

中华人民共和国海洋行业标准

HY/T ×××—20××

绿潮生态调查与监测技术规范

Technical specifications for ecological survey and monitor on green tide

(报批稿)

202×-××-××发布

202×-××-××实施

中华人民共和国自然资源部 发布

目 次

前言 III

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语与定义 1

4 基本要求 2

 4.1 调查与监测要素 2

 4.2 调查与监测设备和仪器 2

5 固着绿海藻调查与监测 3

 5.1 区域、站位和频次 3

 5.2 样品采集 3

 5.3 样品处理与保存运输 3

6 漂浮绿海藻调查与监测 3

 6.1 区域、站位和频次 3

 6.2 样品采集 3

 6.3 样品处理与保存 4

7 悬浮绿海藻调查与监测 4

 7.1 区域、站位与频次 4

 7.2 样品采集 4

 7.3 样品处理与保存 4

8 微观繁殖体调查与监测 4

 8.1 区域、站位与频次 4

 8.2 样品采集 4

9 水文气象、环境化学与生物要素调查与监测 5

 9.1 水文气象 5

 9.2 环境化学 5

 9.3 其它生物要素 5

10 实验室样品分类鉴定、干重湿重测定和培养 5

 10.1 绿海藻分类鉴定 5

 10.2 干重与湿重测定 6

 10.3 微观繁殖体实验室培养 6

11 数据处理 7

 11.1 固着绿海藻总生物量计算 7

11.2	漂浮绿潮藻生物量计算	7
11.3	悬浮绿潮藻生物量	8
11.4	微观繁殖体丰度	8
12	资料整理与报告编写	9
12.1	采样记录、表格填写和整理	9
12.2	样本核对、登记和保存	9
12.3	图件绘制和影像资料整理	9
12.4	报告编写与资料归档	9
附录 A (资料性)	绿潮藻采样调查和分析记录表	10
附录 B (资料性)	目标基因片段扩增	17
B.1	ITS 片段 PCR 扩增反应条件和程序	17
B.2	5S 片段 PCR 扩增反应条件和程序	17
附录 C (资料性)	培养液的配方和配置	18
C.1	PES 培养液	18
C.2	二氧化锗储存液	18
附录 D (资料性)	调查与监测报告内容	19
D.1	前言	19
D.2	调查与监测海区	19
D.3	任务执行情况	19
D.4	质量控制	19
D.5	调查与监测结果	19
D.6	分析与讨论	19
D.7	计划完成情况	19
D.8	存在问题和建议	19
D.9	小结	19
D.10	参考文献	20
参考文献	21
表 A.1	样品标签	10
表 A.2	筏架固着绿潮藻采样记录表	11
表 A.3	其它固着绿潮藻采样记录表	12
表 A.4	漂浮绿潮藻采样记录表	13
表 A.5	悬浮绿潮藻采样记录表	14
表 A.6	微观繁殖体采样记录表	15
表 A.7	绿潮藻样品鉴定与生物量统计表	16

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：自然资源部第一海洋研究所、自然资源部北海预报中心。

本文件主要起草人：王宗灵、肖洁、姜美洁、吴玲娟、傅明珠、范士亮、张学雷、李瑞香。

绿潮生态调查与监测技术规范

1 范围

本文件规定了绿潮生态调查与监测的相关要素、技术方法、要求、数据采集和计算方法等内容。

本文件适用于中国近海绿潮的生态调查与监测。

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 12763.1	海洋调查规范	总则
GB/T 12763.2	海洋调查规范	海洋水文观测
GB/T 12763.3	海洋调查规范	海洋气象观测
GB/T 12763.4	海洋调查规范	海水化学要素调查
GB/T 12763.6	海洋调查规范	海洋生物调查
GB/T 12763.7	海洋调查规范	海洋调查资料交换
GB/T 12763.9	海洋调查规范	海洋生态调查指南
GB/T 17378.5	海洋监测规范	沉积物分析
HY/T 071	表层漂流浮标	

3 术语与定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

绿潮 green tide

海洋中一些大型藻类在一定环境条件下增殖或聚集达到某一水平，导致海洋生态环境异常的一种现象。

3.2

绿潮藻 green tide macroalgae

诱发绿潮的大型海藻优势种。

3.3

固着绿潮藻 attached green tide macroalgae

定生绿潮藻

固着生长于天然或人工基质上的绿潮藻。

3.4

漂浮绿潮藻 floating green tide macroalgae

漂浮聚集于表层海水的绿潮藻。

3.5

悬浮绿潮藻 suspending green tide macroalage

悬浮于水体中的绿潮藻。

3.6

绿潮藻湿重 wet weight of green tide macroalgae

沥干水份后新鲜绿潮藻的重量。

3.7

绿潮藻干重 dry weight of green tide macroalgae

绿潮藻烘干脱水至恒重时的重量。

3.8

绿潮藻生物量 biomass of green tide macroalgae

单位面积或体积内绿潮藻湿重或干重，包括固着绿潮藻生物量、漂浮绿潮藻生物量和悬浮绿潮藻生物量。

3.9

微观繁殖体 micropropagule

可繁殖发育成绿潮藻成体的藻体微小片段或细胞，包括孢子、配子、合子以及不同生长阶段的显微个体等。

4 基本要求

4.1 调查与监测要素

4.1.1 生物要素

绿潮藻：固着、漂浮和悬浮绿潮藻的种类组成、生物量和分布。

微观繁殖体：水体和沉积物中绿潮藻微观繁殖体种类组成、丰度和分布。

其它生物要素：微生物、浮游植物，视需要选做浮游动物、底栖生物和潮间带生物。

4.1.2 环境要素

水文气象要素：风速、风向、降水、气温、水温、盐度、水深、透明度、流速、流向。

水体化学要素：pH、溶解氧、化学需氧量、硝酸盐、亚硝酸盐、氨氮、总氮、活性磷酸盐、总磷、硅酸盐、总碳。

沉积物化学要素：有机碳、总氮、总磷、氧化还原电位（Eh）。

4.2 调查与监测设备和仪器

仪器设备：调查船及辅助设施、采水器、采泥器、勾刀/刮刀、采样框、电子秤、照相与摄影录像设备（含水下）、过滤装置、各种网具及附件等通用海洋调查与监测设备和工具，倒置/正置显微镜、实体显微镜、天平、脱水机、烘箱、控温光照培养箱、PCR仪、电泳仪、凝胶成像仪等实验室常规设备和分析仪器。其它仪器设备按GB/T 12763.2、GB/T 12763.3、GB/T 12763.4、GB/T 12763.6、GB/T 12763.9和GB/T 17378.5执行。

仪器设备均满足海洋化学、水文气象、海洋生物等各专业的采样要求。分析仪器设备需经质检部门检定，且在有效期内。

5 固着绿潮藻调查与监测

5.1 区域、站位和频次

调查与监测区域：以绿潮分布海域为主要调查监测区域，并覆盖邻近海域有固着绿潮藻分布的区域，宜在绿潮起始发生区及邻近海域设计固定站位进行连续跟踪调查。

调查与监测站位：根据绿潮藻固着基设定代表性调查站位，应包括天然和人工基质固着基。

调查与监测频次：每月1次，在绿潮暴发前和早期，可加密至每月2次。

5.2 样品采集

5.2.1 养殖筏架

每站点随机选取筏架5桁~10桁，每桁随机取绿潮藻平行样3个，覆盖筏架所有组成部分（包括梗绳、竹竿和网帘）。

根据不同时期固着绿潮藻的生物量决定取样长度和面积，梗绳按30 cm ~ 100 cm长度取样，网帘按0.25 m² ~ 1 m² 取样。

用勾刀刮取固着绿潮藻，保证藻体的完整性。

5.2.2 其它固着基质

根据固着基类型、位置、水深等情况确定取样方案。潮间带，在低潮绿潮藻露出水面时直接取样；潮下带，宜潜水取样，同步采集图像信息和地理位置信息。

根据绿潮藻生物量情况，采用 50 cm × 50 cm 或 20 cm × 20 cm 采样框，收集框内所有绿潮藻。每个站位的不同固着基各设 3 组平行样。

5.3 样品处理与保存运输

样品须用海水冲洗去除表面泥沙，沥干水分，按站位和固着基分别装入样品袋内，并填写标签纸（见附录 A.1）和样品记录表（见附录 A.2~A.3）。如样品量太多，可按比例称取部分，并记录留存比例。

样品冷藏保存，避免在阳光下曝晒。宜在 48 h 内进行后续处理。

6 漂浮绿潮藻调查与监测

6.1 区域、站位和频次

调查与监测区域：以绿潮分布海域为主要调查监测区域。

调查与监测站位：网格式布设站，按GB/T 12763.1有关要求定位。近岸或海湾每5'~15'设1个站位，远岸和开放海域每15'~30'设1个站位。漂浮绿潮藻旺发区域可加密设站。

调查与监测频次：根据绿潮发生情况确定时间和频次，覆盖整个绿潮发生发展过程。每月2次，可根据调查海域大小、站位数量情况加密。

6.2 样品采集

样品采集要求如下：

- a) 在漂浮绿潮藻不连续分布海域，使用拖网（网目 1 mm~3 mm）水平拖取漂浮绿潮藻，测量和记录拖网距离和扫海面积；

- b) 在漂浮绿潮藻连续成片分布海域，用采样框（50 cm× 50 cm 或 1 m× 1 m）确定采样面积，使用捞网或攻兜网收集采样框内绿潮藻，在漂浮斑块内不同位置随机采样 5 次，取其平均值。

6.3 样品处理与保存

样品处理和保存同5.3。

7 悬浮绿潮藻调查与监测

7.1 区域、站位与频次

调查与监测区域：以绿潮分布海域为主要调查监测区域。

调查与监测站位：在绿潮暴发中心区域，沿平行岸线方向设3个~5个站位，每个站位取3个平行样。

调查与监测频次：每周1次~2次，在平潮期进行采样与监测，可根据情况适当增加频次。

7.2 样品采集

用浅水I型浮游生物网或大型浮游生物网从底到表垂直拖取悬浮绿潮藻，操作按GB/T 12763.6执行。

7.3 样品处理与保存

样品处理和保存同 5.3。

8 微观繁殖体调查与监测

8.1 区域、站位与频次

调查与监测区域：以绿潮分布海域为主要调查监测区域，宜在固着绿潮藻分布和绿潮起始发生区域开展周年调查。

调查与监测站位：近岸调查时，与固着绿潮藻调查与监测站位一致；大面调查时，与漂浮绿潮藻调查与监测站位一致。

调查与监测频次：每月1次，持续13个月。

8.2 样品采集

8.2.1 水体样品采集

大面调查时，使用采水器分层采集水样，分层按 GB/T 12763.6 执行；近岸浅水区，使用采水器分表、底 2 层采水。操作按 GB/T 12763.6 执行。

水样通过 200 μm 筛绢过滤后装入灭菌塑料桶，避光冷藏保存。宜在 48 h 内进行培养实验。

8.2.2 沉积物样品采集

使用小型采泥器采集表层沉积物样品，用干净小铲刮取表层沉积物，记录采样面积；滩涂可采用插管法采集沉积物。操作按GB/T 12763.6执行。样品置于封口袋中避光冷藏保存，宜在48 h内进行培养实验。

9 水文气象、环境化学与生物要素调查与监测

9.1 水文气象

9.1.1 气象要素

与漂浮绿潮藻调查与监测同步进行，按照 GB/T 12763.3 执行。

9.1.2 水文要素

与固着、漂浮、悬浮绿潮藻和微观繁殖体调查与监测同步进行，按照 GB/T 12763.2 执行。

9.1.3 海表漂流浮标示踪

设计与制作按照 HY/T 071 要求。

宜选择绿潮起源海域为目标海域，在合适位置投放浮标。

浮标数据采集方法按照 HY/T 071 和 GB/T 12763.2 执行。

9.2 环境化学

9.2.1 海水化学要素

与绿潮藻和微观繁殖体调查与监测同步进行。样品的采集、处理与分析按照 GB/T 12763.4 和 GB/T 12763.9 执行。

9.2.2 沉积物化学要素

与微观繁殖体调查与监测同步进行，样品的采集、处理与分析按照 GB 17378.5 执行。

9.3 其它生物要素

根据需要选做其它生物要素（见 4.1.1）。其中，固着绿潮藻调查与监测宜同步进行底栖生物和浮游动物调查与监测；漂浮、悬浮绿潮藻和微观繁殖体调查与监测宜同步进行浮游植物、浮游动物和微生物调查与监测。样品的采集、处理与分析按照 GB/T 12763.6 和 GB/T 12763.9 执行。

10 实验室样品分类鉴定、干重湿重测定和培养

10.1 绿潮藻分类鉴定

10.1.1 形态学鉴定

形态学鉴定基本步骤和要求如下：

- a) 绿潮藻样品置于样品盘中，加入经过滤的灭菌海水将其充分分离；
- b) 根据藻体颜色、分枝、叶状体和其它藻体组织形态、藻体基部假根或断裂情况、细胞显微结构等特点，进行形态学鉴定。

10.1.2 分子生物学鉴定

分子生物学鉴定基本步骤和要求如下：

- a) 根据形态种类选取代表株进行分子生物学鉴定；
- b) 每株取藻段不超过 300 mg，用蒸馏水冲洗 3 次，提取基因组 DNA；

- c) 获得的基因组 DNA 溶液放于冰箱冷藏（4 ℃）保存，作为后续 PCR 扩增模板；如果一周内无法进行后续实验，应放-20 ℃冷冻长期保存；
- d) PCR 扩增目标基因片段，宜采用 ITS 和 5S 基因片段（见附录 B）；
- e) 扩增的 DNA 片段经纯化后进行测序；
- f) 利用获得的 DNA 序列确定种类；
- g) 样本中优势种和主要类群应鉴定到种，短时间难以鉴定到种的可进行必要的特征描述，暂以未知种（sp.）表示。

10.2 干重与湿重测定

形态学分类后的绿海藻样品进行湿重和干重测定，步骤要求如下：

- a) 每组样品放入网目 20 的尼龙筛绢网袋中，置于变频脱水机中，以 300 rpm 转速脱水 1 min，或用手摇式脱水机脱水 2 min。
- b) 用电子天平称重，精确至 0.1 g；
- c) 湿重样品均匀薄层平铺在锡箔纸上，放入烘箱，60 ℃烘干 12 h；
- d) 待温度降至室温后取出样品，用精密电子天平称重，精确至 1 mg；
- e) 结果记录于表 A.2~A.6。

10.3 微观繁殖体实验室培养

10.3.1 水体微观繁殖体培养和计数

水体中微观繁殖体培养和计数步骤要求如下：

- a) 500 mL 充分混匀的海水样品，至灭菌烧杯中，加入 10 mL PES 培养液（见附录 C.1）和 0.5 mL 二氧化锗（GeO₂）储存液（见附录 C.2）以抑制硅藻生长，每个站位设 3 个平行组；
- b) 烧杯放置于光照培养箱培养，培养条件：温度 18 ℃、光照强度 120 μmol photons m⁻² s⁻¹、光周期 12 h:12 h（光照：黑暗时间）；
- c) 每 5 d 补充一次 PES 培养液；
- d) 培养约 15 d 之后，微观繁殖体萌发生长为 1 cm~3 cm 幼苗，用放大镜对幼苗进行计数。

10.3.2 沉积物微观繁殖体培养和计数

沉积物中微观繁殖体培养和计数步骤要求如下：

- a) 称取 20 g 沉积物样品置于灭菌烧杯中，加入 500 mL 灭菌海水、10 mL PES 培养液（见附录 C.1）与 0.5 mL 二氧化锗溶液（见附录 C.2）；
- b) 放置于光照培养箱，培养条件同 10.3.1；
- c) 培养约 15 d 之后，微观繁殖体萌发生长为 1 cm~3 cm 幼苗，用放大镜对幼苗进行计数。

10.3.3 微观繁殖体种类鉴定

微观繁殖体种类鉴定要求如下：

- a) 用消毒镊子随机取出幼苗；
- b) 幼苗用蒸馏水漂洗 2 次~3 次，再用滤纸吸干表面水分，转移到 1.5 mL 灭菌离心管中，按 10.1.2 进行分子生物学鉴定。不能立即鉴定的样品，宜-20 ℃冷冻长期保存。

11 数据处理

11.1 固着绿潮藻总生物量计算

11.1.1 养殖筏架固着绿潮藻总生物量按公式（1）计算：

$$B_{raft} = \sum_{i=1}^n \frac{B_i \times S_i}{s \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

B_{raft} —— 整个养殖区筏架固着绿潮藻总生物量，单位为千克（kg）。

B_i —— i 站位每个养殖筏架单元上（包括网帘、梗绳和竹竿）固着绿潮藻的生物量，单位为克（g）；

s —— 单个养殖筏架单元的面积；

S_i —— i 站位代表的筏架总面积，单位为平方米（m²）。

11.1.2 其他固着基固着绿潮藻总生物量按公式（2）计算：

$$B_{substrata} = \sum_{i=1}^n \frac{\bar{b}_i \times S_i}{s \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$B_{substrata}$ —— 调查区域固着绿潮藻总生物量，单位为千克（kg）；

\bar{b}_i —— i 站位采样框取得的绿潮藻平均生物量，单位为克（g）；

S_i —— 为 i 站位代表的固着基总面积，单位为平方米（m²）；

s —— 为 i 站位所用采样框面积，单位为平方米（m²）。

11.2 漂浮绿潮藻生物量计算

11.2.1 对于漂浮绿潮藻分布稀疏、呈不连续分布的海域，单位面积漂浮绿潮藻生物量按公式（3）计算：

$$B'_L = \frac{\bar{b}}{D \times L} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

B'_L —— 该调查站位单位面积漂浮绿潮藻生物量，单位为克/平方米（g/m²）；

\bar{b} —— 该站位拖网获取的平均绿潮藻生物量，单位为克（g）；

D —— 取样网口宽度，单位为米（m）；

L —— 取样网拖曳长度，单位为米（m）。

11.2.2 对于漂浮绿潮藻密集、连续分布的海域，单位面积漂浮绿潮藻生物量按公式（4）计算：

$$B_H' = \frac{\bar{b}}{s} \dots\dots\dots (4)$$

式中：

B_H' —— 调查站位单位面积漂浮绿潮藻生物量，单位为克/平方米（g/m²）；

\bar{b} —— 该站位采样获取的平均绿潮藻生物量，单位为克（g）；

s —— 采样框面积，单位为平方米（m²）。

11.3 悬浮绿潮藻生物量

11.3.1 悬浮绿潮藻生物量按公式（5）计算：

$$B_s' = \frac{\bar{b}}{v} \dots\dots\dots (5)$$

式中：

B_s' —— 单位体积海水中悬浮绿潮藻生物量，单位为克/立方米（g/m³）；

\bar{b} —— 垂直网获得的平均绿潮藻样品生物量，单位为克（g）；

v —— 垂直网滤水量，根据水深和网口面积计算获得，单位为立方米（m³）。

11.4 微观繁殖体丰度

11.4.1 水体绿藻微观繁殖体丰度按公式（6）计算：

$$A_w = \frac{N}{V} \dots\dots\dots (6)$$

式中：

A_w —— 水体中微观繁殖体丰度，单位为株/升（ind./L）；

N —— 水样培养获得的幼苗数量，单位为株（ind.）；

V —— 培养的水样体积，单位为升（L）。

11.4.2 沉积物绿藻微观繁殖体丰度按公式（7）计算：

$$A_s = \frac{N}{G} \dots\dots\dots (7)$$

式中：

A_s —— 沉积物中微观繁殖体丰度，单位为株/克（ind./g）；

N —— 每组培养获得的幼苗数量，单位为株（ind.）；

G —— 培养的沉积物重量，单位为克（g）。

12 资料整理与报告编写

12.1 采样记录、表格填写和整理

采样记录和表格填写整理要求如下：

- a) 鉴定、计数及测定结果等，分别填写于调查采样和鉴定记录表（见附录A.2~A.7）。
- b) 按 GB/T 12763.1 相关规定填写和整理记录表；
- c) 环境要素按 GB/T 12763.2、GB/T 12763.3、GB/T 12763.4、GB/T 12763.6、GB/T 12763.7、GB/T 12763.9 规定整理和填写相关表格。

12.2 样本核对、登记和保存

样本核对和登记保存要求如下：

- a) 根据调查记录，核对各站取得的样本数；
- b) 样本统一编号，按站位分别整理，核对编号、标签；
- c) 按前述要求处理保存不同样本；
- d) 烘干样本可保存于干燥的冷藏室，定期检查以防止霉变。

12.3 图件绘制和影像资料整理

图件绘制和影像资料整理要求如下：

- a) 绘制各调查区域内固着绿海藻、漂浮绿海藻和悬浮绿海藻生物量时空分布图。考虑绿海藻斑块状分布特征，宜用饼状图表示；
- b) 绘制各调查区内微观繁殖体分布图，可采用等值线图或饼状图；
- c) 根据需要选择绘制环境要素图件；
- d) 整理现场调查与监测影像资料，每份文件标注必要信息。

12.4 报告编写与资料归档

12.4.1 调查与监测报告编写

按GB/T 12763.1要求编写报告，报告应包括任务执行情况、质量管理和调查与监测结果（见附录D），根据任务目的、内容和具体要求，可适当增减报告内容。

12.4.2 资料归档

整理项目资料，按GB/T 12763.1和GB/T 12763.7有关规定进行归档，确保资料完整、准确与系统。

附录 A
(资料性)
绿潮藻采样和分析记录表

表 A.1 ~ A.7 给出了绿潮藻采样调查和分析记录表格式。

表 A.1 样品标签

项目编号	调查区域	调查日期
站位	经度	纬度
水深	样品编号	采样者
记录者		

表 A.4 漂浮绿潮藻采样记录表

共_____页 第_____页

项目编号_____调查区域_____船号_____航次_____

站号_____经度_____纬度_____采样日期_____

水深_____盐度_____水温_____透明度_____

采样方法_____采样（框）面积_____（m²）

网口直径_____（m）拖曳时长_____扫海面积_____（m²）

样品编号	湿重(g)	备注
记事：		

采集_____记录_____校对_____

表 A.5 悬浮绿海藻采样记录表

共_____页 第_____页

项目编号_____调查区域_____船号_____航次_____

站号_____经度_____纬度_____采样日期_____

水深_____盐度_____水温_____透明度_____

采样方法_____网口面积_____ (m²)

拖曳时长_____拖网水体体积_____ (m³)

样品编号	湿重 (g)	备注
记事：		

采集_____记录_____校对_____

表 A.6 微观繁殖体采样记录表

共_____页 第_____页

项目编号_____调查区域_____船号_____航次_____

站号_____经度_____纬度_____采样日期_____

水深_____盐度_____水温_____透明度_____

水体/沉积物_____采样方法_____

样品编号	层次	水体积（mL）/沉积物重量(g)	备注

记事：

采集_____记录_____校对_____

表 A.7 绿海藻样品鉴定与生物量统计表

共_____页 第 _____页

项目编号_____日期_____

样品编号	种类鉴定和生物量（g）						备注
	形态种类						
	分子鉴定						
	湿重						
	干重						
	形态种类						
	分子鉴定						
	湿重						
	干重						
	形态种类						
	分子鉴定						
	湿重						
	干重						
	形态种类						
	分子鉴定						
	湿重						
	干重						
	形态种类						
	分子鉴定						
	湿重						
	干重						
记事：							

鉴定_____称重_____记录_____校对_____

附 录 B
(资料性)
目标基因片段扩增

B.1 ITS 片段 PCR 扩增反应条件和程序

引物: ITSa-F (5'-TCGTAACAAGGTTTCCGTAGG-3'), ENT26S (5'-GCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGT-3'), 可采用其它相近引物。

反应体系: 1×PCR缓冲液(含1.5 mM MgCl₂), 引物ITSa-F和ENT26S-R各0.8 μM, dNTP混合液0.8 mM, 牛血清蛋白(Albumin from bovine serum, BSA) 0.1 mg/mL, 1 U DNA聚合酶, 溶液A 1 μL~2 μL, 超纯水补齐反应体系至20 μL。

反应程序: 94 °C 预变性5 min, 然后30个循环包括94 °C 变性60 s, 60 °C 退火60 s, 72 °C 延伸2 min, 最后72 °C 延伸10 min, 4 °C 保存。

B.2 5S 片段 PCR 扩增反应条件和程序

引物: 5S-F (5'- TCGTAACAAGGTTTCCGTAGG-3'), 5S-R (5'- GCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGT-3')。

反应体系: 1×PCR缓冲液(含2 mM MgCl₂), 引物5S-F和5S-R各0.4 μM, dNTP混合液0.2 mM, 牛血清蛋白(Albumin from bovine serum, BSA) 0.1 mg/mL, 1 U DNA聚合酶, 溶液A 1 μL~2 μL, 超纯水补齐反应体系至20 μL。

反应程序: 94 °C 预变性1 min, 10个循环包括94 °C 变性45 s、65 °C 退火45 s、退火温度每个循环降低1 °C、72 °C 延伸1 min, 然后固定退火温度55 °C进行25个循环反应, 最后72 °C 延伸10 min, 4 °C 保存。

附录 C
(资料性)
培养液的配方和配置

C.1 PES 培养液

PES 培养液配置要求:

- a) Fe-solution: 0.3 mg Na₂EDTA、0.351 g Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ 6H₂O, 蒸馏水定容至 500 mL;
- b) PII metal solution: 蒸馏水中加 1 g Na₂EDTA、1.14 g H₃BO₃、0.049 g FeCl₃ 6H₂O、0.164 g MnSO₄ H₂O、0.022 g ZnSO₄ 7H₂O、4.8 mg CoSO₄ 7H₂O, 蒸馏水定容至 1 L;
- c) PES 培养液: 蒸馏水中加硝酸钠 3.5 g、Na-glycerophosphate 5H₂O 0.5 g、Fe-solution 250 mL、PII metal solution 250 mL、VB₁₂ 0.1 mg、VB₁ 5 mg、生物素 biotin 50 μg、Tris 5 g, 蒸馏水定容至 1 L。

C.2 二氧化锗储存液

制备浓度为 0.5 mg/mL 的二氧化锗 (GeO₂) 储存液。

附录 D (资料性) 调查与监测报告内容

D.1 前言

简述任务来源及工作部署。

D.2 调查与监测海区

描述海区的基本信息，包括位置、地理坐标和自然环境，视需要简述海区人工设施材质、分布和对海区自然环境的影响、海区环境变化趋势和以前对该区域的调查研究程度。

D.3 任务执行情况

描述任务主要目的、内容和意义，调查与监测手段、调查船、时间、方法、人员组成，概述任务执行概况。

D.4 质量控制

描述现场调查与监测、实验室工作的质量控制措施、实施情况与结论，包括仪器设备的质量要求，样品分析、测试、鉴定结果、原始资料、资料汇编和图集的质量检查，调查与监测结果的质量评估。

D.5 调查与监测结果

根据任务目的，全面整理总结调查与监测结果。重点阐述主要调查与监测要素结果，包括固着、漂浮和悬浮绿潮藻分布、生物量和种类组成，微观繁殖体分布、丰度和种类组成。总结整理环境要素调查与监测结果。

说明样品类别、数量，分析、测试和鉴定方法，资料整理、计算和图件编绘方法。阐述样品分析、测试和鉴定结果。

D.6 分析与讨论

根据调查与监测结果，总结绿潮发生过程、规律和主要环境特征。总结分析绿潮藻主要来源、引起绿潮暴发的主要生物学和环境因素。分析绿潮对海域生态环境可能产生的影响。结合历史资料和相关学科资料综合分析，给出有关绿潮防控的指导性意见。

D.7 计划完成情况

说明实际完成的工作内容，如未完成计划应说明原因及补救措施。

D.8 存在问题和建议

总结任务实施过程中发现的问题，分析可能对调查与监测结果、结论等造成的影响，并提出今后应开展工作的建议。

D.9 小结

概述调查与监测主要结果和结论。

D.10 参考文献

列出主要参考文献，包括有关资料、技术和方法的来源与出处等。

参 考 文 献

- [1] GB/T 15919—2010 海洋学术语 海洋生物学
- [2] 我国近海海洋综合调查与评价专项 海洋化学调查技术规程 海洋出版社 2006
- [3] 我国近海海洋综合调查与评价专项 海洋生物生态调查技术规程 海洋出版社 2006
- [4] 我国近海海洋综合调查与评价专项 海洋灾害调查技术规程 海洋出版社 2006
- [5] 中国科学院中国孢子植物志编辑委员会 中国海藻志 科学出版社 1999-2016
- [6] C. K. Tseng. Common seaweeds of China. Beijing: Science Press, 1984