



中华人民共和国国家标准

GB/T 42629.3—2023

国际海底区域和公海环境调查规程 第3部分：海洋生物调查

Code of practice for international seabed area and high seas
environmental survey—Part 3: Marine biological survey

2023-05-23 发布

2023-12-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

目 次

前言	V
引言	VI
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 一般规定	2
4.1 技术设计	2
4.2 调查要求	2
4.3 调查与分析仪器设备	3
4.4 样品采集	4
4.5 样品分析	4
4.6 资料整理及报告编写	4
5 叶绿素 a	4
5.1 技术要求和调查要素	4
5.2 水体叶绿素 a 萃取荧光法测定	5
5.3 水体叶绿素 a 粒度分级测定	6
5.4 沉积物叶绿素 a 测定	6
6 初级生产力	8
6.1 技术要求和调查要素	8
6.2 测定方法	8
6.3 初级生产力粒度分级测定	10
7 微生物	11
7.1 技术要求和调查要素	11
7.2 样品采集	11
7.3 样品分析	11
7.4 资料整理	13
8 微小型光合浮游生物	14
8.1 技术要求和调查要素	14
8.2 样品采集	14
8.3 样品分析	15
8.4 资料整理	16
9 微、小型浮游生物	17
9.1 技术要求和调查要素	17

GB/T 42629.3—2023

9.2	样品采集.....	17
9.3	样品分析.....	19
9.4	资料整理.....	19
10	大、中型浮游生物.....	20
10.1	技术要求和调查要素	20
10.2	样品采集	21
10.3	样品分析	22
10.4	资料整理	23
11	鱼类浮游生物	23
11.1	技术要求和调查要素	23
11.2	样品采集	23
11.3	样品分析	24
11.4	资料整理	24
12	巨型底栖动物	24
12.1	技术要求和调查要素	24
12.2	样品(资料)采集	24
12.3	样品(资料)分析	26
12.4	资料整理	26
13	大型底栖动物	27
13.1	技术要求和调查要素	27
13.2	样品采集	27
13.3	样品分析	28
13.4	资料整理	28
14	小型底栖后生动物	29
14.1	技术要求和调查要素	29
14.2	样品采集	30
14.3	样品分析	30
14.4	资料整理	30
15	有孔虫	30
15.1	技术要求和调查要素	30
15.2	样品采集与保存	31
15.3	样品分析	31
15.4	资料整理	31
16	结核动物	31
16.1	技术要求和调查要素	31
16.2	样品采集	31
16.3	样品分析	32

16.4	资料整理	32
17	底栖鱼类与食腐动物	32
17.1	调查要素与技术要求	32
17.2	样品和资料采集	33
17.3	样品分析	34
17.4	影像资料分析	34
17.5	资料整理	34
18	游泳动物	34
18.1	技术要求与调查要素	34
18.2	样品采集	34
18.3	样品分析	35
18.4	资料整理	35
19	海洋哺乳动物和海鸟	35
19.1	技术要求与调查要素	35
19.2	主要仪器设备	36
19.3	调查方法	36
19.4	资料整理	36
20	食物网	36
20.1	技术要求与调查要素	36
20.2	样品采集	37
20.3	样品分析	38
20.4	资料整理	39
附录 A	(规范性)海洋生物调查和分析记录表.....	40
参考文献	88

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。

本文件是GB/T 42629《国际海底区域和公海环境调查规程》的第3部分。GB/T 42629已经发布了以下部分：

- 第1部分：总则；
- 第 2 部分：海洋化学调查；
- 第3部分：海洋生物调查；
- 第4部分：海洋沉积物物理特性调查。

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专利的责任。

本文件由中华人民共和国自然资源部提出。

本文件由全国海洋标准化技术委员会(SAC/TC 283)归口。

本文件起草单位：自然资源部第二海洋研究所、中国大洋矿产资源研究开发协会、自然资源部第三海洋研究所、中国科学院海洋研究所、北京先驱高技术开发有限责任公司。

本文件主要起草人：王春生、许学伟、高岩、林施泉、周鹏、王小谷、张东声、孙栋、类彦立、林龙山、周亚东、刘诚刚、孟凡旭、翟红昌、杨志、方晨、韩录维。

引 言

为全面贯彻《中华人民共和国深海海底区域资源勘探开发法》，并遵守国际海底管理局有关规章和环境指南的要求，指导我国承包者切实履行多金属结核、富钴结壳和多金属硫化物资源等深海海底区域资源勘探开发的环境调查义务，编制了GB/T 42629《国际海底区域和公海环境调查规程》系列规程，使我国在国际海底区域和公海的环境调查技术、方法与国际接轨，为我国承包者履行环境调查义务和开展公海环境调查提供技术支撑。GB/T 42629旨在确立普遍适用于国际海底区域和公海环境调查的内容、程序和共性要求，拟由4个部分组成。

- 第1部分：总则。目的在于确立适用于国际海底区域和公海海洋化学、海洋生物、海洋沉积物物理特性和物理海洋等海洋环境调查的程序和总体要求。
- 第2部分：海洋化学调查。目的在于规范海洋化学调查内容和分析方法。
- 第3部分：海洋生物调查。目的在于规范海洋生物调查内容、方法和技术要求。
- 第4部分：海洋沉积物物理特性调查。目的在于规范海洋沉积物物理特性调查内容、方法和技术要求。

本文件为GB/T 42629的第3部分，规定了国际海底区域和公海海洋生物调查的基本要求和方法。通过本标准的实施，可有效推进国际海底区域和公海海洋生物调查工作的规范化、标准化和制度化，使不同组织实施单位、不同调查船、不同调查研究人员获得的数据具有可比性。

国际海底区域和公海环境调查规程

第3部分：海洋生物调查

1 范围

本文件规定了国际海底区域和公海海洋生物调查的一般规定、调查要素、样品采集、样品分析及资料整理的基本要求和方法。

本文件适用于除极地海洋以外的国际海底区域和公海环境调查中的海洋生物调查。

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/T 12763.6—2007 海洋调查规范 第6部分：海洋生物调查

GB/T 30744—2014 深海微生物样品前处理技术规范

GB/T34656—2017 海洋沉积物间隙生物调查规范

GB/T 42629.1—2023 国际海底区域和公海环境调查规程 第1部分：总则

3 术语和定义

GB/T 42629.1 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

沉积物叶绿素 a sediment chlorophyll a

存在于沉降到海底的光合生物碎屑和腐殖质中的叶绿素 a 和脱镁叶绿素 a。

3.2

巨型底栖动物 megafauna

栖息于水—沉积物界面，并能在海底照片上清楚分辨的动物，大小通常大于等于1 cm。

3.3

大型底栖动物 macrofauna

栖息于沉积物表面和底内，并在沉积物样品分选时被250 μm 孔径网筛所阻留的动物。

注：主要包括多毛纲、双壳纲、等足目和原足等类群。

3.4

小型底栖后生动物 metazoan meiofauna

栖息于沉积物表面和底内，并在沉积物样品分选时被32 μm 孔径网筛所阻留的后生动物以及它们的幼体等。

注：主要类群包括线虫、桡足类、缓步类、介形类、腹毛类、曳鳃类、双壳类、节肢类、鳞类、动物类、轮虫类等。

3.5

结核动物 nodule fauna

在多金属结核表面和裂隙中生活的动物。

3.6

食腐动物 scavenger

以动植物的尸体及其分解物、粪便等为食的动物。

3.7

海洋哺乳动物 marine mammal

在海洋中胎生哺乳、体温恒定的脊椎动物。

注：现存的海洋哺乳动物分属于哺乳纲下的三个目，包括鲸目，海牛目和食肉目。

3.8

海鸟 seabird

在形态和行为上完全适应于海洋环境，可在咸水中觅食的鸟类。

[来源：中国海洋与湿地鸟类，有修改]

3.9

环境 DNA environmental DNA;eDNA

环境中的水、沉积物和生物体及其身上脱落的组织和排泄物等释放出来的游离 DNA 分子。可反映环境中当前和过去一段时间内的生物活动和存在情况。

4 一般规定

4.1 技术设计

技术设计要求如下：

- a) 根据调查任务进行技术设计，其内容包括调查项目、调查要素、调查站位、调查方法、调查时间、调查频次、调查船只、调查人员及专业、调查设备、预期成果等；
- b) 根据海洋生物调查要素需求，在海洋生物调查站位应同步开展水体和底质环境参数调查，包括物理海洋、海洋化学和海洋地质等调查，生物调查与环境参数调查应同船、同站、同步作业。

4.2 调查要求

4.2.1 调查项目

调查项目如下。

- a) 水体生物：微生物，微微型光合浮游生物，微、小型浮游生物，大、中型浮游生物，鱼类浮游生物，游泳动物。
- b) 底栖生物：巨型底栖动物、大型底栖动物、小型底栖后生动物、有孔虫、结核动物、微生物、底栖鱼类和食腐动物。
- c) 其他生物：海洋哺乳动物和海鸟。
- d) 生态系统功能：叶绿素 a、初级生产力、食物网。

4.2.2 样品和海底视像资料类型及采集方法

4.2.2.1 样品类型及采集方法

样品类型及采集方法要求如下。

- a) 海水样品适用于叶绿素 a、微生物、微微型光合浮游生物和微型浮游生物等调查项目，应采用采水型温盐深剖面仪(CTD) 按规定水层采样(见表1)。

表 1 采水层次

单位为米

海区		标准层次																
多金属结核调查区		表层	2550	75	100	125	150	200	500	800	1000	2000	3000	5000	离底100	离底50	近底层	
富钴结壳调查区	水深<3000	表层	2550	75	100	125	150	200	500	800	1000	2000	离底100	离底50	近底层			
	水深≥3000	表层	25	50	75	100	125	150	200	500	800	1000	2000	3000	5000	离底100	离底50	近底层
多金属硫化物调查区		表层	25	50	75	100	125	150	200	500	800	1000	2000	离底300	离底200	离底100	离底50	近底层
稀土调查区及其他区域		表层	25	50		125	150	200		800	1000	2000	3000	5000	离底100	离底50	近底层	
注：根据调查和研究目标的特殊需要，适当增加或调整采样层次，尤其是跃层和叶绿素a次表层最大值层次；初级生产力测定站位、水样采集层次按初级生产力测定要求设定。																		

- b) 沉积物样品适用于大型底栖动物、小型底栖动物、有孔虫、结核动物、微生物和沉积物叶绿素 a 调查项目。
- c) 浮游生物拖网用于大、中型浮游生物，小型浮游生物和鱼类浮游生物等项目；底层拖网、变水层拖网、钓具等适用于游泳动物调查项目。
- d) 载人潜水器(HOV)、遥控潜水器(ROV) 和深海着陆器(lander) 适用于巨型底栖动物、底栖鱼类和食腐动物以及微生物等采样调查项目。

4.2.2.2 海底视像资料类型及采集方法

海底视像资料适用于底栖鱼类、食腐动物和巨型底栖动物等调查项目，应采用 HOV、ROV、自治潜水器(AUV)、深海拖曳式光学观测系统和 lander 采集海底视频和照片。

4.3 调查与分析仪器设备

海洋生物调查与分析设备主要包括。

- a) 调查和取样设备：HOV、ROV、AUV、(电视)箱式取样器、(电视)多管取样器、深海拖曳式光学观测系统、lander、浮游生物网、多联浮游生物分层拖网、CTD 采水器、底栖生物样品分选装置等。
- b) 分析仪器和设备：体视显微镜、光学显微镜、荧光显微镜、微分干涉相差显微镜、电子显微镜、荧光计、流式细胞仪、聚合酶链式反应仪(PCR 仪)等。

4.4 样品采集

4.4.1 采样要求

采样要求如下。

- a) 使用浮游生物拖网和 CTD 采水时，应避免调查船的排污口，作业时不应排污。
- b) 使用专业规定的网具采样时，严格控制起、落网速度不超过30 m/min，浮游生物拖网应安装网口流量计。拖网时注意工作状态是否正常，遇异常情况应立即采取有效措施。起网后认真冲洗网具，收集样品，特别是粘附在网衣和网底管套筛绢上的生物样品，避免标本夹带。
- c) 使用调查项目规定的采样器采集沉积物样品时，注意采样器的工作状态。如果发现沉积物样品的上覆水泄漏，样品受到严重扰动时应重新采集。
- d) 海底视像资料采集应严守海底视像资料采集设备的操作程序，注意设备在海底的工作状态，离底高度尽量控制在3 m 左右，保证采集的视像资料质量。
- e) 海水样品、浮游生物网样和沉积物样品采集过程中，根据调查需求保留备份样品进行环境 DNA 分析，用于辅助开展各类生物多样性调查。

4.4.2 采样记录

样品采集记录表按附录 A 中的表 A.1~ 表 A.48。遇异常现象或新发现，除记录外，还应现场拍照或录像。

4.5 样品分析

样品分析应按 GB/T 42629.1—2023 中的第8章和本文件具体要求执行。

4.6 资料整理及报告编写

资料整理和报告编写应按 GB/T42629.1—2023 中的第9章和第10章以及本文件具体要求执行。

5 叶绿素 a

5.1 技术要求和调查要素

5.1.1 技术要求

5.1.1.1 采样层次

采集200 m 以浅水样用于测定水体叶绿素a 浓度，水层设置见表1中200 m 以浅水层设置，条件许可时，可加采跃层(或叶绿素 a 次表层最大值层)水样；采集表层10 cm 沉积物测定沉积物叶绿素 a 浓度，每隔1 cm 取一层样品。每层样品不少于2 g 湿重。

5.1.1.2 测定精密度

叶绿素 a 浓度在0.5 mg/m³ 水平时，样品重复性的相对误差在±10%以内。

5.1.2 调查要素

调查要素如下。

- a) 水体叶绿素 a 浓度；根据任务设计要求、样品情况选做粒度分级叶绿素 a。

b) 沉积物叶绿素 a 浓度。

5.2 水体叶绿素 a 萃取荧光法测定

5.2.1 样品采集

5.2.1.1 主要仪器设备

主要仪器设备包括。

- a) 采水器。
- b) 抽滤装置：包括滤器、支架、抽滤瓶和真空泵。
- c) 滤膜/筛绢：玻璃纤维滤膜(等效截留孔径约 $0.65\ \mu\text{m}$)， $200\ \mu\text{m}$ 孔径筛绢(用于除去大型浮游生物)。
- d) 冰箱： $-20\ ^\circ\text{C}$ 冰箱。

5.2.1.2 水样采集

按表1规定的层次采集水样，并记录于叶绿素采样记录表中，记录表按表 A.1 的规定。

5.2.1.3 水样过滤

采样后，应尽快过滤。过滤时水样先经 $200\ \mu\text{m}$ 孔径筛绢预过滤，除去大部分浮游动物后，再过滤至滤膜上。过滤海水的体积为 $500\ \text{cm}^3\sim 1000\ \text{cm}^3$ ，过滤时抽气负压应小于 $50\ \text{kPa}$ 。过滤水样量与滤膜贮存号记录于叶绿素采样记录表中，记录表按表 A.1 的规定。

5.2.1.4 滤膜保存

叶绿素 a 滤膜样品原则上要求在海上现场完成测定分析。过滤后的滤膜应在 $1\ \text{h}$ 内提取叶绿素，若不能立即进行测量，可将滤膜对折，用铝箔包好，存放于冰箱($-20\ ^\circ\text{C}$)保存不超过 $30\ \text{d}$ 。如无条件于现场进行测定，滤膜可存放于超低温冰箱($<-70\ ^\circ\text{C}$)保存不超过 $90\ \text{d}$ 或放入液氮中长期保存。

5.2.2 样品分析

5.2.2.1 主要仪器和设备

荧光计：激发光波长 $450\ \text{nm}$ ，检测光波长 $685\ \text{nm}$ 。

5.2.2.2 试剂

体积分数为90%的丙酮和体积分数为10%的盐酸。

5.2.2.3 荧光计校准

荧光计校准按照GB/T12763.6—2007 中5.2.1.4.1的要求进行。若使用内置萃取酸化法计算程序的专用叶绿素测定荧光计，宜使用叶绿素 a 标准工作溶液按照仪器操作说明校准并存储仪器内置标准曲线，无需测定换算系数 F_a 。

5.2.2.4 测定步骤

5.2.2.4.1 避光提取

将载有浮游植物的滤膜放入加有 $10\ \text{cm}^3$ 体积分数为90%丙酮的提取瓶内，盖紧，摇荡，立即放于

低温($<0\text{ }^{\circ}\text{C}$)冰箱内,避光提取12 h~24 h。

5.2.2.4.2 荧光测定

测定操作程序如下。

- a) 取出样品放在室温、黑暗处约0.5 h,使样品温度与室温一致。
- b) 每批样品测定前后,以90%丙酮作对比液,测出空白荧光值。
- c) 将提取瓶内上清液倒入测定池中,选择适当量程档,测定样品的荧光值 R_b 。
- d) 加1滴体积分数为10%盐酸于测定池中,30 s后测定其荧光值 R 。
- e) 将测定结果记录于叶绿素 a 测定记录表中,记录表按表 A.2 的规定。若使用专用叶绿素荧光计,在完成仪器校准后,宜按照仪器内置的萃取酸化法测定程序直接测出叶绿素 a 和脱镁叶绿素 a 浓度,将测定结果记录于叶绿素 a 测定记录表中,记录表按表 A.3 的规定。

5.2.3 资料整理

5.2.3.1 数值计算

叶绿素 a 浓度计算按照GB/T12763.6—2007 中5.6.1.1.1 的要求进行计算。

5.2.3.2 填写表格

将上述计算结果填写于叶绿素 a 测定记录表,记录表按表 A.2 和表 A.3 的规定。

5.2.3.3 绘制分布图

5.2.3.3.1 平面分布图

平面分布图要求如下。

- a) 各层次分布图:等值线取值标准(单位为 mg/m^3)为0.10,0.20,0.30,0.50,0.75,1.00,2.00。
- b) 含量分布图:等值线取值标准(单位为 mg/m^2)为5,10,15,20,25,30,35,40,50。

5.2.3.3.2 断面分布图

等值线取值标准(单位为 mg/m^3)为0.10,0.20,0.30,0.50,0.75,1.00,2.00。

5.3 水体叶绿素 a 粒度分级测定

水体叶绿素 a 粒度分级测定的样品采集、分析和资料处理,宜按照 GB/T 12763.6—2007 中5.4.1 的要求进行。根据大洋水体特点,过滤海水体积要求 $500\text{ cm}^3\sim 1000\text{ cm}^3$ 。样品采样信息和测定结果分析分别记录于表 A.1 和表 A.4 中。

5.4 沉积物叶绿素 a 测定

5.4.1 样品采集

从多管取样器采集未受扰动的沉积物芯样按照5.1.1.1的要求处理沉积物样品,用于测定沉积物叶绿素 a。原则上要求在海上现场完成测定分析。如无条件于现场进行测定,沉积物样品可存放于冰箱($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$)保存不超过6个月或放入液氮中长期保存。

5.4.2 样品分析

5.4.2.1 沉积物叶绿素 a 提取

取 1 g~2g 沉积物样品,称重后加入 0.1 g $MgCO_3$ 粉末转移至含有 10 cm^3 体积分数为 90% 丙酮溶液的离心管内,盖紧,摇荡,再将离心管放入有冰水的超声破碎仪(功率为 50 W~100 W)以 30 s 间隔

超声处理 3 min, 随后立即放于低温 (-20 $^{\circ}C$) 冰箱内遮光提取 1 d。

5.4.2.2 荧光测定

测定步骤如下:

- 样品测定前后,以体积分数为 90% 的丙酮作对比液,测出空白荧光值;
- 取出样品,低温、避光条件下,离心 10 min (转速不大于 $800 \times g$),离心后放在室温、黑暗处约 0.5 h,使样品温度与室温一致;
- 将提取瓶内上清液倒入测定池中,测定样品的荧光数值 R_2 ;
- 加 1 滴体积分数为 10% 盐酸于测定池中,10 s 后测定酸化后样品的荧光数值 R_4 ;
- 将测定结果记录于沉积物叶绿素 a 测定记录表中,记录表按表 A.5 的规定;
- 测定完后,烘干沉积物,称量干重,记录于记录表中,记录表按表 A.5 的规定。

5.4.3 资料整理

5.4.3.1 数值计算

提取液中叶绿素 a 浓度计算,见公式(1)。

$$p(\text{Chl a}) = F_4 \cdot (R_2 - R_4) \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$p(\text{Chl a})$ ——提取液中叶绿素 a 浓度,单位为毫克每立方米(mg/m^3)

F_4 ——量程档“d”的换算系数,单位为毫克每立方米(mg/m^3);

R_4 ——样品酸化后荧光值;

R_2 ——样品酸化前荧光值。

若使用专用叶绿素荧光计,在完成仪器校准后,宜按照仪器内置的萃取酸化法测定程序直接测出提取液叶绿素 a 和脱镁叶绿素 a 浓度,将测定结果记录于记录表中,记录表按表 A.5 的规定。

沉积物叶绿素 a 含量计算,见公式(2)和公式(3)。

$$\rho_w(\text{Chl a}) = \frac{\rho_v(\text{Chl a}) \cdot V}{W_1 \cdot 1000} \quad \dots\dots\dots (2)$$

$$\rho_d(\text{Chl a}) = \frac{\rho_v(\text{Chl a}) \cdot V}{W_2 \cdot 1000} \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

$p(\text{Chl a})$ ——单位湿重沉积物叶绿素 a 含量(表 A.5 中叶绿素含量 1),单位为微克每克($\mu g/g$);

$p_d(\text{Chl a})$ ——单位干重沉积物叶绿素 a 含量(表 A.5 中叶绿素含量 2),单位为微克每克($\mu g/g$);

V ——提取液的体积,单位为立方厘米(cm^3);

- W_1 —— 沉积物样品湿重，单位为克(g);
- W_2 —— 沉积物样品干重，单位为克(g)。

5.4.3.2 填写表格

将上述计算结果填写于沉积物叶绿素(萃取荧光法)测定记录表,记录表按表 A.5 的规定。

6 初级生产力

6.1 技术要求和调查要素

6.1.1 技术要求

6.1.1.1 采样层次

按真光层(自海表层到光强衰减至1%海表光强的水层深度)内光衰减百分比层次采集水样。当真光层深度在3 m~10 m时,采表层(100%)和光衰减至10%和1%层次(共3层)水样;当真光层深度大于10 m时,采表层(100%)和光衰减至50%、30%、10%、5%和1%层次(共6层)水样。

真光层深度和各光衰减百分比层次深度的确定,可使用水下光量子计现场实测,也可根据现场海水透明度用公式(4)和公式(5)计算获得。

$$I_d = I_0 \cdot e^{-kd} \quad \dots\dots\dots (4)$$

$$k = 1.7/S \quad \dots\dots\dots (5)$$

式中:

I_d ——在深度为d处的光强,单位为微摩尔每平方米秒[$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$];

I_0 ——海表层的光强,单位为微摩尔每平方米秒[$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$];

k ——海水的消光系数,单位为每米(m⁻¹);

d ——水深,单位为米(m);

S ——透明度,单位为米(m)。

注:当太阳照射角度低时(<30°),用1.2d代替d。

6.1.1.2 初级生产力测定范围

测定范围0.05 mg/(m³·h)~100 mg/(m³·h)。

6.1.1.3 初级生产力测定精密度

当初级生产力在30 mg/(m³·h)水平时,样品重复性的相对误差在±10%以内。

6.1.2 调查要素

水体初级生产力,根据任务设计要求、样品情况选做初级生产力粒度分级。

6.2 测定方法

6.2.1 样品采集

6.2.1.1 水样采集

海水样品采集按照GB/T12763.6—2007 中5.3.4.3.1的要求进行,采样信息记录于初级生产力采样、过滤、测定记录表中,记录表按表 A.6 的规定。

6.2.1.2 水样分装

按照 GB/T12763.6—2007 中5.3.4.3.2 的要求将水样分装入聚碳酸酯无色透明培养瓶。

6.2.1.3 加¹⁴C 工作液

按照GB/T 12763.6—2007 中5.3.4.3.3的要求加入¹⁴C 工作液。

6.2.1.4 取总计数样

按照 GB/T 12763.6—2007 中5.3.4.3.4 的要求取总计数样。

6.2.1.5 培养

初级生产力培养时间宜在4 h 左右，并尽量接近当地中午时间。

6.2.1.6 过滤

按照GB/T12763.6—2007 中5.3.4.3.5和5.3.4.3.6的要求将培养海水过滤至玻璃纤维滤膜(等效截留孔径0.65 μm)。过滤后得到的滤膜，应置于通风橱中以浓盐酸蒸气熏15 min, 再置于干燥器中完全干燥，最后放入闪烁瓶低温保存。

6.2.2 样品分析

初级生产力样品分析按照GB/T12763.6—2007 中5.3.4.3.8的要求进行，测定结果记录于初级生产力采样、过滤、测定记录表中，记录表按表 A.6 的规定。在使用液体闪烁计数仪进行样品分析前，要求使用一系列(不少于6个)⁴C 萃灭标准瓶在液闪计数仪上测定以进行萃灭校正，用直线回归法得出道比求效率的方程。

6.2.3 资料整理

6.2.3.1 数值计算

数值计算如下：

- a) 测定海水样品的盐度，计算海水中二氧化碳总浓度，按公式(6)计算。

$$p(C)=(0.067S-0.05)\times 12000 \quad \dots\dots\dots (6)$$

式中：

$p(C)$ ——海水中二氧化碳的总浓度(以碳计)，单位为毫克每立方米(mg/m^3)；

S ——海水实用盐度(无量纲)。

- b) 加入¹⁴C 的量按公式(7)计算。

$$R = \frac{R_1 \cdot V_1}{V_2} \quad \dots\dots\dots (7)$$

式中：

R ——加入¹⁴C 的量，单位为千贝可(kBq)；

R_1 ——各总计数闪烁瓶测得¹⁴C 数量的平均值，单位为千贝可(kBq)；

V_1 ——培养水样的体积，单位为立方厘米(cm^3)；

V_2 ——取测总计数水样的体积，单位为立方厘米(cm^3)。

- c) 初级生产力按公式(8)计算。

$$P_v = \frac{(R_s - R_d) \cdot \rho(C)}{R \cdot T} \quad \dots \dots \dots (8)$$

式中:

P、——海洋初级生产力(以碳计),单位为毫克每立方米小时[$\text{mg}/(\text{m}^3 \cdot \text{h})$];

R ——加入 ^{14}C 的量,单位为千贝可(kBq);

R_s ——白瓶样品中 ^{14}C 的放射性活度的平均值,单位为千贝可(kBq);

R_d ——黑瓶样品中 ^{14}C 的放射性活度,单位为千贝可(kBq);

$\rho(C)$ ——海水中二氧化碳的总浓度(以碳计),单位为毫克每立方米(mg/m^3);

T ——培养时间,单位为小时(h)。

d) 生产力指数按公式(9)计算。

$$I = \frac{P_v}{\rho_s(\text{Chl } a)} \quad \dots \dots \dots (9)$$

式中:

I ——生产力指数(以碳计),单位为毫克每小时毫克[$\text{mg}/(\text{h} \cdot \text{mg})$];

P、——水体初级生产力,单位为毫克每立方米小时[$\text{mg}/(\text{m}^3 \cdot \text{h})$];

$\rho_s(\text{Chl } a)$ ——水体中叶绿素a 的浓度,单位为毫克每立方米(mg/m^3)。

e) 水柱初级生产力按公式(10)计算。

$$P_s = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{P_i + P_{i+1}}{2} \cdot (D_{i+1} - D_i) \quad \dots \dots \dots (10)$$

式中:

P_s——水柱初级生产力,单位为毫克每平方米小时[$\text{mg}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$];

P_i、——第 i 层初级生产力,单位为毫克每立方米小时[$\text{mg}/(\text{m}^3 \cdot \text{h})$];

n ——采样层次数;

D_i——第 i 层深度,单位为米(m), $1 \leq i \leq n-1$ 。

6.2.3.2 填写表格

将上述计算结果记录于初级生产力采样、过滤、测定记录表中,记录表按表 A.6 的规定。

6.2.3.3 绘制分布图

6.2.3.3.1 平面分布图

等值线取值标准[单位为 $\text{mg}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$] 为1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 30.0, 50.0, 100.0。

6.2.3.3.2 断面分布图

等值线取值标准[单位为 $\text{mg}/(\text{m}^3 \cdot \text{h})$] 为0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0, 10.0, 30.0, 50.0, 100.0。

6.3 初级生产力粒度分级测定

初级生产力粒度分级测定的样品采集、分析和资料处理,按照GB/T 12763.6—2007 中5.4.2 的规定执行。

计算不同光学深度上的初级生产力总值时,三种粒级浮游植物的初级生产力之和与直接用玻璃纤维滤膜抽滤的测量结果应接近,若两者差异较大(大于10%),初级生产力的总值取两者的平均值。

7 微生物

7.1 技术要求和调查要素

7.1.1 技术要求

技术要求如下。

- a) 采样站位和层次具体要求包括：
 - 1) 站位布设应尽量和其他调查项目一致；
 - 2) 采样水层见表1水样采集层次的有关规定。
- b) 无菌操作具体要求包括：
 - 1) 采样杯、采样瓶、采样袋应预先灭菌；
 - 2) 实验室内水样和沉积物样品的分样，均应按无菌操作要求进行；
 - 3) 其他海上调查所需物品，如水样贮存瓶(棕色)、移液器吸头(1 mL、5 mL 和10 mL)、培养皿等均需洗净，包封灭菌、足量备用。
- c) 样品保存具体要求包括：
 - 1) 应尽快将样本采集到调查船上，并立即进行无菌处理保存；
 - 2) 用于微生物计数的样品，暂放冰箱(4 ℃左右)保存；
 - 3) 用于扩增子分析的样品，应存放于-80 ℃超低温冰箱或液氮冷冻保藏。

7.1.2 调查要素

微生物调查要素为海水和沉积物中微生物丰度和微生物群落组成。

7.2 样品采集

海水和沉积物中微生物样品采集按照GB/T30744—2014 中第7章的规定执行，完成样品采集后填写微生物现场采样记录表，记录表按表 A.7 和表 A.8 的规定。

7.3 样品分析

7.3.1 主要仪器设备

主要仪器设备包括。

- a) 荧光显微镜：具备蓝光道和紫外光道供观察4', 6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI) 染色，配置电脑或高分辨率并适用于弱光场的数码相机。
- b) 抽滤装置：进口成品滤器组或自行装配25 mm 和47 mm 滤器和负压抽滤设备。
- c) 移液器：置备不同量程的移液器。
- d) 超净台：有条件的单位选用超净室，内置生物安全柜。
- e) 低温冰箱：宜选用-80 ℃超低温冰箱存放水样滤膜和沉积物样品，无条件时可置于-20 ℃或-40 ℃冰箱保存。
- f) 灭菌锅：用于高温高压灭菌消毒。

7.3.2 耗材

耗材包括。

- a) 微孔滤膜(醋酸纤维或硝化纤维):直径25 mm 和 47 mm, 孔径0.2 μm、0.45 μm 和0.8 μm。
- b) 黑色核孔滤膜(聚碳酸酯材质):直径25 mm, 孔径0.2 μm。
- c) 注射器和滤器: 一次性无菌注射器和无菌滤器。
- d) 荧光显微镜计数用的装样瓶: 50 mL 螺盖塑料瓶, 用前用体积分数为5%的盐酸溶液浸泡24 h 以上, 用经0.2 μm 滤膜过滤的蒸馏水清洗并高压灭菌。

7.3.3 试剂和工作溶液

试剂和工作溶液包括。

- a) 荧光显微镜直接计数用固定液(甲醛溶液):经0.2 μm 滤膜过滤, 质量浓度为37%~40%的甲醛溶液。
- b) DAPI 储备液和工作溶液: 取10mg DAPI溶于50mL 蒸馏水中(200 μg/mL), 用0.2 μm 一次性滤器过滤, 按1 mL 量分装于1.5 mL 离心管中, 在-20 °C 冷冻保存备用, 保存期可达一年。临用前取一小管储备液解冻后按10 μg/mL 稀释, 并用0.2 μm 一次性滤器过滤, 制备成工作溶液。

7.3.4 样品处理

样品处理要求如下。

- a) 荧光直接计数的水样: 取水样50 mL 于预先处理的采样瓶(见7.3.2 d)] 中, 加甲醛溶液2.5 mL (甲醛在样品中的质量浓度为2%) 室温固定样品15 min, 样品于2°C~8 °C 低温保存。
- b) 微生物群落组成样品: 取海水样品5 L 过滤至0.2 μm 孔径滤膜, 将滤膜内折置于50 mL 无菌离心管中并放于一20 °C 冰箱冷冻保存; 取沉积物10 g 置于50 mL 无菌离心管中并放于一20 °C 冰箱冷冻保存。

7.3.5 样品分析步骤

7.3.5.1 微生物计数

采用落射荧光显微镜用DAPI 直接计数法测定微生物总数(有条件的可使用流式细胞术测定微生物总数)。DAPI 荧光染色计数法的具体操作步骤如下。

- a) 滤器装配: 长期未用的滤器应先装好滤器和抽滤装置, 用经0.2 μm 过滤的高压灭菌蒸馏水加满滤筒并抽滤清洗2次~3次, 再卸下滤筒, 在滤板上先放置孔径为0.8 μm 或0.45 μm 的直径25 mm 微孔滤膜作衬底; 然后将黑色核孔滤膜(光滑面朝上)放于衬垫上, 再装配好滤筒。
- b) 加样: 加入适量样品(控制在视野出现菌体50个左右), 若样品量少于1 mL 应先加入2 mL 经0.2 μm 过滤的无菌海水, 再加样, 以使微生物均匀分布于滤膜上。
- c) 抽滤: 在负压(50 kPa) 条件下, 抽滤样品至滤膜刚好呈湿润状态后停止抽滤。
- d) 染色: 用无菌注射器吸取DAPI 工作液, 套上0.2 μm 无菌滤器, 沿滤筒壁加入1 mL 染色液, 使其盖满滤膜并染色5 min~10 min; 随后过滤残留液体。
- e) 制片: 取出滤膜, 置于滴有无荧光镜油的载玻片上, 贴上滤膜(载菌一面朝上), 并在滤膜上滴加一小滴镜油, 盖上盖玻片(滤膜上下两面均不能有气泡)。
- f) 计数: 荧光显微镜调至蓝光通道模式, 油镜条件下, 随机选取不少于10个视野, 计算具有微生物形态呈亮绿色的细胞数量; 每个样品至少计数300个菌体; 每次(不同测定日期)测定时, 应加测未加样品的空白对照, 空白制片, 每个视野不应出现1个以上微生物。
- g) 将计数结果记录于海洋水体细菌数量直接计数记录表, 记录表按表 A.9 的规定。

7.3.5.2 分子测序

分子测序包括纯培养微生物 DNA 分析、微生物扩增子分析与微生物宏基因组分析，要求如下：

- a) 海水及沉积物中微生物菌株分离培养及保藏按照 GB/T 30744—2014 中第 7 章相关要求执行；
- b) 水体微生物滤膜样品按 7.3.4 b) 的要求过滤获取，按照 GB/T30744—2014 中 10.4 的规定提取水体微生物 DNA；
- c) 沉积物中底栖微生物 DNA 提取按照 GB/T34656—2017 中 14.5 的相关规定执行；
- d) 底栖微生物 16S rDNA 扩增方法按照 GB/T34656—2017 中 14.5 的相关规定执行；
- e) 水体微生物滤膜样品和沉积物微生物样品宏基因组测序数据分析按照 GB/T34656—2017 中 14.5 的相关规定执行。

7.4 资料整理

7.4.1 数值计算

7.4.1.1 微生物丰度

微生物丰度按公式(11)计算。

$$B_x = \frac{N_4 \times S}{S_f \times (1 - 0.05) \times V} \quad \dots\dots\dots (11)$$

式中：

B_x ——微生物丰度，单位为个每立方分米(个/dm³)；

N_4 ——各视野平均微生物数，单位为个；

S ——滤膜实际过滤面积，单位为平方毫米(mm²)；

S_f ——显微镜视野面积，单位为平方毫米(mm²)；

V ——过滤样品量(式中 0.05 为加入体积分数为 37%~40% 甲醛占固定样品总体积的比例)，单位为立方分米(dm³)。

7.4.1.2 微生物群落多样性

微生物群落多样性要求如下。

- a) 对 16S rDNA 扩增子测序结果进行质量控制，包括数据进行去噪、去嵌合体等。
- b) 通过将代表性序列和微生物核糖体基因综合数据库进行比对获得物种注释信息。
- c) 对所有代表性序列进行系统发育关系构建，计算各样品的 α 多样性及 β 多样性。其中 α 多样性指数包括：用来度量群落均匀度的均匀度指数(Evenness Index)；用来定量度量群落丰富度的包括丰富度和均匀度两个层面的香农-维纳指数(Shannon-Weiner Index)；用来定性度量群落丰富度只包括丰富度的 observed OTU 指数；用来衡量进化关系的 faith_pd 指数。 β 多样性指数包括分别以布雷柯蒂斯距离(Bray-Curtis Distance)和杰卡德距离(Jaccard Distance)计算获得的各样品微生物群落组成距离矩阵和主坐标分析(PCoA)降维分布图观察各样品微生物群落组成的差异情况。

7.4.2 填写报表

以上测定和计算结果分别填入海洋水体微生物数量直接计数记录表和微生物扩增子分析信息记录表，记录表按表 A.9 和表 A.10 的规定。

7.4.3 绘制分布图

7.4.3.1 断面分布图

一般以等值线表示，取值标准视具体情况而定。

7.4.3.2 大面分布图

一般以等值线表示，取值标准视具体情况而定。

7.4.3.3 微生物群落组成图

一般以柱状图表示，取值标准视具体情况而定。

8 微型光合浮游生物

8.1 技术要求和调查要素

8.1.1 技术要求

8.1.1.1 采样要求

采水层次见表1。可根据调查的需要，酌情增加跃层或叶绿素 a 次表层最大值层。

8.1.1.2 样品分析要求

对不同类群微型光合浮游生物(原绿球藻、聚球藻和微型真核藻)进行区分，分别测定其细胞丰度。

8.1.2 调查要素

调查要素包括微型光合浮游生物3个类群的丰度。

8.2 样品采集

8.2.1 主要仪器设备

CTD 采水器、液氮罐、超低温冰箱。

8.2.2 试剂和溶液

样品固定可采用多聚甲醛溶液(固定终浓度为1%)或戊二醛溶液(固定终浓度为0.1%)。配置方法如下。

- a) 多聚甲醛溶液：在通风橱中把10 g 多聚甲醛放入85 cm³ 煮沸的蒸馏水中，然后在70 ℃连续搅拌至少2 h 使其均匀混合(可使用恒温磁力搅拌器)；加入少量 NaOH 溶液(1 mol/dm³) 直至溶液澄清；加入10 cm³10% 磷酸缓冲液，调节pH 到7.5, 溶液体积到100 cm³；使用0.2 μm 的微孔滤膜过滤，过滤后的多聚甲醛溶液可分装于10 cm³ 试管中，储存于一20 ℃冰箱。未冻结的多聚甲醛溶液(4 ℃保存)使用不宜超过1周。
- b) 25% 戊二醛溶液：25%戊二醛溶液，经0.2 μm 的微孔滤膜预过滤。

8.2.3 水样采集和保存

8.2.3.1 水样采集

使用CTD 采水器采集水样，每次采水宜不少于30 cm²，并记录于海洋微微型光合浮游生物海上采样记录表中，记录表按表A.11 的规定。

8.2.3.2 样品固定与保存

水样经过20 μm 孔径筛绢预先过滤，然后取过滤水样放入预先贴好标签的2 mL 或 5 mL 的冻存管中；加入适量固定剂(见8.2.2)，充分混匀；在室温下放置15 min 后，将样品置于液氮中速冻保存，或于液氮速冻后转移到-80 ℃超低温冰箱保存(-20 ℃条件下保存不宜超过1个月，-80 ℃或液氮中保存不宜超过半年)，直至分析。如有条件进行现场分析，应将水样置于4℃避光条件保存并在12 h 内上机完成分析。

8.3 样品分析

8.3.1 主要仪器设备

流式细胞测定仪。

8.3.2 试剂和溶液

8.3.2.1 鞘液

经0.2 μm 微孔滤膜过滤的现场海水，也可使用超纯水。

8.3.2.2 内标准

用超纯水或经0.2 μm 微孔滤膜过滤的现场海水，稀释直径1 μm 的标准黄绿色荧光微珠悬浮液至浓度约为10⁵个/mm³。

8.3.3 测定步骤

步骤如下。

- 准备好鞘液，开机预热，当使用过滤海水为鞘液时，不宜使用仪器内的鞘液过滤器，否则应注意更换鞘液过滤器。
- 仪器自较：按照仪器厂商提供的方法检查仪器的灵敏度和准确度(用CV 值表示，一般 CV 值应小于2.0)，确保仪器状态良好。
- 流速校准：进样管中加入超纯水或过滤海水，测量进样前后样品重量，并对进样过程计时，精确计算样品流速(mm³/min)，水样重量可通过密度换算为体积(过滤海水ρ=1.03 mg/mm³，超纯水ρ=1.00mg/mm³)。样品分析期间，一天内流速校准不少于4次。
- 将冷冻样品置于37 ℃水浴中避光解冻，将10 mm³ 的荧光小球工作液和1 cm³ 的样品加入贴好标签的流式细胞进样管中，用漩涡振荡器充分混匀。
- 设定仪器各荧光通道的参数：在红色荧光通道设定阈值，使之适合采集海区微微型光合浮游生物样品的测定，保证目标细胞群出现在分析图谱中。并做好参数设定的记录，采集 Log 信号。
- 选择和校准流速：流速控制在(10~30)mm³/s 范围内，采集速度(50~100)个颗粒/s 为宜。
- 数据获取：进样，至少稳定15 s 后开始采集数据，使用列表模式(Listmode) 提取数据，采集数

量宜大于10000个颗粒。记录样品分析时仪器设置的各项参数。

h) 将结果记录于海洋微型光合浮游生物测定结果记录表，记录表按表 A. 12 的规定。

8.4 资料整理

8.4.1 不同类群的区分

不同类群可根据下列特征进行区分。

- a) 根据各细胞群光散射信号(前向散射光和侧向散射光，分别表征细胞大小和粒度)和荧光信号(橙色荧光和红色荧光，分别表征藻胆蛋白和叶绿素含量)的差异区分原绿球藻、聚球藻和微微型真核藻类。
- b) 不同类群微微型光合浮游生物的区分，可考虑以下重要特征：前向散射光、侧向散射光和荧光信号。其中，前向散射光、侧向散射光和红色荧光信号强度大小依次为：微微型真核藻>聚球藻>原绿球藻；橙色荧光信号强度大小依次为聚球藻>原绿球藻≈微微型真核藻。

8.4.2 获取细胞数

在仪器分析结果的散点图上圈出目标细胞群，获得该类群细胞的数量，做好记录。

8.4.3 数值计算

样品中各个类群的细胞丰度可用公式(12)计算。

$$C = \frac{N \times V_1}{V_s \times R \times T} \quad \dots\dots\dots \dots \dots \dots (12)$$

式中：

- C —— 细胞丰度，单位为个每立方厘米(cells/cm³)；
- N —— 获取该类群细胞数，单位为个(cells)；
- V₁ —— 样品体积加添加物(固定剂，荧光微珠等)体积，单位为立方厘米(cm³)；
- V_s —— 样品体积，单位为立方厘米(cm³)；
- R —— 样品流速，单位为立方厘米每分钟(cm³/min)；
- T —— 样品测定时间，单位为分钟(min)。

8.4.4 填写报表

将测定结果记录于海洋微型光合浮游生物测定结果记录表，记录表按表 A. 12 的规定。

8.4.5 绘制分布图

8.4.5.1 平面分布图

平面分布图包括：

- a) 各类群微微型光合浮游生物细胞丰度(单位为 cells/cm³) 各层次分布图；
- b) 微微型光合浮游生物总细胞丰度(单位为 cells/cm³) 各层次分布图。

8.4.5.2 断面分布图

断面分布图包括：

- a) 各类群微微型光合浮游生物(原绿球藻、聚球藻和微微型真核藻)细胞丰度(单位为 cells/cm³) 断面分布图；

b) 微微型光合浮游生物总细胞丰度(单位为 cells/cm³) 断面分布图。

8.4.5.3 等值线取值标准

上述平面和断面分布图等值线取值标准, 可视所测得细胞丰度数值范围具体情况设定。

9 微、小型浮游生物

9.1 技术要求和调查要素

9.1.1 技术要求

9.1.1.1 采样要求

采样要求如下:

- a) 微型浮游生物样品用CTD 采水器采集, 每次采水体积不少于2000 cm³;
- b) 小型浮游生物样品用大洋浮游植物网采集(表2), 由200 m 至表层垂直拖曳。

9.1.1.2 样品分析要求

样品分析要求90%以上的物种鉴定到种(幼体除外), 并按种计数。

9.1.2 调查要素

调查要素包括微、小型浮游生物的种类组成和丰度。

9.2 样品采集

9.2.1 采样设备

9.2.1.1 拖网

拖网采样设备及要求如下。

- a) 网具: 采用大洋浮游植物网, 具体指标见表2。
- b) 网底管: 网底管套的筛绢与网衣筛绢的孔径应相同。
- c) 流量计: 应在网口半径二分之一处安装流量计, 应在每个航次使用前标定一次流量计。
- d) 绞车及钢缆: 绞车变速范围为0.3 m/s~1m/s, 并附有排缆装置和钢缆计数器。
- e) 吊杆: 吊杆高度大于5 m, 负荷大于2000 kg, 吊杆离舷间距1 m 左右并能调节位置。
- f) 冲水设备: 用于冲洗收集粘贴在网衣或网底管筛绢上的标本。

表 2 浮游生物网网具规格及适用对象

网型	适用范围及采集对象	网长 cm	网口内径 cm	网口面积 m ²	筛绢规格及孔宽近似值 mm
大洋浮游植物网	适用于垂直采集 小型浮游生物	280	57	0.25	NY ₂₀ HC(0.020)
大洋浮游动物网	适用于垂直采集大、中型浮游 生物和鱼类浮游生物	280	113	1.0	CB 30(0.198) JP 32(0.202)

表 2 浮游生物网网具规格及适用对象 (续)

网型	适用范围及采集对象	网长 cm	网口内径 cm	网口面积 m ²	筛绢规格及孔宽近似值 mm
大洋双鼓网	适用于定量垂直或倾斜 采集鱼类浮游生物	360	80	0.5	CB 30(0.198) JP 32(0.202)
多联浮游生物 分层拖网	适用于分层采集大、 中型浮游生物	365 或 550	71 或 100	0.5 或 1.0	CB 30(0.198) JP 32(0.202)

9.2.1.2 采水器

根据采样深度和实际需要, 选用CTD 采水器。

9.2.2 采样前的准备

9.2.2.1 试剂

固定液包括。

- 鲁哥氏液: 60 g 碘化钾溶于1 dm³ 蒸馏水, 加入40 g 碘使其溶解, 再加入100 cm³ 冰醋酸。
- 缓冲甲醛溶液: 体积分数约为40%的甲醛溶液加入同量蒸馏水配制成1 dm³ 约20%的甲醛溶液, 再加入100 g 六次甲基四胺。
- 戊二醛溶液。

9.2.2.2 流量计现场标定

标定要求如下

- 流量计现场标定工作尽量安排在风平浪静的海况下进行。
- 标定前将流量计安装在浮游生物拖网(脱去网衣, 仅留网架)网口半径二分之一处。
- 将网架放至一定深度(如50 m 或100 m 等), 然后以实际采样时的拖网速度, 匀速垂直拖网至表层(拖网过程中切忌停顿)并记录转数。
- 重复拖网5次~10次, 求得平均转数(去除偏差大的数据后至少还有5次有效数据)。
- 按公式(13)换算成每转滤水量。

$$V_0 = \frac{H_0}{N_0} \times S \quad \dots\dots\dots (13)$$

式中:

V₀ —— 每转滤水量, 单位为立方米每转(m³/r);

H₀ —— 标定时拖网放的水深, 单位为米(m);

S —— 拖网网口的面积, 单位为平方米(m²);

N₀ —— 平均转数, 单位为转(r)。

9.2.3 海上采样与样品保存

9.2.3.1 网样采集

采集要求如下。

- a) 网具：用大洋浮游植物网采集水柱中的小型浮游生物样品。
- b) 拖网速度：落网速度为0.5 m/s，到达预定深度后停车30 s，然后以0.5 m/s~0.8 m/s的速度起网。
- c) 样品保存：样品用缓冲甲醛溶液固定，加入量为样品体积的5%，根据样品的实际浓度作适当增减，需进行电镜观察的样品，用戊二醛固定，加入量为样品体积的2%~5%，并记录于浮游生物海上采样记录表，记录表按表 A.13 的规定。

9.2.3.2 水样采集

按预定水层和规定量采集水样。如需去除大于20 μm 的生物，可先用孔径20 μm 的筛绢预过滤。样品用鲁哥氏液固定，每1 dm³ 水样加入10 cm³~15 cm³，根据样品的实际浓度作适当增减。如需要对样品做电镜观察分析，则选用戊二醛固定，根据样品浓度可加入样品体积的2%~5%。采样情况记录于浮游生物海上采样记录表，记录表按表 A.13 的规定。

9.2.4 样品编号

各类样品应有总编号。总编号由代表采样海区、采样工具与采样方式、采样年份和样品序号等内容的代号依次组成，每份贮存样品的瓶外须贴有总编号的外标签，瓶内须放有总编号、站号和采样日期等内容的内标签。采样情况记录于浮游生物海上采样记录表，记录表按表 A.13 的规定。

9.3 样品分析

9.3.1 主要仪器和设备

光学显微镜、倒置显微镜和沉降器。

9.3.2 种类鉴定与计数

9.3.2.1 浓缩计数法

浓缩计数法用于网采或采水样品浮游生物计数。每个样品细胞镜检数不少于500个。计数结果记录于网采(微、小型)浮游生物标本个数计数记录表，记录表按表 A.14 的规定。具体要求如下：视样品中浮游生物数量多少，浓缩至适当体积，用取样管搅拌均匀，迅速将取样管直立于样品中，准确地一次吸取所需体积并移入浮游生物计数框，加盖玻片后进行鉴定、计数；浮游生物的计数视其数量多少确定计数全部、1/2或1/4，重复计数3次。

9.3.2.2 沉降计数法

沉降计数法用于采水样品浮游生物计数。每份水采样品细胞镜检数不少于100个。计数结果记录于水采(微、小型)浮游生物标本个数计数记录表，记录表按表 A.15 的规定。具体要求如下：将水样或混合样(根据调查性质及不同要求，由50 cm³ 或100 cm³ 等量的数层水样混合而成)每份取3个分样，分别装满3个等体积的沉降器(10 cm³~20 cm³)，加盖玻片静置24 h 后，使用倒置显微镜鉴定，计数。取样体积应视样品浊度和浮游植物丰度而定。

9.4 资料整理

9.4.1 丰度计算

按 GB/T 12763.6—2007 中7.4.1 的相关规定计算微、小型浮游生物丰度。

9.4.2 填写报表

将上述分析统计数据的结果填入微、小型浮游生物数量统计表，记录表按表 A.16 的规定。

9.4.3 绘制分布图

平面分布图一般用等值线表示，取值标准要求如下。

- a) 网采小型浮游生物细胞总丰度(单位: 10^3 cells/m^3): 5, 10, 50, 100, 500, 1000。
- b) 网采小型浮游生物优势种细胞丰度(单位: 10^3 cells/m^3): 1, 5, 10, 50, 100, 500, 1000。
- c) 水采微型浮游生物细胞总丰度(单位: 10^2 cells/dm^3): 5, 10, 50, 100, 500, 1000。
- d) 水采微型浮游生物优势种细胞丰度(单位: 10^2 cells/dm^3): 1, 5, 10, 50, 100, 500。
- e) 以上取值标准，可视具体情况酌情调整。

10 大、中型浮游生物

10.1 技术要求和调查要素

10.1.1 技术要求

技术要求如下。

- a) 垂直拖网：用大洋浮游动物网由水深200 m 处至表层垂直拖曳；或者使用大洋双鼓网由水深200 m 处至表层倾斜拖曳。
- b) 分层拖网：使用多联浮游生物分层拖网(表2)开展垂直拖曳或者倾斜拖曳采样。根据测站深度规定采样水层(表3)。视项目要求根据现场温度跃层、盐度跃层、中层缺氧层和叶绿素 a 次表层最大值层等分段分层采样。
- c) 采样时间：由于大、中型浮游动物普遍具有昼夜垂直迁移的习性，因此需设计昼夜对比采样调查。按调查海区当地时间，昼间采样时间一般应在8:00~16:00之间开展；夜间采样时间一般应在20:00~04:00之间开展；清晨和黄昏时刻的采样可能因浮游动物正处于垂直迁移过程中而导致调查偏差，故不推荐开展。
- d) 生物量测定精密度：大、中型浮游生物湿重生物量测定的精密度优于 $\pm 1 \text{ mg}$ 。
- e) 样品分析：包括生物量丰度和生物量测定两部分。种类鉴定应到物种阶元或者最低可分类阶元，个体计数应按物种计数或者按最低可分类阶元计数。

表 3 大、中型浮游生物垂直分层采样水层设置

单位为米

测站水深	采样深度范围	采样网类型	采样水层
>3000	0~近底	9层，网口面积不小于0.5 m ²	0~50, 50~100, 100~200, 200~300, 300~500, 500~1000, 1000~2000, 2000~3000, 3000~近底
>1000, ≤3000	0~近底	9层，网口面积不小于0.5 m ²	0~50, 50~100, 100~200, 200~300, 300~500, 500~750, 750~1000 (1000 m 以深视水深决定是否继续加采，每1000 m加采一层)

表 3 大、中型浮游生物垂直分层采样水层设置(续)

单位为米

测站水深	采样深度范围	采样网类型	采样水层
≤1000	0~近底	9层,网口面积不小于0.5 m ²	0~50, 50~100, 100~150, 150~200, 200~300, 300~400, 400~500, 500~750, 750~近底
>3000	0~3000	5层,网口面积小于0.5 m ²	0~100, 100~200, 200~500, 500~1000, 1000~3000
>1000, ≤3000	0~近底	5层,网口面积小于0.5 m ²	0~100, 100~200, 200~500, 500~1000(1000 m以深视水深决定是否继续加采,每1000 m加采一层)
≤1000	0~近底	5层,网口面积小于0.5 m ²	0~50, 50~100, 100~200, 200~500, 500~近底
<p>注1:具有9层采样网的分层拖网适用于大、中型浮游动物调查;具有5层采样网的分层拖网适用于以桡足类为主的中型浮游动物调查。</p> <p>注2:当聚焦于0m~1000 m水层的大、中型浮游动物调查时,可以将最大采样深度设置为1000 m,其他依据拖网类型采用上述第三种或第六种水层设计方案。</p>			

10.1.2 调查要素

调查要素包括大、中型浮游生物的种类组成,生物量和丰度。

10.2 样品采集

10.2.1 采样设备

采样设备要求如下。

- 网具:根据不同的采样方式选用大洋浮游动物网、大洋双鼓网或多联浮游生物分层拖网(表2)。
- 网底管:网底管套的筛绢与网衣筛绢的孔径应相同。
- 流量计:流量计安装方法同9.2.1。
- 绞车及钢缆:绞车变速范围为0.1 m/s~1 m/s,并附有排缆装置和钢缆计数器。
- 吊杆:吊杆高度大于5 m,负荷大于2000 kg,吊杆离舷间距1 m左右并能调节位置。
- 冲水设备:用于冲洗收集粘贴在网衣或网底管筛绢上的标本。

10.2.2 采样前的准备

10.2.2.1 试剂和耗材准备

根据调查项目、站数、层次计算样品数量,配以足量的样品瓶、相应的固定剂及其他器材。为了防止浮游软体动物等钙质外壳的溶解,应使用缓冲甲醛溶液。

10.2.2.2 流量计现场标定

按9.2.2的规定进行。

10.2.3 海上采样与样品保存

10.2.3.1 海上采样要求

海上采样要求如下。

- a) 大洋双鼓网倾斜拖曳：绞车速度为0.5 m/s，船速为1.5 kn~2 kn。
- b) 大洋浮游动物网垂直拖曳：绞车速度为0.5 m/s~1.0 m/s。
- c) 多联浮游生物分层拖网：倾斜拖曳时，绞车速度为0.5 m/s，船速为1.5 kn~2 kn;垂直拖曳时，绞车速度为0.5 m/s~1.0 m/s。
- d) 记录于浮游生物海上采样记录表和浮游生物分层拖网采样记录表，记录表按表 A.13 和表 A.17的规定。

10.2.3.2 样品保存

样品用缓冲甲醛溶液固定，加入量为样品体积的5%。需进行电镜观察的样品，用戊二醛固定，加入量为样品体积的2%~5%。需进行分子生物学分析的样品，用无水乙醇固定，并保持最终保存液中乙醇浓度不低于70%。

10.3 样品分析

10.3.1 主要仪器和设备

体视显微镜、浮游动物分样器、浮游动物计数框、滤器、电子天平。

10.3.2 样品编号

各类样品须有总编号。总编号由代表采样海区、网具与采样方式、采样年份和样品序号等内容的代号依次组成，每份贮存样品的瓶外须贴有总编号的外标签，瓶内须放有总编号、站号和采样日期等内容的内标签，填写在浮游生物拖网样品登记表，记录表按表 A.18 的规定。

10.3.3 样品生物量测定与鉴定计数

10.3.3.1 个体鉴定计数

将样品倒入浮游动物鉴定计数框中，在体视显微镜下进行种类鉴定和计数。如果样品数量大，可先挑出个体较大的大型甲壳动物、箭虫、水母和被囊类等全部计数，其余样品用浮游动物分样器取样鉴定、计数，结果记录于大、中型浮游生物个体计数记录表，记录表按表 A.19 的规定。

10.3.3.2 湿重生物量测定

测定步骤如下。

- a) 去除样品中的杂物，但保留水母和被囊类等胶质生物；如果样品中存在体长超过20 mm 且单一标本占据超过20%的总生物量比例时(如存在火体虫等)，则需分别称量和记录去除前和去除后的湿重生物量。
- b) 取孔径略小于采样网孔的筛绢，剪成与漏斗内径相同的圆块，用水浸湿并用滤纸吸干后，用电子天平(天平分度值0.001 g)称重，记录该筛绢的标定重量。
- c) 将已标定重量的筛绢浸湿铺于漏斗中，倒入待测样品后抽滤片刻，至样品表面没有明显水分时停止抽滤。

- d) 移出载有样品的筛绢至滤纸上吸干筛绢底表的水分。
- e) 用电子天平称重，从总重量中减去筛绢重量即得样品湿重，测定结果记录于大、中型浮游生物湿重生物量测定记录表，记录表按表 A.20 的规定。

10.4 资料整理

10.4.1 丰度计算

按照GB/T12763.6—2007 中8.4.1和8.4.2的相关规定计算大、中型浮游生物湿重生物量和丰度。

10.4.2 填写报表

根据编写报告的要求和规定将上述分析统计数据的结果填入大、中型浮游生物湿重生物量测定记录表(记录表按表 A.20 的规定)和大、中型浮游生物数量统计表(记录表按表 A.21 的规定)。

10.4.3 绘制分布图

平面分布图一般用等值线表示，测站稀少或测站不连续时可用不同等级的圆圈或符号表示。取值标准如下。

- a) 浮游动物湿重生物量(单位: mg/m^3) 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, >100。
- b) 浮游动物总丰度为(单位: $\text{ind.}/\text{m}^3$) 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, >500。
- c) 浮游动物主要种或主要类别的丰度为(单位: $\text{ind.}/\text{m}^3$) 1, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, >500。
- d) 以上取值标准，可视具体情况酌情调整。

11 鱼类浮游生物

11.1 技术要求和调查要素

技术要求和调查要素按照GB/T12763.6—2007 中9.1的相关要求执行。

11.2 样品采集

11.2.1 采样设备

采样设备要求如下。

- a) 网具：采用大洋浮游动物网垂直取样或用大洋双鼓网倾斜取样。
- b) 网底管：网底管套的筛绢与网衣筛绢的孔径应相同。
- c) 流量计：流量计安装方法见9.2.1。
- d) 绞车及钢缆：绞车变速范围为 $0.3 \text{ m/s} \sim 1 \text{ m/s}$ ，并附有排缆装置和钢缆计数器。
- e) 吊杆：高度大于5 m，负荷大于2000 kg，吊杆离舷间距1 m 左右，并能调节位置。
- f) 冲水设备：用于冲洗收集粘贴在网衣或网底管筛绢上的标本。

11.2.2 采样前的准备

按10.2.2的规定进行。

11.2.3 海上采样与样品保存

11.2.3.1 样品采集

按照 GB/T 12763.6—2007 中9.2.2 的相关要求采集样品。

11.2.3.2 样品保存

形态鉴定样品用缓冲甲醛溶液固定保存，加入量为样品体积的5%；分子分析样品用95%乙醇固定保存，按表 A.22 的规定做好采样记录。

11.3 样品分析

按照GB/T12763.6—2007 中9.3 的相关要求分析样品，分析结果记录于鱼类浮游生物计数记录表，记录表按表 A.23 的规定。

11.4 资料整理

11.4.1 丰度计算

按照 GB/T12763.6—2007 中9.4.1的相关要求整理计算鱼类浮游生物丰度。

11.4.2 填写报表

根据编写报告的要求和规定将上述分析统计数据的结果填入表 A.23。

11.4.3 绘制分布图

平面分布图一般用等值线表示，测站稀少或测站不连续时可用不同等级的圆圈或符号表示。取值标准如下。

- a) 鱼卵和仔、稚鱼总丰度为(单位: ind./m³ 或 ind./100 m³) 1, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, >500。
- b) 鱼卵或仔、稚鱼主要科、属或种的丰度(单位: ind./m³ 或 ind./100 m³) 1, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, >500。
- c) 数量小于上述等级时，可用“十”标在测站上，以示出现。

12 巨型底栖动物

12.1 技术要求和调查要素

12.1.1 技术要求

技术要求如下：

- a) 采样设备包括三角拖网、底栖生物撬网、HOV、ROV 和 lander 等，依生境不同采取不同采样设备；
- b) 生物视像资料应使用深海拖曳式光学观测系统、HOV、ROV、AUV 和 lander 等设备采集；
- c) 调查设备应具有水下定位信标、激光标尺和离底高度计等传感器，宜挂载温度、盐度、溶解氧、pH 传感器等环境传感器。

12.1.2 调查要素

调查要素包括巨型底栖动物种类、生物量和多样性。

12.2 样品(资料)采集

12.2.1 主要仪器设备

主要仪器设备及要求如下。

- a) 三角拖网：适用于坡度小于 5° 的地形。网口宽度250 cm。主网网衣孔径前部1/3为2 cm、中部1/3为1.5 cm、后部1/3为1 cm，主网网长450 cm。衬网网衣孔径4 cm，衬网网长250 cm。
- b) 底栖生物撬网：适用于坡度小于 5° 的地形采集巨型底栖动物。网口宽度为1 m~1.5m，网衣孔径为0.25 mm 或0.5 mm。
- c) HOV 和 ROV：具有7功能操作手和虹吸取样器，具有高清光学设备(照相机和摄像机)、高精度水下定位功能、生物样品框和激光标尺。
- d) AUV：具有高清光学设备(照相机或摄像机)、高精度水下定位功能和激光标尺。
- e) lander：具有高清光学设备(照相机或摄像机)、生物诱捕器等。
- f) 深海拖曳式光学观测系统：具有高清光学设备(照相机或摄像机)。

12.2.2 海上采样和样品保存

12.2.2.1 三角拖网或底栖生物撬网采样

采样要求如下。

- a) 通过绞车张力监控系统监控拖网状态，待拖网着底后开始拖曳，拖曳过程航速不大于2 kn，拖曳时间不少于30 min。
- b) 拖网返回甲板后，用镊子将生物样品转移至托盘中，用低温($0^{\circ}\text{C}\sim 4^{\circ}\text{C}$)过滤(250 μm 网筛过滤)海水冲洗去除生物样品上附着的杂质，放入标尺及站位号牌后，从正面和侧面两个不同角度对样品进行拍照。
- c) 将样品按类别、个体大小、柔软脆弱和坚硬等特征分别登记装瓶记录，记录表按表 A.24 的规定，使用体积分数为8%~10%缓冲甲醛溶液或体积分数为75%及以上的乙醇溶液固定保存；条件允许时，样品应取部分组织样于超低温(-80°C)、液氮或 -20°C 条件下保存。

12.2.2.2 HOV 和 ROV 采样

采样要求及步骤如下：

- a) HOV 和 ROV 水下调查一般沿环境梯度设计测线，热液和冷泉等特殊生境根据具体需求设计调查测线；
- b) 采样主要使用机械手、虹吸取样器等采样装置，在水下将样品放置于生物样品框内，采样目标和数量根据工作设计决定，采样期间应记录好每个生物样品的准确采样时间；
- c) 样品返回甲板后处理方式同拖网，采样信息登记于表 A.25；
- d) 海底视像资料由高清照相机和摄像机同步采集，照相机根据水下观察情况进行拍照采样，摄像机在水下作业过程中应全程保持工作状态。

12.2.2.3 深海着陆器(lander) 采样和视像采集

采集要求如下：

- a) 样品由诱捕器(诱捕管或诱捕笼)采集；
- b) 样品返回甲板后现场处理和保存要求按12.2.2.1c)的要求进行；
- c) 海底视像由高清照相机或摄像机采集，照相机或摄像机根据调查需求设置采样频率。

12.2.3 AUV 和深海拖曳式光学观测系统

AUV 和深海拖曳式光学观测系统操作要求如下：

- a) 作业过程航速 ≤ 2 kn；

- b) 进入作业高度以后开启录像和照相功能，拍摄离底高度以3 m 左右为宜；
- c) 水下作业过程中每5 min~10 min 记录一次观测到的生物和地形特征，特殊现象要随时记录于表 A.26；
- d) 照相设置不大于每30 s 拍照一次或进行手动拍照。

12.3 样品(资料)分析

12.3.1 生物样品分析

12.3.1.1 样品现场登记与标示

样品返回甲板后，应认真检查样品，并做好记录和标示。

12.3.1.2 样品挑选、鉴定、计数

回陆上实验室后，样品按下列步骤处理：

- a) 标本分离按站进行，并进一步清除样品内的残留杂质；
- b) 在体式显微镜下鉴定生物样品种类，物种鉴定应到最佳分类水平；
- c) 经鉴定的样品以种为单位分装并填写记录表，记录表按表 A.27 的规定。

12.3.1.3 测定生物量

测定要求如下。

- a) 利用三角拖网或底栖生物撬网采集的巨型底栖动物应测定其生物量。
- b) 生物量以湿重计，将生物用滤纸吸干后用电子天平称重，并记录巨型底栖动物定量分析记录表，记录表按表 A.27 的规定。
- c) 个体大、数量多的软体动物的壳和肉分别称湿重。管栖动物应剥去管子(小管可保留)，寄居蟹应去螺壳称重，软体动物一般不去贝壳，但需吸尽壳表水分。

12.3.2 视像资料分析

12.3.2.1 资料核对与登记

调查船返航后，应认真核对视像资料，检查并规范视像资料文件名，并登记统一管理。

12.3.2.2 图像分析

图像分析按下列步骤处理：

- a) 重新查看录像资料，记录巨型底栖动物出现频率和数量，为视频中出现的底栖动物提供分类学信息，针对不同类群进行单独记录，记录表按表 A.28 的规定；
- b) 整理包含巨型底栖动物的视像资料，选择拍摄角度和清晰度合适的照片进行种类鉴定，鉴定到最佳分类水平。

12.4 资料整理

12.4.1 种类分布表

记录巨型底栖动物定性分析种类分布记录表，记录表按表 A.29 的规定。

12.4.2 种类名录表

按分类系统顺序，列出调查海区巨型底栖动物种类名录表，包括中文名和拉丁名。

13 大型底栖动物

13.1 技术要求和调查要素

13.1.1 技术要求

技术要求如下。

- a) 采样面积：每站不小于0.25 m²。
- b) 网筛孔径：250 μm。
- c) 湿重生物量测定精密度：±0.01 g。
- d) 种类鉴定计数：按种计数。

13.1.2 调查要素

包括大型底栖动物的丰度、生物量和群落结构。

13.2 样品采集

13.2.1 主要仪器设备

设备要求如下。

- a) 箱式取样器：采样箱体尺寸≥500 mm (长)×500 mm (宽)×500 mm (高) (面积≥0.25 m²)，条件允许时，以使用电视箱式取样器为佳。
- b) 钢缆及绞车系统：采用万米缆，条件允许时，以使用万米光缆或铠装电缆为佳。
- c) 洗泥器及250 μm 网筛。

13.2.2 海上采样

现场沉积物样品按如下步骤处理：

- a) 将箱式取样器中的表层水虹吸到孔径为250 μm 筛子中，以滤取可能被向上卷起的底栖生物；
- b) 放入标尺及站位号牌后，从正面和侧面两个不同角度对样品表面进行照相，并记录表层沉积物特征；
- c) 取出表层可见的大型动物、结核等，用过滤低温海水冲洗生物和结核表面，以除去粘附的沉积物，冲洗后的海水经250 μm 网筛淘洗，残留物装瓶，贴上标签后保存；
- d) 箱式取样器中的沉积物宜按(0~3) cm、(3~5) cm 和(5~10) cm 分为3层，利用洗泥器加入低温过滤海水淘洗，经250 μm 网筛截留，淘洗后的残留物分别装瓶，贴上标签；
- e) 10 cm 以上层次取样结束后，再用铲子检查下层沉积物中是否还有大型底栖动物。

13.2.3 样品保存

暂时性保存样品使用8%~10 %缓冲甲醛溶液保存，用于分子生物学分析和永久性保存的样品应使用体积分数不小于75%的乙醇溶液保存。

13.2.4 记录

每站采样结束，应立即填写大型底栖动物定量(采泥)取样记录表，记录表按表 A.30 的规定，

13.3 样品分析

13.3.1 样品核对与登记

调查船返航后，应认真核对样品和采样记录是否相符。若发现标签损坏和不清，应与原始记录核对，并更换标签做好登记。

13.3.2 样品挑选、鉴定、计数

13.3.2.1 样品挑选

样品运回陆上实验室后，按下列步骤处理：

- a) 将每站不同层次的沉积物样，分别放在250 μm 的套筛上用水轻轻地冲洗，然后把套筛筛网上的样品(残留物)浸入盛有0.1%虎红(四氯四碘荧光素钠盐)溶液的染色缸中，染色1 h；
- b) 用蒸馏水冲洗已染色的标本，至冲洗水的颜色变浅为止；
- c) 在体视显微镜下将沉积物样中的大型底栖动物标本逐个挑出。

13.3.2.2 鉴定和计数

鉴定和计数要求如下：

- a) 在高倍体视显微镜下对大型底栖动物标本进行观察、鉴定和计数，鉴定结果记录于大型底栖动物定量分析记录表，记录表按表 A.31 的规定；
- b) 鉴定时发现某号样品中出现两种以上，应立即分开，另编新号，并及时填写相应记录表，同时投放鉴定标签；
- c) 易断的纽虫、环节动物按头部计数；软体动物的死壳不计数；数量大时，可取其中一部分称重计数、换算。

13.3.2.3 测定湿重生物量

测定要求如下：

- a) 管栖动物应剥去管子(小管可保留)，寄居蟹应去螺壳称重，软体动物一般不去贝壳，但需吸尽壳表水分；
- b) 个体大、数量多的软体动物的壳和肉分别称湿重；
- c) 有孔虫、石珊瑚和部分钙质苔藓虫不计重。

13.4 资料整理

13.4.1 丰度计算

大型底栖生物丰度按公式(14)计算。

$$C = \frac{N_D}{A} \dots\dots\dots (14)$$

式中：

C —— 单位面积沉积物中大型底栖动物丰度，单位为个每平方米(ind./m²)；

N_g ——大型底栖动物个数，单位为个(ind.)；

A —— 采样面积，单位为平方米(m^2)。

13.4.2 湿重生物量

大型底栖生物湿重生物量按公式(15)计算。

$$P = \frac{M_w}{A} \quad \dots\dots\dots (15)$$

式中：

P ——单位面积沉积物中大型底栖动物湿重生物量，单位为毫克每平方米(mg/m^2)；

mg ——大型底栖动物湿重，单位为毫克(mg)；

A —— 采样面积，单位为平方米(m^2)。

13.4.3 填写报表

定量沉积物样分析所得种类或类群的丰度和湿重生物量记录于大型底栖动物定量分析种类分布记录表(表 A.32)。

13.4.4 绘制分布图

绘制分布图要求如下。

- a) 丰度分布图一般以等值线或不同大小的圆圈表示，丰度(ind./ m^2)的取值标准：1, 5, 10, 25, 50, 100, >100；以上取值标准，可视具体情况酌情调整。
- b) 湿重生物量分布图，一般以等值线或不同大小的圆圈表示，湿重生物量(mg/m^2)取值标准：1, 10, 25, 50, 100, 250, 500, >500；以上取值标准，可视具体情况酌情调整。
- c) 主要种类分布图：选择对总丰度和总生物量，或对各类群丰度和生物量起决定作用和分布普遍的种类，绘制主要种类的丰度和湿重生物量分布图。

13.4.5 种类名录表

按分类系统顺序，列出调查海区大型底栖动物种类名录表。

14 小型底栖后生动物

14.1 技术要求和调查要素

14.1.1 技术要求

技术要求如下：

- a) 从多管取样器取芯样，应是未受扰动的沉积物样品；
- b) 每站至少取3管沉积物样，3管样品中1管用于小型底栖后生动物丰度计算和种类鉴定，1管样品用于分子生物学分析，1管用于测定沉积物环境参数。

14.1.2 调查要素

调查要素包括小型底栖后生动物主要类群组成、丰度以及优势类群的种类组成和群落结构。

14.2 样品采集

14.2.1 采样设备

采样设备要求如下。

- a) (电视)多管取样器：应携带8支(取样管内径为9.5 cm)取样管。
- b) 现场应使用孔径为32 μm 的套筛。
- c) 沉积物样品分样器具：包括多管分样器、切割片、洗瓶、漏斗等。
- d) 船上支撑设备：同大型底栖动物调查。

14.2.2 海上采样

芯样现场处理步骤如下。

- a) 用于小型底栖后生动物分析的2管沉积物芯样按0 cm~1 cm,1 cm~2 cm,2 cm~3 cm,3 cm~4 cm和4 cm~5 cm分割成5层(根据情况可酌情增加层次);每管的上覆水与0 cm~1 cm 层的沉积物样装在一起,其余各层沉积物样分别装瓶。
- b) 用于沉积物环境参数分析的上层10 cm 沉积物,按1 cm 间隔分割成10层。应至少包括沉积物粒度,总有机碳(%),叶绿素 a 和脱镁叶绿素 a 分析样品。有机碳和叶绿素样品应存放于一20 ℃保存。用于粒度分析和有机碳分析的沉积物样品质量不应少于50 g,叶绿素分析样品质量不少于5 g。

14.2.3 样品固定与保存

小型底栖后生动物样品固定和保存按照GB/T34656—2017 中17.4.2.3的相关规定执行。

14.2.4 记录

多管采样过程应按照表 A.33 的规定填写。样品现场处理后,对已装瓶和装袋的每号分样进行标示,按照表 A.34 的规定填写记录。记录表、标签和样品瓶号应严格核对。

14.3 样品分析

按照GB/T34656—2017 中17.5的要求处理和分析小型底栖后生动物。

14.4 资料整理

按照 GB/T34656—2017 中17.6的要求整理资料,填写于表 A.35 和表 A.36。

15 有孔虫

15.1 技术要求和调查要素

15.1.1 技术要求

按照GB/T 34656—2017 中7.2 的相关要求执行。

15.1.2 调查要素

主要包括测定有孔虫的总体群落和活体群落的主要类群组成、优势种、丰度和群落结构。

15.2 样品采集与保存

按照GB/T34656—2017 中7.3 的相关要求采集和保存有孔虫样品，记录于表 A.34。

15.3 样品分析

按照 GB/T34656—2017 中7.5 的相关要求处理和分析有孔虫样品。

15.4 资料整理

按照GB/T34656—2017 中4.5 的相关要求整理相关资料，相关结果记录于表 A.35 和表 A.36。

16 结核动物

16.1 技术要求和调查要素

16.1.1 技术要求

技术要求如下。

- a) 采样面积：最小采样面积不低于0.25 m²。
- b) 种类鉴定计数：接种计数。

16.1.2 调查要素

结核动物的种类。

16.2 样品采集

16.2.1 主要仪器设备

主要仪器设备要求如下：

- a) 箱式取样器按13.2.1的规定进行；
- b) 船舶支撑设备按13.2.1的规定进行。

16.2.2 海上采样与样品保存

16.2.2.1 固定液

固定液要求如下：

- a) 体积分数为4%的缓冲甲醛溶液；
- b) 体积分数90%的酒精溶液。

16.2.2.2 采样和保存

使用箱式取样器采集沉积物表层结核样品，现场结核样品按如下步骤处理。

- a) 去除箱式取样器中的表层水，对沉积物表层的结核进行拍照。
- b) 结核先置于体积分数为4%的缓冲甲醛溶液中保存数天，之后转移至广口瓶中，用体积分数为90%的酒精固定保存；整个操作过程中，结核应始终保持湿润，防止干燥，结核在不同容器间转移时应小心操作，防止结核破碎。

16.2.2.3 记录

每站采样结束，应立即填写结核动物取样记录表，记录表按表 A.37 的规定。

16.2.2.4 填写标签

已装瓶的每号样品，需投入已填写好的标签，标签字迹清晰，保留采样站位、时间等关键信息。一般按调查采样站位先后等以代号编排。

16.3 样品分析

16.3.1 样品核对与登记

调查船返航后，应认真核对样品和采样记录是否相符。

16.3.2 样品鉴定与计数

回陆上实验室后，样品按下列步骤处理：

- a) 标本分离按站进行，并进一步清除样品内的残留杂质；
- b) 个体较大的动物标本用体式显微镜进行鉴定、计数，个体较小的动物标本用高倍光学显微镜或扫描电子显微镜进行鉴定、计数；
- c) 经鉴定的样品根据分类信息进行分装，并及时加入固定液，鉴定时发现某号样品中出现两种以上，应立即分开，另编新号，并种类鉴定和数量等信息记录于结核动物分析记录表，记录表按表 A.38 的规定。

16.4 资料整理

16.4.1 填写报表

所得结核动物的种类记录于结核动物分析记录表，记录表按表 A.38 的规定。

16.4.2 种类名录表

按分类系统顺序，列出调查海区结核动物种类名录表。

17 底栖鱼类与食腐动物

17.1 调查要素与技术要求

17.1.1 调查要素

调查要素为底栖鱼类与食腐动物种类组成。

17.1.2 技术要求

17.1.2.1 短期观测

短期观测要求如下：

- a) 短期观测使用的 lander 系统的水下工作时间以 1 d~3 d 为宜，照相机拍摄间隔一般设置为 30 s；

- b) 若搭载有海流计、CTD 等设备,其数据采集时间间隔不大于30 s。

17.1.2.2 长期观测

长期观测要求如下。

- a) 使用定时照相机的工作时间应达到一年以上。照相机拍摄间隔一般为1 h 一次。
b) 若搭载有海流计、CTD 等设备,其数据采集时间间隔一般不大于1 h。

17.2 样品和资料采集

17.2.1 主要仪器设备

主要仪器设备及要求如下。

- a) lander 系统,带有饵料的框架,用于吸引附近的食腐动物。
b) 深海照相系统:由照相机、闪光灯、电源、金属支架组成,拍摄面积不小于1 m²,相机光学像素不小于200万。
c) 其他辅助仪器:浮球或浮体材料、释放器、重块。
d) 有条件可配备海流计,记录海底流速和流向;可配备 CTD,记录海底温、盐、深等参数。

17.2.2 样品和资料采集

17.2.2.1 设备准备

设备准备要求如下:

- a) 照相机及其配件应固定在金属支架的合适位置上,使相机在拍摄过程中能够获得最佳的拍摄角度和视野;
b) 海流计、CTD 等在投放前开启仪器并进行设置;
c) 连接浮球、释放器和重块;
d) 将诱饵装入诱捕笼内。

17.2.2.2 设备布放

将 lander 吊放入水中,使整个系统(包括沉降重块)以自由落体方式或利用投放装置投放到海底预定位置,站位经纬度、投放时间等信息按照表 A.39 的规定做好记录。

17.2.2.3 设备回收

到达预定时间后,在船上使用释放器甲板单元对海底释放器发出指令,抛弃重块,整个系统靠浮力上浮至海面并回收到甲板,回收至甲板后应检查各仪器外观和连接部位情况,按照表 A.39 的规定做好记录。

17.2.2.4 样品采集

诱捕获取的底栖鱼类与食腐动物在现场拍照后,应按照种类分别装入样品瓶中写好标签,加入体积分数为5%的缓冲甲醛溶液或体积分数为75%的乙醇溶液保存,分子生物学研究用途的样品做完记录后视个体大小取全部或部分组织放入液氮或-80℃超低温冰箱,按照表 A.40 的规定做好记录。

17.2.2.5 数据采集

lander 设备回收甲板后,应及时将采集到的影像数据和温度、盐度等环境参数数据下载并保存到电

子介质中，做好数据备份和记录。

17.3 样品分析

样品分析按照12.3.1的相关规定执行。

17.4 影像资料分析

利用影像资料对底栖鱼类与食腐动物进行种类鉴定，鉴定到最低的分类阶元。

17.5 资料整理

17.5.1 填写报表

样品鉴定和影像分析结果分别按照表 A.29 和表 A.41 的规定做好记录。

17.5.2 种类名录表

按分类系统顺序，列出调查海区海底栖鱼类与哺乳动物种类名录表。

18 游泳动物

18.1 技术要求与调查要素

18.1.1 技术要求

游泳动物调查的技术要求如下。

- a) 视调查区的特点，选择网具调查、渔业声学调查或两者相结合的调查方法。根据调查对象群体的不同生活阶段确定调查时间和调查范围，并结合调查目的、游泳动物洄游规律和海底地形地貌等环境条件确定调查断面和站位等调查计划。
- b) 网具调查应选取选择性能小的网具作为调查网具，如采用拖网调查，拖速应根据调查对象游泳能力的强弱和调查船的性能综合考虑，调查游泳能力较弱的游泳动物时以2 kn ~3 kn 为宜，调查游泳能力强的游泳动物时以3 kn ~4 kn 左右为宜。采用其他网具调查，则根据网具性能采用不同的操作方式。
- c) 渔业声学调查应选择频率38 kHz 或70 kHz 为宜，在调查开始及航次结束时，应严格按照本文件的要求对回声探测-积分系统各进行一次声学校正，以确保原始声学数据的准确性；渔业声学调查一般选择调查对象分布较为集中、分布格局较为稳定的时期进行。
- d) 调查时间的选择应根据调查对象的分布特点及环境、海况等因素而定。

18.1.2 调查要素

调查要素包括游泳动物的种类组成、数量分布、群体组成、生物学和生态学特征及其时空变化等。

18.2 样品采集

18.2.1 主要仪器设备

18.2.1.1 调查网具

调查网具包括底层拖网、变水层拖网、钓具等，在特殊海域或对特定调查对象调查时，应因地制宜地

选择最适网具，且应备有备用网具和充足的渔具属具。

18.2.1.2 调查仪器设备

主要仪器设备包括鱼探仪(38 kHz 或70 kHz)、解剖镜(体视显微镜)、显微镜、台秤、电子秤、天平[天平分度值0.1 g, 0.01g 和0.001 g 各一台(杆)]、量鱼板(长度500 mm, 每格1 mm)、解剖刀和卷尺等。

18.2.2 样品采集和保存

18.2.2.1 样品采样

如采用拖网方式采样，放网的位置要综合拖速、拖向、流向、流速、风向和风速等多种因素，临放网前要准确测定船位，放网时间以停止曳纲投放，曳纲着底开始受力时为准。拖网中要尽可能保持拖网方向朝着标准站位，记录鱼群映象出现的水层、经、纬度和拖网速度的改变情况，要注意周围船只动态和调查船的拖网是否正常等，若出现不正常时，应视其情况改变拖向或立即起网。起网时间以起网机开始卷收曳纲的时间为准。如遇严重破网等重大事故导致采样数量不足，应重新拖网。采样记录表按表 A.42 的规定。其他网具调查可根据具体调查方式进行采样，并按表 A.42 的规定做好记录。

18.2.2.2 样品取样和保存

游泳动物样品总重量在40 kg 以下时，全部取样分析，大于40 kg 时，从中挑出大型的和稀有的标本后，从样品中随机取出分析样品20 kg 左右，然后把余下的渔获物按品种和不同规格装箱，记录准确的样品重量(kg)，并从其中再留取特殊需要的样品，如不同体长组的年龄、胃含物和怀卵量的样品等。样品如不在现场分析，应装箱(袋)扎好标签，做好记录，核对无误后及时冰鲜或速冻或浸制。如是小型标本要装好瓶子放好标签，用体积分数为5%的甲醛或工业酒精固定带回。

18.3 样品分析

按照 GB/T12763.6—2007 中14.3 的要求处理和分析鱼类、虾类、蟹类和头足类等游泳动物样品，分析结果按表 A.43 的规定做好记录。

18.4 资料整理

按照GB/T12763.6—2007 中14.4的要求整理和统计，并填写相关结果记录于表 A.44。渔业声学调查数据处理包括声学数据的预处理、生物学数据的预处理和映像分析和积分值分配等，预处理时需要排除偶尔出现的非生物来源回波信号，如气泡、不规则海底及本底噪声等，对原始积分值进行必要的修正；并以基本积分航程单元为单位进行映像分析和积分值判读。根据生物学取样资料和映像特征来鉴别产生回波映像的目标生物种类，并将预处理后的总积分值分配给对回声积分作出贡献的每一生物种类。具体处理方法可参考 GB/T 12763.6—2007中附录 G。

19 海洋哺乳动物和海鸟

19.1 技术要求与调查要素

以调访和观测等途径，对海洋哺乳动物和海鸟进行调查，主要调查鳍足类和鲸类等海洋哺乳动物和海鸟的种类组成。

19.2 主要仪器设备

主要仪器设备要求如下。

- a) 调查船上具有固定的目视观测平台，观测平台到海平面的垂直距离在5 m 左右。
- b) 主要仪器设备包括望远镜、超长焦镜头相机(100 mm~400 mm 变焦为宜)、摄像机、卫星定位仪、测距仪、测深仪、角度盘等。

19.3 调查方法

19.3.1 调查区域选择

调查区域选择要求如下。

- a) 对调查海域(区)的调查路线进行设计。
- b) 海上调查通常选择能见度较高(≥ 500 m)、风浪较小(海况 ≤ 3 级)的天气情况下进行；调查船按照设计好的调查路线行进，船速控制在8 kn 左右。

19.3.2 观测方式

观测要求如下。

- a) 目视观测在观测平台上使用望远镜并结合肉眼进行观测进行。左、右观测范围为各自一侧 100° 的范围，即以航线方向为 0° ，从各自一侧 90° 到越过中线 10° 的水域。视野略微越过中线能保证在中线位置上的发现概率。左、右观测者在90%以上时间内使用望远镜观测；中间记录者负责数据记录和左右 90° 的观测范围，有利于动物距离考察船较近时也能被发现。
- b) 发现动物后需要收集的信息包括发现的准确时间和位点位置、动物与调查船间的直线距离以及与考察线路之间的夹角、动物数量、群体结构、外形特征(体色)和行为模式等，同时应记录周围的环境信息(潮汐状况、栖息地类型、人类活动情况、水深、水温、盐度、叶绿素 a 和 pH 值等)，记录表格的样式按表 A.45 的规定。
- c) 条件允许时，结合卫星、声学等跟踪技术的遥测观测方法与手段进行调查。

19.4 资料整理

19.4.1 填写报表

观测发现的海洋哺乳动物和海鸟种类按表 A.46 的规定做好记录。

19.4.2 种类名录表

按分类系统顺序，列出调查海区海洋哺乳动物和海鸟种类名录表。

20 食物网

20.1 技术要求与调查要素

20.1.1 技术要求

技术要求如下：

- a) 采用稳定同位素法分析，其中 $\delta^{13}\text{C}$ 值的分析精度为 $\pm 0.2\%$ ， $\delta^{15}\text{N}$ 的分析精度为 $\pm 0.2\%$ ；
- b) 尽可能采集到各个营养级样品，除个别低生物量类群外每份样品干重不低于0.5 g。

20.1.2 调查要素

调查要素包括沉积物、水体悬浮颗粒物及不同类群生物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值和 $\delta^{15}\text{N}$ 值，不同类群生物的营养级，条件允许时可分析主要类群的食物源贡献率。

20.2 样品采集

20.2.1 海上采样

采样要求如下：

- a) 利用箱式取样器或多管取样器采集沉积物样品，具体按照13.2.2的要求进行，现场采集表层0 cm~1 cm 未受扰动的沉积物样品装入样品袋中；
- b) 利用CTD 采集水体悬浮颗粒物样品，参照表1水层采集海水样品，水样经过200 μm 孔径筛绢预先过滤后装入大体积桶内；
- c) 利用大洋浮游植物网采集200 m 以浅浮游植物样品，具体按照9.2.3 中网采的要求进行；
- d) 利用大洋浮游动物网和多联浮游生物分层拖网采集不同水层的浮游动物样品，具体操作按照10.2.3 的要求进行；
- e) 鱼类浮游动物样品按照11.2.3的要求采集；
- f) 巨型底栖动物样品按照12.2.2 的要求采集；
- g) 大型底栖动物样品按照13.2.2 的要求采集；
- h) 小型底栖后生动物按照14.2.2的要求采集；
- i) 底栖鱼类与食腐动物样品按照17.1.3的要求采集；
- j) 游泳动物样品按照18.2.2的要求采集。

20.2.2 样品现场处理与保存

样品要求如下。

- a) 沉积物样品采集做好标示后冷冻保存，以液氮或 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存为佳。
- b) 利用过滤器将 CTD 采集的海水样品过滤到玻璃纤维滤膜上(过滤压力不超过450 kPa)，所用滤膜应事先经过 $450\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预灼烧4 h, 海水过滤体积不少于20 L; 滤膜做好标签后冷冻保存，以液氮或 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存为佳。
- c) 浮游植物样品采集后，先用200 μm 孔径筛绢过滤去除浮游动物，再利用过滤器将浮游植物过滤到玻璃纤维滤膜上(过滤压力不超过450 kPa)，所用滤膜应事先经过 $450\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预灼烧4 h。将滤膜编号登记后冷冻保存，以液氮或 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存为佳。
- d) 浮游动物和鱼类浮游动物样品采集后，静养2 h 排除消化道内含物，在台式解剖镜下分选并分类，挑选较大个体的浮游动物样品和优势种分别装瓶，做好标签，放入液氮或 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱或 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。
- e) 巨型底栖动物，游泳动物，底层鱼类，食腐动物等类群采集后，挑取出肌肉组织，写好标签并登记好后冷冻保存，以液氮或 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存为佳。
- f) 含大型底栖动物的沉积物样品现场用250 μm 网筛淘洗，现场在体视镜下挑选动物样品，不同类群按如下要求挑取组织冻存：多毛类以及较小个体的类群选取整体，双壳类选取闭壳肌，腹足类选取腹足部分，甲壳类选取肌肉组织冻存；每个类群干重不低于100 mg。
- g) 含小型底栖后生动物的沉积物样品现场用32 μm 网筛淘洗，有条件的可在现场利用离心法分离收集小型底栖后生动物样品，冷冻保存，以液氮或 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存为佳。

20.2.3 记录

每站采样结束，应立即填写食物网分析样品采集登记表，记录按表 A.47 的规定。

20.3 样品分析

20.3.1 样品预处理

上述样品带回实验室后，按如下要求预处理：

- a) 沉积物样品经冷冻干燥48 h 后研磨成粉末待用；
- b) 水体悬浮颗粒物滤膜和浮游植物滤膜各分成两部分，一部分直接放入冷冻干燥机冷冻干燥48 h,另一部分用浓盐酸酸熏24 h 后放入冷冻干燥机冷冻干燥48 h；
- c) 浮游动物样品解冻后，使用去离子水清洗后放入冷冻干燥机冷冻干燥48 h；
- d) 各类动物组织样品用去离子水清洗后放入冷冻干燥机冷冻干燥48 h, 研磨成粉末待测。

20.3.2 分析方法

各类样品预处理完毕后，取适量装入锡囊，利用稳定同位素比值质谱仪测定碳氮稳定同位素组成。碳氮同位素组成分别以国际通用的美国南卡罗来纳州白垩纪皮狄组层位中的拟箭石化石(PDB) 和大气氮气作为参考标准，以 δ 值表示。

20.4 资料整理

20.4.1 碳氮稳定同位素比值计算

碳氮稳定同位素比值通过公式(16)进行计算。

$$\delta X = [(R_1 - R) / R] \times 10^3 \quad \dots\dots\dots (16)$$

式中：

δX ——¹⁵N 或¹³C 稳定同位素比值；

R₁ —— 实测样品的 C 或 N 同位素比值；

R、 —— 标准物质的同位素比值。

对于碳同位素R=¹³C/¹²C，以国际标准物质PDB 为标准物质，对于氮同位素，R=¹⁵N/¹⁴N，以空气

中的N₂ 为标准物质；

计算结果按照表 A. 48 的规定做好记录。

20.4.2 食源贡献率计算

对于采集到的潜在食源基于碳稳定同位素来确定不同食物对消费者的贡献率。食源贡献率计算见公式(17)。

$$\delta m = f_A \delta A + f_N \delta N + \dots + f_N \delta X \quad \dots\dots\dots (17)$$

$$f_A + f_N + \dots + f_N = 1 \quad \dots\dots\dots (18)$$

式中：

δm —— 所测消费者的同位素比值；

δA、δ_g、δ_x —— 潜在食源稳定同位素比值；

f_A、f_g、...f_N —— 潜在食源贡献率。

计算结果按照表 A.48 的规定做好记录。

20.4.3 营养级计算

不同生物体所处营养级可用氮稳定同位素比值的高低来评估，其具体的计算见公式(19)。

$$TL = \lambda + \frac{\delta^{15} N_c - \delta^{15} N_b}{\Delta \delta^{15} N_e} \dots \dots \dots (19)$$

式中：

TL —— 营养级；

λ —— 基准生物营养级，一般根据所研究的生物群体取值1, 2, 3；

$\delta^{15} N_c$ —— 所测消费者的 $\delta^{15} N$ 值；

$\delta^{15} N_b$ —— 基准生物的 $\delta^{15} N$ 值；

$\Delta \delta^{15} N_e$ —— 平均每一营养级富集的 $\delta^{15} N$ 值。

基准生物应根据所研究的区域和生物种类来选择合适的基准生物，需要根据生物个体的活动范围小、生物周期相对长、易收集、分布广泛、营养级位置低等条件进行综合考量。计算结果按照表 A.48 的规定做好记录，

附录 A

(规范性)

海洋生物调查和分析记录表

表 A.1~表 A.48 给出了海洋生物样品采集、分析、鉴定和测定记录表格式。

表 A.1 叶绿素采样记录表

共____页 第____页

海区_____ 船名_____ 航次/航段_____ 站号_____ 水深_____m
 采样日期(UTC) _____年_____月_____日 实测站位经度(E/W) _____ 纬度(N/S) _____
 透明度_____m 水色_____ 天气状况_____ 海况_____
 滤膜类型_____ 滤膜孔径_____ μm 储样条件_____

序号	预定深度 m	实测深度 m	采水时间 时:分	水样号	过滤时间 时:分	过滤水样量 cm ³	滤膜 贮存号	备注
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								

采样_____ 过滤_____ 审核_____

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/718052005072006071>