
* 生物监测技术规范 *
* (水环境部分) *

《征求意见稿》

一九八五年九月

前 言

随着环保事业的发展，国家环保局根据开展生物监测工作的需要，委托中国环境监测总站组织编写《生物监测技术规范（水环境部分）》。

参加编写的单位有北京市环境监测中心站，湖南、辽宁、四川、湖北省环保监测站，南京、杭州、广州市环保监测站及中科院湖北水生生物研究所。

由于生物监测工作在我国刚刚起步，缺乏经验，加之编写时间促，水平有限，本规范的错误及遗漏之处在所难免，敬请从事生物监测工作的科技人员提出宝贵意见，以便修改、补充、完善本规范。

编 者

一九八五年九月

《生物监测技术规范(水环境部分)》

目 录

第一章 总 则	(1)
第二章 断面布设原则及方法	(3)
第三章 监测项目、频率	(6)
第四章 监测方法	(7)
第一节 生物类群的监测	(7)
一、浮游植物	(7)
二、浮游动物	(12)
三、着生生物	(15)
四、底栖动物	(20)
五、水生维管束植物	(24)
第二节 生产力测定	(27)
一、叶绿素 a 测定	(27)
二、黑白瓶测氧法	(28)
第三节 残毒测定	(30)
第四节 细菌学监测	(49)
一、样品的采集和保存	(49)
二、细菌总数的测定	(51)
三、总大肠菌群的测定	(55)
四、粪大肠菌群的测定	(69)
五、沙门氏菌的测定	(75)
六、粪链球菌测定	(83)

第五节 急性毒性试验	(87)
一. 鱼类的急性毒性试验	(87)
二. 大型溞的急性毒性试验	(94)
三. 藻类的急性毒性试验	(103)
第六节 致突变物监测	(112)
一. 沙门氏菌/哺乳动物微粒体致突变试验	(112)
二. 紫露草微核技术	(125)
第五章 成果表达	(132)
附录 1: 部分评价标准	(138)
附录 2: 总大肠菌群 (M P N) 检索表	(142)

第一章 总 则

《生物监测技术规范》（水环境部分）是我国环境监测技术规范化的重要内容，是生物监测工作的基本技术文件之一。

一。制定规范的依据：

本规范是根据《中华人民共和国环境保护法》（试行）第二十六条关于国务院环境保护机构“统一组织环境监测，调查和掌握全国环境状况和发展趋势，提出改善措施”的规定及《全国环境监测管理条例》第九条“关于制定监测技术规范”的规定制定的。

二。制定规范的目的：

制定本规范的目的在于通过统一监测项目、监测频率、监测方法、数据处理方法及成果表达方式，建立完整的生物监测质量保证体系，确保生物监测数据的准确性、精确性、完整性、可比性和代表性，借以加强生物监测技术管理，推动我国生物监测工作的不断发展。

三。制定规范的原则：

本规范制定工作的基本原则是，实事求是，面向实际；立足当前，面向发展；根据需要，考虑可能。使规范内容与我国的环境特征、技术水平和装备条件相适应，既具有技术先进性，又有应用的可行性。

四。生物监测的基本任务：

1. 对环境中各种生物指标进行定期的或临时的监测，了解污染对水生生物的直接危害及发展趋势，掌握其综合污染效应。

用生物学观点评价水体环境质量状况。

2. 对排入水环境中的各种污染物进行监视性监测，为污染源管理及排污收费提供科学依据；

3. 通过对自然水体及污染水体长期累积的监测资料及趋势分析，为政府部门执行各项环境法规，制订和修订标准，开展科学研究及环境管理工作提供准确、可靠依据；

4. 进行生物监测技术研究，开展科研性生物监测，为农村生态、城市生态研究及国土整治等宏观决策服务。

五. 本规范适用范围，

本规范适用于除海洋以外的河流、湖泊、水库等淡水环境国家控制测点（国控点）的水生生物监测工作。其他各级地方控制测点可参照本规范执行。

六. 对生物监测人员的要求，

1. 鉴于生物监测涉及的学科面广、量大、专业性强等特点，要求从事该项工作人员，具有一定专业知识及操作技能，掌握试验方法，熟悉有关环境法规、标准等技术文件；

2. 生物监测人员需经技术培训和业务考核，成绩合格方能从事工作；

3. 树立高度的工作责任心及科研道德，钻研业务，坚持实事求是，严格按技术规范开展工作，遵守劳动纪律，搞好团结协作；

4. 监测人员应保证监测数据的清晰、完整、准确；填好各类报表；严禁弄虚作假，伪造数据资料；严守国家机密。

七. 解释权限，

本规范的编制、修改及解释权属国家环境保护局。

第二章 水生生物监测断面布设原则及方法

一. 水生生物监测断面的布设原则

水生生物监测断面布设，应在对所监测区域的自然环境和社会环境进行调查研究的基础上根据不同的监测目的，遵循下述原则进行布设。

(一). 断面布设的代表性

根据调查计划方案的目标要求，选择具有代表性的水域布设断面，以获得所需要的代表性生物样品。如：调查污染对水环境生态影响时，则应在水体纳污口附近设置监测断面（点）。以便获得由于污染而造成水生生物种群结构特征的具有代表性的生物样品。

(二). 与水化学监测断面布设的一致性

水生生物指标是评价水体水质和生态状况的重要参数，只有与水化学监测指标结合起来进行污染与生物效应的相关分析，才能更全面地评价水环境质量及生态状况。为此，水生生物监测断面的布设要尽可能与水化学监测断面相一致，以利于时空同步采样，获得相互比对的数据。

(三). 断面布设要考虑水体环境的整体性

水生生物监测断面布设要有整体观点，从一条河流（河段），一个湖泊的环境总体考虑，以获得反映一个水体的宏观总体数据，以满足对水体环境综合评价分析的需要。如：流经城市河段监测断面布设时，既要了解河流入城市河段前的水生生物状况，又要掌握由于城市排污对水体生态状况的影响，以及水体是否有自净能力等。故其监测断面至少要在河流入城市前，流经城市排污段以及出城市河段布设三个断面（即上（对照断面）中（污染断面）下（观察断面）三个断面），以便获得流经城市河段的整体状况，为综合评价该

城市排污对水体环境生态影响提供依据。

(四) 断面布设的经济性

断面布设方案提出后，要进行优化验证，以期用最少的断面和人力、物力，获得具有最大效益，并有代表性的数据。同时，要尽可能布设在交通方便，采样安全的地段，以保证人身安全和样品的及时运输。

(五) 断面布设的连续性

环境监测断面的布设，不仅考虑反映环境生态现状的需要，而且要考虑长期的趋势分析研究的需要。要为观测环境质量变化趋势，评价环境效益，强化环境管理服务。因此，为获得长期的连续的，并具有可比性的数据，断面布设一经确定，不能任意变动。如确需变动时，需上级站批准后方可更改。

二、布点方法

由于水生生物的多样性和影响因素的复杂性。在遵循上述布点原则的基础上，布点方法除参照地面水监测布点方法外，还应根据水生生物监测的特殊性进行有目的的布点，以获得具有整体性和代表性的生物样品。从我国国情、人力、条件出发，根据监测水体的不同，其布点方法为：

(一) 河流。一般采样断面布设法，即根据河流（或河段）流经区域的长度，可设上（对照）中（污染）下（观察）三个断面。每个断面的采样数可视河流宽度而定。50公尺以下在河心设点，50—100公尺可左右设点100公尺以下可设左中右三个采样点（目前多设左右两个点），用以反映该断面的水生生物状况。当该河段有较多排污口时，应在河段污口处增设采样点，以采集污染

源对河流影响的生物样品为评价水质质量和开展污染源治理提供依据。

· 图 1. 射线设点示意图



(二) 湖泊、水库，根据该水体的自然环境和社会环境特点，以获得该水体总体质量状况的代表性样品为基准进行布设。一般应在下述水域布点(断面)：1、入湖口区(入库口区)，2、湖(库)中心区。3、出口区。4、最深水区。5、沿湖(库)边排污口区。6、湖(库)相对清洁区。

各采样断面，可采取断面的左中右样品，亦可在根据实验验证能获得所需代表性样品的区域有目的布设。但上述断面一经审定即标图存查，未经上级批准不准随意改动。

第三章 监测项目、频率

序号	项 目		适 用 范 围	监 测 频 率
	名 称	必(选)测		
1	浮游植物	必 测	河流、湖泊、水库	3—5月、7—9月 各一次
2	浮游动物	选 测	"	"
3	着生生物	选测测	"	"
4	底栖动物	必 测	"	"
5	水生维管束植物	选 测	"	"
6	叶绿素a测定	湖(库)必测 河流选测	湖泊、水库	"
7	黑白瓶测氧	"	"	"
8	残 毒	部分必测	河流、湖泊、水库、池塘等	参照“地表水监测技术规范” 执行
9	细菌总数	必 测	饮用水、水源水、地面水、废水	"
10	大肠菌群	" "	"	"
11	粪大肠菌	选 测	"	"
12	沙门氏菌	" "	"	"
13	粪链球菌	" "	"	"
14	鱼类、溞类、藻类毒性试验	" "	污染源	根据污染源监测需要确定
15	Ames 试验	"	"	"
16	紫露草微核技术	"	"	"

第四章 监测方法

第一节 生物类群的监测

一. 浮游植物

(一) 采样

1. 采样层次

对一般常规生物监测, 河流宜在水面下0.5米左右采样, 可不分层取样。湖泊、水库, 在水深不超过2米时, 可不分层采样; 水深在2—3米时, 在水面下0.5米与距水底0.5米处各采一样; 水深3—10米部分, 可按表、中、下三层取样。超过10米处可不采样。

2. 采样量

用采水器采样, 浮游植物密度低于500单位/ml时, 应采6升水或更多, 在营养水平较高的水体, 采水1—2升。

3. 采水器

浮游植物的采样, 可采用有机玻璃采水器。(使用时注意先夹住水口橡皮管, 再将两个半园形上盖打开, 让采水器沉入水中, 底部入水口则自动开启。下沉深度应在系绳上有所标记。当沉入所需深度时, 即上提系绳, 上盖和下入水口自动关闭。提出水面后, 不要碰及下底, 以免水样泻漏。将出水口橡皮管伸入容器口, 松开铁夹, 水样即流入容器。)

4. 定性标本的采集

用25号浮游生物网, 在水面和半米深处作 ∞ 形循回缓慢拖动(网内不得有气泡)约8分钟左右(视生物多寡而定)。

5. 标本固定

除非留着进行活体观察的样品（这种样品不应太浓，不应完全充满容器，并应在3小时以内镜检），其它定性、定量样品，都应加防腐剂固定。建议用鲁哥（Lugol）氏液（40克碘溶于含碘化钾60克的1000ml溶液中）。一般1000ml样加15ml鲁哥氏液。为防止样品褪色，样品应保存于暗处，或1000ml样中加1ml饱和硫酸溶液。

用着长期保存的样品，在实验室内浓缩至20或30ml（参见浮游动物部分），补加1ml40%左右的甲醛，密封保存。并应加贴下述标签，最好样品瓶内也放一同样标签。

6. 现场记录

所有样品都应编号，并就采样时间，地点、深度、采样量等进行记录，或将样品贴上注有上述内容的标签。

若在现场进行活体观察，应记录观察到的种类，特别是固定时容易变形的种类。如隐藻（Cryptomonas）、衣藻（Chlamydomonas）、单鞭金藻（Chromulina）。

（二）计数

1. 显微镜的校准

将目（测微）尺放入10倍目镜内，应使刻度清晰成象（一般刻度面应朝下），将台（测微）尺当作显微玻片标本，用20倍物镜进行观察，使台尺刻度清晰成象。台尺的刻度代表标本上的实际长度，一般每小格0.01mm。转动目镜并移动载物台，使目尺与台尺平行，并且目尺的边沿刻度与台尺的0点刻度重合，然后数出目尺10格相当于台尺多少格，用这个格数去乘0.01mm，其积表示目尺10格代表标本上的长度多少mm，作好记录，即某台显微镜

20倍物镜配10倍目镜，某目尺10格代表标本上的长度多少。

用作测量和计数的其它镜头的每一种搭配，也都应作同样的校准和记录。

2. 计数框及其使用

浮游植物的计数采用1ml的计数框(50×20×1mm)，其实际长度和深度可用测径器配合测微尺测量之。注液前，将盖片斜盖在计数框上，将样品按左右平移的方式充分摇匀，立即用1ml的胖肚吸管吸取1ml样品，徐徐注入计数框内，然后将盖片平旋正位。这样注入样品，可防止气泡的产生。但是不可注得过满而使盖片浮起，以免改变深度，影响结果的准确性。

(1) 计数：用20倍物镜，10倍目镜较好。计数前，计数框中的样品至少要静置15分钟，使浮游生物沉至框底。对于某些不下沉的兰绿藻要单独计数，然后再加入总数内。

计数单位：一个单细胞生物，一个自然群体，都看作一个单位。

长条计数：从计数框的左边一直计数到计数框的右边称为一个长条。旋转目镜，使目尺与计数框长轴垂直，移动载物台，计数每一个通过目尺中央纵线的浮游植物。与下沿刻度相交的个体，应计数在内，与上沿刻度相交的个体，不计数在内，与上、下沿刻度都相交的个体，可在低倍镜下，按上述原则单独计数，最后加入总数之中。

硅藻细胞破壳不计数，硅藻细胞空壳可按中心纲和羽纹纲分别单独计数，但不加入总数之中，仅用于后述硅藻计数的校正。

一般随机选取2或4长条，藻体较密计数2条，较稀计数4条。藻体密度最好每视野不超过10个，如果太密可将样品稀释到原体

积的 d 倍如果样品太稀，可将样品浓缩到原体积的 $\frac{1}{C}$ (样品的浓缩参见浮游动物部分)， d 与 C 可分别称为稀释系数与浓缩系数。

(2) 计算：原水样 (非浓缩样，也非稀释样) 每毫升含浮游植物个体数 N 可按下式计算。

$$N = C \times \frac{1000}{L \times W \times D \times S} \times \frac{d}{C}$$

其中，

C 计算 S 条所得之个体数

L 长条长度之毫米数

W 长条宽度之毫米数

D 长条深度之毫米数

S 条数

C 浓缩系数

d 稀释系数

上式中， $E = \frac{1000}{L \times W \times D \times S}$ ， E 称为计算因数，可事先算出并作好记录，若显微镜、目镜、物镜、计数框及计数条数 S 不变，则 E 值不变，上式简化为

$$N = C \times E \times \frac{d}{C}$$

若样品实际未浓缩也未稀释，则 $d = C = 1$ ，上式变为

$$N = C \times E$$

若需计数种属的组成，为充分利用显微镜的放大倍率，可用 0.1ml 计数框，在 10×40 倍镜下，按长条计数法分类计数 200 个藻体以上。用划“正”的方法，即每划代表一个个体，记录每个种属的个体数。

(三) 硅藻种类比例的统计

在多数水体中，硅藻是浮游植物的重要组成部分。硅藻的鉴定以壳体花纹为主要依据，一般需先去除细胞内容物，制成永久封片，在油镜下分类计数。

1. 样品的处理

一般样品需经前述方法浓缩，并经蒸馏水清洗，最后浓缩至5ml，然后吸取均匀混和样若干。均匀复盖一整片清洗过的盖片，蒸发至干。其密度以不妨碍藻体鉴定为度。如果太稀，可再吸样复盖，再蒸发，直至密度适度为止。蒸发时可在电热板上加微热，但不可沸腾。经最后一次蒸发至干，将盖片放在载片的中央（样品面朝上），在300—500℃电热板上灼烧（载片在下）20—45分钟。冷却后即可封固。

用作上述处理的盖片，需经分厘卡测量，选取标准厚度（0.7mm）的盖片。盖片要清洗到无不浸润现象，而表面又光亮无雾。已经生雾的玻璃片不宜使用。

2 封片

用作硅藻封片的封固胶折射率要高，Hyrax（海雷克斯）是较好的封固胶，若无Hyrax，可自行炼制Pleuxax（普鲁雷克斯）（参见小久保清治著《浮游硅藻类》第二版第五章第七节），效果同样好。封片时，置一点封片胶于清洗的载片上，将上述灼烧过的盖片盖上（样品面朝下），在90℃左右加热去除溶剂（或使固体Pleuxax溶化），然后降低温度，在封片胶不沸腾时，用两根火柴棒同时向两边轻轻压挤盖片，让多余的胶溢出盖片四周，使封片尽可能地薄。冷却后，用单面刀片刮去溢出的胶（刮下的胶不可再度封片），即可进行镜检。

(3) 计数及计算

硅藻的分类计数至少在900 X油镜下进行。通常按长条计数法分类计数200个硅藻壳，用划“正”的方法记录每种个体数 n_i 。 n_i 除以计数的硅藻总个体数 Σn_i ，再乘以100%，即得每种硅藻的百分比。原水样每毫升中任何一种硅藻的个体数等于原水样每毫升中硅藻总数（活细胞数加空壳数）乘以该种硅藻百分比。

(4) 标本保存

永久玻片应放在玻片合内，置于阴凉干燥处，并保持玻片面与水平面平行。

处理过的硅藻壳体不易保存。至少应使硅藻壳一直浸在水中。建议加适量甘油和少许甲醛及麝香草酚与标本混匀后，密封保存。

二、浮游动物

(一) 采样

1. 采水层次

见浮游植物部分，并需注意浮游动物的群集性较浮游植物明显的特点。

2. 采样量

原生动物、轮虫和未成熟的微小甲壳动物。采水量一般1—5升（视生物多寡而定）。若需定量采集甲壳动物，应采水50升。

3. 采样器

见浮游植物部分。

4. 定性标本的采集

原生动物和轮虫，用25号网。甲壳动物用13号网。捞取3分钟左右（视生物多寡而定）。

5. 标本固定 除非留待活体观察的样品，所有样品都应固定。原生动物和轮虫，每升水样加 15 ml 鲁哥氏液固定，甲壳动物加 5% 甲醛固定。

6. 活体观察与记录

原生物和轮虫的分类，应进行活体观察（现场或回实验室），并应作好记录。进行活体观察时，可在盖片沿边滴一小滴 1% 硫酸铜，仅以麻醉为度，并随即将多余的硫酸铜用滤纸吸掉。

留着进行活体观察的水样，不能太浓，并且只应充满容器的一半，不能接触固定剂及其它化学药品，在 2—3 小时内镜检。

所有样品都应加贴标签，载明时间、地点、采样量等内容。

7. 样品的浓缩

建议采用沉淀——倾泻法。即将已固定的原水样静置 48 小时，让样品自然沉淀，然后用虹吸法小心吸去上清液。需注意几点：

(1) 沉淀中途，可轻轻转动容器一次，或用玻棒轻轻沿器壁搅动，使粘在器壁上的样品脱落下沉。

(2) 虹吸管出水口应始终低于入水口，防止清液倒流冲动样品。如有冲动，应再次沉淀。

(3) 最后一次沉淀可用有刻度的 1000 毫升直园柱形分液漏斗做浓缩做浓缩器。一般先浓缩到 20ml 以下，将样品注入有刻度的样品瓶，再用本样品的上清液将粘在浓缩器上的样品洗入样品瓶，共洗两次，每次 5ml。计数时，将此样品准确调整到 30ml。

(二) 计数

1. 显微镜的校准（参见浮游植物）

2. 计数及计算