异百分比控制在 $PTD \leq 40\%$ 。质控记录表按照附录 E 填写。

10.4 定期标定显微镜，标定目镜分划板及视野面积，每年至少 1 次。

10.5 从事浮游植物鉴定的技术人员需定期参加专业技术培训。定期开展人员或实验室间比对，比对数据分析参照 10.3，按照附录 E 填写。

浮游植物现场采样记录表

| | | | |
|----------------------|--|------------------------|-------|
| 断面名称 | | 所在 水体 | |
| 采样时间 | ____年__月__日 ____时__分__至____时__分 | | |
| 定量 样品 编号 | 1 | 2 | |
| | 3 | 4 | |
| | | | |
| 定性 样品 编号 | 1 | 2 | |
| | 3 | 4 | |
| | 5 | | |
| 采样 工具 | 1、 <input type="checkbox"/> 25#浮游生物网 仪器编号： | | |
| | 2、 <input type="checkbox"/> 采水器 仪器编号： | | |
| 定量 样品 采样 层次 | <input type="checkbox"/> 不分层 | 水面下 0.5m 处 | 取样量 L |
| | <input type="checkbox"/> 2 层 | 水面下 0.5m 处 | 取样量 L |
| | | 透光层 (深度以 3 倍透明度计) 底部采集 | 取样量 L |
| | | 混合样 (如有) | 取样量 L |
| | <input type="checkbox"/> 3 层 | 水面下 0.5m 处 | 取样量 L |
| | | 1/2 透光层 | 取样量 L |
| | | 透光层底部采集 | 取样量 L |
| 混合样 (如有) | | 取样量 L | |
| 样品 固定 | 固定剂: <input type="checkbox"/> 鲁哥氏液 <input type="checkbox"/> 甲醛溶液 | | |
| 备注 | (如样品状态感官描述) | | |

采样人员:

复核人员:

审核人员:

共__页 第__页

浮游植物分类鉴定参考书目

- [1] 胡鸿钧, 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.
 - [2] 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, 1998-2016.
 - [3] 胡鸿钧, 李尧英, 魏印心等. 中国淡水藻类 [M]. 北京: 科学技术出版社, 1980.
 - [4] 胡鸿钧. 水华蓝藻生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2011.
 - [5] 刘威, 朱远生, 黄迎艳译. 欧洲硅藻鉴定系统[M]. 广州: 中山大学出版社, 2012.
 - [6] 章宗涉, 黄祥飞. 淡水浮游生物研究方法[M]. 北京: 科学出版社, 1991.
-