



理事会

Distr.: General
31 January 2022
Chinese
Original: English

第二十七届会议

理事会届会，第一期会议

2022年3月21日至4月1日，金斯敦

临时议程* 项目 11

“区域”内矿物资源开发规章草案

基线环境数据确定准则草案

法律和技术委员会编写

目录

	页次
一. 导言	4
二. 宗旨和范围	4
三. 取样和数据获取	5
A. 空间和时间变异性	5
B. 取样策略调适	9
C. 协调与合作	9
D. 数据质量	10
E. 数据和样本管理	10
四. 物理海洋学	11
A. 导言	11
B. 取样分辨率	12
C. 测定变量：温度和盐度	13

* ISBA/27/C/L.1。



D.	测定变量：海流	14
E.	测定变量：潮汐和波浪	15
F.	测定变量：湍流	15
G.	测定变量：光学特性	16
H.	测定变量：噪声	17
I.	数据质量	17
J.	数据管理	19
五.	化学海洋学与生物地球化学	19
A.	导言	19
B.	一般方法	20
C.	取样分辨率	22
D.	测定变量：营养盐	22
E.	测定变量：氧	23
F.	测定变量：碳酸盐系统	25
G.	测定变量：微量金属元素	27
H.	测定变量：有机物和无机物	28
I.	测定变量：放射性同位素示踪剂(放射性示踪剂).....	31
J.	数据质量	32
K.	数据管理	33
六.	地质特性	34
A.	导言	34
B.	一般方法	34
C.	取样分辨率	35
D.	测定变量：水深测量	35
E.	测定变量：沉积物特性	35
F.	生境分类	36
G.	数据质量	37
H.	数据管理	37
七.	生物群落	37

A. 导言	37
B. 一般方法	38
C. 取样分辨率	38
D. 测定变量：大洋水层群落	39
E. 测定变量：底栖群落	41
F. 测定变量：连通性	49
G. 测定变量：生态系统机能运行	50
H. 测定变量：生态毒理学	53
I. 测定变量：海洋哺乳动物、鲨鱼、海龟和表层自游生物.....	54
J. 测定变量：海鸟	54
K. 数据质量	55
L. 数据管理	57
八. 文献目录	58
九. 简称和缩略语	71

一. 引言

1. 环境影响报告由工作计划申请者根据《“区域”内矿物资源开发规章》(《开发规章》)编写和提交,应当以环境参考基线数据为基础,环境参考基线数据系依照相关勘探规章以及勘探合同条款和条件,作为勘探合同的组成部分加以确定。
2. 本准则主要侧重于在太平洋中部和西北部以及印度洋发现的深海多金属结核。有的要素未必对所有矿物类型一概适用。今后将印发进一步的迭代成果,把海底块状多金属硫化物和富钴铁锰结壳囊括进来。
3. 本套准则就申请者或承包者如何满足关于获取海洋学和环境基线数据的要求提供了指导。它们以指导承包者评估“区域”内海洋矿物勘探活动可能对环境造成的影响的建议(ISBA/25/LTC/6/Rev.1 和 ISBA/25/LTC/6/Rev.1/Corr.1)为基础,应当与之一并阅读。
4. 这些准则应当与《开发规章》、相关勘探规章、国际海底管理局其他相关规则、规章和程序、其他相关标准和准则一并阅读,包括但不限于与下列方面有关的标准和准则:
 - (a) 环境影响评估流程;
 - (b) 环境影响报告编制;
 - (c) 环境管理和监测计划编制;
 - (d) 环境管理系统的制定和应用。
5. 如本套准则与《开发规章》(包括其附件)或任何标准有任何不一致之处,以《规章》(包括其附件)和标准为准。

二. 宗旨和范围

6. 获取基线数据的主要目标是表征现有环境,以在勘探和开发前,评估该等活动可能对海洋环境产生的影响。基线数据还阐明方法,构成环境影响长期监测的基础,从而确保开发一开始,基线数据就能有效支持环境影响评估以及环境监测和管理计划。
7. 在提交环境影响报告时,工作计划申请者有责任保证任何影响均不超过相关阈值。本套准则为的不是设定阈值,也不是解决需要在该阶段考虑的养护问题。申请者有责任说明,当时是如何利用基准数据就任何影响得出结论的。管理措施在提交工作计划时确定,是因为它取决于申请者得到的、而且对照同期科学界的标准评估过的基线数据和结论。因此,申请者有责任确保数据切合目的。此外,基线数据有助于提供信息用于区域环境管理计划。
8. 妥善设计的取样工作是环境勘测和监测的基石。如果没有根据最佳可得技术和良好行业做法,运用恰当的设备采集数量充足、空间覆盖充分的样本,那么所

有后续数据和分析都会存在瑕疵或出现破绽。遵循这一最佳做法，还可以确保取样不会对环境产生不必要的额外影响。

9. 本套准则内含关于以下方面的指导：

(a) 为确定可能受采矿活动影响区域和水柱本身的物理、化学和地质特性，以及确定可能受采矿活动影响区域和水柱内栖息的生物群落的特征起见，所需要的基线数据范围、覆盖面和标准；

(b) 评估环境基线数据质量所遵循的审查和评价程序，发现和区分偏离基线/背景水平的变化所需要的统计严谨性；

(c) 数据管理(尤其是因为它涉及到支持数据存储和环境基线报告所需要的元数据)。

10. 在本套准则中，应当收集的基准数据分别归入以下标题：

- (a) 物理海洋学；
- (b) 化学海洋学和生物地球化学；
- (c) 地质特性；
- (d) 生物群落。

三. 取样和数据获取

11. 基线数据应当涉及多个学科，以整体评估环境状况和过程。需要通过取样和重复，适当地表征环境，从而识别变化并判断变化是采矿作业附带的效应，还是自然空间和时间变异性和趋势的结果，抑或是人类与采矿无关的活动的结果。不了解这一情况，就不可能把采矿作业期间观察到的、偏离采矿前状况的现象归于开发活动以外的任何因素。因此，应当在商业采矿阶段开始前，收集关于基线条件自然变异性的综合信息。

A. 空间和时间变异性

12. 不同的变量和不同的生态系统组成部分可能有着不同的变化程度和时空尺度。因此，对于不同的组成部分，为确定变异性所需要的重复和频率也可能不同。为扎扎实实地覆盖时间和空间变异性、减少与数据有关的不确定性，应当重复观察，发现因时间(季节、年际变异性)和空间(水平和垂直)而产生的变化，区分各个区域。

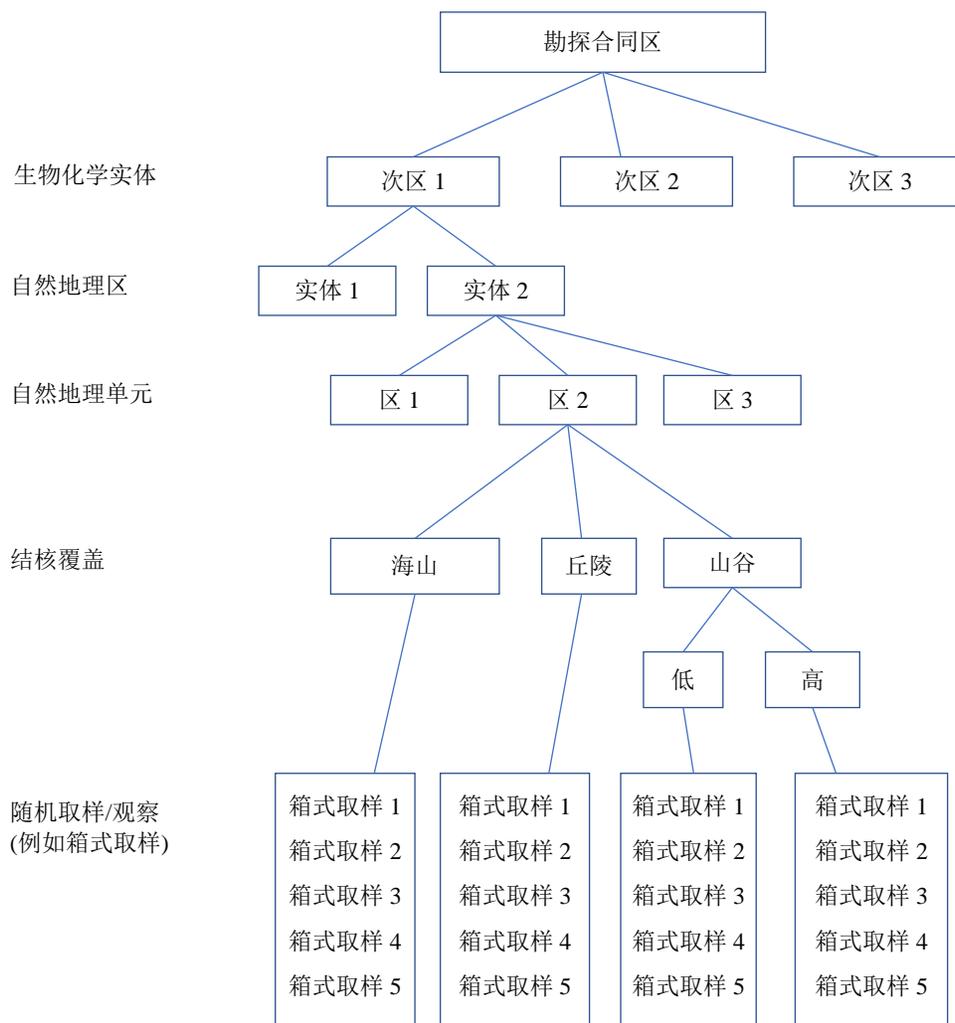
13. 注意基线取样站要符合今后采矿作业期间的监测要求。因此，在位置的设定上，应当确保基线取样站将来能充当影响参照区和保全参照区。而且，应当设立数量充足的基线取样站，从而能够以必要的统计严谨性来研究与直接和间接影响有关的效应。在选取安排时，应当考虑多种条件，比如海洋状况的自然变化，包括洋流方向、基本地形特征和底质类型(例如软底质和硬底质)，因为它们会影响采矿器引起的沉积物羽流可能分散和再沉降的方向和距离。

14. 应当使用全球海洋生物地理学标准参考资料, 确定相关的大规模生物群落; 例如上层环境见 Longhurst (1998 年) 的著作; 中深层环境见 Sutton 等人(2017 年) 的著作; 海底环境见 Watling 等人(2013) 的著作。新生物地理学是目前研究工作的重点, 生物区域化也是目前研究工作的重点。生物区域化又称大尺度生境地图, 可能催生出更加实用的工具, 为空间管理方法提供支持(McQuaid 等人, 2020 年)。美国环境系统研究所公司(Esri)生态海洋单元(www.esri.com/en-us/about/science/ecological-marine-units/overview)可作为一个有用的参考, 但不能取代其他特定地点的数据收集和分析。应当绘制整个水柱的主要海流地图, 识别取样区(大小: 1-100 公里)内的相关中尺度和亚中尺度现象, 比如曲流、涡流和锋面, 以及受海底地形影响的现象, 比如海山尾流和泰勒柱。应当查阅和分析归档的遥感卫星测高和海洋海面温度数据, 摸清海流和表层海洋学特征。所考虑的区域应当超出合同区的范围, 涵盖区内主要海流系统及其变异性, 包括主要中尺度现象(比如涡流)的来源区。这样, 才能决定把哪个区纳入海洋学建模, 了解合同区内海洋学和生物学观察结果的可能来源。为探测季节和年际变化, 并纳入厄尔尼诺等罕见海洋现象的发生与 10 年趋势, 需要的时间序列至少得延伸到过去 20 年, 并包含微波和红外温度数据。应当借助海洋水色数据, 加强时间序列, 还应当审查所考虑的区域, 以验证生物群落并确定年际变异性(Henson 等人, 2010 年)。应当确定主要季节。

15. 在准均质区, 比如深海平原上的环流区, 也许只有一个可识别的垂直区。纬向或经向梯度可能意味着有不止一层。在锋面和大洋中脊附近, 空间异质性也许相当大, 因此有多个区。在涡流场中, 应当灵活取样, 纳入反气旋涡流和气旋涡流。

16. 为获得沉积物、孔隙水和生物样本(包括环境脱氧核糖核酸(eDNA)和用于分子分析的样本), 应当使用筑巢式分层取样方案, 确保样本和数据的收集涵盖勘探合同区范围内的各类环境情况, 具体见下图。根据为其他变量(主要是物理海洋学(见第四节)、化学海洋学(见第五节)和地质特性(见第六节))收集的数据, 应当把区域分为生物地球化学实体和水深测量实体。在每个实体内, 应当层层细分为自然地理区、地貌要素或特征以及具有不同地形和不同结核覆盖率(丰度和尺寸)的单元, 全面地把预计会成为群落和生物地球化学功能变化重要驱动因素的各种条件囊括进来。每个自然地理区都是划定区域内自然地理单元的集合。此类自然地理单元通常包括海山、深海平原、丘陵、斜坡、山脊和山谷, 蕴藏着丰度高低不等、尺寸大小不一的结核。应当根据需要设置额外的单元, 涵盖特定合同区的具体状况及变异性。这在下图中有直观表现。应当根据船载水深测量和高分辨率海底声学 and 光学图像, 比如遥控水下机器人、自动潜航器或缆系装置捕捉的图像, 确定单元的位置和范围。

取样方案的概念模式



17. 应当在一年中不同的预定时间进行观察，涵盖生产力和水动力状况的季节变化。具体而言，应当囊括底层水流流态相反的时期和有机物供应量不同的季节。此外，如相关(例如大洋水层系统)，应当量化整个 24 小时周期的昼夜变化。

18. 若变量显示时间变异性显著，且不能通过离散观察来解释，在具备自主平台、传感器、取样器等适当观察技术的情况下，应当连续、频繁地进行观察。连续观察期的时间应当覆盖给定地点给定变量的时间尺度，例如潮汐周期或季节性生产力周期。应当包括对已表明在深水环境中表现出显著时间动态的底栖系统的观察 (Davies 等人，2009 年)。

19. 应当通过比较在相反季节(春季/夏季和冬季)的观察结果，对预计不会表现出显著季节变异性的变量，至少验证一次。

20. 应当在类似季节或环境条件下观察，以评估年际变异性。由于年际变化可能在若干年内发生，观察持续若干年，会增加捕捉到周期性事件的可能性。此外，时间取样策略应当涵盖年际变动，还应当包括可能的周期变化，比如与厄尔尼诺南方涛

动有关的周期变化。在确定环境基线时，应当考虑其他自然压力源，比如全球变暖 and 大气二氧化碳水平上升、二者对基线数据收集地环境的影响、二者的时间变异性。而且，应当考虑确保观察到的任何变异并非先前取样造成的干扰假象。

21. 在进行时间或空间比较时，另一个要素应当保持不变。例如，在季节之间进行比较时，应当比较来自相同自然地理单位和深度的样本。

22. 除非在关于特定变量的部分另有说明，垂直取样分辨率应当达到如下水平：

(a) 关于水柱取样(包括物理测量，除非第四.B 节中另有说明)，在海面以下 200 米深度范围内(在根据当地变异性确定的深度取三或四个样本)和距海底 500 米的深度范围内(例如在海床以上 5 米、10 米、25 米、50 米、75 米、100 米、150 米、200 米和 500 米)取样，应当使用更高的分辨率，要记住海面天气状况和局部地形也许会影响可能十分靠近海床部位的分辨率；

(b) 关于海底取样，除非在关于特定变量的部分注明使用更高的分辨率，垂直分辨率应当为 0-0.5 厘米、0.5-1 厘米、每 1 厘米(向下直至深度达到 10 厘米)、每 2 厘米(在 10 厘米深度至 20 厘米深度，或向下到预计采矿设备影响沉积物的深度，取二者中较深者)。若需要在更深处测量，则应当在 20 厘米深度至 50 厘米深度范围内，每 5 厘米取样；在深达 5 米的沉积柱更深层，每 20 厘米取样。应当将上述分辨率作为指导。若以高分辨率为诸如确定氧化还原分部带而开展的初步研究表明，需要更多层次来适当表征垂直剖面，则应当提高分辨率。若表层沉积物偏液态，不可能进行高分辨率切片，则需要采取更务实的办法，在 0-1 厘米处取样。

23. 应当从每个取样站随机重复取样，重复应当足以涵盖变异性并区分自然地理单元。为确定特定区的基线状况起见所需要的重复样本数量取决于一系列因素，包括考虑的变量，而且合同区之间可能互不相同。因此，应当使用适当的统计数据来证明重复样本的数量是合理的。沉积层越深，预计时间和空间变异性越低。因此，要评估较深沉积层的状况，多次重复测量从每个取样站采得的单个长岩芯，也许就足够了，除非观察到显著的时间变异性或小尺度的空间变异性。

24. 在一个平台的同一部署期间收集的样本或数据，比如部署一个多管取样器采集的岩芯或一个着陆器上的多个传感器收集的数据，应当被视为一个取样点(也即一个生物重复)。当细分样本时，目的应当是从同一样本中获得不同的变量，而不是创建伪样本。从同一主样本(比如一个箱式岩芯或一次投入多管取样器采集的几管岩芯)提取子样本，然后将子样本作为重复样本加以处理，就是创建伪样本。此类样本不具有统计独立性。

25. 若下文相关部分没有详细说明为确定空间和时间变异性而需要开展的取样工作，则应当遵循 ISBA/25/LTC/6/Rev.1 号文件以及 ISBA/25/LTC/6/Rev.1/Corr.1 号文件概述的程序。

B. 取样策略调适

26. 初步取样和观察策略应当在现有最佳研究和数据的基础上制定。随着掌握的信息越来越多，应当定期修订策略，确保它们切合目的、充分体现空间和时间变异性。而且，应当证明，在认为均质的区域或空间尺度上观察到的变异性的确小于在预计变异性更大的区域观察到的变异性。此外，还应当确定在类似季节观察到的变异性是否小于在一年中不同时间观察到的变异性。但是，在改变取样策略时应当谨慎，以免错过偶发事件，致使年际变异性得不到反映，或造成不一致，妨碍时间分析，特别是在特定站点或在特定季节停止观察的情况下。

27. 为确保本准则中的方法符合最佳做法，向专家征求了意见。然而，技术和流程会随着时间的推移而发展。因此，为充分表征环境，应当使用最佳可用技术，否则，应当给出理由。应当向具有领域相关专长的组织或人员寻求独立反馈，以根据需要作适当调整。若已经开始收集数据，则应当注意确保使用不同方法获取的数据相互一致，以便对获取的所有数据进行综合评估。

28. 随着用于资源开发的技术细节逐渐到位、勘探取得进展，应当根据需要调整取样方案，确保把基线数据的重点放在预计将开展采矿作业、任何影响均有可能显现的区域。当潜在采矿深度超过建议的单个变量取样深度，或发现参数出现重大变化时，这点尤其相关。

C. 协调与合作

29. 在可能的情况下，对不同变量的测量应当在时间和空间上保持一致，以方便综合分析数据，加强解释力。这对某些变量尤其重要。此类变量关系到属于相同或密切相连学科(例如，地质学——沉积物生物地球化学等；海洋学——海洋化学、大洋水层生物学等)中彼此关联或类似的过程，或者关系到需要加以组合来形成衍生产品的彼此关联或类似的过程。若方法兼容，则应当使用取自单个沉积物岩芯的样本，分析多个参数(例如，使用同一岩芯来分析孔隙水和沉积物特征)。不得从用于大型动物取样的箱式取样器采集的岩芯中提取子样本(见第七节，第 234-237 段)。

30. 承包者应当尽可能与其他承包者和科学家开展协作、交流数据和信息，使分析范围超出单个承包者的合同区。这样做，就能以更大尺度模式的形式提供背景资料。背景资料可促进对基线观察的解读和使用，为更大尺度的分析奠定基础，而分析结果又能提供参考信息用于区域环境管理计划。这种做法的另一个好处是，可以减轻单个承包者的负担。

31. 强烈建议承包者和科学界之间共享数据，以确保按照最先进的方法获取优质数据。

32. 全球海洋观测系统(www.goosocan.org)也涉及这些准则中讨论的许多变量。全球海洋观测系统围绕基本海洋变量搭建了一个框架，可用于起草具有成本效益的计划，逐个为基本海洋变量编制最优全局概览。本准则中的许多变量都附带一份与之相关的基本海洋变量情况介绍。情况介绍由专家小组编制、分发，里面确

定了有待开展的测量、现有的观察方案、需要遵循的数据管理做法。情况介绍为用户推荐最佳做法和指南，并包含背景资料。其中的信息是对本准则的补充。目前的一套基本海洋变量与物理和生物地球化学海洋学观察相对应，但缺乏关于生物学和海底生物地球化学的重要信息。

D. 数据质量

33. 应当把所有测定数据与科学文献和其他来源中关于同一区域或类似深度和生物地理区域的观察结果进行比较。据认为，先进模型和变量观察结果之间相互协调，可以有力地表明基线数据集优质、一致、完整。因此，应当把对比观察结果与模型结果作为报告的一个核心组成部分，而且应当提及运行模型和复制结果所需的全部信息。若测量与模型之间出现差异，则应当进行调查以纠正错误。这样做，可能需要调整模型或采集更多样本。

34. 如果观察到的偏差很大，而且并非由于环境情况不同所致，则应当与其他实验室就方法进行核对或交叉验证。

35. 应当全面记录整个工作流程，包括关于测量方法和质量控制(例如测量的标准和空白)的详细信息，特别是在没有现成标准或采用的方法偏离商定标准的情况下。若使用的不是标准方法，则应当公开分享，在相关杂志发表或在既有方法数据库(例如海委会海洋最佳实践系统或 protocols.io 平台)中发布。

36. 每个自然地理单元内所需的重复样本数量取决于当前的自然变异性(见上文)。应当使用包括功效分析(Jumars, 1981 年)在内的统计方法，决定需要开展怎样的取样工作，才能以适当的分辨率探测相对变化。

37. 应当介绍方法在探测方面的不确定性和局限性，同时介绍任何测量结果。

38. 若校正关于深度、温度、样本大小或任何其他变量的数据，则应当提供校正细节并说明确切程序。该信息应当附有原始数据。

39. 若由于调适取样策略或开展跨研究合作而使用不同的方法，则应当提供一切细节，展示为使结果具有可比性而采用的标准化方法。

40. 若取样装置需要校准，则应当尽可能在使用时间临近时进行(例如，为对 pH 值进行原位微剖面测量，应当于部署前在取样船上校准电极)。

41. 本准则所载信息属于最低期待。凡是超出本文件和引述的其他文件概述的内容，额外进行的取样或分析，均能提高质量，因此予以鼓励。

E. 数据和样本管理

42. 应当使用适当的长期保存标准，将数据(包括元数据)、样本和标本存档，以能够在需要进一步开展分析或控制质量时，调阅原始信息。

43. 承包者应当将原始数据存档，让原始数据的来源可以追溯。应当纳入收集的空间和时间，以及使用的方法。

44. 应当以商定的格式,把原始数据和衍生数据提交给既有的、长期持续运行的、开放使用的全球数据汇编中心。
45. 数字数据,包括相关元数据应当安全地存储在本地和云端,保证其长期可用。而且,应当按照就年度报告内容、格式、结构向承包者提供的指导建议 (ISBA/21/LTC/15)的规定,将之提供给海管局秘书处。
46. 数据和研究结果应当在实行同行评审、开放使用的国际科学期刊上发表,还应当在国际科学会议上介绍,以促进新信息的传播。此外,公布后,多位独立专家就能够提供反馈并给予首肯。
47. 纬度和经度应当按照 1984 世界大地坐标系,以十进制度收集;时间和日期应当以协调世界时记录。报告格式应当遵循公认的国际标准。
48. 标准元数据(包括位置、水深、考察标识符、站点标识符和首席研究员)应当遵循既定的元数据标准予以记录。
49. 承包者在向管理局提交的数据中,应当按照相关指导,提供关于所使用的传感器和取样装置的详细信息(类型、制造商、标识符、末次校准日期和方法),阐述所遵循的测量和样本分析方法,包括取样设备的部署细节、关于所用标准的参考资料、遵守的最佳做法或遵循的科学出版物中的方法说明。
50. 若元信息提及出版物(比如测量船报告或方法说明),则应当提供持久标识符或副本,确保长期可用。
51. 对于衍生数据,需要提供相关元数据,包括再现分析所需的全部信息,如有必要,还得一并说明所作的转换。应当提及原始数据,其中应当包括岩芯测量结果和计算用全部辅助变量。使用的规程、软件和代码应当在持续运行、开放访问、允许版本控制、包含持久标识符的在线资源(例如 GitHub 或 protocols.io 平台)中注明。
52. 这些原则适用于所有变量。额外信息在以下各节提供。

四. 物理海洋学

A. 导言

53. 创建合同区物理海洋学基线的主要目标是:
- (a) 确定水文物理和水动力状况、水柱结构及其变异性,从而:
 - (一) 了解海洋生物的生境;
 - (二) 针对其他取样标准,确定详细的取样策略;
 - (b) 评估任何作业羽流和排放羽流的潜在扩散情况、尺寸和特征。
54. 为确定物理海洋学基线,应当设置下列变量:

(a) 温度、压力和盐度：系用于确定水柱分层和离散水团的海水参数。应当在水柱分层和离散水团中测量其他变量。从其他数据中提炼信息时，也需要这些变量；

(b) 海流：认识海流对了解海洋生物种群连通性、评估任何作业羽流和排放羽流的扩散情况至关重要；

(c) 潮汐和波浪：潮汐和波浪与海流相互作用，影响混合。潮汐也会影响一些海洋生物(潮汐周期)；

(d) 湍流：垂直湍流混合是控制水柱中物质垂直通量的主导因素。在底部增强的湍流混合在水团变性中起重要作用；

(e) 光学特性：光的穿透力和光的可用性对水柱上部的许多过程，包括海洋浮游植物通过光合作用形成生物量、通过光化学反应进行生物地球化学循环、海洋上层温度升高至关重要。光学特性还包括与利用生物发光来摄食、躲藏、繁殖的动物物种有关的光场。来自脱水羽流的沉积物颗粒可能妨碍动物使用生物发光，这会降低交配和(或)摄食的成功率；

(f) 噪声：噪声系由位于海洋内部和海洋表面的许多来源产生。它会影响到一系列海洋生物，包括无脊椎动物、鱼类和海洋哺乳动物。海洋物种的发育、身体构造、生理机能、行为、生态系统服务和死亡率可能受影响，这反过来又会对渔业造成社会经济影响。此外，产生噪声的活动会影响种群健康、海洋物种福利和生态系统动态。

B. 取样分辨率

55. 就许多物理取样方法而言，应当用同一取样装置在同一时间取样。这种方法大幅提高了分辨率，应当尽可能遵循。

56. 应当使用不同的取样方法，确定物理参数的变异性，具体见下：

(a) 空间变异性(垂直)：站点(盐温深仪和采水器)、下放式声学多普勒海流剖面仪、浮筒/漂浮器、自动潜航器/滑翔机和船载声学多普勒海流剖面仪；

(b) 空间变异性(水平)：截面(盐温深仪和采水器)、浮筒/漂浮器、自动潜航器/滑翔机、船载声学多普勒海流剖面仪和卫星遥感；

(c) 时间变异性：带有声学多普勒海流剖面仪或其他流速仪的锚系/浮标、重复站点/剖面、浮筒/漂浮器、海底着陆器和卫星遥感。

57. 海洋学和水化学测量和取样应当在用于生物取样的同一站点开展，在每个自然地理区内至少进行一次测量。若自然地理区之间的距离大于 50 公里，建议在纬向和经向上每 50 公里至少增加一个站点，在具有显著水平梯度或大尺度地形特征的区域提高分辨率(每 10-30 公里设一个站点)。

58. 盐温深装置应当配合额外的传感器(例如浊度、溶解氧、pH 值、荧光或光合作用有效辐射传感器)一起使用，还应当与轮盘式采水器组合，用于研究水柱物理和化

学特性的垂直变化。物理参数的取样分辨率应当高于其他参数。因此，除第 22 段所述深度外，还应当在 0 米、10 米、25 米、30 米、50 米、75 米、100 米、125 米、150 米、200 米、250 米和 300 米取样，然后每 100 米取样，向下直至 1 600 米、1 750 米和 2 000 米，然后每 500 米取样，直至距海底 200 米处。

59. 应当根据需要，修改这一取样方案，确保捕捉水柱的所有重要特征。

60. 为研究水柱特性的日变异性，应当为每个自然地理单元创建一个日变取样站。样本应当从表层至 200 米深处提取。如第三.A 节所述，应当在几年内每个季节重复取样，确定年度和年际变异性。

61. 除第三.A 节所述的深度外，还应当在表层和以下深度测量海流：10 米、25 米、50 米、100 米、200 米、300 米、500 米、750 米、1 000 米、1 200 米和 1 500 米，之后每 500 米取样，直至距海底 200 米处。如果水团的垂直结构表明方案需要修改，则应当予以修改。可以把装在不同载体上的声学多普勒海流剖面仪组合起来，用来获取关于海流空间(垂直和水平)和时间变异性的数据，并且从中提取样本。(单独或与盐温深装置组合)使用下放式声学多普勒海流剖面仪可获得优质的绝对深度流速剖面。与船上安装的声学多普勒海流剖面仪和(或)向上测量的辅助声学多普勒海流剖面仪组合使用，能提高所获得数据的质量(Thurnherr 等人, 2010 年)。

62. 根据所用声学多普勒海流剖面仪的规格，船载声学多普勒海流剖面仪能在深度多达 1 600 米处，收集海流空间分布数据。然而，长距离(分别为 800 米和 1 600 米)测量存在较大测量误差。为提高顶层 100-200 米的分辨率，应当结合使用两个船载声学多普勒海流剖面仪(例如，OS75 或 OS38 与 OS150 或 WH300)(Firing 和 Hummon, 2010 年)。

63. 应当使用带有声学多普勒海流剖面仪(或其他流速仪)的锚系系统，研究海流时间变异性和其他水柱特性。锚系设备应当至少部署 12 至 13 个月(以涵盖一个年度周期)；部署更长时间会生成更加优质的信息。声学多普勒海流剖面仪(或其他流速仪)的数量应当足以确保近底部 200 米处得到细致的覆盖。强烈建议在表层、中层和深渊层使用额外的声学多普勒海流剖面仪(或其他流速仪)。

64. 发表的文献里面有有关于下放式声学多普勒海流剖面仪(Thurnherr 等人, 2010 年)、船载声学多普勒海流剖面仪(Firing 和 Hummon, 2010 年)、拖曳式声学多普勒海流剖面仪和声学多普勒剖面仪(Sgih 等人, 2001 年)的建议。

65. 沉积物收集器和其他相关设备应当部署在锚系处，以获得关于其他水特性和沉积作用时间变异性的数据。

66. 此外，应当部署浮筒和漂浮器，在适当深度研究海流时间变异性。

C. 测定变量：温度和盐度

67. 应当借助水下机器人、自动潜航器或滑翔机对水柱进行盐温深剖面或感测，表征水柱的物理条件。海水应当按照 TEOS-10 标准进行描述。除用于测量压力(转换为深度)、电导率(转换为盐度)和温度的标准配置之外，任何盐温深取样均应

当通过在可能的情况下借助用于测量其他参数的附加传感器得到补充(从而确定例如浊度、溶解氧、pH 值、荧光、光合有效辐射、硝酸盐和测高)。海考会数据和信息小组(2006 年)介绍过收集优质盐温深数据的主要考虑因素和数据标准。

68. 盐温深装置或适当的传感器可安装在线缆、漂浮器/浮筒、锚系装置/浮标或海底着陆器上,或用作走航式盐温深装置。走航式盐温深探头是在船只保持航向和速度时,从便携式或固定式投放器布放并以绞卷线绳的方式回收的探头。

69. 应当利用卫星遥感测量来获得中等时间尺度上的海洋学参数信息。除海面温度和海面盐度外,卫星还可以测量海冰分布、波高、海面高度、后向散射雷达和海洋水色。关于卫星和数据集的大量信息可在美国宇航局(特别是喷气推进实验室物理海洋学分布式活动存档中心)、美国国家海洋大气局、欧洲航天局、日本航天开发机构和哥白尼方案的网站上找到。

70. 浮标、锚系设备、漂浮器和浮筒可配备传感器,用于测量海面温度、海水温度、海面压力、海水压力、海面盐度、海水盐度、风速、溶解氧浓度、荧光和海洋水色、混合层温度和溶解二氧化碳分压($p\text{CO}_2$)。它们可用于收集生物信息(例如幼鱼分散情况)、研究海流和海浪。在资料浮标合作专家组、法国海洋所(Ifremer)漂浮器数据管理小组和地转海洋学实时观测阵(Argo)计划界的文件中,介绍了优质浮标数据收集、数据标准、数据处理的关键考虑因素。

D. 测定变量: 海流

71. 应当使用欧拉法(对固定位置海流速度和方向的时间序列测量)和拉格朗日法(把每个流体颗粒遵循的路径作为时间函数加以观察)来确定海流,以了解整体概况。就欧拉法而言,可使用机械或非机械流速计。开阔洋定点观测站(FixO3)项目的规程和方法应当用于锚系和其他类型的欧拉系统(Coppola 等人,2016 年)。就拉格朗日法而言,可以使用表层漂浮器、次表层浮筒、弹出式漂浮器或弹出式浮筒。海面温度和水色的卫星图像可用作伪漂浮器来研究表层流,假设图像中所示表层物体的所有位移均由表层流平流引起。Thomson 和 Emery (2014 年)简要回顾并提到所有方法,包括每种方法的优缺点。

72. 获得的数据应当用于开发和验证环流数值模型。环流数值模型加上适当的沉积物输运模型,可整合颗粒聚集和解聚的效应,能用来了解作业羽流和排放羽流的潜在扩散情况。

73. 使用的任何模型均应当得到海洋建模界的接受,被海洋建模界认为适于在海床附近乃至在整个水柱更广泛地开展的扩散研究。拉格朗日在线离线颗粒追踪法综述提到了 Van Sebille 等人(2018 年)和《数值模式》(2000 年)中的相关文献,可用于帮助找到合适的模型。

74. 海流数据分析的一个重要步骤是图形表示。Joseph (2014 年)解释了如何用图形表示测定数据和模拟数据。

75. 应当测量什么参数取决于使用的设备。不过,应当包括海流速度的大小和方向、纬向和经向速度分量以及垂直速度。

76. 应当根据测量结果，确定水柱的海流状态，特别是从海底边界层到海底以上 200 米水层的海流状态。分析应当包括场结构、海流速度和方向的空间变化(特别注意地貌复杂区域)以及海流速度和方向的时间变化。时间变异性应当按日、季节和年际来表征；风暴和浊流等偶发事件应当予以记录。

E. 测定变量：潮汐和波浪

77. 应当使用固定锚系上的压力传感器或卫星测高仪来测量潮汐。虽然固定锚系上的现代海洋仪器可以在整个海洋深度分辨几分之一毫米的压力变化，但是为精确地测量深度，它们需要温度校正和压力传感器漂移信息(大约 1 厘米/年)。使用双压力传感器有助于校正这种漂移。海委会手册介绍了海平面测量以及对其作出的解读。卫星测高仪可用来确定潮汐，方法是在卫星雷达重复轨道的基础上，估计海面的变化。测高数据(包括来自 Topex/Poseidon、Jason-1、ERS-1 和 ERS-2、Envisat 和 Doris 的数据)以及相关软件和手册可在卫星海洋数据存档、验证和判读(Aviso+)网站(www.aviso.altimetry.fr)上查阅。

78. 应当使用任何公认的表面重力波测量值确定方法，比如卫星测高、带有加速度计的波浪浮标、测波仪(包括电阻式、电容式和波压力计)以及星载合成孔径雷达。

79. 应当测量的参数是压力或海平面数据，这取决于使用的是固定锚系，还是卫星测高。

80. 应当根据测量结果，确定潮振幅和潮周期、主要分潮和潮汐不等现象，以及波高和波向。

F. 测定变量：湍流

81. 应当使用来自速度剪切探头、盐温深装置、声学多普勒海流剖面仪、声学多普勒流速仪或多普勒海流剖面仪的数据，通过直接或间接方法估计湍流强度(Thorpe, 2007 年)。

82. 为确定湍流强度进行观察时，应当尽可能靠近海底。由于底部增强的湍流通常穿过底边界层向上传播，现场测量应当向下到海洋内部，还应当纳入整个海底边界层。近底部的浊度与湍流强度密切相关。因此，应当把湍流测量与浊度研究结合起来(见第 85-96 段)。当使用直接方法时，推荐利用安装在自动潜航器上的水平剖面微结构探头，推测湍流强度的空间分布。如使用索普尺度方法，则应当十分精确地布放盐温深仪，尽可能靠近底部。如使用声学多普勒方法，则应当把海流剖面仪锚系放置在海底。

83. 应当测量什么参数取决于使用的方法：

(a) 直接测量：微尺度速度剪切、仪器下潜速度、仪器侧向加速度和高分辨率温度；

(b) 间接测量：温度、电导率、压力和速度。

84. 应当根据测量结果，确定湍流动能耗散率、密度、浮力频率、垂直速度剖面、微结构温度波动、垂直涡流扩散率、索普尺度和温度耗散率。

G. 测定变量：光学特性

85. 海水的光学特性可分为表观光学特性和固有光学特性，具体如下：

(a) 表观光学特性取决于海水及其溶解物质和颗粒的性质，以及太阳辐射的角分布(几何)，应当使用分光辐射计进行测量，分光辐射计利用可变单色仪把光分成特定波段；

(b) 固有光学特性取决于光的波长和水介质，但与环境光场及其角分布无关，应当使用单色光束衰减仪(透光度仪)、光谱吸收衰减仪、散射(或后向散射)传感器、液体波导毛细管池、激光衍射仪器或流式细胞仪进行测量。

86. 应当使用以下任一方法确定光学特性：

(a) 在站点(垂直剖面和取样、系留或手持辐射测量)或在航行途中(船载、系留或手持辐射测量、使用流水式系统、拖曳式起伏装置、固定深度装置或带有适当传感器的锁链取样)进行船上物理取样；

(b) 利用自动潜航器、滑翔机、固定欧拉平台(锚系、底基三脚架和其他海底着陆器)和(或)拉格朗日装置(漂浮器和浮筒)测量；

(c) 从船只、飞机或卫星平台上进行遥感。这种类型的测量可以是无源的(太阳是照明源)或有源的(把传感器平台发出的信号用作源，通常采用激光照明)。

87. 另外，应当使用逆模型(详见 Werdell 等人，2018 年)或生物光学模型(详见 Ogashawara，2015 年)，确定光学特性。

88. 各种类型的荧光计可用于测量荧光、光发射或生物发光(还能补充用现代声学估算生物量的方法)。关于每种荧光计的更多细节，可查阅 Moore 等人(2009 年)和里面的参考文献。对用于测量浊度的传感器(散射浊度计和后向散射传感器)，可以作各种配置，而且有许多方法和配置标准(例如 ISO 7027 标准)。另见 Petihakis 等人(2014 年)和 Tamburri (2006 年)的著作。荧光和生物发光遥感也可用于从卫星上测量浮游生物荧光(例如 Erickson 等人，2019 年)。

89. 为能够评估作业羽流和排放羽流中悬浮颗粒物的任何过量浓度，需要将光学或声学浊度数据转换为悬浮颗粒物浓度。为此，应当根据水柱中局部存在的悬浮颗粒物，校准光学或声学传感器。对于基线研究，在校准时应当参考在开展浊度测量的同时提取的水样中经测定的悬浮颗粒物浓度。为监测作业羽流和排放羽流起见，如能直接从羽流中提取水样，则可采用相同的办法。否则，传感器应当在悬浮液中进行异地校准，悬浮液通过向过滤的当地海水中添加来自羽流的物质制成。

90. EPA 180.1 方法和 ISO 7027 标准就验证浊度计以及浊度传感器性能和方法遵从性而言，是国际公认的标准。

91. 遵从 EPA 180.1 方法的仪器适于测量 0 NTU 和 40 NTU 之间的浊度水平。在浊度小于 1 NTU 的水中，此类浊度计的分辨率应当达到 0.02 NTU 或更高。

92. ISO 7027 标准规定了使用浊度计的两种定量方法：散射比浊法(用于测量散射辐射，适用于低浊度水)和透射比浊法(用于测量辐射通量的衰减，更适用于高浊度水)。按照第一种方法测定的浊度通常在 0.05 NTU 或更小到 400 NTU 之间。根据仪器的设计，散射比浊法也适用于浊度较高的水。NTU 和 FNU 在数值上是相等的。

93. 通过第二种方法测量的浊度以 FAU 表示，结果通常在 40 FAU 到 4 000 FAU 之间。

94. 根据所用的方法，应当测量的参数包括辐亮度、辐照度、标量辐照度、光漫射衰减系数和标量辐照度衰减系数、光合有效辐射、辐照度比、辐亮度比、吸收系数、散射系数、光束衰减系数、体散射函数、海洋水色、荧光、生物发光、透明度和浊度。

95. 应当根据测量结果，确定以下内容：叶绿素-a 和其他色素、能见度、悬浮沉积物体积、浮游植物生物量、颗粒有机碳和溶解有机碳的浓度、颗粒有机碳形式的生产力、物种组成(以探测有害藻华和开展硝酸盐分析)(另见第五.H 节和第七.D 节)。

96. 此外，光学测量可用来验证和校准遥感测量。

H. 测定变量：噪声

97. 应在宽频率范围(1 赫兹-20 千赫)内确定两个噪声特性：噪声谱级(区分脉冲噪声和环境噪声)和声音传播。海洋环境噪声的基本机制、测量和数值模拟可见 Carey 和 Evans (2011 年)以及 Robinson 等人(2014 年)的著作。可从船舶(在有关站址或行进中)、自动潜航器、滑翔机、浮筒、漂浮器、锚系系统、浮标、海底着陆器和底基三脚架进行噪声测量。应考虑到其他一些传感器会产生噪声。因此，单水听器三脚架或水听器阵列应与仪器平台保持一定距离，以降低噪声。应直接测量声速(借助声速剖面仪或传感器)，或从用盐温深装置测量的温度、盐度(电导率)和压力中推算出声速(见第 67-70 段)。声速推算方法见 Wong 和 Zhu (1995 年)的著作。

98. 应测量下列参数：频谱噪声级和(可能的)声速。

99. 根据这些测量，应确定以下内容：水柱从海面到海床的纵向剖面的环境噪声级、环境噪声级的时间变异性、声波定位和测距信道的深度以及声速(如未直接测量)。

I. 数据质量

100. 关于数据收集、处理和呈现应使用的分析技术(包括统计方法)、误差处理、空间数据域的分析以及这些技术和方法的时间序列，可参见 Thomson 和 Emery (2014 年)的著作。

101. 为获得最高质量的数据，应对盐温深传感器进行校正。校准程序因实验室而异，但一般认为，压力和温度传感器可在实验室进行巡航前和巡航后校准，但电导率传感器最好的校准方法是与为盐度分析收集的样本(海考会数据和信息小

组, 2006 年、Petihakis 等人, 2014 年以及制造商提供的信息和手册)和国际海洋自然科学协会(IAPSO)的海水标准进行比较。

102. 对于盐温深数据的质量控制, 应使用欧洲海观系统 DATA-MEQ 工作组(2010 年)、海委会(2010 年)或美国综合海洋观测系统(2020a、2020b)的资料。

103. 关于自动潜航器和滑翔机的相关数据质量控制与校正, 应参阅 Allen 等人(2018 年、2020 年)、美国综合海洋观测系统(2016 年)和 Woo(2011 年)的资料。关于数据管理, 应参阅 EGO 滑翔机数据管理小组(2020 年)的资料。

104. 关于海表温度和盐度的测量, 应参阅 Le Menn 等人(2019 年)和资料浮标合作专家组(2011 年)的资料。

105. 有关各类漂浮器和浮筒、其使用的机会和优势、限制因素和创新的更多信息, 见 Lumpkin 等人(2017 年)的著作。

106. 应考虑到静水压的效应, 把温度值转换为位温。应使用 TEOS-10 从盐度、温度(位温)和压力间接计算密度(位势密度)。

107. 声学多普勒海流剖面仪数据质量控制指南可见美国综合海洋观测系统(2019a)和欧洲海观系统 DATA-MEQ 工作组(2010 年)的资料。锚系数据的校正和处理(声学多普勒海流剖面仪、转子流速计、Microcat)的信息可见 Karstensen(2005 年)的著作。

108. 校准对准确测量噪声至关重要。应参阅下列准则和出版物: Biber 等人(2018 年)(校准的详细内容)、Robinson 等人(2014 年)以及美国综合海洋观测系统(2017 年)(质量控制)。

109. 任何模型都应经过验证。

110. 现代辐射仪的空间分辨率为 1 公里(先进甚高分辨率辐射仪), 但只在无云天气状况下工作。被动式微波传感器甚至在多云状况下也可用于观测, 因为它们使用更长的波长(6-12 千兆赫), 但空间分辨率要差得多(25-50 公里)(Talley 等人, 2011 年)。微波辐射仪可用于测量海表盐度, 空间分辨率为 50-100 公里, 时间尺度则为一周或一个月(Talley 等人, 2011 年; Thomson 和 Emery, 2014 年)。除表面温度和表面盐度外, 海冰分布、波高、海面高度、雷达后向散射和海洋水色可用卫星测量。关于卫星遥感的更多信息可见文献(如 Stewart, 1985 年; Robinson, 2004 年; 海委会, 1992 年)、国际海洋水色协调组文件和《卫星海洋水色传感器验证的海洋光学规程》。

111. 过去几十年, 在各种国际科学方案下积累了大量数据集。这些是供开放使用的数据, 应用来与收集的基线数据进行比较, 以保证质量。例如:

(a) 1990-2002 年世界海洋环流实验(www.nodc.noaa.gov/wocce/wdiu);

(b) 世界海洋环流实验水下浮筒数据(www.aoml.noaa.gov/phod/float_traj/index.php);

- (c) 世界海洋数据库(www.nodc.noaa.gov/OC5/WOD/pr_wod.html);
- (d) 全球温度和盐度剖面方案(www.nodc.noaa.gov/GTSP);
- (e) SeaDataNet (www.seadatanet.org);
- (f) 科里奥利再分析海洋数据库(www.coriolis.eu.org/Data-Products/Products/CORA);
- (g) Pangaea 数据储存库(www.pangaea.de/?t=Oceans);
- (h) 全球漂浮器计划, 前身为海面流速计划(www.aoml.noaa.gov/phod/gdp/index.php);
- (i) 全球洋流数据库(www.ncei.noaa.gov/products/global-ocean-currents-data-base-gocd);
- (j) Argo 浮筒: Argo 主页 (www.argo.ucsd.edu) 和国际 Argo 项目主页 (www.argo.net); 生物地球化学 Argo 浮筒数据(<https://biogeochemical-argo.org>);
- (k) 加拿大渔业及海洋部, 综合科学数据管理, 存档的漂浮器数据(www.dfo-mpo.gc.ca/science/data-donnees/drib-bder/index-eng.html);
- (l) 此外, 下列电子图集可能有用:
 - (一) 《世界海洋地图集(2018 年)》 (www.nodc.noaa.gov/OC5/woa18);
 - (二) 《世界海洋环流实验数据电子图集》 (www.ewoce.org)。

J. 数据管理

112. 如第三.E 节所述, 应向海管局提供数据和元数据。具体变量的更多指导可从上述参考文献中获得。

五. 化学海洋学与生物地球化学

A. 引言

113. 必须了解水柱和沉积物(即孔隙水和固体部分)的化学环境, 以表征基线海洋学和生物地球化学状况, 并在以后阶段评估采矿对海底的直接影响和可能产生的悬浮沉积物羽流造成的间接影响, 包括可能覆盖海底及对水柱中各种过程的影响。

114. 悬浮沉积物羽流的形成在很大程度上取决于未来的采矿技术。羽流可能在更远距离(从 1 公里至几十公里)上移动, 它们在粒径和化学成分上可能与周围的水不同, 并将在源头以外的地方沉降, 因此, 可能对更大区域的大洋水层和海底生态系统、其功能和海洋生物地球化学循环产生影响。

115. 海洋沉积物生物地球化学主要研究海底过程和功能。它把对生物化学转化的研究与所涉及的生物、地球化学和地质过程的观测结合在一起。观测的重点是与来自表层水的有机物经过一连串氧化还原反应再矿化有关的海底过程。测量主

要基于沉积物取样以及随后对孔隙水和固相子样本进行分层提取以进行分析的结果。在一些情况下，如摄氧量和 pH 值分布，需要直接在海底(即原位)进行测量。对于以后用于量化孔隙水释放和羽流扩散的所有孔隙水变量，应针对底层水进行额外取样，以构建基线，从而能够识别由于海底扰动或物质排放而释放的固体物质或孔隙水及其效应(即反应物和反应产物的分布、输送和转化)。

116. 水柱、沉积物和孔隙水应测量的化学变量如下：

(a) 营养盐：海洋上层中无机常量营养素(NO_3 、 NO_2 、 NH_4 、 PO_4 、 $\text{Si}(\text{OH})_4$)的供应量经常限制和调节浮游植物固定有机碳的量，形成控制海底有机物供应的关键机制。孔隙水中的营养盐浓度(NO_3 、 NO_2 、 NH_4 和 PO_4)提供了关于不同沉积层中有机物的生物地球化学循环和氧化还原条件的信息；

(b) 氧：水柱中的氧浓度提供了关于表层有机物的生成及其向海底输出期间再矿化的信息。沉积物中氧的分布、氧渗透深度和沉积物-水界面通量是衡量海底有机物再矿化和底栖群落活动的标准。此外，供氧量影响大多数金属的迁移；

(c) 碳酸盐系统：该系统约束着初级生产、有机碳再矿化、沉积物羽流中的金属氧化、海洋酸化、水柱中的脱氧、有机物再矿化、二次氧化还原反应和沉积物中诱发的孔隙水-矿物反应，所有这些都影响生态系统功能；

(d) 微量元素：许多微量元素是维持微生物细胞功能的必需元素。然而，在浓度升高情况下，这些元素可能导致取决于金属、化学元素形态和生物体的毒性；

(e) 有机物和无机物：向海底供应有机物是生物地球化学过程的一个关键驱动因素。它通过底栖食物网的相互作用，确保提供食物，维持底栖生物的生物量和生物多样性。水柱观测着重于生产力和输出，海底测量则有助于量化底栖生物可利用的有机物质的数量和质量、海底的生物地球化学循环以及海底有机物循环的动力学；

(f) 放射性同位素示踪剂(放射性示踪剂)：为定量表征沉积物中的生物扰动活动并确定沉积速率，需要对与固相沉积物有关的放射性同位素进行分析。天然放射性同位素的分布可作为测定采矿对沉积物和水柱的直接影响(包括孔隙水释放)的一个基线。此外，它还可用于评估采矿活动开始后结核中的放射性同位素，从而评估结核中的天然放射性强度。

B. 一般方法

117. 对于大多数化学和生物地球化学变量，存在业界普遍接受的方法，应使用这些方法，确保获得在各许可区和承包者之间具有可比性的高质量、准确和精密的数据。

118. 应使用下列技术中最具相关性的技术进行水柱化学参数取样：

(a) 借助于遥控水下机器人，在进行盐温深探测时用水瓶取样：用于测量营养盐、氧、碳酸盐系统、微量元素(使用微量金属清洁盐温深/Go-Flo 采水瓶)、

溶解有机物和悬浮颗粒物(包括颗粒有机物)。可使用电化学和光学化学传感器,获取关于化学特性的连续数据和背景信息,但不应取代收集离散水样,用以进行高精度、高质量的化学分析;

- (b) 用于测量放射性同位素活性、微量金属元素和悬浮颗粒物浓度的原位泵;
- (c) 用于测量颗粒浓度和粒子通量的锚系和系留沉积物收集器;
- (d) 用于测量 pH 值、硝酸盐、氧等的“生物地球化学 Argo”浮筒。

119. 盐温深站、原位泵部署和系留沉积物收集器需要在固定位置工作,限制了数据采集的灵活性,锚系沉积物收集器应在水柱中部署至两年,以进行时间分辨观测。此外,应使用配备化学、生物化学和光学传感器的自主浮筒、漂浮器和类似装置,获取关于化学变量的空间和时间数据。

120. 用于沉积物和孔隙水分析的样本,如果是从顶层数分米深的沉积物中采集,则应使用多管取样器、遥控水下机器人操控的推进式取样器或类似可靠设备,如果是从更深处采集,则使用重力取样器。关于生物地球化学和化学海洋学取样,应参阅国际海洋发现计划(前为综合大洋钻探计划(2003-2013 年))、Go-Ship 和 Geotraces 倡议(侧重于水柱)的方法出版物,获取得到普遍接受和商定的化学海洋学和生物地球化学取样方法,同时应参阅海洋最佳实践系统资料库(由海委会下属的国际海洋学数据和信息交换所托管)的出版物,以及全球海洋观测系统定义的基本海洋变量。

121. 应使用针对每个变量的适当方法,在取回岩芯后直接提取孔隙水;此外,在可能情况下,应从相同的孔隙水样本中测定尽可能多的生物地球化学变量。应在采集后数小时内进行孔隙水提取过程。对于一些预计变化相当缓慢的溶解成分(如磷酸盐和硅酸),可将孔隙水样本储存在-20°C 或-80°C 条件下,直到将其带回岸上进行分析。不作孔隙水调查的沉积物岩芯可储存在 4°C 或更低的温度下(在从每个沉积物层提取子样本之前)。对于一些敏感组分(如营养盐),应在从沉积物中提取孔隙水后尽快在船上进行孔隙水分析,其他分析则可在陆上实验室进行,使用冷冻或冷藏运输并适当保存的样本。

122. 由于沉积物-水界面上的生物地球化学过程和溶质通量受上覆水条件的影响,应始终对岩芯衬管中覆盖沉积物上的水进行采样,作为孔隙水的海水端元。由于样本在取回或处理过程中可能发生变化,应将其与盐温深装置的最深水柱样本进行比较。

123. 亚氧沉积物和孔隙水应在无氧环境条件下在手套袋中取样(即手套袋中充满惰性气体,如氮气或氩气),以保存金属元素形态和其他氧化还原敏感变量。

124. 针对每个变量,下文提供了现有最新最佳做法的参考资料,并指出需要改动的地方,以确保与深海采矿目的相关。如果还没有通用的最佳做法(例如,微量金属元素的胶体/纳米颗粒粒径分组),则推荐方法并提供最新科学出版物参考资料。全球海洋观测系统(www.gooscean.org)是持续的海洋观测合作系统,包括原

位网络、卫星系统、政府、联合国系统机构和科学家个人；大多数变量都属于全球海洋观测系统定义的基本海洋变量。

125. 由于方法可能变化(如由于新的技术发展), 应使用最佳做法在线存储库, 获取最新的方法。建议将海洋最佳实践系统资料库(<https://repository.oceanbestpractices.org>)作为搜索和查找海洋研究、观测以及数据和信息管理方面现有最佳做法的中心。它是海洋相关科学与应用方面业界最佳做法的长期开放性数字资料库, 由国际海洋学数据和信息交换所维护, 该机构属于海委会。

C. 取样分辨率

126. 应使用数据存储库提供的存档遥感卫星测高数据以及海面温度数据、海洋水色数据和水文数据, 估算控制许可区域内初级生产力的表面海洋学特征的预期空间和时间变化。这些信息应与关于海洋和大气过程的信息相结合, 确定特定区域内水柱化学参数的适当时间和空间取样策略, 以涵盖具有不同初级生产力和变化的海洋学特征的区域。应在合同区(包括影响参照区)内预定采矿区和保全参照区上方的水柱中部署至少一个盐温深站和两个沉积物收集器(一个安装在靠近海底处, 一个安装在海底上方约 500 米处)。应在这些站点反复进行盐温深取样和自动收集器取样, 以解决时间变异性问题。此外, 应在整个许可区域内获得样带, 盐温深站点应呈规律分布, 间距大约 100 公里。

127. 对于水柱测量, 应在整个水柱中取样, 确保表征物理海洋学数据确定的所有层(见第四节)(如表面混合层、密度跃层、氧最小层范围以及温跃层及中间和深水区中的单个海洋水团)。

128. 如第 22 段所述, 建议在近海底处提高垂直取样的分辨率, 因其涵盖作业羽流扩散的预期垂直空间, 而且也是排放羽流扩散的最可能深度。如果在基线研究时, 排放羽流的深度仍有待确定, 则应表征所有的可能释放深度。

129. 应尽可能靠近海底, 进行综合数据采集, 采用盐温深水取样、原位泵送和部署沉积物收集器。为了评估从沉积物进入上覆底层水的自然海底(金属)通量, 应尽可能靠近海底进行取样。除使用盐温深装置进行点取样外, 还应从海底向上到距海底 10 米这一范围内沿垂直梯度长期部署被动取样器。

130. 应尽可能在相同的时间、用相同的取样装置进行取样(见第三.C 节), 并应遵循筑巢式分层采样方案。涵盖空间和时间变异性的一般考虑因素也适用(见第三.A 节)。具体变量的进一步详细内容见下文。

D. 测定变量: 营养盐

131. 测定水柱和孔隙水中溶解无机常量营养素(NO_3^- 、 NO_2^- 、 PO_4^{3-} 和 Si(OH)_4)的推荐最佳实践方法载于 Becker 等人所著 Go-Ship 手册(2019 年修订版)以及 Gieskes 等人(1991 年)和 Grasshoff 等人(1999 年)编写的标准规程。进行测量时, 应使用连续或间隔流动分析方法, 采用有证标准物质和(或)海水营养盐标准物质, 确保分析期间的质量控制。

132. 即使使用高精度设备，对深海孔隙水中铵进行定量也很困难，因为浓度非常低。因此，在浓度证明接近检出限的情况下，可省略孔隙水铵的测定，直至出现更好的分析方法。深海孔隙水中的硅酸对于海底地球化学系统的测定不具有很高的诊断潜力，因此也可从基线观测中省略。

133. 营养盐浓度，特别是硝酸盐和亚硝酸盐的浓度，应在取样后立即测定，或在一周或两周内进行分析，条件是在收集后立即将水和孔隙水样本在-80°C 条件下冷冻保存。

134. 应采用以下方法测定海水和孔隙水硝酸盐和亚硝酸盐含量(同时使用间隔流动分析法测定磷酸盐和硅酸浓度)：

(a) 应将几毫升新提取(或新解冻)的未处理水或孔隙水用于分析，通常经两倍稀释(水)或三倍稀释(孔隙水)，同时用氮气不断冲洗间隔流动分析系统；

(b) 应在使用镀铜镉线圈将硝酸盐还原为亚硝酸盐(pH 值为 8)后，通过比色法(520-540 纳米波长处)测定总的 NO_x (硝酸盐+亚硝酸盐)浓度；

(一) 在亚硝酸盐在酸性条件下与磺胺反应后，通过比色法(520-540 纳米波长处)单独测定其浓度；

(二) 通过从总 NO_x 值中减去测定的亚硝酸盐浓度，测定硝酸盐的浓度。

(c) 应使用钼蓝法，通过比色法(820 纳米波长处(硫酸二胂)或 880 纳米波长处(抗坏血酸))测定磷酸盐含量；

(d) 硅酸浓度应作为硅钼酸复合物，通过比色法(660 纳米波长处(氯化亚锡)或 820 纳米波长处(抗坏血酸))测定。

135. 数据应以 mol/l (或 nmol/l、 $\mu\text{mol/l}$ 或 mmol/l，取决于具体的组分浓度范围)为单位报告，固相数据以毫克/千克或重量百分比为单位报告。报告数据时应始终包含空白信息(如适用)、定量限和与有证标准物质和(或)海水营养盐标准物质有关的结果。每个样本应进行两次或三次测量分析。每个样本的分析精度不应超过 5% 的相对标准偏差。应使用 IAPSO 标准海水(至少六个标准)，对每项孔隙水营养盐组分进行校准。每条校准曲线的决定系数(r^2)应大于 0.98。应根据两次或三次测量计算平均营养盐浓度，并以深度图的形式显示。应注明测量期间分析质量(即准确度、精密度)的信息。

136. 在水柱和孔隙水中都应测量的参数为 NO_3^- 、 NO_2^- 和 PO_4^{3-} ， NH_4^+ 和 $\text{Si}(\text{OH})_4$ 的测量仅对水柱进行。

137. 根据这些测量，应确定初级生产(仅水柱)、呼吸速率、再矿化、脱氧和海底通量，以及沉积物内的氧化还原分带状况。

E. 测定变量：氧

138. 测量水柱中氧分布应使用的方法见 Langdon (2010 年)、McTaggart 等人(2010 年)和 Uchida 等人(2010 年)的著作。关于光极的论述应参阅 Bittig 等人(2018 年)的

著作。斯克利普斯海洋研究所海洋学数据中心提供了可在软件支持下使用的自动化实验室方法(<https://scripps.ucsd.edu/ships/shipboard-technical-support/odf/chemistry-services/dissolved-oxygen>)。

139. 对海底氧的观测应包括测量耗氧量和氧渗入沉积物的深度。耗氧量测量主要集中在沉积物上层，需要在原位(即直接在海底)进行。关于沿沉积物柱的氧分布，应在实验室利用多管取样器(针对顶层数分米深度)和重力取样器取回的岩芯进行测量，以测定渗透深度(即氧浓度降至零的深度)(如 Mewes 等人，2014 年)。应使用传感器(光学氧传感器(光极)或 Clark 型电极)测量氧，以便以所需的分辨率进行测量，并避免与基于取样方法有关的大气氧污染风险。应使用微传感器(微电极和光纤光极)记录孔隙水氧浓度的垂直剖面。对海底培养舱或底层水中氧的时间序列测量，应使用更大型、时间上更稳定的光学传感器(大型光极)。传感器应在实验室进行彻底校准，原位获得的记录应进行验证，将沉积物上方的测量值与用前述方法测定的底层水浓度进行比较。

140. 在海底摄氧量情况下，预计空间和季节动态很强，因此在考察期间使用微型剖面仪和(或)培养舱进行的原位测量应涵盖与主要生产力和输出事件(如藻类水华、垂直通量高峰和植物碎屑沉降事件)相对的不同时间间隔。为充分说明季节变异性，这些测量应辅之以自主进行的摄氧量时间序列测量，方法是在数月或全年较长时期内通过移动平台(海底爬行车)进行重复剖面测量和(或)培养舱培养(见下文)。

141. 应使用海底培养舱和微型剖面仪原位测定摄氧量测量值(Boetius 和 Wenzhöfer, 2013 年)。培养舱培养用于测定总摄氧量，也被称为沉积物群落耗氧量，微型剖面仪用于测量扩散摄氧量。对于扩散摄氧量测量，通过微型剖面仪将测氧微传感器以小的垂直梯级放入沉积物中。为了全面说明摄氧量，原位氧测量通常应包括总摄氧量和扩散摄氧量。如果在整个基线观测中，方法和测量的量(即总摄氧量或扩散摄氧量)是一致的，则在两个量中任取一个量就已足够。如果只选择一种方法，则首选总摄氧量测量，因其涵盖整个沉积物群落，包括在结核中发生的摄氧情况和结核上底表动物的呼吸摄氧情况。不过，主要针对微生物呼吸作用的扩散摄氧量测量值是可接受的替代测量值，因为动物在海底沉积物中的贡献通常较低，大多数呼吸作用预计发生在沉积物中，而不是结核中。

142. 总摄氧量分析的部署时间应足够长，以便根据传感器性能可靠地测定在氧记录基础上的下降率。应通过将测量值与一维扩散输送和呼吸模型相匹配，从氧深剖面计算扩散摄氧量。在低呼吸速率的深海环境，原位剖面通常达不到氧渗透深度，因此测量应覆盖发生大量摄氧情况的沉积物层(见下一段)。

143. 对于垂直剖面，不论是针对通量的原位测量还是侧重于氧渗透深度的岩芯测量，传感器尖端直径和连续测量的垂直间隔均应与氧梯度的斜率成反比，因此，在顶部数分米范围内应小于下部。通常，对顶部 0.5 米，尖端直径应小于 100 微米，在更深层应小于 1 毫米。垂直间隔可从 250 微米开始，在 0.5 米以下可增至几厘米至几分米。连续深度间隔的浓度变化应远低于底层水浓度的 2%。用于计算扩散摄氧量的原位剖面应覆盖对总摄氧量有显著贡献的层。它们应至少覆盖顶

部 20 厘米，或达到体积呼吸率(由一维输送-反应模型确定)降至低于剖面上部观测到的最大呼吸率的 10% 的深度。在利用培养舱进行总摄氧量测量的情况下，观测频率不是关键的，因为氧的下降是缓慢的，每几分钟读取一次数据就已足够。如果传感器读数显示较大的散度，可以提高频率次数。

144. 为处理整个含氧沉积物层的氧渗透深度和氧化还原分带问题，应对沉积物上覆的底层水进行氧测量，并应继续对长岩芯上的孔隙水进行氧测量，直至氧降至零或达到最小值的深度。

145. 应测量的参数为溶解氧(O₂)；原始数据应以浓度(mol/l)形式提供。

146. 应根据水柱的氧观测，确定以下内容：表观耗氧量、净群落生产、净碳输出通量、海洋氧库存以及还原金属氧化引起的脱氧和氧化消耗。对于沉积物，应确定以下内容：氧渗透深度、不同沉积物层的体积呼吸状况、沉积物群落耗氧/摄氧率、碳再矿化率和有机物流向海底的通量净速率。此外，还应表征沉积物中的氧化还原分带状况。

F. 测定变量：碳酸盐系统

147. 应使用总碱度、而不是碳酸盐碱度(如 ISBA/25/LTC/6/Rev.1 和 ISBA/25/LTC/6/Rev.1/Corr.1 所述)来表征碳酸盐系统，因为碳酸盐和碳酸氢盐化合物以外的分子，如硼酸盐、硫化氢和溶解有机碳通常会对该变量做出贡献。

148. 关于获取碳酸盐系统变量数据的详细信息，包括数据质量，应参阅化学海洋学和生物地球化学文献，如 Dickson 等人(2007 年)和欧洲联盟委员会(2011 年)的文献。

149. 为约束整个海水碳酸系统(即[CO₂]、[H₂CO₃]、[HCO₃⁻]、[CO₃²⁻]、[H⁺])，除压力、温度和盐度外，还应同时采用溶解无机碳、碳酸盐碱度、pCO₂ 和 pH 值中的任意两项(Millero, 2013 年)。总碱度是碳酸盐系统的一个可靠变量，可以在不产生假象的情况下进行异位测量，但溶解无机碳、pH 值和 pCO₂ 对压力和温度的变化以及对从深海海底将样本取至海面时引起的脱气非常敏感。因此，pH 值和 pCO₂ 应在原位测量，避免在数据处理过程中无法校正的异位采样假象。

150. 为说明硼酸盐和硫化氢等其他化学物质对总碱度的贡献，应对沉积物孔隙水进行额外测量。由于难以测量单个物种，这些额外变量通常为总硼浓度(即硼酸盐和硼酸的总和)以及总硫化物浓度(即[S₂⁻]、[HS⁻]和[H₂S]的总和)。这些都是可以异位测量的可靠变量。

151. 应参阅全球海洋观测系统基本海洋变量规范单，获得更多关于当前全球观测网络的信息，包括现有的传感器技术(主要针对 CO₂ 含量和 pH 值，如“生物地球化学 Argo”项目)，以及未来观测能力的信息。

152. 应使用总碱度以及以下三项中的至少一项来测定碳酸盐系统：溶解无机碳、pH 值和 pCO₂ (Dickson 等人, 2007 年；欧洲联盟委员会, 2011 年)。其他变量，

如总硼浓度、总硫化物浓度和溶解有机碳，如果对总碱度做出贡献，也应加以考虑(Luff 等人，2001 年；Zeebe 和 Wolf-Gladrow，2001 年)。

153. 其中每一项的方法如下：

(a) 在孔隙水样本中，应测定总碱度，方法是用稀释的 HCl 溶液将等分的已提取孔隙水滴定，用光谱、电位或光学方法观测 pH 值的变化(如使用合适的 pH 指示剂)，并用氮气或氩气使滴定容器中的溶液鼓泡，以从溶液中剥离产生的 CO₂ 和 H₂S (如 Wallmann 等人，2006 年；Haffert 等人，2013 年)；

(b) 在水柱样本中，应遵循海洋酸化方面的准则所概述的方法，即 Dickson 等人(2007 年)和欧洲联盟委员会(2011 年)准则所概述的方法；

(c) 应用库仑法测定等分的已提取孔隙水中溶解无机碳的总含量。应通过添加 HgCl₂ 溶液来保存样本，防止进一步的微生物降解，并应将样本储存在用氮气冲洗过的密闭小瓶中，以避免与大气发生气体交换。应通过用磷酸处理样本将溶解无机碳转化为 CO₂。测量时，应使用纯化的氦气载气将气体转移到库仑计。应通过向样本中加入硫酸铜(CuSO₄)，将样本中溶解硫化物沉淀为硫化铜(CuS)。在等效方法中，应采用同位素比值质谱仪测定溶解无机碳的 δ¹³C 同位素特征。溶解无机碳的稳定碳同位素特征提供了有助于区分有机碎屑溶解无机碳生成与甲烷氧化路径的附加信息；

(d) 应使用玻璃微电极原位测定 pH 剖面(如 Wenzhöfer 等人，2001 年；Revsbech 和 Jorgensen，1986 年)；

(e) 应使用微光极原位测定 pCO₂ 或溶解 CO₂ 的浓度(如 Wenzhöfer 等人，2001 年)；

(f) 应通过电感耦合等离子体光学发射光谱法或电感耦合等离子体质谱法测定总硼浓度；

(g) 应以亚甲基蓝分光光度法测定总硫化物浓度(Grasshoff 等人，1999 年；Haffert 等人，2013 年)；

(h) 应在与测定溶解无机碳所使用的同一样本上测定总溶解碳，详见 H 节。

154. 由于海洋碳酸盐系统受到测量其一些变量以计算其他物种的约束(如 Luff 等人，2001 年；Zeebe 和 Wolf-Gladrow，2001 年)，应报告计算变量的传播不确定性。海洋二氧化碳(CO₂)系统不确定性传播的最重要因素是输入不确定性本身的选择(Orr 等人，2018 年)。由于样本易于保存，测量的不确定性较低，因此应使用总碱度、溶解无机碳、总硼浓度、总硫化物浓度等总变量的测量值，但是，如果可以忽略硼酸盐和硫化氢对总碱度的贡献，则可以使用其他组合，如 pH 值和溶解无机碳来计算碳酸盐碱度和碳酸盐物种。

155. 使用有证标准物质样本进行溶解无机碳和总碱度分析是一个极其重要的方法，可用于评估海水化学性质随时间的变化，用以准确计算海水样本的 pCO₂ 和 pH 值。在这方面，应从 IAPSO 或斯克利普斯海洋研究所获得海水标准物质。应

将 Dickson 等人(2007 年)的著作作为计算测量标准偏差的指南。对于不确定性及其传播,应参阅 Orr 等人(2018 年)的著作。对于可用于计算碳酸盐化学变量的软件包(seacarb、用于 Excel 的 CO2SYS、用于 MATLAB 的 CO2SYS、mocsy)的附加程序的链接和资料,应使用相同的参考文献。此外,还有用于测算其他酸碱系统(如硼酸盐和硫化物)的供开放使用的软件包,这些系统会影响到 pH 值和总碱度(AquaENV; Hofmann 等人, 2010 年),也有用于测算压力效应的这类软件包(SUGAR 工具箱; Kossel 等人, 2013 年)。

156. 根据这些测量,应计算以下内容:碳酸盐矿物(如文石和方解石)和硅酸盐矿物的饱和状态;碳酸盐补偿深度;溶解跃面;碳酸盐/硅酸盐矿物溶解的反应速率;有机质再矿化;还原金属的氧化。应确定氧化还原分带。

G. 测定变量: 微量金属元素

157. 关于海水中微量元素(颗粒和总溶解物)及其同位素的适当取样、清洁程序和样本处理以及关于获得准确度和精密度衡量标准的程序的具体建议,应参阅出版物《Geotraces 巡航取样和样本处理规程》(又称“Geotraces 专题手册”)。

158. 对于微量元素循环评估和毒性评估,应测定溶解微量金属元素的物理和化学形态,而不是总溶解浓度。Geotraces 专题手册不涵盖总溶解池(包括胶体和纳米颗粒以及真正溶解物种)中微量金属元素的物理粒径形态的测量方法。尚未就此主题出版最佳做法指南,因此应在取样时查阅最新文献。

159. 对于海水和孔隙水的物理粒径分组,可能的方法包括:

(a) 顺序过滤,产生不同粒径组分:>0.2 微米(颗粒),<0.2 微米(总溶解物),0.02-0.2 微米(无机胶体,如氢氧化合物、粘土、氧化锰),<0.02 微米(可溶体:小有机胶体,真正溶解物),未过滤样本的船上酸化(用于测量总溶解浓度);

(b) 在船上进行截留分子量 1 kDa 的超滤(1 kDa 至 0.2 微米之间的粒径池包含所有胶体和纳米颗粒物质,小于 1 kDa 的粒径池被定义为真正溶解池),前提是可用样本量允许,如果目的是进行孔隙水超滤,可用样本量是主要约束因素。

160. 还有其它方法可用于评估化学形态,包括:

(a) 伏安法,返回实验室分析;

(b) 用于测量金属有效态浓度的薄膜扩散梯度被动取样器,船上取样,返回实验室分析。

161. 样本应适当保存(例如,用超纯 HCl 进行酸化至 pH 值~1.8,用于微量金属元素浓度分析;详细信息另见 Geotraces 专题手册),或进行冷冻(如用于化学形态分析、配体分析)。

162. 应参阅 Planquette 和 Sherrell (2012 年)的著作,了解通过原位过滤、瓶过滤和沉积物收集器对水柱中的颗粒微量金属元素进行取样和样本处理的详细信息。

163. 海水和孔隙水微量金属元素的最好分析方法会因技术发展和可用的仪器而变化，因此各种分析方法都是可能的。使用适当的分析方法和数据处理应用所要求的元数据来证明。通常，应使用电感耦合等离子体光学发射光谱法和电感耦合等离子体质谱法获得金属浓度数据。在进行电感耦合等离子体分析之前，应使用酸压或微波消解对沉积物样本进行处理，酸的组合应该合适，例如 HF+HClO₄ 或 HF+HCl+HNO₃ (Paul 等人，2018 年，Nöthen 和 Kasten，2011 年)。对于海水和孔隙水中的微量金属元素，强烈建议使用 SeaFAST 预浓缩和基体分离装置。固相微量金属元素和无机污染物有证标准物质(MESS-4、NIST-2702)和海水有证标准物质(如 NASS-7、CASS-6、SLEW-3 或 Geotracers 互校准标准)、或(如没有有证标准物质)内部标准物质(如针对孔隙水)应与样本一起处理和测量，以记录分析准确度和精密度。

164. 应测量的参数是铁、锰、钴、铜、镍、锌、镉、砷、铅和钒的浓度。结果应以每单位质量或体积的摩尔的分数表示(如，nmol kg⁻¹ 或 nmol l⁻¹)。应在每个操作定义的粒径组分(颗粒、总溶解物(<0.2 微米)和纳米颗粒/胶体(0.02-0.2 微米))进行测定，记录化学形态(总浓度、有效态、氧化还原形态、与有机配体的络合)。

165. 在这些测量的基础上，应确定以下内容：微量金属元素通量、各种物理和化学物种之间的分布、有效态浓度、纳米颗粒和胶体的类型和浓度，以及沉积物中的氧化还原分带(包括空间和时间变异性)。

H. 测定变量：有机物和无机物

166. 基线观测应利用对适当替代物的测量，处理水柱和海底的溶解和颗粒有机物以及颗粒无机碳的数量、质量和不稳定性问题，包括其时间和空间变异性。对水柱中颗粒物的观测应包括有机和无机颗粒。

167. 基线观测的主要重点应放在对水柱和沉积物顶层数分米深度内的颗粒无机碳、颗粒有机物和溶解有机氮进行重复的表征，在这些地方，生物地球化学转化率最高，而且目前的知识表明影响可能最明显。对于沉积物分析，除第三.A 节确定的分辨率外，还应在一些地点更深、更古老的沉积物中测量颗粒无机碳和颗粒有机物，以帮助对区域内发现的各种环境进行表征，包括过去的生产力和沉降机制。

168. 对于海底分析，应在取自回收岩芯不同深度层的子样本中，测定颗粒无机碳和颗粒有机物的数量和特征的分布，应在取自不同深度层的孔隙水中，对溶解有机氮进行分析。在沉积层顶部数分米深度内，应使用能够取回松软的半液体表层样本的最先进取样器(如多管取样器、遥控水下机器人操控的推进式取样器)采集分析所需的样本。应使用重力取样器或活塞取样器采集更深层的岩芯。

1. 溶解的有机物

169. 应以溶解有机碳加上总溶解氮的测量值，对溶解有机氮的量进行量化，通常方法是在高温下进行催化氧化，并在此前通过酸化和用惰性气体吹扫除去无机碳和挥发性有机物。溶解有机碳与溶解有机氮的比率(计算方法是从总溶解氮中减去 NH₄⁺、NO₃⁻ 和 NO₂⁻ 的总和)是溶解有机氮化学成分的第一个指标；应将其用

于溶解有机氮质量(即作为食物来源供生物利用的可能性)的一般表征。应在有色和荧光池光学分析的基础上确定溶解有机氮的一般分子表征。这可借助现成的仪器完成,这些仪器可以利用荧光光谱法轻松收集激发发射光谱,并将其与基于吸收光谱的测量相结合。

170. 应参阅 Dickson 等人(2007 年)的著作,以了解测量水柱中溶解有机碳的最佳做法。

171. 应在水柱中测量的参数是溶解有机碳和溶解氮。

172. 对孔隙水应测量的参数是溶解有机碳、总溶解氮、溶解氨基酸和碳水化合物以及溶解有机氮的光学特性(有色溶解有机物、荧光溶解有机物)。

173. 对于水柱,应利用观测结果,确定溶解有机碳对群落净生产和碳输出通量的贡献。

174. 对于沉积物,应利用观测结果,确定有机物的数量和质量及其时空变异性,以量化并说明有机物再矿化率。它们应与微量金属元素络合和生物利用率结合使用。

2. 颗粒物

175. 关于颗粒物,使用若干变量来描述海洋中的悬浮颗粒物(总悬浮物质)和颗粒物输送,包括有机和无机组分。可使用数种取样法在水柱中收集颗粒物:

- (a) 通过过滤 Niskin 或 Go-Flo 采水瓶的水;
- (b) 利用原位泵;
- (c) 利用沉积物收集器。

176. 这些取样法各有优缺点。因此,应综合使用各种方法。基于过滤用水采样装置(如 Niskin 或 Go-Flo 采水瓶)收集的水样的取样法因取样量相对较小而受限(< 12 公升),应使用能够大量过滤(每小时数百公升)的原位泵,采集更大质量的颗粒,需要它们来进行某些调查(如特定放射性同位素的活度)。应收集深度剖面信息,方法是将单个原位泵按顺序连接到线缆(如盐温深电缆)上,对其进行编程,以在目标深度泵送两至四小时。应使用过滤采水瓶内海水所得颗粒和用原位泵获得的颗粒,测定颗粒浓度、类型和数量;它们适用于微量金属元素调查。颗粒是否沉降,如果沉降,速度如何(即它们对输出通量的贡献),取决于颗粒个体的大小、形状和密度。应通过测量放射性示踪剂的活度,间接推导出输出通量(见第 I 节)。此外,应使用沉积物收集器对粒子通量进行直接测量,收集器在数日到数月时间内收集某一深度的沉降颗粒。应直接评估沉降颗粒物的数量、类型和质量。

177. 应参阅 Geotraces 专题手册以及 Bishop 等人(2012 年)和 Planquette 和 Sherrell (2012 年)的著作,获得关于使用原位过滤和从 Go-Flo 采水瓶进行甲板过滤开展颗粒物调查的采样和样本处理方法的最佳做法指南,侧重的重点是微量金属元素。还应查阅 Geotraces 专题手册,了解对最初发表在 JGOFS 报告 19 (Knap 等人, 1996 年)中的测定颗粒有机碳和颗粒氮的方法的修改建议,专题手册载有对

JGOFS 的建议,是针对颗粒有机碳和颗粒氮的小体积样本(即< 10 公升)广泛采用和引用的方法。

178. 应利用 McDonnell 等人(2015 年)的著作,综合了解利用采水瓶、原位泵和沉积物收集器收集颗粒物(> 0.2 微米)的方法及其在生物地球化学循环研究中的应用,其中详细说明了推荐的过滤器类型、沉积物收集器取样规程,包括清洁、样本保存和处理以及沉积物收集器收集偏差。关于颗粒取样、样本处理/加工以及颗粒类型、成分和浓度的测定、悬浮颗粒物质量和粒子通量的详细信息,应参阅 Lam 等人(2018 年)、Boxhammer 等人(2018 年)和 Huffard 等人(2020 年)的著作,此外,还可从日本海洋学会出版的海洋观测指南以及国际海洋水色协调组关于颗粒有机碳采样和测量规程中推导出。

179. 关于远程和原位表征海洋颗粒(无需收集和取回)的光学技术的综述,可见 Boss 等人(2015 年)的著作,其中涵盖了相关技术,用于评估全岩特性,包括粒子质量、粒径分布和粒子形状信息,以及单个粒子的光学特性,如单个粒子的类型和大小。此外,作者还综述了成像技术的进展及其在原位海洋颗粒研究中的应用。更多详细内容可参见 Giering 等人(2020 年)和 Huffard 等人(2020 年)的著作。

180. 关于当前全球观测网络的更多信息和有关自主数据观测创新文献的链接,可查阅全球海洋观测系统基本海洋变量规范表。

181. 水柱应测量的参数包括颗粒有机物(颗粒有机碳、颗粒有机氮、颗粒有机磷)、生物硅、颗粒无机碳、有机碳总量、氮总量、悬浮物质总量、颗粒有机碳通量、碳酸钙(CaCO₃)通量、生物硅通量、成岩颗粒、铁锰氧化物和羟基氧化物、颗粒物浓度、碳供应/碳需求和颗粒有机物雷德菲尔德(Redfield)碳氮磷比值(C:N:P)化学计量。

182. 沉降物的数量和质量有季节和年际变化,因此应特别注重以周至月为分辨率针对初级生产进行取样,并以月至年为分辨率测量输出通量。

183. 对沉积物中的有机物开展观测时应既处理颗粒物数量,也处理生物可利用有机物的数量及其质量(即新鲜度/不稳定性)。有多种办法可供采用(例如 Pusceddu 等人,2009 年; Meckler 等人,2004 年,以及内载的参考文献),但在整个基线研究中,核心替代办法应保持一致。应通过测量有机碳总量和氮总量来获取生物可利用有机物数量方面的信息,通常在通过酸化去除无机碳之后使用元素分析仪进行测量。有机碳总量与氮总量比值(C:N 比值)初步说明颗粒有机物质量。关于有机物质量的更具体信息应通过以下方法获得:测量叶绿体色素当量,包括叶绿素-a 及其降解产物;简单的荧光分析;高效液相色谱法;或测量生物聚合碳,包括可水解碳水化合物、蛋白质和脂类(采用湿法化学分析)。应使用叶绿素-a 与叶绿体色素当量的比率(或与之类似的氯指数),或在生物分子类别的特定组成(例如可水解碳水化合物与碳水化合物、蛋白质和脂类总和的比率,基于氨基酸组成的降解指数,或不同饱和度的脂肪酸占比)进行分析的基础上,确定颗粒有机物的新鲜度。

184. 颗粒无机碳与有机碳总量和氮总量一样应使用碳氮硫(CNS)元素分析仪进行测量。颗粒无机碳通常以碳酸钙(CaCO_3)含量占干燥沉积物样本重量百分比的形式加以报告。

185. 颗粒有机物的分布一般并不均质，特别是在沉积物表面附近。由于有机物颗粒密度低，其在海底的沉积通常取决于小尺度洋流模式以及海底形态，后者导致斑块分布以及在小洼地等地方局部累积。应使用适当的统计方法确定所需的重复采样次数和适当的分辨率。在提供这些资料时应同时提供原始数据。重复取样次数不得低于每个地点以及每次取样作业三个岩芯。应尽可能使用海底成像调查(基于电缆的成像系统、自动潜航器)或时间序列(自主式海底观测站、海底爬行车)，以便获取关于海底新鲜颗粒有机物的供应、现存量和处理情况的空间和时间变异半定量信息(利用彩色图像对绿色的植物碎屑分布进行半定量观察，利用荧光成像或高光谱技术对叶绿体色素进行定量观察)。

186. 应测量水柱中的颗粒物，得出初级生产、海洋酸化、输出通量、碳供应和水柱中有机物衰减等信息。应根据无机颗粒组分(颗粒无机碳、生物硅)确定生物质的主要来源(即钙化或硅化生物)以及颗粒有机碳的压舱物质，后者是透光层颗粒有机碳输出的主要驱动因素(Klaas 和 Archer, 2002 年)。对于沉积物，应通过观测，量化海底碳现存量和周转情况，并评估其可被底栖群落再矿化的程度。这项信息应与通过运输-反应模型对有机和无机颗粒物输出通量、摄氧量、碳酸盐系统、营养盐和微量金属的观测相结合，用以定量评估有机物、营养盐和微量金属元素的底栖生物地球化学循环。

I. 测定变量：放射性同位素示踪剂(放射性示踪剂)

187. 对于海水中长寿命放射性核素(例如 ^{230}Th)和短寿命放射性核素(例如 ^{210}Pb)、悬浮沉积物羽流颗粒和沉积物的取样、样本处理和分析，应遵循 Geotraces 专题手册中的详细建议。应测量的参数为溶解态、胶体态和颗粒态 ^{230}Th 、 ^{234}Th 、 ^{210}Po 、 ^{210}Pb 、 ^{231}Pa 、 ^{224}Ra 、 ^{226}Ra 、 ^{228}Ra 、 ^{227}Ac 和总 α 辐射。

188. 为测定沉积物中短寿命放射性核素(如 ^{210}Pb)的活度，应：

(a) 将几克干燥的均质化沉积物样本气密密封并放置至少几周，以确保放射性同位素长期平衡(即放射性同位素活度因为生成率等于衰变率而达到恒定)；

(b) ^{210}Pb 和 ^{226}Ra 总活度应直接用 γ 射线能谱测定法(高纯锗(宽能锗)探测器)测定；

(c) 此外，可以用 α 光谱测定法(离子注入型钝化平面硅(PIPS)探测器)通过 ^{210}Pb 的第三代子体同位素 ^{210}Po 间接测量总 ^{210}Pb ；

(d) 外部校准应使用有证标准物质，如 IAEA-RGU-1 (铀矿石)。

189. 在沉积物(^{230}Th 和 ^{231}Pa)和颗粒中以及在水柱(Ra 系列)中的长寿命放射性核素活度应通过以下方法确定：

(a) γ 射线能谱测定法(Yokoyama 和 Nguyen, 1980 年)；

(b) α 光谱测定法(Lao 等人, 1992 年);

(c) 质谱分析法(Geibert 等人, 2019 年);

(d) 沉积物和颗粒分析应使用 IAEA-385 (爱尔兰海沉积物)(Pham 等人, 2008 年)作为有证标准物质;

(e) 水柱分析可使用 IAEA-443 (爱尔兰海水)(Pham 等人, 2011 年)作为有证标准物质。

190. 测定总 α 辐射的替代办法是分别测量 ^{230}Th 、 ^{226}Ra 和 ^{231}Pa , 然后根据这些元素与各自的子体同位素的平衡来计算预期的总 α 辐射。

191. 活度应以总活度、溶解态活度和颗粒态活度表示, 单位为 dpm/g 或 Bq kg^{-1} 。所有的放射性同位素活度(其比率除外)均应在分析过程中对孔隙水盐干扰进行校正(Kuhn, 2013 年; Geibert 等人, 2019 年), 并应记录确切的程序和校正值。

192. 应在这些测量的基础上确定以下内容: 浓度和活度、 ^{230}Th 亏损、放射性核素通量、沉降元素通量和沉降速率。此外, 应确定沉积物内的生物扰动深度、生物扰动活动、生物扰动模式(即扩散还是非本地混合)、辐射能级和孔隙水-矿物反应(如碳酸盐溶解/沉淀)。

193. 分析数据时可使用输运-反应数值模型或分析溶液。例如, 常量初始浓度模型是计算深海沉积物沉降速率的一种简单办法。使用原状沉积物(里面没有观察到提示 ^{230}Th 过量或 ^{231}Pa 过量的显著深度趋势)生物扰动层中 ^{230}Th 或 ^{231}Pa 的平均活度, 可确定活度衰减到该水平一半时的深度。该深度与生物扰动层底部之间的差值除以半衰期, 则是该位置沉降速率的粗略近似值。

J. 数据质量

1. 化学海洋学

194. 开展海洋学数据工作的五个项目(即沿海技术联盟、优化和改善大西洋观测综合系统(AtlantOS)项目、澳大利亚的综合海洋观测系统、海洋学和海洋气象学联合技术委员会和美国综合海洋观测系统实时海洋学数据质量保证/质量控制项目)共同发表了一份关于质量保证方面现有最佳做法的综述报告(Bushnell 等人, 2019 年), 应参考这份综述报告, 详细了解用于质量保证目的的记录保存、检查清单、维护建议、改善测量不确定性的方法以及关于海洋学数据的一般质量保证建议。这份综述报告还把最近创建的海洋最佳实践系统确定为制定、分享、记录和管理更具体的质量保证进程的一种手段。

195. 在化学海洋学领域, 取样过程、样本处理和分析测量中存在的各种不确定因素会影响从水样中获得的数据值。这些不确定因素可以通过增加观测次数来减少。这些不确定因素需要与另一种不确定性区分开来, 后者指的是由于重复取样或记录数据(例如在三个不同年份的同一时刻对同一个位置进行取样, 或者在大约 10 公里半径内相似但不相同的位置采集三个样本), 导致类似环境条件下的数

据值在空间和时间上出现不确定性或变异性。分析严谨性(即准确度和精密度)高有助于区分不确定性的来源。

196. 对于微量金属元素, Geotraces 规定应进行两类重复测量: 现场重复取样和分析重复。分析重复是对单个样本进行重复分析。它是使某一特定分析尽可能达到最高精密度的办法。现场重复取样是对从单个采样瓶中采集的两个或多个样本进行分析。由于提取子样本、储存和样本内自然存在的差异, 这种办法产生了额外的方差分量。当取样和储存对分析没有影响时(假设分析物均质分布在取样瓶内), 现场重复取样和分析重复的方差应相等。

2. 生物地球化学

197. 适当描述各自然地理单元(见第三.A 节)的生物地球化学基线条件所需的重复样本数量或重复观测次数不仅取决于现有的自然变异, 而且还取决于需要确定的因采矿活动而发生的相对变化。应使用功效分析(Sweetman 等人, 2019 年)等适当的统计工具, 评估检测出达到某一特定水平和某一特定统计功效的变化时所需的取样强度。须针对具体变量确定的变化目标水平主要取决于通常与采矿相关影响有关的变化幅度, 还取决于该变量作为生态系统现状、恶化和恢复指标是否具有相关性。可供参考的是: 所选择的重复样本应允许在统计功效值至少为 0.95 的情况下检测出与基线条件相比小于 30% 的偏差(Ardron 等人, 2019 年)。针对各个变量可测定的变化水平统计数据应与基线数据一起报告。

198. 为了决定初始取样强度, 应收集关于自然变异性的现有信息, 同时铭记应始终将三份重复样本视为最低限度。随着从基线观测、影响研究和基线条件和变化的综合建模中获得关于自然变异性和各变量相关性的更多信息, 应定期修订各变量所需的重复采样数。

K. 数据管理

199. 国际海洋发现计划及其前身综合大洋钻探计划的技术说明载有应遵循的数据与样本管理和整理归纳(以及生物地球化学和地质取样和分析)细节。

200. 需要使用元数据记录取样与分析是否得当, 并对所提供的数据进行溯源。所有化学变量均需要提供这些元数据。与取样和样本记录有关的元数据以及由此产生的数据应遵守 Geotraces 国际数据汇编中心(www.bodc.ac.uk/geotraces/)、海考会和海洋数据管理工作组确定的准则。更多信息和元数据规程可查阅数据管理最佳做法指南, 这份指南由生物和化学海洋学数据管理办公室根据全球海洋生态系统动力学研究计划(Globec)和 JGOFS 的海洋研究方案取得的经验编写。指南载有一系列关于如何管理从科考航次中获得的数据的最佳做法建议。指南可从 <http://bco-dmo.org/resources> 下载。关于数据和元数据管理的更多准则可在海洋最佳实践系统资料库和 Argo 计划社区内找到。

六. 地质特性

A. 引言

201. 除了生物地球化学参数(见第五节)外,还需要了解地质特性,以便描述生境特点,确定海底和海底之下环境的异质性(水深测量和地貌学、地质环境、沉积物和地层学、成岩作用、风化和再活化转移、岩石底质地球化学和矿物学、矿物资源地球化学和矿物学),并协助安排合适的取样地点,确定动物群落的分布和组成特点。

202. 下列变量构成地质基线的基础:

(a) 水深测量:用于摸清大、小尺度的海底地貌特征;可用于规划其他类型的取样;

(b) 沉积物特性和生境分类:对确定底栖生境的特征具有重要作用;此外,应利用这些特性量化采矿装置作业期间海底沉积物物理特性的变形和变化并设计采矿系统。

203. 资源特性对于生境特征描述很重要。资源特性构成“区域”内任何勘探活动的主要目标。有些资源特性可能构成具有商业利益的信息,根据与海管局的合同可能须予保密。然而,应对创建环境基线所需的信息进行评估。

B. 一般方法

204. 可利用以下方法收集关于地质和深海海底形态的数据和信息:

(a) 多波束回声测深(利用船载设备和(或)由遥控水下机器人或自动潜航器拖曳的系统);

(b) 侧扫声呐剖面探测(利用船舶、遥控水下机器人、自动潜航器或其他方式拖曳的设备);

(c) 浅地层剖面探测(例如利用 Chirp 系统);

(d) 通过电视抓斗、海底拖撬、遥控水下机器人、自动潜航器或潜水器获得的图片和视频记录。

205. 在开展地质调查和获取关于地质变量的准确、高质量数据方面存在各种方法;应使用任何广为接受的做法。

206. 提取分析所需的沉积物样本时,对于沉积物顶层数分米深度,应使用多管取样器、遥控水下机器人操纵的推进式取样器或类似的可靠设备,对于较深的样本,则使用重力取样器。

207. 沉积物取样和水深测量的具体方法见国际海洋发现计划(前身为 2003-2013 年综合大洋钻探计划)的出版物和海洋最佳实践资料库(<https://repository.oceanbestpractices.org>)。

208. 国际水道测量组织发布了水道测量标准(国际水道测量组织, 2020 年), 应予参考。

C. 取样分辨率

209. 哪种取样分辨率合适, 取决于信息是用于大尺度的资源评估还是用于局部生境制图。分辨率应根据预定用途进行调整。对于整个勘探区域的大尺度测量, 应制作分辨率大于 80 至 100 米的测深图和后向散射图。在进行其他离散采样的地区、各种条件提示变异性较高的地区或预计采矿会产生间接影响(沉积物羽流和排放羽流)的地区, 应进行更高分辨率的取样。

D. 测定变量: 水深测量

210. 对于海底测绘, 应使用舰载设备或由遥控水下机器人或自动潜航器深拖的设备, 运用多波束测深、后向散射测绘、侧扫声呐或合成孔径声呐方法, 获取关于海底生境物理状况的高空间分辨率数据。

211. 为获得可靠一致的海底测深和后向散射数据, 需要进行适当校准(Lamarche 和 Lurton, 2018 年)。建议采集设置保持恒定不变, 并对专门使用后向散射的勘测进行具体设计; 此类设置和设计应该在不同的许可区域和承包者之间具有可比性。水道测量标准见国际水道测量组织的出版物(如国际水道测量组织, 2020 年)。此外, 关于海底地名标准化出版物的参考资料可查询 <https://iho.int/en/bathymetric-publications> 和 www.gebco.net。

E. 测定变量: 沉积物特性

212. 为了描述沉积物特性, 对沉积物的矿物学和岩屑、粒径分布、孔隙度和整体地层学均应加以研究。岩石学涉及岩石的物理特征。沉积学研究构成沉积物和沉积岩的物质的起源、运输、沉降和成岩变化。地层学研究沉积岩随时间积累和分布的方式。应使用一套工具对顶部 30 厘米深(使用推进式取样器和多管取样器)、顶部 50 厘米深(使用箱式取样器)和几米深的沉积物(使用重力岩芯取样器)进行取样。

213. 物理海洋学现象以及采矿可在深海海底产生沉积结构。因此, 应利用光学成像技术, 对海底沉积结构进行鉴定和测绘。通过部署各种平台(包括遥控水下机器人、自动潜航器和拖曳式或下投式摄像机)获得光学成像, 可以对地质学、沉积学(与海底底层流有关的波纹、波痕和铸型)和生物要素或模式及其相互关系进行定量或定性表征。应描述生物扰动的速率和深度以及结构类型。在对海底复杂区域或较大面积区域成像时应使用基于地理信息系统的镶嵌方法(Garcia 等人, 2015 年), 并说明所用的重叠比例。

214. 处理和储存岩芯样本时应遵循运输、取样和储存的最佳做法, 最大限度利用岩芯样本进行科学研究(Basu 等人, 2020 年)。

215. 粒径是沉积物的基本物理特性。它与海洋环境的动态条件相关, 对解释海洋环境在负荷下的稳定性具有重要意义。引入自动粒径测量技术可以增加粒径测定的效率和精度(Jaijel 等人, 2021 年)。根据 Jaijel 等人(2021 年), 典型的现代激光衍射光谱仪可测的粒径范围达 2 000 微米, 覆盖了世界海洋绝大多数海底软质

沉积物。确定全岩沉积物的粒径分布时应使用标准方法并经适当处理(Jaijel 等人, 2021 年, 以及其中的参考文献)。

216. 应通过在放大镜(松散沉积物)和岩相显微镜(涂片、薄片)下检查样本来进行沉积学表征(例如 Marsaglia 等人, 2013 年、2015 年 a 和 2015 年 b)。矿物成分应作定性和定量测定。目前有几种可用的方法或方法组合, 包括详细矿物学、电子微探针矿物分析、X 射线衍射和(或)使用矿物解离度工作流和定量扫描电子显微术的自动定量矿物学。应使用这些方法获得定量模态分析和虚拟岩相。此外, 应使用 Rietveld 分析法进行定量测量, 特别是充分描述未来矿区的海底表面特征, 并界定用于模拟羽流所造成潜在环境危害的粘土组分(粒径小于 2 微米的颗粒)。

217. 应在配备符合国际标准的质量系统的实验室中分析沉积物的化学成分, 包括进行 X 射线荧光光谱分析、电感耦合等离子体质谱法和电感耦合等离子体光学发射光谱法测量(见第五节)。

218. 关于岩芯目测描述程序和分析设备以及沉积物取样、样本制备和一般分析和技术细节, 可查阅 Przeslawski 等人(2018 年)、Simpson 和 Batley (2016 年)、Marsaglia 等人(2013 年、2015 年 a 和 2015 年 b)、Rothwell 和 Rack (2006 年)、Mazullo 等人(1988 年)的著作以及 <https://repository.oceanbestpractices.org/> 和 <http://publications.iodp.org/index.html> 上的资源。

219. 应测量以下参数:

(a) 沉积物产状: 层理厚度和姿态(方向或角度)、层理接触(例如递变、突变和冲刷)、沉积结构(例如层状层理、粒序层理、交错层理、裂缝或微断层、流体逃逸结构和生物扰动)、沉积物颜色(借助例如孟塞尔(Munsell)土壤颜色图进行分类);

(b) 沉积物组成: 质地(砂、淤泥、粘土)、矿物组成、化石组成、元素含量、结核、生物物质、宏观生物成分和非生物成分鉴定;

(c) 早期成岩作用: 成岩程度, 岩化或胶结(存在硅质或钙质胶结物);

(d) 物理机械特性: 绝对比重、体积密度、沉积物孔隙度、流体饱和度、剪切强度和粒径;

(e) 氧化还原状态: 沉积物条件从氧化变为亚氧化的深度。

220. 所收集的信息应用于确定海底底质特征和地貌特征, 从而详细了解采矿权区的采前条件。

F. 生境分类

221. 为方便其他取样工作, 应使用国际水道测量组织提供的海底地物名称标准化术语(2019 年), 以符合资源和生境变异性的比例制作对基本地貌特征、生境分类和因取芯造成的非生物扰动作出定性描述的地图。

G. 数据质量

222. 关于海洋观测质量保证的细节，包括标准和指南，可参考 Bushnell 等人 (2019 年) 及其他人撰写的资料。所有方法应根据质量保证计划进行比对检查 (Simpson 和 Batley, 2016 年)。水道测量质量控制指南和数据处理准则可查阅 <https://iho.int/en/standards-and-specifications>。

H. 数据管理

223. 应将一套具有代表性的采前海底沉积物岩芯连同适当的元数据储存在适当的资料库中，以便以后进行比较，并在必要时开展额外测试。

224. 所有观测结果应按照常规数据格式记录在工作表中。观测结果应附高质量特写照片，并附上参考比例。

225. 海洋最佳实践系统(2020 年)载有关于数据管理的最佳实践文件模板。模板也可以从 <https://repository.oceanbestpractices.org/handle/11329/1245> 下载。

七. 生物群落

A. 导言

226. 生物群落的环境基线应包括关于水层和底栖群落及其生态系统功能的空间和时间数据，以及关于海洋哺乳动物、鸟类、海龟、鱼类和大量海面自游生物和浮游生物的信息。收集的数据应多种多样，范围之广应足以评估采矿对海底和水柱的潜在影响。

227. 为界定生物群落，应确定以下变量：

(a) 水层群落：水层系统包括从海面到海底的整个水柱。水层生物小至细菌，大至鲸鱼。大量的水及其内的生物在潜在的采矿地点穿梭，因此取样应超出直接采矿影响区，涵盖进出采矿影响区和可能与采矿影响区相互作用的全部水和生物；

(b) 底栖生物群落：底栖生物是生活在沉积物中或沉积物上或海底附近的成年生物群。底栖生物范围广，包括从细菌和原生生物到后生动物的广大生物。采矿对底栖生物有直接影响，表现为生境清除或生境解体，并带来间接影响，表现为浊度升高和沉积物重新沉降；

(c) 连通性：了解遗传多样性、生物地理学、分子连接模式、生境限制性和地方性以及更替，对于确定干扰后是否可能恢复至关重要；

(d) 生态系统机能运行：需要了解生态系统如何运行，才能了解小范围干扰如何导致食物网结构和底栖生物群落有机物质循环发生变化；

(e) 生态毒理学：采矿作业期间释放的金属和其他污染物可能对生物生理产生影响；因此，必须了解它们的潜在毒性；

(f) 海洋哺乳动物、鲨鱼、海龟和海面自游生物：必须记录总合同区内存在的各个物种，特别是敏感、受威胁或濒危受保护物种，因为它们的季节性洄游路线可能经过该区域。应考虑评估这些生物对噪声和特定声音频率的易感性、可能遇到这些生物的深度、光照和未来采矿作业可能对它们产生的影响；

(g) 海鸟：海鸟是世界范围内最受威胁的鸟类种群。海鸟的行为受到海洋设施的影响。由于海鸟对重金属和有毒物质的生物累积作用，因而是生态系统整体健康状况的良好指标。

B. 一般方法

228. 为捕捉生物参数的季节性变化，有必要进行时间取样。这些生物参数用于生态毒理学研究，包括但不限于组织中的金属和其他污染物浓度。另一个需要考虑的因素是生命史特征，例如可能穿越合同区或参照区的大洋水层物种的洄游模式。

229. 为了记录区域多样性和连通性模式，可能需要对在一系列空间尺度(例如从几十公里到几千公里)上收集的标本进行比较。开展这种比较可能需要在确定基线时对遥远的地点取样，或者也可以依靠与第三方数据源进行比较。

230. 所有分类鉴定都应以尽可能最好的分辨率进行。应使用分类单元的分子样本来支持鉴定。

C. 取样分辨率

1. 大洋水层取样

231. 在大洋水层区，生物群落按深度划分如下：透光层，有充足的光照供浮游植物进行光合作用(0 至 200 米)；中深层或半阴影区，以深海散射层的动物为主(200 至 1 000 米)；次深层或海洋内部，栖息着黑暗深海(大于 1 000 米)特殊生物。在这些深度带内有区分得更为细致的海层。相比之下，水平分布情况在数百公里范围内可能相当均匀，间或在海洋锋或涡流系统处出现过渡带。关于海洋水层微生物取样和分析的详情，见下文关于微生物群的第 5 分节。

232. 应在每个生物群落的垂直分层内取样。与第三.A 节中提到的特定点样本不同，测深剖面应为：从海面延伸到 50 米；50 至 100 米；100 至 200 米；200 至 500 米；500 至 1 000 米；从 1 000 米至海底以上 10 米深处。

233. 特别是在超出了船舶声呐最大范围的 1 000 米以下水深，可以利用成像系统增强拖网取样。这些成像系统包括水下视频剖面仪(固定在钢索上降至水下拍摄垂直剖面)、用于绘制斜剖面的潜水器(如 Robison 等人(2013 年)所述)以及用于生物发光剖面分析的各种其他系统(如 Heger 等人(2008 年)所述)。对于这种深度的勘测而言，遥控水下机器人和自动潜航器可能变得重要。

2. 海底取样

234. 海底取样应涵盖大小分类、不同底质(包括沉积物和结核)、生物地球化学(见第五节)、生态系统机能运行和遗传学。有关特定变量的详情见以下各节。

235. 在船上操作取样装置和处理样本时，应遵循以下最佳做法：

(a) 沉积物取样仪器应轻轻在海底着陆，尽量减少艏波效应(从船舷旁送入海中，慢放绞索，使用遥测技术)；

(b) 不应从大型动物的箱式岩芯提取子样本。来自一个箱式岩芯的子样本以及来自同一次用多管取样器取得的不同岩芯均为伪重复样本，不应视为真重复样本(见第三.A 节)；

(c) 为提高DNA质量，样本和标本应尽可能低温存放(样本在冷藏室中过筛，在冰上，最好在船上分选，标本及筛余物在冷乙醇中保存，样本运输和储存过程中保持冷链)。

236. 所需的样本数量应使用功效分析(Jumars, 1981 年)和基于探索性取样的稀疏曲线来确定。对于大型动物，探索性取样应在每个自然地理单元采集 5 至 10 个岩芯。以往研究表明，至少需要 20 个完整的箱式岩芯，但最好应使用 30 个以上，以便获得适足的基线，对一个自然地理单元中采矿前和采矿后的大型动物丰度进行统计比较。实际数量应根据调查区域的具体功效分析和稀疏曲线确定。对于巨型动物，需要开展功效分析才能优化设计。设计样带时，应力求在每个样带内遇到 500 个以上生物个体。应获得至少 5 个样带(Simon-Lledo 等人, 2019 年)。

237. 取样策略应侧重于会直接受到采矿影响的自然地理单元(例如结核覆盖密集的平台)、可能受到其他变量显示的次级影响的自然地理单元(例如羽流可能沉降的地区)和适当的参照地点。

D. 测定变量：大洋水层群落

238. 水柱的垂直结构应根据以多个频率(18、38、70、120 和 200 千赫)运作的船载声学回声探测系统(Simrad EK60 或等效设备)描述，该系统在每航次开航前须校准。为估计总生物体积或生物量，应既在白天也在夜间对样带开展调查，例如每个位置 10 条样线，每条样线 8 海里长，船速为 8 节(Cox 等人, 2013 年)。应对数据进行处理，以根据生物量与深度的函数关系估计生物量以及从海面到 1 000 米深度的总综合生物量(Irigoien 等人, 2014 年)。应使用多频分析法对声散射层进行鉴定和分类，以区分鱼类、鱿鱼和甲壳类动物(Benoit-Bird 等人, 2017 年)。使用 Simrad EK60 或等效设备进行的声学回声探测仪勘测应至少持续三个周期，每周期 24 小时，对 Klevjer 等人(2016 年)所述的昼夜垂直洄游进行定量。

239. 应尽可能使用历史参考点，这些参考点可通过检视各种档案中现有的全球声散射数据获得，例如世界海洋学数据中心和国家数据中心以及“中深层生物地理学”等全球数据集(Proud 等人, 2017 年)。

240. 大洋水层群落的组成部分和每个群落的适当取样方法如下：

(a) 浮游植物：应利用适当的卫星多光谱图像来源(先进甚高分辨率辐射仪(AVHRR)、海洋观测宽视场传感器(SeaWiFS)、中分辨率成像分光仪(MERIS)和中分辨率成像光谱仪(MODIS))摸查整个采样区的初级生产(叶绿素-a)情况。为校准

和核实基于卫星的初级生产估计数，必须进行取样。为确定空间和时间的自然变异，有必要重复取样。使用温盐探仪中的 Niskin 采样瓶收集的水样产生不同深度浮游植物的数据。

(b) 浮游动物(季节浮游动物和终生浮游动物)：浮游动物应使用网具取样，以获取凭证标本进行鉴定和 DNA 测序，每个大小分类的取样不同。可以使用高清晰度视频、主动声学成像(即多波束照相机)、光电倍增器(用于测量生物发光)、高清晰度声成像以及生物声学声呐对大型和中型浮游动物物种进行分类和定量。为了确定群落组成，必须计算每个取样区的物种分布和群落结构，并使用高清晰度声成像汇总整个区域的数据。补充数据可通过 eDNA (DNA 原位测序仪)获得 (Danovaro 等人, 2020 年)，方法如下：

(一) 浮游动物：应使用网具、光学工具(如水下视频剖面仪)和自动潜航器/遥控水下机器人对浮游动物进行取样，以评估和检索凭证标本，用于鉴定和 DNA 测序，每个大小分类取样均不相同。用于取样的网具，网目尺寸应小于 1 毫米；应在深水水域使用邦戈网或浮游生物泵，并(或)使用多层开闭网，以便在一次拖曳中采集离散深度的样本(见 [ISBA/25/LTC/6/Rev.1](#) 和 [ISBA/25/LTC/6/Rev.1/Corr.1](#))。网具应配备流量计，以测量取样体积，并配备深度和温度传感器。样本应在距海底 100 米处向上至海面之间采集，每个取样站至少进行两次拖曳。

(二) 中深层自游生物：应使用较大的网具，例如 Wenneck 等人(2008 年)描述的大型浮游动物网(“磷虾”网)，这是一种大洋水层拖网，适合捕捞散射层鱼类以及不同深度的甲壳类动物和其他生物的代表性样本。这种网具有五个网囊，每个网囊配备一个七升的桶。也可以使用更大版本的 MOCNESS。样本应在距海底 100 米处向上至海面之间采集，在各散射层深度之处进行水平拖曳，并同时回声测深仪上观察，确保正确对标。Cook 等人(2013 年)描述了样本处理过程。在海面至水深 200 米的范围内取样，建议使用两张带网囊的网具，一张网囊网目大小为 350 微米，另一张网囊网目大小为 200 微米。对于多层开闭网系统，网目大小可以从 64 微米到 3 毫米不等，这取决于研究目的和目标生物。

(三) 胶状浮游动物：胶状浮游动物占浮游生物量的很大比例。从海洋上层到深渊层包括海底边界层栖居着丰富多样的胶状浮游生物。光学工具(例如水下视频剖面仪)或自动潜航器/遥控水下机器人样带是调查胶状浮游动物的最佳手段。这些仪器在水柱中布设的深度间隔应与拖网相似。

(四) 近底层浮游生物：可使用浮游生物网对近底层进行取样，但必须在网具上安装准确的声脉冲器系统、深度计或高度计，以减少因接触海底而造成损害的风险。也可使用安装在海底拖行拖橇(例如“Brenke 拖橇”)上的浮游生物网对该层进行采样。可使用系泊在近海底处的浮游生物泵在其正上方的不同高度收集量化浮游动物样本；可使用系泊沉积物收集器收集浮游动物的定性样本。

(c) 微生物群：微生物群是肉眼看不见的生物，小于小型底栖动物。操作定义为小于 32 微米，包括纳米浮游生物、原生生物、细菌、古菌和病毒。水柱和近底水层中的微生物群落在生物地球化学循环中起着至关重要的作用。有关取样和分析指南，见 E 节第 5 分节。

(d) 自游生物：自游生物体型范围很大，从小的微型自游生物(2 至 20 厘米)到大型鱼类和鱿鱼。每个大小分类的取样均不相同：

(一) 小型自游生物应用采样网采集，即 MOCNESS；

(二) 较大的生物应使用中层拖网采集标本，使用声学方法估计生物量并对深海散射层进行分类。

241. 浮游动物的各种要素应使用尽可能低的分类等级进行定性。终生浮游生物应在种级水平上鉴定。对于季节浮游生物，可能有必要鉴定到更笼统的类群，例如棘皮动物幼体、多毛纲担轮幼虫或卵等。分子分析可以帮助鉴定终生浮游生物和季节浮游生物类群。

242. 对于所有动物类群，应获得成像和分类学信息；应利用分子技术获得遗传特征，以便在合同区之间进行分类学比较。

243. 应测量的参数为叶绿素-a 浓度($\mu\text{g l}^{-1}$)、浮游植物组成和生物量、微型自游生物和浮游动物的昼夜迁移、浮游动物和其他动物类群的丰度、组成和生物量。

244. 应根据这些测量结果和为其他参数收集的测量结果确定初级生产力、动物类群密度和多样性(单变量和多变量)、大小分类和功能群。

E. 测定变量：底栖群落

245. 底栖生物可分为若干大小分类和功能群。虽然取样应尽可能统一，但为每个类群取样时要考虑不同的因素。这些类群是：

(a) 巨型动物：图像中可见的生物，通常尺寸大于 1 厘米；

(b) 大型动物：通常为环节动物、端足类、原足目和等足目甲壳类、软体动物、较小的棘皮动物，通常可用网目大小为 250 至 300 微米的网具捕获。此外，深海海底样本还含有大量大型有孔虫(Bernstein 等人, 1978 年)和线虫等体型较大的小型底栖动物，不过这些都鲜有研究。Hessler 和 Jumars (1974 年)建议在严格意义上的大型动物中排除最常在小型底栖动物样本中出现的型体较小的类群；这正是本准则采取的办法。小型底栖动物分类群中的较大型物种种群仍可在通常用于大型动物的较大取样单元中得到更准确的取样，并可被视为严格意义上的大型动物的一部分。在克拉里昂-克利珀顿区，严格意义上的大型动物主要由两个分类组别组成：多毛纲和原足目；

(c) 小型底栖动物：通常是线虫、猛水蚤目桡足类、介形类、动物类和其他无法通过筛孔尺寸为 32 微米的网筛的小型无脊椎动物(后生小型底栖动物)。这一大小分类还包括大量较小尺寸的有孔虫(有孔虫小型底栖动物)。从实用角度出发，通常限于不能通过筛孔尺寸为 150 微米、125 微米或 63 微米的筛网的有孔虫；

(d) 与多金属结核有关的动物：在结核丰富的地区，结核是底栖生境结构的一个重要来源。结核底表动物主要由八放珊瑚、海绵、海葵和有孔虫组成。在结核裂缝内的沉积物中发现的结核底内动物以小型底栖动物为主；

(e) 微生物群：肉眼所不能见的生物，小于小型底栖动物。操作定义为小于 32 微米；

(f) 底栖鱼类和食腐动物：游走动物，经常是海底边界层中活跃的捕食者；也包括食用落入海底的鱼类或鲸鱼等尸体的物种。

1. 巨型动物

246. 应通过沿直线型样线成像的方式，对从最广义上讲与采矿作业相关的巨型动物开展评估，并在特定地层或自然地理单元内重复取样。应尽可能使用基于照片(静态图像)而不是视频(动态图像)的图像评估，这可以极大地促进分析和质量控制。可以从质量非常好的视频图像中提取静态图像，但照片的质量几乎总是更高。应尽可能纳入视频，以便评估较罕见的、流动性高的形式(如鱼类)出现的情况，并提供多个视角，开展行为观察。

247. 静态照相机应具有足够高的分辨率，提供充分细节，可靠地显示尺寸大于 10 毫米的巨型动物(例如，海底每个 10×10 毫米的正方形在图像中得到 40×40 像素覆盖)。此外，静态照相机上的曝光设置应该能够手动控制。此外，如果视频分辨率足够高(即至少 720p 高清；每幅图像约为 100 万像素)，可用其对尺寸大于 10 毫米的巨型动物进行可靠的特征描述。得到的图像最好是“raw”格式，即来自图像传感器、只经过最低限度处理的数据。

248. 海底图像应光线充足、分辨率高，图像的比例和质量须稳定一致，能识别设定尺寸的巨型动物个体(通常为 10 毫米)。应使用能够实现上述拍摄效果的平台获取图像。可以是自动潜航器、遥控水下机器人、海底爬行车或拖曳式摄像平台。测量高度应保持恒定，以便在海床上方的恒定高度获得图像。平台的导航信息使用声学应答器系统以规则的频率间隔(例如 1 赫兹)自动获取。

249. 起始位置和样带走向应是随机的。样带应予重复。重复数量应使用统计功效分析加以确定和论证。对于每个目标层应取得至少五个重复样带(Simon-Lledo 等人, 2019 年)。各样带应相互独立(即一条长的样线不应切分成相邻的多个部分)。有多种高效办法获得独立样带；例如，可以以“之”字形获得多个直线型样带。样带不应跨越自然地理单元。

250. 应利用该区域的现有数据确定样带长度，从而确保在每个样带内遇到足够数量的巨型动物，得以对感兴趣的指标进行有效和严谨的评估。在评估生物多样性时，样带设计应以每个样带遇到 500 个以上的个体生物为目标(Simon-Lledo 等人, 2019 年)。

251. 样带宽度应根据实际成像高度计算，通常为 2 米左右。如果有足够的定位信息和空间上精确的取样方法，则应获取相邻的重叠样带以便创建镶嵌图像并覆

盖更广泛的区域，只要镶嵌图像有足够的分辨率，就能够可靠地鉴定尺寸超过 10 毫米的生物体。

252. 应列出不能确定是否为活体的分类群，如生活在壳或管中的无脊椎动物(大多数多毛纲和腹足类分类群)。可能有必要将它们排除在定量分析之外。

253. 巨型阿米巴虫(原生巨型动物)应单独分析(Gooday 等人, 2017 年, 2020 年 b)。其数量通常比后生巨型动物的数量高出几倍。

254. 在大多数分析中，应将图像样带作为样本单位加以分析(即每个样带中记录的所有生物应相加形成一个单一样本单元)。

255. 所有图像应按照摄影测量法进行缩放，使用相机的已知光学特性、相机在采集设备上的位置、测高仪记录和潜航器俯仰和横滚角度数据。报告时应说明所覆盖的海底面积。

256. 应使用专业的注记软件(如 BIIGLE)对图像进行注记(Langenkämper 等人, 2017 年)。可以使用一系列非常适用于海底图像分析的图像注记工具中的任何一种(Gomes-Pereira 等人, 2016 年; Schoening 等人, 2016 年)。

257. 图像应以随机顺序进行分析(以尽量减少任何与序列或时间有关的偏差)。所有尺寸大于 10 毫米的巨型动物个体都应进行检测和注记。应以可达到的最高分类学分辨率进行鉴定，即按形态类型(操作性分类单元)进行一致的鉴定，通常是在属级或科级(Howell 等人, 2019 年)。每个个体的物理尺寸应该基于已知的图像像素尺寸来计算。

258. 在可能的情况下，对照片或录像中的物种观察应通过对几个收集的标本进行分类和(或)遗传分析加以核实。最近的研究表明，一些巨型动物(例如蛇尾纲动物)可能包括物种复合体(例如 Christodoulou 等人, 2020 年)。

259. 应以便于今后使用并且便于与其他研究进行比较的方式介绍结果，从而有可能将数据纳入区域和其他评估。通常，这包括提供形态种丰度矩阵，并提出密度值(每平方米的数量)、希尔 0、1 和 2 多样性阶数(0: 形态种丰富度[S]; 1: 香农指数的指数形式[$\exp H'$]; 2: 逆辛普森指数[$1/D$])和多变量评估(理想情况下应纳入过去的数据进行比较)。

260. 应测量的参数是对适当的分类/功能群以及对整个后生动物/巨型阿米巴虫群落取样时每个取样区的标本丰度值(每平方米个体数)。此外，应记录所遇到的每个个体的大小以及对其所在位置详细情况的任何观察(如是否附着在结核上)。

261. 应在这些测量的基础上确定密度、用于描述群落结构的统计数据(单变量和多变量多样性测度)以及分布模式。这些结果应包括地图或成像区域，还可以包括已识别的海底生境范围。

2. 大型动物

262. 应采用海管局《技术研究》第 13 期：克拉里昂-克利珀顿区深海大型动物中概述的方法对大型动物进行采样。更多资料见 [ISBA/25/LTC/6/Rev.1](#) 和 [ISBA/25/LTC/6/Rev.1/Corr.1](#)。

263. 既应收集生活在结核上的大型动物，也应收集生活在沉积物中的大型动物。一旦取回船上，应使用虹吸管吸出上覆水并过筛，之后对岩芯表面拍照。上覆水中的筛余物应与表层沉积物一并处理。

264. 对于与结核有关的动物，在回收箱式岩芯时，应鉴定附着在结核表面的肉眼可见的底表动物。结核动物应在其仍附着在结核上时放入装有冷过滤海水(4°C)的特殊小水族箱中成像；之后应移除动物，提取一小部分 DNA 样本放置于中装有 96%冷乙醇(-20°C)的 2 毫升试管内，并将生物体固定在另一支试管中。结核应放回原容器。所有与结核接触过的水应在筛孔尺寸为 32 微米的筛子上过筛，并将筛余物加入原容器中。在将结核保存在福尔马林或冷乙醇之前应记录其大小和重量。

265. 对于沉积层动物，所有处理应在低温实验室进行。应将取样器中的表层水虹吸过筛(250 微米或 300 微米)，并拍摄完好岩芯的表面和横断面图像，记录所有生物扰动以及沉积物颜色变化的深度，以识别沉积物类型的垂直变化。沉积物应按以下深度分层：0-3 厘米、3-5 厘米和 5-10 厘米。每一层均应用冷过滤海水过筛。应立即对最上层样本进行分类，并在处理更深层切片前，将更深层切片的残余物保存在低温实验室的冷过滤海水中。越来越需要样本进行形态分析和分子分析；因此，应审慎使用甲醛作为固定剂，因为甲醛可能导致无法对样本进行分子分析。为进行形态分析和分子分析，在冷藏实验室(4°C)中，0-3 厘米和 3-5 厘米的沉积物层应用冷过滤海水过筛，并将筛余物保存在 10%的缓冲甲醛或 96%的乙醇中。在实验室中，5-10 厘米深的沉积物层应用冷过滤海水过筛，并将筛余物固定在 10%的缓冲甲醛或 96%的乙醇中。如有大量筛余物，或需使用更高浓度的甲醛，以确保对标本进行完好固定。不应用甲醛溶液固定甲壳类群，如等足类和原足类；对于这些类群，建议在 96%的预冷乙醇中保存。样本应在甲醛溶液中固定至少 24 小时。此后，应尽快将所有样本从甲醛溶液转移至 70-80%的乙醇溶液中。

266. 为进行分子、形态和生物多样性研究，应对上面 0-3 厘米深度的沉积物层过筛，保留筛余物，并以尽可能的低温保存样本，在“冰床”上将所有后生动物分为容易识别的分类组别。在用乙醇保存前，应拍摄标本的活图像。可用 DESS 溶液(Yoder 等人, 2006 年)保存线虫。其他层应过筛，筛余物按以上所述方法检查，或保存在 96%的乙醇中。多毛环节动物应保存在 80%的冷乙醇中，线虫应保存在 DESS 溶液中(并在 4°C 条件下储存)，所有其他组别应保存在 96%的冷乙醇中。应在 24 至 48 小时后更换乙醇，并在-20°C 条件下保存样本。

267. 应记录的参数为每个形态种的分类学分类、显示丰度(每个取样器的个体)的按站位分列的物种矩阵以及基因序列。

268. 根据这些测量,应确定密度、物种丰富度、描述群落结构的统计数据(单变量和多变量多样性测度)和分布模式。

3. 小型底栖动物(包括有孔虫小型底栖动物)

269. 应使用海管局《技术研究》第7期:海洋底栖线虫分子协议手册(线虫纲动物条码编目)中概述的方法对后生小型底栖动物进行取样。

270. 为进行生物多样性分析,小型底栖动物应限于通常被认为是小型底栖动物的沉积层动物类群,如线虫类、猛水蚤目桡足类或动物类。在小型底栖动物样本中发现的大型动物类群(例如多毛环节动物和原足类动物)可予以记录,但不应计入小型底栖动物丰度估计值。

271. 每次部署多管取样器至少应有一个岩芯专门用于后生小型底栖动物的形态特征分析,一个岩芯用于有孔虫目的形态特征分析。额外岩芯应用于通过条形码和/或宏条形码技术,对这些类群和其他小型真核生物(例如小型裸原生生物)进行分子特征分析(Gooday 等人, 2020a)。可对从沉积物中提取的小型底栖动物或此类沉积物样本进行宏条形码分析;后者将构成 eDNA 样本。

272. 如果结核丰富,它们可能会在取样时移动,因而扰乱沉积物,造成不同程度的扰动。因此,应在每次部署前对分析进行优先级排序,将受扰动最少的岩芯分配给优先级最高的分析,并在多次部署时轮换优先级排序。

273. 回收上船后,应先对所有岩芯进行拍照。用于后生小型底栖动物分析的岩芯的上覆水应用塑料软管虹吸过 32 微米筛;筛余物应与表面沉积物一并处理。应根据目视检查对岩芯进行分层切割。通常,结核的存在会妨碍切割,在这种情况下,可以整体保留 0-5 厘米的未切片岩芯部分。或者,可去除结核,并使用切割片将岩芯分成以下几层: 0-1 厘米、1-2 厘米、2-3 厘米、3-4 厘米、4-5 厘米(第三.A 节中确定的深度,但沉积物切割深度往下不超过 5 厘米)。

274. 用于有孔虫分析的岩芯应按上述要求切割,每个沉积物切片单独保存在硼砂缓冲的 4%的甲醛溶液(=10%的福尔马林)中。

275. 应明确提及保存小型底栖动物样本的温度和化学溶液(类型和浓度)。预期用于何种分析决定了需要哪种类型的样本保存方式。例如,用于形态分子研究(即条形码分析)的样本应在 4°C 条件下保存在 DESS 溶液中(Yoder 等人, 2006 年)。如此保存的样本可用于研究形态特征(即保留凭证),同时保留从同一标本提取遗传物质(即 DNA 条形码)的可能性,从而创建形态学和分子鉴定间的联系(Bhadury 等人, 2006 年)。用于宏条形码分析的样本应在取样后立即冷冻至-20°C 及以下(Macheriotou 等人, 2020 年)。此外,样本应用硼砂缓冲的 4-8%的甲醛-海水溶液保存,但这些标本只能用于形态分析。至少应对一个岩芯提取子样本,以进行小尺寸真核生物(原生动物的后生动物)的宏条形码分析。应使用无菌样本勺从每个岩芯提取三份沉积物子样本(体积约 2 毫升),直接放入装有 5 毫升合适的土壤保存液的塑料管中,在-20°C 条件下保存。发现任何结核都应单独保存,以便进一步分析与结核有关的动物。

276. 进入实验室后，应立即使用任一小型底栖动物提取标准程序对样本进行处理。对于后生小型底栖动物，应遵循浮选和离心法(例如，以 1 905 rcf)，因为已知此种方法可分离出高达 80%或更多的动物(McIntyre 和 Warwick, 1984 年)。由于浮选结果不稳定，应手工分选有孔虫样本。应努力将单室(monothalamous)“软壳”部分纳入生物多样性评估，因为在克拉里昂-克利珀顿区和印度洋的样本中，这些生物数量丰富，在有孔虫多样性中占主导地位。然而，为了监测目的，分析可侧重于多室、硬壳类群，它们虽然在丰度和多样性方面不及单室有孔虫，但人们对它们的了解却更多，研究所需花费的时间更短(即所说的微体古生物学办法)。

277. 在有孔虫研究中通常使用网目尺寸为 150 微米、125 微米和 63 微米的筛。网目尺寸的选择需权衡以下两个方面，一方面，筛余物越细小，分析就越费力，另一方面，碎粒越细，可获得的物种和数据就越多(Gooday 和 Goineau, 2019 年)。在生物监测研究中，建议一般使用 125 微米筛(Schönfeld 等人, 2012 年)，但 63 微米粒级可获得关于环境敏感物种的额外信息(Lo Giudice Capelli 和 Austin, 2019 年)，而 150 微米粒级保留了在更细的颗粒中很少出现的各种较大的单室有孔虫(Goineau 和 Gooday, 2017 年, 2019 年)。理想情况下，应分析所有三个粒级(> 150 微米、125-150 微米、63-125 微米)，但如果这样做不切实际，应始终使用一个粒级(> 150 微米、> 125 微米或> 63 微米)。

278. 用于形态分析的筛余物应在玫瑰红溶液(例如，1 克染色剂兑 1 升自来水)中染色，例如，将盛有筛余物的筛放在染色溶液碟中过夜，然后在筛中清洗筛余物，以洗除多余染色剂。有孔虫分类应在水中进行，例如在皮氏培养皿中。应使用移液管从培养皿中取出脆弱的单室有孔虫，并将单室有孔虫保存在玻璃腔室载玻片上的甘油中，载玻片不加盖，以便于随时查看标本。更坚固的硬壳物种应保存在干燥的微体古生物载玻片上。关于处理有孔虫样本的更多细节，包括湿法分割和沉积物筛分、区分“活标本”和死标本以及碎裂问题，应查阅 Goineau 和 Gooday (2017 年、2019 年)以及 Gooday 和 Goineau (2019 年)的论文。这些论文及其补充材料包括许多常见、但大多未被描述的单室有孔虫的照片。应参考 Schönfeld 等人(2012 年)和 Alve 等人(2016 年)在论文中提出的关于在监测研究中使用多室有孔虫的微体古生物学办法的建议。

279. 应记录的参数为种/属清单、显示每 10 平方厘米丰度密度的按站位分列的种/属矩阵以及基因序列。

280. 根据这些测量，应确定密度和描述群落结构的统计数据(单变量和多变量多样性测度)。

4. 与多金属结核有关的动物

281. 结核的生长速度极其缓慢，这意味着一旦被移除，需要数百万年才能重新建立这种硬底质。因此，必须确定在深海结核区的软质沉积物和结核之间共享物种的程度，以及它们在该生境中的功能或作用。

282. 采集样本时，应使用箱式取样器(取样面积至少为 0.25 平方米)、遥控水下机器人或任何其他类似能采集原状沉积物和结核样本的海底装置。

283. 应小心移除沉积物中的所有多金属结核，拍照并检查是否存在底上动物。如何进一步处理取决于正在调研的动物种类。

284. 应立即对附着在结核外表面的所有底上生物进行拍照，小心地从结核上取下，并保存在 96% 的乙醇中，以便进一步进行显微镜和其他实验室分析。然后在 32 微米筛上分别清洗每个结核的表面；过筛物应被视为周边沉积层动物的一部分。结核上的软沉积物应单独清洗，最好用细目筛(20-25 微米)清洗，过筛物应被视为各个含动物沉积物层的一部分。对于结核-裂隙后生小型底栖动物，应仔细清洗结核以去除粘附的沉积物，并应对结核进行测量和称重。如有需要，应将清洗干净的结核机械分解，并固定在缓冲甲醛或 DESS 溶液等中，用于形态和分子研究，但要记住，如此固定可能会影响结核的物理完整性。然后可以使用任一标准小型底栖动物提取程序处理样本。然而，建议使用浮选和离心法(例如，以 1 905 rcf)，因为已知此种方法可分离出高达 80% 或更多的动物(McIntyre 和 Warwick, 1984 年)。然后，上清液必须过 20-32 微米筛。筛余物应在立体显微镜(放大 40 倍)下仔细检查。应将所有动物生物鉴定至尽可能低的分类等级，计数、分类并分别单独保存在 4°C 的 DESS 溶液中，以便之后用于分子鉴定。

285. 为进行有孔虫研究，应从箱式岩芯或多管取样器采得的岩芯表面取下结核，分别置于单独的容器中，并保存在硼砂缓冲的 4% 的甲醛溶液(10% 的福尔马林)中。应使用广口瓶，以便在不损害脆弱的包壳有孔虫的情况下轻松从瓶中取出结核。在实验室中，必要时应仔细清洗结核，用移液管向表面喷水，去除任何粘附的沉积物。然而，清洗应保持在最低限度，应尽可能小心且尽可能少地处理结核。清洗后，应将结核放在一碗足以完全覆盖结核的水中，并在装有数码相机的立体显微镜下进行检查。有孔虫通常在上表面更常见，可能集中在较高的点，但也可能存在于底部。应对不同的形态型进行拍照，以建立记录有孔虫多样性的目录。如有可能，应记录每种形态型的标本数量。然而，对大的网状结构和界限不清的管状系统等形态而言，这一点很难做到。

286. 应记录的参数为尽可能最低等级(理想的是物种等级)的分类鉴定清单、每个结核的丰度(结核体积/重量)和基因序列。

287. 根据这些测量，应确定密度、描述群落结构的统计数据(单变量和多变量多样性测度)和分布模式。

5. 微生物群

288. 采集沉积物样本应使用遥控水下机器人操控的推进式取样器、载人潜水器推进式取样器、箱式取样器、电视引导箱式取样器、多管取样器或电视引导多管取样器，取样器应尽可能在靠近采集点的地方密封，以防止回收过程中被污染。

289. 应使用盐温深轮盘式采水器或使用过滤和提取颗粒的原位装置(如 McLane 水样抽滤取样系统)采集水样，取样器应尽可能在靠近采集点的地方密封，以防止回收过程中被污染。应在水柱取样确定的重要水层采集样本(见第五节)。要取样的水层包括但不限于表层、次表层叶绿素最大值层、缺氧层和近底层。

290. 用于培养法的样本应在 4°C 条件下保存。用于免培养法的样本应在-80°C 条件下保存或保存在液氮中(对于水样, 在使用带有微滤膜的微生物过滤装置过滤后再保存)。

291. 应使用 DNA 特异性染料(如 DAPI)进行荧光染色, 或使用组特异性寡核苷酸引物进行实时聚合酶链反应(Labrenz 等人, 2004 年), 以获得微生物计数。如使用培养技术, 这应在取样船上进行。

292. 应按酚氯仿 DNA 提取法或借助 DNA 提取试剂盒获得微生物 DNA; 分别采用分光光度法(Qbit、nanodrop)和 DNA 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 纯度和完整性。合格的微生物 DNA 应在高通量测序平台(例如用于宏条形码分析的 HiSeq X、NovaSeq、Sequel II、MinION、GridION、PromethION 和 MiSeq)进行测序。对于重要的标记基因(例如 16S rRNA 基因、功能基因)应进行额外的扩增子测序。

293. 应在样本回收后尽快使用 RNA 提取试剂盒或类似试剂获得微生物 RNA; 分别采用分光光度法和 RNA 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 纯度和完整性。合格的微生物 RNA 应在高通量测序平台进行测序。此外, 应采用实时聚合酶链反应方法, 使用特异性寡核苷酸引物分析特异性 RNA。

294. 目前还没有涉及高通量测序的标准分析方法。普遍接受的方法是用于质量控制的 FastQC; 用于组装测序读数的 SPAdes; 用于叠连群分箱的 MetaBAT 2; 用于生成扩增子序列变体的 DADA2; 用于序列比对和基因注释的 BLAST+; 用于组装和分箱质量评估的 CheckM (Breitwieser 等人, 2017 年)。

295. 应提供微生物种群的基因组测序分析结果或宏基因组分箱结果。

296. 应记录的参数为鉴定、丰度和基因序列。

297. 根据这些测量, 应确定微生物多样性、群落构成、丰度和不同类群的功能差异。

6. 底栖鱼类和食腐动物

298. 应使用三大取样类别中的两种或两种以上: 底拖网、诱饵系统和图像样带。应当指出, 遥控水下机器人、自动潜航器或下投式摄像机采集的视频样带和图像不适合对鱼类进行取样, 因为它们可能吸引物种, 或使之不敢靠近, 从而导致监测到的物种组成和丰度出现偏差。对于图像样带, 应遵循第 1 小节概述的办法。底拖网可以独立牵引, 也可以在摄像拖橇后面牵引, 从捕获物中可获得凭证标本用于分类和 DNA 测序。陷阱和延绳的缺点是具有物种选择性, 因此不应该用于生物多样性研究。安装在着陆器上的诱饵相机可以对任何给定区域的咬饵动物进行无偏见取样。对于端足类动物, 可将小型米诺鱼类陷阱连接到相机着陆器的腿上, 以捕捉凭证标本(Jamieson, 2015 年)。

299. 照相机系统的缺点是在图像中通常难以区分物种, 但如果使用照相机系统, 则应当在每个取样区域进行至少 10 次重复的带饵照相机投放。底拖网取样的缺

点是调查拖网可能对脆弱的底栖物种和生境产生不利影响(Duran Munoz 等人, 2020 年)。

300. 应记录的参数为尽可能最低等级(理想的是物种级)的分类鉴定清单、丰度、基因序列(如采集样本)、个体大小测量数据、(对于带诱饵的着陆器)诱饵着陆后的到达时间和就每个物种观察到的最大个体数量。

301. 根据这些测量, 应确定密度、物种丰富度、描述群落结构的统计数据(单变量和多变量多样性测度)和分布模式。

F. 测定变量: 连通性

302. 应利用来自几个地理位置和/或生境的样本对关键物种进行种群连通性研究。对于每个物种, 在理想情况下每个种群中的个体数量应相对较大(每个地点> 10-20 个个体), 以便只评估相对丰富的物种, 并将其用作更广泛组合的替代物种。然而, 鉴于在克拉里昂-克利珀顿区发现的一些物种的密度相对较低, 即使相对较少的数量(每个地点 3-5 个个体)也应足以进行连通性研究(Taboada 等人, 2018 年)。

303. 根据环境, 为采集足够个体进行连通性研究, 除上文提及的取样器, 可能还需要使用其他取样器。例如, 可能需要在底栖生境中使用底表撬网等采集方法, 以确保采集到足够多的大型动物个体。但是, 如果这些方法可能对敏感特征产生负面影响, 则应避免使用。连通性研究样本的采集和保存方式应确保将 DNA 保持在最佳状态, 如 Glover 等人(2016 年)所详述。保存大标本或大标本的组成部分时, 应使用 96% 的乙醇而非 80% 的乙醇。

304. 为了分析, 应该使用反向分类办法(Janssen 等人, 2015 年)。应保存所研究标本的凭证, 因为需要进一步详细检查形态特征(例如使用扫描电子显微镜技术), 以区分分子鉴定的隐存种。

305. 选择何种分子标记取决于所选择的分类群。在某些情况下, 使用标准办法, 例如使用最常见的分子标记(例如 COI、16S rRNA 基因)可能无法获得足够的遗传变化来开展进一步分析。应采用联合办法, 使用可用于小规模研究的常见的分子标记和微卫星标记, 包括高度多态性的微卫星(Taboada 等人, 2018 年)。

306. 除了用于种群遗传研究的微卫星外, 还应探索其他分子技术, 包括使用简化基因组测序研究生成的单核苷酸多态性, 单核苷酸多态性可方便地应用于非模式生物, 而且成本相对较低。例如, 利用 ddRADseq 技术, 可以生成数百至数千个单核苷酸多态性标记, 凭此不但可以进行精细尺度的种群基因组学研究, 而且可以进行系统发育基因组学、适应策略或基因渐渗研究, 以及其他种群一级的过程(Andrews 等人, 2016 年)。

307. 应遵循采用一系列现有工具的建模方法。从遗传数据推断出的基因流动和迁移模式应与海洋洋流等环境因素进行比对。利用海洋学模型估计幼虫迁移(见第四.D 节)可以解释大规模种群分化和物种连通性的一些模式(Taboada 等人, 2018 年; Kenchington 等人, 2019 年)。

308. 由于正不断开发各种软件，在基线研究的结果中应明确说明分析使用的工具和基础假设。

309. 从这些研究中，应确定每个功能群中关键物种的连通性和生物地理学特征，并应推及更广泛的组合。

310. 应确定的具体指标包括：

(a) 最小遗传距离，基于种内和种间的 p 距离(未校正)和木村双参数模型，使用单倍型网络，确定种内和种间遗传距离；

(b) 对于遗传多样性，应使用 R 包或 Genodive 等程序计算每个物种、取样站和区域的预期杂合性(H_e)、观察杂合性(H_o)和近亲繁殖系数(F_{IS}) (Meirmans 和 Van Tienderen, 2004 年)；

(c) 对于种群结构，应使用以下之一：

(一) 聚类方法，例如使用 Structure (Pritchard 等人, 2000 年)和 DAPC 程序确定的方法；DAPC 程序包含在 adegenet R 包中(Jombart 等人, 2010 年)，该 R 包以图形方式表示样本之间的遗传亲和力；

(二) 应采用固定指数统计(F_{ST})等距离方法，衡量种群之间的遗传分化程度，使用成对 F_{ST} 值比较取样点和区域；应使用分子变异分析确定遗传变异的层次分布；

(d) 对于迁徙模式，应使用 diveRsity R 包中的 divMigrate 函数(Keenan 等人, 2013 年)估计取样站之间的相对同期迁徙。作为替代，可采用 Lamarc (Kuhner, 2006 年)或 Migrate (Beerli 和 Palczewski, 2010 年)程序计算迁徙模式；

(e) 距离隔离和遗传断裂：应使用不同的 R 包或使用 Genodive 等程序，对经过对数变换的地理距离与 Slatkin 线性化成对 F_{ST} 估计值($F_{ST}/1-F_{ST}$)的相关性进行 Mantel 检验；此外，应使用 Barrier 等程序评价在确定种群遗传结构方面可能发生的障碍(Manni 等人, 2004 年)。

G. 测定变量：生态系统机能运行

311. 为分析食物网结构的天然同位素丰度，应对底内动物(至少 10 到 12 个随机选择的地点)进行取样，对小型底栖动物而言，应在 0-1 厘米和 1-2 厘米处取样，对大型动物而言，应在 0-1 厘米、1-5 厘米和 5-10 厘米处取样。应尽可能对巨型动物进行取样，用于分析天然丰度同位素，以便至少对特定分类单元(如蛇尾纲)取 10 个个体样本。应在至少 10 个随机选择的地点进行同位素标记实验，并在每个地点进行重复的海底培养舱测量(Sweetman 等人, 2019 年)。

312. 应使用大型取样器或多管取样器对用于稳定同位素分析的小型底栖动物取样，取样位置应为 0.5 厘米层。沉积物需要在不添加任何防腐剂的情况下冷冻(-20°C 或更低温度)储存，直至返回实验室进行进一步分析。应使用 32 微米的筛子加冷过滤海水对沉积物过筛。大型动物应使用 0.25 平方米的箱式取样器采集，取样位置应为沉积物的 0-1 厘米、1-5 厘米和 5-10 厘米深处；应使用 300 微米的

筛子加冷过滤海水对沉积物切片过筛。作为替代或附加步骤，可使用海底拖撬采集大型动物样本，用于进行稳定同位素分析。

313. 用于分析底内动物基本食物网结构(如营养级数)的样本，取样位置应与用于分析小型底栖动物和大型动物群落结构的样本采集地点相同。应在至少 10 至 12 个随机选择的地点取样。对于巨型动物(如海参)，在可能的情况下，应使用遥控水下机器人在样带调查期间采集，或通过拖网采集；针对每个主要的巨型动物分类单元，应努力采集至少 10 只动物。应在至少 10 个随机选择的地点使用海底培养舱平台(遥控水下机器人或着陆器)原位进行同位素标记研究，以对微生物和动物活动以及食物网联系进行量化，并在每个地点进行重复的海底培养舱测量(Sweetman 等人，2019 年)。

314. 小型底栖动物和大型动物的筛余物应放入塑料袋中，在液氮中速冻，并在 -20°C 下储存。在固定稳定同位素样本时，切勿使用含酒精的固定剂。用遥控水下机器人或拖网采集的巨型动物，应立即转移至冷藏室；每个分类单元的最多 10 个个体，应单独密封在塑料袋中，在液氮中速冻，并在 -20°C 下储存。

315. 在返回实验室后，应对小型底栖动物和大型动物进行分类，注意尽量减少样本升温。应使用冷过滤海水清洗附着于动物上的有机碎屑，并放入预先经过称重的同位素分析用锡杯或银杯(如为钙质碎屑)之中。巨型动物的目标组织(如体壁、肌肉、蛇尾臂)应在实验室中取出，注意尽量减少组织升温，然后置于箔纸上。所有样本均应在 45°C 下干燥两至三天，巨型动物的组织应使用研钵和研杵手工研磨。钙质巨型动物组织应放置在同位素分析用银杯之中。然后，应使用 10% 的 HCl 酸化钙质动物和组织(如蛇尾臂)，以脱除碳酸盐，并在 45°C 下再次干燥三天，如碳酸盐未能全部脱除，则应额外进行酸化步骤。然后，应制备同位素样本用于同位素分析(具体遵循负责分析样本的实验室的规定)，并按照文献中的描述送去进行分析(如 Hardy 等人，2008 年；Levin 等人，2009 年；Sweetman 等人，2013 年)。

316. 为了量化动物的主要食物类型，应制备沉积物收集器中采集的颗粒有机物样本和沉积物样本(见第五.H 节)，以进行稳定同位素分析；如果样本原来保存在甲醛溶液之中，则应校正其同位素特征。

317. 应使用遥控水下机器人操作的海底培养舱或海底培养舱着陆器原位进行同位素标记研究，以记录食物网活动和联系。为了记录异养微生物和动物的代谢活动，标记研究中应使用 ^{13}C 标记的浮游植物培养物(Sweetman 等人，2019 年)，而自养微生物活动可以使用 ^{13}C 标记的碳酸氢盐作为示踪剂来确定。此外，用 ^{13}C 标记的碳酸氢盐或 ^{13}C 标记的葡萄糖进行标记研究，可以进一步探究食物网联系，例如，可确定哪些动物以微生物为食(Sweetman 等人，2019 年)。原位标记研究应遵循 Stratmann 等人(2018 年)或 Sweetman 等人(2019 年)的方法，研究时间应持续 36 至 48 小时。如果使用的培养舱具备注射器取样器功能，则可以在这些实验中量化有机 C(从 ^{13}C 标记的浮游植物)到 CO_2 的代谢。如果是这种情况，则应在实验期间的固定时间(如每 6 到 8 小时)使用注射器取样器采集样本。在实验室中，应对样本进行过滤(使用 0.45 微米醋酸纤维素膜过滤器)，并用 5-10 微升 6% 氯化汞固定在顶空进样瓶中，用于总溶解无机碳和 ^{13}C 同位素比质谱分析(Sweetman

等人, 2010 年)。应始终注意培养舱中水的深度和培养舱的面积, 以确定每次实验结束时培养舱中的水量。在实验结束时, 应使用推进式/叶片式取样器, 从遥控水下机器人操作的培养舱中对微生物和动物进行沉积物取样, 而海底培养舱着陆器在大多数情况下会自动采集暴露于已标记底质的沉积物。上船后, 应将沉积物转移至冷藏室, 在 0-1 厘米、1-5 厘米和 5-10 厘米深处采集微生物样本, 对样本进行均质化处理, 并使用液氮速冻于玻璃瓶之中(玻璃瓶已提前用甲醇和二氯甲烷(1:1)清洗并干燥), 并转移至 -20°C 下。应在相同深度范围内单独采集样本, 用于分析沉积物含水量。对于小型底栖动物, 应从推进式取样器(遥控水下机器人操作的培养舱)或注射器取样器(海底培养舱着陆器)中, 在 0-1 厘米和 1-2 厘米深处取样, 样本应在 32 微米的筛子上过筛, 并转移至 4%甲醛-海水缓冲溶液(即 10%福尔马林)。对于大型动物, 应从叶片式取样器(遥控水下机器人操作的培养舱)中取样, 如果是海底培养舱着陆器样本, 则应从培养舱的其余部分取样, 样本应在 300 微米的筛子上过筛, 并保存在福尔马林中。背景微生物和动物同位素特征的样本, 应使用遥控水下机器人操控的推进式取样器、箱式取样器或大型取样器采集, 并以相同的方式制备和保存。尽管用福尔马林保存样本会对 $\delta^{13}\text{C}$ 特征产生 0.5‰-1‰的影响, 但对动物进行的标记可能显著高于此影响(500‰-1 000‰), 因此无需冷冻样本。此外, 在计算动物摄食率时, 在福尔马林中保存背景样本的影响抵消了福尔马林保存对同位素特征的影响。返回实验室后, 应使用 Stratmann 等人(2018 年)和 Sweetman 等人(2019 年)描述的方法, 确定微生物脂肪酸和动物生物量中的标记物吸收量(即代谢/摄食活动)。

318. 应使用学术机构和商业实验室的同位素比质谱仪生成动物($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$)、沉积物收集器样本和沉积物中的天然丰度同位素数据。保存在福尔马林中的样本数据应对使用福尔马林保存的影响进行校正。应使用校正值加上食物网来源, 借助同位素混合模型(如 MixSIAR) (Harbour 等人, 2020 年)和底栖食物网中的营养级数, 确定取样动物所摄食的海底食物来源。

319. 为进行天然同位素分析, 应予记录的参数为物种清单、 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 特征和生物量(按 C 和 N 的微克数计), 以及分析方法、样本数量和适当的误差估计数。

320. 为进行同位素标记研究, 应记录的参数如下: 物种清单; 微生物、小型底栖动物和大型动物从各种有机和无机来源吸收碳的速率(以 $\text{mmol C m}^{-2} \text{d}^{-1}$ 计); 以微生物为食的关键动物的鉴定信息; 如果收集的沉积物样本是用于总有机 ^{13}C , 则应记录短期内有机物质在沉积物中的混合深度。应提供平均值以及样本数量和适当的误差估计数。

321. 此外, 还应记录底栖动物组织中的同位素特征($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$)、 ^{13}C 标记的溶解无机碳的产生量、微生物脂肪酸和动物生物量的 ^{13}C 特征、 ^{13}C 标记的碎屑在沉积物中的深度分布。

322. 应从这些测量当中确定以下内容: 每单位时间单位面积的海底微生物和动物生物量中的碳摄入量(即代谢或摄食活动)、食物网中的营养级数、消耗的主要食物来源、各种食物对不同类型动物饮食的贡献、小型底栖动物和大型动物的营养结构、微生物和动物的碳循环速率、短期沉积物混合速率和呼吸速率。

H. 测定变量：生态毒理学

323. 为了确定矿石开采的潜在生态毒理学风险，应使用多个数据来源(或证据线)。可将数据来源划分为不同的部分，以建立拥有足够权重的证据，用于确定特定资源和特定采矿作业的相对毒性风险(证据权重法) (Regoli 等人，2019 年)。沉积物质量评估实用指南(Simpson 和 Batley，2016 年)就相关测量提供了更多详细信息，但必须铭记，所有这些方法都还尚未在深海中进行测试。

324. 证据权重应整合来自以下证据线的数据：

- (a) 沉积物/矿物理化特性；
- (b) 实验室生态毒理学生物测定；
- (c) 指示物种中金属的生物积累；
- (d) 指示物种中的亚致死效应/生物标志物；

325. 应使用最合适的定量方法对每条证据线进行分析；每条证据线应在基线数据收集期间分析。

326. 应通过使用资源和沉积物矿物学表征确定矿物和金属物种的相对比例，明确将会增加生物物种所面临的总体潜在毒性风险的金属和金属混合物。

327. 此外，应在至少一个 12 个月的季节周期中，在超过 4 个场合采集底栖区和大洋水层(全水深)区的关键生物量或食物网优势物种的生物标本(至少来自三个分类组别，但应参见欧洲化学品管理局第 R.10.3.2 部分的讨论，2008 年)，以确定关键底栖物种、深渊层物种和次深层物种中金属和其他有机污染物的基线浓度以及生化和细胞生物标志物的水平。生物标志物是生态系统健康状况恶化的预警信号(Andersen，1997 年；Simpson 和 Batley，2016 年；Mestre 等人，2017 年)。

328. 应使用成熟的生物标志物测定法(Simpson 和 Batley 的概述，2016 年)，评估抗氧化剂解毒途径的激活。测定方法包括组织超氧化物歧化酶活性生物标志物测定法，借助分光光度仪测定 550 纳米处黄嘌呤氧化酶/次黄嘌呤系统对细胞色素 c 的还原作用(例如 McCord 和 Fridovich，1969 年)。可以进行的其他抗氧化测定分析包括通过微分脉冲极谱法量化金属硫蛋白浓度(如 Bebianno 和 Langstone，1989 年；Mourgaud 等人，2002 年)，以及过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽 S-转移酶活性的酶测定分析(Auguste 等人，2016 年)。

329. 接下来，应在有对照的、标准化实验室实验中，使用替代生物物种确定各种全岩矿物相/沉积物相(例如颗粒和水相)对生物有机体的相对生态毒性。全岩资源的毒性可以在无需事先了解精确的矿物组成的情况下确定。使用成熟的实验室规程，或许可评估全岩资源物相的相对毒性(相对于预期存在于该特定资源中的已知纯矿物标准)。应使用成熟的实验室规程，量化全岩资源的各个物相的相对毒性(相对于已知的纯矿物标准，如 CuFeS_2)。应进行水性实验(如从新暴露的矿物表面浸取的金属矿物)和固相实验，以模拟预期进行的采矿作业，复制碎片大小/粒径和浸取的持续时间/温度(如 Brown 和 Hauton，2018 年；Knight 等人，2018 年)。应参考并使用

Simpson 和 Batley (2016 年)所述的以及国际公认的标准规程,确定全岩资源的生态毒性(如欧洲化学品管理局,2008 年;欧洲化学品管理局,2016 年)。

330. 脱水过程中产生的沉积物排放羽流在预期排放深度对替代生物物种的潜在毒性,应根据采矿作业方为采收、立管转移至水面、脱水和运输制定的计划予以评估。示范生物物种可能包括大洋上层区域的蓝细菌(如原绿球藻、聚球藻菌属或蓝菌属)培养物、浮游动物(如哲水蚤桡足类或旋臂类桡足类)或刺胞动物(或类似的凝胶状浮游动物)(如海月水母或海葵),用于分析中深海层和次深海层中的排放羽流,以及鱼类(如海洋青鲷)(Bo 等人,2011 年;Kong 等人,2008 年)。

331. 应确定脱水过程中产生的潜在沉积物排放羽流对相关大型动物替代物种的致死浓度(LC₅₀)或致死剂量毒性(LD₅₀),同时确定暴露于固相或水相全矿矿物或脱水羽流的慢性或亚致死毒性效应,以及最相关的生物标志物的活性。

I. 测定变量: 海洋哺乳动物、鲨鱼、海龟和表层自游生物

332. 为了收集有关海洋哺乳动物、鲨鱼、海龟和表层自游生物的信息,应按照 Buckland 等人(2001 年)、Barlow 和 Forney (2007 年)、Verfuss 等人(2018 年)和 SCANS II 项目网站描述的标准方法,使用船载目测样线法的组合。这项工作应该在白天于每个站点进行,船舶应以 9 至 10 节的恒定速度沿网格模式移动,同时使用拖曳式水听器探测海洋哺乳动物的发声。由此收集的信息,应由部署在海洋系泊上、用以在几个完整年度周期内持续监测海洋哺乳动物发声的被动声学监测站的数据作为补充。

333. 应予记录的参数为群体规模、遇到的物种(对于海洋哺乳动物,或许能够明确鉴别特定个体)和这些物种的丰度。应尽可能拍摄照片。

J. 测定变量: 海鸟

334. 为了全面了解海鸟的分布和丰度以及任何人类海上活动对海鸟的影响,应从多个来源获取信息。应监测基础设施和船舶(航行和静止)对海鸟的吸引以及海鸟与基础设施和船舶的碰撞,应进行系统的海鸟调查,应汇编和分析以往收集的海鸟跟踪数据,包括现成的地理信息系统图层,如海洋重要鸟类和生物多样性区域和关键生物多样性区域,还应分析相关繁殖地点的监测计划(如繁殖数量、种群统计参数或繁殖成功率)。此外,在可能的情况下,应对相关物种和种群进行跟踪。

335. 应使用目视调查、成像或雷达,从静止平台或船舶上研究海鸟丰度和吸引。从静止船舶上进行目视调查时,应在半圆范围(半径通常达 300-500 米)内,每隔固定时间(如 20-60 分钟),对鸟类进行 10 至 15 分钟的瞬时计数,也称为“快照计数”(Gjerdrum 等人,2012 年;Bolduc 和 Fifield,2017 年)。应使用海洋雷达估计海鸟丰度和碰撞风险(Gauthreaux 和 Belser,2003 年;Desholm 和 Kahlert,2005 年;Bertram 等人,2015 年;Assali 等人,2017 年)。此外,应从船舶或飞机上使用样线对海鸟进行调查,以评估海鸟丰度和吸引(Camphuysen 等人,2004 年;Roconi 和 Burger,2009 年;Gjerdrum 等人,2012 年)。

336. 在可能的情况下，应通过系统搜索采集碰撞致死的海鸟尸体，将其冷冻保存于永久设施之中，以供将来参考研究新出现的污染物，并分析各种组织中的污染物(Gochfeld, 1973 年; Barbieri 等人, 2010 年; Amélineau 等人, 2016 年)。这样做的目的是创建一个基线，同作业期间收集的尸体的组织含量进行比较。应广泛分析各种污染物，特别是可能在采矿活动中释放的污染物。

337. 应请求获得并使用相关数据集，用于评估特定区域对海鸟(以及其他海洋捕食者)的重要性。许多海洋顶级捕食者都有海上跟踪数据。目前有若干全球倡议在定期整理和分析有关海洋迁徙物种的信息汇编，以确定海上重要区域，包括重要的鸟类和生物多样性区域(<https://maps.birdlife.org/marineibas>)和关键生物多样性区域(www.keybiodiversityareas.org)。这些倡议包括海鸟跟踪数据库(www.seabirdtracking.org/)、海洋迁徙连通性项目(<https://mico.eco>)和动物跟踪数据库 Movebank (www.movebank.org/cms/movebank-main)。

338. 借助跟踪数据，可以鉴定特定区域出现的海鸟的起源，从而可以鉴定和监测它们的起源种群。跟踪数据还可以帮助准确估计种群规模和鉴定造访特定区域的物种(其中一些难以在海上从船舶或平台鉴别)、繁殖状态、季节变化、造访该区域的特定种群，甚至可以鉴定造访动物的年龄和性别结构。应使用该信息鉴定来源繁殖群体。在这些繁殖群体中进行的监测计划提供了应予审查的额外基线数据。

339. 应全年记录通过以下方式收集的参数：

(a) 目视调查、调查、成像或雷达计数：确定到可能的最低分类等级的海鸟相对和绝对丰度，通常为物种一级，并尽可能按性别、年龄、季节和形态羽毛变化分类；多样性指数；以及随时间推移对该区域和航线的使用情况；

(b) 追踪数据：在给定区域和给定航线沿线的每个鸟类群体中，随时间推移使用该区域或该航线的鸟类估计比例，按物种、种群、繁殖群体、繁殖状态、性别和年龄确定；

(c) 监测计划：种群规模、繁殖成功率、幼年、未成熟期和成年存活率、补充年龄、种群趋势，以及对种群生存能力和灭绝时间的估计；

(d) 碰撞和收集的尸体：随时间推移按物种、性别、性成熟、换羽和身体状况分类的每天死亡数量。应从肝脏、肌肉、脂肪和羽毛中采集组织，并确定这些组织中的污染物浓度(《斯德哥尔摩公约》清单)；应对胃内容物进行分析，确定胃中微塑料和微纤维的含量。

K. 数据质量

340. 对于时间取样，应尽可能重新前往与先前调查相同的一般区域。用于时间分析的样本应该足够大，以便可靠地确定相关参数。为了提高可比性，各个调查的样本大小应保持不变。

341. 应对不同研究人员收集或分析的数据集进行标准化处理，以方便进行比较。这在时间序列调查或使用多个作业方的调查中尤为重要。如发现存在不一致之处，则需要进一步的质量控制。
342. 即使采集方法不完全相同，也可以对大型动物调查进行比较。但是，可靠的比较有赖于经过准确量化(尺寸缩放)的图像和尽可能高的图像质量一致性(涉及分辨率、照明、色彩平衡等)。对于任何后续比较，应仔细评价各项调查之间在方法偏差的可能性；例如，应评价关键分类单元的对照模式，以确保它们在不同数据集中明显不同。除非另有证明，否则应假设存在方法上的偏差。
343. 为了获得合适的图像质量，照明应足以在目标高度保持对整个海底图像近乎均匀的覆盖，成像设置(如变焦和曝光)应在整个调查过程中保持恒定，相机不应相对于任何样带的相机平台移动(例如，通过在遥控水下机器人上搭载平移/倾斜相机)。
344. 所有图像都应使用摄影测量方法进行精确的尺寸缩放，这需要有关图像高度、俯仰角和滚转角的准确信息。高度计数据应精确至 ± 10 毫米。应在海底获得已知尺寸的测试图像，用于验证计算。使用海底投射激光是一种替代方法。
345. 许多生物只有通过分析照片无法捕捉的特征(如隐藏、内部或微观特征)才能在物种一级明确鉴定。分子和其他方法(如基因组学、转录组学或种群遗传学)则需要标本材料。因此，针对同一个体，应对原位图像、异位图像、组织样本和形态分析样本相关的个体标本进行精确取样。此类样本最好通过远程操作或人工驾驶的工具获得。这对于许多分类单元、特别是软体类(例如海葵)尤其重要，这类生物在海床上活着的样子与采集之后回到水面的样子非常不同。
346. 所有鉴定都应尽可能达到最低分类等级。此外，应提供用于确定名称的分类关键词和参考资料，以确保标识信息之间的一致。
347. 通过条形码(Sanger 序列)和宏条形码(扩增子序列变体)进行分子鉴定，将获得的遗传数据与 GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank)等公共参考数据库中的遗传信息相匹配，应能够产生所获得物种或属的清单。这可以通过基本局部比对搜索工具(Blast)或核糖体数据库项目分类器实现。
348. 评估生物量的适当方法是通过生态物质循环模型；在这方面，按大小分类优于按分类学分类。
349. 当需要的样本较大，难以精确采集时，或许比较适合用拖网或海底拖橇进行取样。取样时应谨慎小心，因为这些技术可能会干扰相对较大面积的海底区域，其使用可能需要进行环境影响评估(见 ISBA/25/LTC/6/Rev.1 和 ISBA/25/LTC/6/Rev.1/Corr.1)，并可能影响其他取样工作。
350. 为了确定是否采集到了足够数量的个体用于表征群体，应绘制采集者曲线，也称为 Chao 分析。在个体数量较少、多样性较高的情况下，这可能是必需的步骤。

351. 为确保统计稳健性，应进行足够数量的重复取样。重复样本的数量取决于相关分类单元的密度或丰富度及其方差。为了证明统计稳健性，应根据基线提供的实际数据，报告方差前后对照影响分析的测定功效。功效分析应考虑到 Cohen's *d* 效应量度量值(低 $d=0.2$ ，中 $d=0.5$ ，高 $d=0.8$) (Cohen, 1988 年)。应提供达到 95% 功效所需的重复样本数量(Ardron 等人, 2019 年)。

352. 研究动物关联所需的结核数量，取决于研究区域的结核丰度以及箱式取样器或采样器中实际采集的结核数量。对于底栖生物多样性研究，应随机采集至少约 25 个结核。为了获得更好的空间样本覆盖率，在基线数据生成和监测研究期间，针对每个自然地理区域，应至少从 3 个箱式岩芯中采集样本。

353. 在取样设计不均衡的情况下，应将多样性指数稀释至最小的重复样本数。

354. 特定地点的海鸟数量有特异性；将不太可能确定所观察到的海鸟的起源、繁殖状况、年龄或性别。海鸟的海上鉴定并非易事，应由经过训练的鸟类学家使用全球海鸟鉴定指南之一(如 Harrison, 2000 年；Howell 和 Zuflet, 2019 年)进行鉴定。大多数海鸟追踪数据存在偏差，或仅限于某些物种(如某些小型物种，但主要为中大型物种)、年度周期的特定时期和特定生命阶段(通常是繁殖期的成鸟)。

L. 数据管理

355. 应为收集的所有标本生成元数据，包括深度、纬度、经度和标本出现的底质(如结核、底内动物、与其他生物的关联)。在元数据的基础上，应使用达尔文核心标准创建物种目录。

356. 所有标本的凭证均应交存博物馆或国家收藏设施，以供科学界使用。交存时应使用适合分析的储存方法(例如，形态鉴定用福尔马林或乙醇储存，分子分析用乙醇或冷冻储存)。一些分析方法(如生态毒理学)不允许完整保存标本；在这种情况下，应采集多个组织样本(至少采集肌肉、羽毛、肠脂肪和肝脏)，并单独储存。

357. DNA 提取物应保存在博物馆的冷冻设施中。基因序列应交存 GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank)或生命条形码数据库(www.boldsystems.org)等免费存储库。基因型应交存 Dryad (<https://datadryad.org/stash>)或 Pangaea (www.pangaea.de)等免费存储库。RADseq 数据应交存美国国家生物技术信息中心的序列读取档案数据库(www.ncbi.nlm.nih.gov/sra)等免费存储库。Sanger 和高通量测序数据应与所有相关元数据特别是地理参考信息一起，存档于公开可用的数据库中。GenBank 应该用于交存 Sanger 数据，序列读取档案应该用于交存高通量测序数据；请注意，高通量测序数据在上传前应解除多路复用，即每个样本有两个读取文件。

358. 在可能的情况下，应使用照片证据记录鉴定信息，以备回顾。

359. 理想情况下，应将图像存储为相机原本捕捉到的格式(“raw”文件格式)和为分析而经过处理的格式(另一种文件格式)。应为“raw”图像文件和经过处理的图像文件分别指定唯一的图像名称，使其与调查元数据相关联，以方便组合数据集。

360. “raw” 格式数据和标本储存地点和方法信息应作为年度报告的一部分提交海管局，并作为元数据纳入承包者向海管局 DeepData 数据库提交的数据。

八. 文献目录

Allen, JT, Fuda, J-L Perivoliotis, L, Munoz-Mas, C, Alou, E, Reeve, K (2018) Guidelines for the delayed mode scientific correction of glider data. WP 5, Task 5.7, D5.15. Version 4.1. Palma de Mallorca, Spain, SOCIB – Balearic Islands Coastal Observing and Forecasting System for JERICO-NEXT, 20pp (JERICO-NEXT-WP5-D5.15-140818-V4.1) <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-430>.

Allen, JT, Munoz, C, Gardiner, J, Reeve, KA, Alou-Font, E, Zarokanellos, N (2020) Near-Automatic Routine Field Calibration/Correction of Glider Salinity Data Using Whitespace Maximization Image Analysis of Theta/S Data. *Frontiers in Marine Science*, 7:398,14pp. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00398>.

Alve, E, Korsun, S, Schönfeld, J, Dijkstra, N, Golikova, E, Hess, S, Husum, K, Panieri, G (2016) Foram-AMBI: a sensitivity index based on benthic foraminiferal faunas from North-East Atlantic and Arctic fjords, continental shelves and slopes. *Mar. Micropaleontol.* 122, 1–12.

Amélineau F, Bonnet D, Heitz O, Mortreux V, Harding AMA, Karnovsky N, Walkusz W, Fort J, Grémillet D (2016) Microplastic pollution in the Greenland Sea: Background levels and selective contamination of planktivorous diving seabirds. *ENVIRON POLLUT* 219:1131-1139.

Andersen, NR (1997) An early warning system for the health of the oceans. *Oceanography* 10.1 (1997): 14-23. <https://doi.org/10.5670/oceanog.1997.39>.

Andrews KR, Good JM, Miller MR, Luikart G, Hohenlohe, PA (2016) Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Reviews Genetics*, 17, 81–92.

Ardron JA, Simon-Lledó E, Jones DO, Ruhl HÁ (2019). Detecting the Effects of Deep-Seabed Nodule Mining: Simulations Using Megafaunal Data from the Clarion-Clipperton Zone. *Frontiers in Marine Science*, 6:604.

Assali C, Bez N, Tremblay Y (2017) Seabird distribution patterns observed with fishing vessel’s radar reveal previously undescribed sub-meso-scale clusters. *Scientific Reports* 7:1423.

Auguste, M, Mestre, NC, Rocha, TL, Cardoso, C, Cueff-Gauchard, V, Le Bloa, S, Cambon-Bonavita, MA, Shillito, B, Zbinden, M, Ravaux, J, Bebianno, MJ (2016) Development of an ecotoxicological protocol for the deep-sea fauna using the hydrothermal vent shrimp *Rimicaris exoculata*. *Aquatic Toxicology* 175: 277–285. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.03.024>.

Barbieri E, Passos EDA, Filippini A, Dos Santos IS, Garcia CAB (2010) Assessment of trace metal concentration in feathers of seabird (*Larus dominicanus*) sampled in the Florianópolis, SC, Brazilian coast. *ENVIRON MONIT ASSESS* 169:631-638.

Barlow, J, Forney, KA (2007) Abundance and population density of cetaceans in the California Current ecosystem. *Fishery Bulletin*, 105, 509–526.

Basu, S, Jones, A, Mahzari, P (2020) Best Practices for Shale Core Handling: Transportation, Sampling and Storage for Conduction of Analyses. *Journal of Marine Science and Engineering*, 8(2):136. <https://doi.org/10.3390/jmse8020136>.

- Becker, S., Aoyama, M., Woodward, E.M.S., Bakker, K., Coverly, S., Mahaffey, C., Tanhua, T. (2019) GO-SHIP Repeat Hydrography Nutrient Manual: The precise and accurate determination of dissolved inorganic nutrients in seawater, using Continuous Flow Analysis methods. In: GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines. Version 1.1, 56 pp. <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-555>.
- Bebianno, MJ, Langston, WJ (1989) Quantification of metallothioneins in marine invertebrates using differential pulse polarography. *Portugaliae Electrochimica Acta* 7: 511–524.
- Berli, P, Palczewski, M (2010) Unified framework to evaluate panmixia and migration direction among multiple sampling locations. *Genetics*, 185(1), 313-326.
- Benoit-Bird, KJ, Moline, MA, Southall, BL (2017) Prey in oceanic sound scattering layers organize to get a little help from their friends. *Limnol. Oceanogr.* 62, 2017, 2788–2798.
- Bernstein, BB, Hessler, RR, Smith, R, Jumars, PA (1978) Spatial dispersion of benthic Foraminifera in the abyssal central North Pacific, *Limnology and Oceanography* 23: 401-416.
- Bertram, DF, Drever, MC, McAllister, MK, Schroeder, BK, Lindsay, DJ, Faust, DA (2015) Estimation of coast-wide population trends of Marbled Murrelets in Canada using a Bayesian hierarchical model. *PloS one*, 10(8), e0134891.
- Bhadury, P, Austen, MC, Bilton, DT, Lambshead, PJD, Rogers, AD, Smerdon, GR (2006) Development and evaluation of a DNA-barcoding approach for the rapid identification of nematodes. *Marine Ecology Progress Series* 320: 1-9.
- Biber, A, Korakci, A, Golick, A, Robinson, S, Hayman, G, Ablitt, J, Barrera-Figueroa, S, Buogo, S, Mauro, S, Borsani, J, Curcuruto, S, Linné, M, Sigray, P, Davidsson, P (2018) Calibration standards for hydrophones and autonomous underwater noise recorders for frequencies below 1 kHz: current activities of EMPIR “UNAC-LOW” project. *ACTA IMEKO*. 7. 32. http://dx.doi.org/10.21014/acta_imeko.v7i2.542.
- Bishop, JKB, Lam, PJ, Wood, TJ (2012), Getting good particles: Accurate sampling of particles by large volume in-situ filtration, *Limnol. Oceanogr. Methods*, 10, <https://doi.org/10.4319/lom.2012.10.681>.
- Bittig, HC, Körtzinger, A, Neill, C, van Ooijen, E, Plant, JN, Hahn, J (2018): Oxygen Optode Sensors: Principle, Characterization, Calibration, and Application in the Ocean. In: *Frontiers in Marine Science* 4, S. 429. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00429>.
- Bo, J, Cai, L, Xu, JH, Wang, KJ, Au, DWT (2011) The marine medaka *Oryzias melastigma* - A potential marine fish model for innate immune study. *Marine Pollution Bulletin* 63: 267–276. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.014>.
- Boetius, A, Wenzhöfer, F (2013) Seafloor oxygen consumption fuelled by methane from cold seeps. *Nature Geosciences* 6: 725-734, <https://doi.org/10.1038/ngeo1926>.
- Bolduc, F, Fifield, DA (2017). Seabirds at-sea surveys: The line-transect method outperforms the point-transect alternative. *The Open Ornithology Journal*, 10(1).
- Boss, E, Guidi, L, Richardson, MJ, Stemmann, L, Gardner, W, Bishop, JKB, Anderson, RF, Sherrell, RM (2015) Optical techniques for remote and in-situ characterization of particles pertinent to GEOTRACES, *Progress in Oceanography*, Volume 133, April 2015, 43-54, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocan.2014.09.007>.
- Boxhammer, T, Taucher J, Bach LT, Achterberg EP, Algueró-Muñiz M, Bellworthy J, et al. (2018) Enhanced transfer of organic matter to higher trophic levels caused by ocean

acidification and its implications for export production: A mass balance approach. *PLoS ONE* 13(5): e0197502.

Breitwieser, FP, Lu, J, Salzberg, SL (2017) A review of methods and databases for metagenomic classification and assembly. *Briefings in Bioinformatics*, 20(4) 1-15. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx120>.

Brown, A, Hauton, C (2018) Ecotoxicological responses to chalcopyrite exposure in a proxy for deep-sea hydrothermal vent shrimp: Implications for seafloor massive sulphide mining. *Chemistry and Ecology* 34: 391-396. <https://doi.org/10.1080/02757540.2018.1427231>.

Buckland, ST, Anderson, DR, Burnham, KP, Laake, JL, Borchers, DL, Thomas, L (2001) *Introduction to distance sampling: Estimating abundance of biological populations*. Oxford, UK: Oxford University Press.

Bushnell, M, Waldmann, C, Seitz, S, Buckley, E, Tamburri, M, Hermes, J, Henslop, E, Lara-Lopez, A, (2019) Quality Assurance of Oceanographic Observations: Standards and Guidance Adopted by an International Partnership. *Front. Mar. Sci.* 19. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00706>.

Camphuysen CJ, Fox AD, Leopold MF, Petersen IK (2004) Towards standardized seabirds at-sea census techniques in connection with environmental impact assessments for offshore wind farms in the U.K: A comparison of ship and aerial sampling methods for marine birds and their applicability to offshore wind farm assessments. *Texel 2004*; pp. 37.

Carey WM, Evans RB (2011) *Ocean Ambient Noise: Measurement and Theory*. The Underwater Acoustics Series. Springer New York 266pp.

Christodoulou M, O'hara T, Hugall AF, Khodami S, Rodrigues CF, Hilario A, Vink A, Martinez Arbizu P (2020). Unexpected high abyssal ophiuroid diversity in polymetallic nodule fields of the northeast Pacific Ocean and implications for conservation. *Biogeosciences* 17, 1845-1876. <https://doi.org/10.5194/bg-17-1845-2020>.

Cohen J (1988), *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences* (2nd ed.), New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates.

Cook, AB, Sutton TT, Galbraith JK, Vecchione, M (2013) Deep-pelagic (0–3000m) fish assemblage structure over the Mid-Atlantic Ridge in the area of the Charlie-Gibbs Fracture Zone. *Deep Sea Research Part II*, 98B: 279-291, <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2012.09.003>.

Coppola, L, Ntoumas, M, Bozzano, R, Bensi, M, Hartman, SE, Charcos Llorens, Mi, Craig, J, Rolin, J-F, Giovanetti, G, Cano, D, Karstensen, J, Cianca, A, Toma, D, Stasch, C, Pensieri, S, Cardin, V, Tengberg, A, Petihakis, G, Cristini, L (2016) *Handbook of best practices for open ocean fixed observatories*. European Commission, FixO3 Project, 127pp (European Commission, FixO3 project, FP7 Programme 2007-2013 under grant agreement n° 312463). <http://hdl.handle.net/11329/302>.

Cox, MJ, Letessier TB, Brierley AS (2013) Zooplankton and micronekton biovolume at the Mid-Atlantic Ridge and Charlie-Gibbs Fracture Zone estimated by multi-frequency acoustic survey, *Deep Sea Research Part II*, 98B: 269-278, <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2013.07.020>.

Danovaro R, Fanelli E, Aguzzi J, Billett D, Carugati L, Corinaldesi C, Dell'Anno A, Gjerde K, Jamieson AJ, Kark S, McClain C, Levin L, Levin N, Ramirez-Llodra E, Ruhl E, Smith CR, Snelgrove PVR, Thomsen L, Van Dover CL and Yasuhara M (2020) Ecological variables for developing a global deep-ocean monitoring and conservation strategy. *Nature Ecology & Evolution* 4, 181-192.

Data Buoy Cooperation Panel (2011) Sea surface salinity quality control processes for potential use on data buoy observations. Version 1.3, Geneva, Switzerland, Intergovernmental Oceanographic Commission/World Meteorological Organization, 17pp (DBCP Technical Document 42). <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-415>.

Davies AJ, Duineveld GCA, Lavaleye MSS, Bergman MJN, van Haren H, Roberts JM (2009). Downwelling and deep-water bottom currents as food supply mechanisms to the cold-water coral *Lophelia pertusa* (Scleractinia) at the Mingulay Reef complex. *Limnology and Oceanography* 54:620-629.

Desholm, M, Kahlert, J (2005). Avian collision risk at an offshore wind farm. *Biology letters*, 1(3), 296-298.

Dickson, AG, Sabine, CL, Christian, JR (eds) (2007) Guide to best practices for ocean CO₂ measurement. Sidney, British Columbia, North Pacific Marine Science Organization, 191pp (PICES Special Publication 3; IOCCP Report 8).

Duran Munoz P, Sacau M, Garcia-Alegre A. Roman E (2020) Cold-water corals and deep-sea sponges by-catch mitigation: Dealing with groundfish survey data in the management of the northwest Atlantic Ocean high seas fisheries, *Marine Policy* 116. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2019.103712>.

ECHA (2008) Guidance on information requirements and chemical safety assessment Chapter R.10: Characterisation of dose [concentration]-response for environment. 65pp. https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r10_en.pdf.

ECHA (2016) Guidance on information requirements and Chemical Safety Assessment Chapter R.16: Environmental exposure assessment. 178pp. http://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r16_en.pdf.

EGO Gliders Data Management Team (2020) EGO gliders NetCDF format reference manual NetCDF conventions Reference tables and files distribution Version 1.3. IFREMER, 67pp. <https://doi.org/10.13155/34980>.

Erickson, ZK, Frankenberg, C, Thompson, DR, Thompson, AF, Gierach, M (2019). Remote sensing of chlorophyll fluorescence in the ocean using imaging spectrometry: Towards a vertical profile of fluorescence. *Geophysical Research Letters*. <https://doi.org/10.1029/2018GL081273>.

EuroGOOS DATA-MEQ Working Group (2010) Recommendations for in-situ data Near Real Time Quality Control [Version 1.2]. EuroGOOS, 23pp.

European Commission (2011) EUR 24872 – Guide to best practices for ocean acidification research and data reporting. Riebesell U, Fabry VJ, Hansson L, Gattuso J-P (eds.), Publication Office of the European Union, Luxembourg, 260 pp., doi:10.2777/66906.

Firing, E, Hummon, JM (2010) Shipboard ADCP measurements – The GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines. IOCCP Report No. 1, ICPO Publications Series No. 134, Version 1.

Garcia, R, Rigaud V, Huvenne, V. Morris K, Marsh, L, Köser, K, Greinert, J, Jones, D (2015) 3.1.2 Optical seafloor monitoring including image analysis techniques. MIDAS D10.1: Compilation of existing deep-sea ecosystem monitoring technologies in European research and industry: Assessment of applicability and identification of gaps, p.45-51.

Gauthreaux, SA(Jr), Belser, CG (2003). Radar ornithology and biological conservation. *The Auk* 120: 266–277.

- Geibert, W, Stimac, I, Rutgers van der Loeff, MM, Kuhn, G (2019) Dating Deep-Sea Sediments With 230Th Excess Using a Constant Rate of Supply Model. *Paleoceanography and Paleoclimatology*, 34. 1895-1912. <https://doi.org/10.1029/2019PA003663>.
- GEOTRACES Cookbook: Sampling and Sample-handling Protocols for GEOTRACES Cruises (Cookbook, version 3.0, 2017), <https://www.geotraces.org/methods-cookbook/>.
- Giering, SLC, Cavan, EL, Basedow, SL, Briggs, N, Burd, AB, Darroch, LJ, Guidi, L, Irisson, J.-O, Iversen, MH, Kiko, R, Lindsay, D, Marcolin, CR, McDonnell, AMP, Möller, KO, Passow, U, Thomalla, S, Trull, TW, Waite, AM (2020) Sinking Organic Particles in the Ocean—Flux Estimates From in situ Optical Devices. *Front. Mar. Sci.* 18. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00834>.
- Gieskes, J, Gamo, T, Brumsack, H (1991) Chemical methods for interstitial water analysis aboard JOIDES Resolution. ODP Tech Note, 15. Doi:10.2973/odp.tn.15.1991.
- Gjerdrum, C, Fifield, DA, Wilhelm, SI (2012) Eastern Canada Seabirds at Sea (ECSAS) standardized protocol for pelagic seabird surveys from moving and stationary platforms. Canadian Wildlife Service Technical Report Series No. 515. Atlantic Region. Vi + 37 pp.
- Glover, AG, Dahlgren, TG, Wiklund, H, Mohrbeck, I, Smith, CR (2016) An end-to-end DNA taxonomy methodology for benthic biodiversity survey in the Clarion-Clipperton Zone, central Pacific abyss. *Journal of Marine Science and Engineering*, 4(1), 2.
- Gochfeld M (1973) Effect of artefact pollution on the viability of seabird colonies on Long Island, New York. *Environmental Pollution* (1970) 4:1-6.
- Goineau, A, Gooday, AJ (2017) Novel benthic foraminifera are abundant and diverse in an area of the abyssal equatorial Pacific licensed for polymetallic nodule exploration. *Sci Rep* 7: 45288 <https://doi.org/10.1038/srep45288>.
- Goineau, A., Gooday, AJ, (2019) Diversity and spatial patterns of foraminiferal assemblages in the eastern Clarion–Clipperton zone (abyssal eastern equatorial Pacific). *Deep-Sea Research I*: <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2019.04.014>.
- Gomes-Pereira, JN, Auger, V, Beisiegel, K, Benjamin, R, Bergmann, M, Bowden, D, Buhl-Mortensen, P, De Leo, FC, Dionisio, G, Durden, JM, Edwards, L, Friedman, A, Greinert, J, Jacobsen-Stout, N, Lerner, S, Leslie, M, Nattkemper, TW, Sameoto, JA, Schoening, T, Schouten, R, Seager, J, Singh, H, Soubigou, O, Tojeira, I, van den Beld, I, Dias, F, Tempera, F, Santos, RS (2016) Current and future trends in marine image annotation software. *Progress in Oceanography* 149, 106-120.
- Gooday, AJ, Goineau, A (2019) The contribution of fine sieve fractions (63–150 µm) to foraminiferal abundance and diversity in an area of the eastern Pacific Ocean licensed for polymetallic nodule exploration. *Frontiers in Marine Science* 6, <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00114>.
- Gooday AJ, Holzmann, M, Caille, C, Goineau, A, Kamenskaya, OE, Weber, AA.-T, Pawlowski, J (2017) Giant foraminifera (xenophyophores) are exceptionally diverse in parts of the abyssal eastern Pacific where seabed mining is likely to occur. *Biological Conservation* 207, 106–116.
- Gooday, AJ, Schoenle, A, Dolan, JR, Arndt, H (2020a) Protist diversity and function in the dark ocean – challenging the paradigms of deep-sea ecology with special emphasis on foraminiferans and naked protists. *European Journal of Protistology*, 75, 125721.
- Gooday, AJ, Durden, JM, Smith, CR (2020b) Giant, highly diverse protists in the abyssal Pacific: vulnerability to impacts from seabed mining and potential for recovery, *Communicative & Integrative Biology*, 13:1, 189-197 <http://doi.org/10.1080/19420889.2020.1843818>.

Grasshoff, K, Kremling, K, Ehrhardt, M (eds) (1999) *Methods of seawater analysis*, 3rd edition. Wiley-VCH, Weinheim, New York.

Haffert, L, Haeckel, M, Liebetau, V, Berndt, C, Hensen, C, Nuzzo, M, Reitz, A, Scholz, F, Schönfeld, J, Perez-Garcia, C, Weise, SM (2013) Fluid evolution and authigenic mineral paragenesis related to salt diapirism – The Mercator mud volcano in the Gulf of Cadiz, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 106: 261-286, doi: 10.1016/j.gca.2012.12.016

Harbour RP, Leitner AB, Ruehlemann C, Vink A. and Sweetman AK, 2020. Benthic and Demersal Scavenger Biodiversity in the Eastern End of the Clarion-Clipperton Zone – An Area Marked for Polymetallic Nodule Mining. *Front. Mar. Sci.* 7:458. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00458>.

Hardy et al., 2008,

Heger A, Ieno EN, King NJ, Morris K. J, Bagley PM, Priede IG, (2008) Deep-sea pelagic bioluminescence over the Mid-Atlantic Ridge. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 55: 126-136. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2007.09.014>.

Henson SA, Sarmiento JL, Dunne JP, Bopp L, Lima I, Doney SC, John J, Beaulieu C (2010) Detection of anthropogenic climate change in satellite records of ocean chlorophyll and productivity. *Biogeosciences* 7 (2), 621-640.

Hessler and Jumars (1974) Abyssal community analysis from replicate box cores in the central North Pacific. *Deep-Sea Research* 21, 185-209.

Hofmann AF, Soetaert K, Middelburg JJ, Meysman FJR (2010) AquaEnv: An aquatic acid–base modelling environment in R. *Aquatic Geochemistry* 16, 507-546.

Howell KL, Davies JS, Allcock AL, Braga- Henriques A, Buhl-Mortensen P, Carreiro-Silva M, et al. (2019) A framework for the development of a global standardised marine taxon reference image database (SmarTaR-ID) to support image-based analyses. *PloS ONE* 14(12): e0218904. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218904>.

Huffard, CL, Durkin, CA, Wilson, SE, McGill, PR, Henthorn, R, Smith, KL, (2020) Temporally-resolved mechanisms of deep-ocean particle flux and impact on the seafloor carbon cycle in the northeast Pacific. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 173, 104763. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2020.104763>.

ICES Data and Information Group (DIG) (2006) *ICES Guidelines for CTD data*. (Compiled March 2000; revised August 2001; June 2006) Copenhagen, Denmark, International Council for the Exploration of the Sea (ICES), 9pp. <http://hdl.handle.net/11329/244>.

International Hydrographic Organization (2019) B-6, Standardization of Undersea Feature Names, Guidelines Proposal Form Terminology, Ed.4.2 43pp. https://iho.int/uploads/user/pubs/bathy/B-6_e4%20%200_2019_EF_clean_3Oct2019.pdf.

International Hydrographic Organization (2020) S-44, Standards for Hydrographic Surveys, Edition 6.0.0. 46pp. https://iho.int/uploads/user/pubs/standards/s-44/S-44_Edition_6.0.0_EN.pdf.

Intergovernmental Oceanographic Commission (IOC) (1992) *Guide to satellite remote sensing of the marine environment*. Paris, France, UNESCO, 178pp (Intergovernmental Oceanographic Commission Manuals and Guides; 24). <http://hdl.handle.net/11329/98>.

海管局《技术研究》第7期：海洋底栖线虫分子协议手册(线虫纲动物条码编目)。

海管局《技术研究》第13期：克拉里昂-克利珀顿区深海大型动物。

Ishii, M, Kosugi, N (2020) Determination of total alkalinity in sea water by spectrophotometry, in: Otsuka, S, Ueki, I, Sasano, D, Kumamoto, Y, Obata, H, Fukuda, H, Nishibe, Y, Maki, H, Goto, K, Aoyama, M, Ono, T (Eds.), *Guideline of Ocean Observation 4th Edition*. The Oceanographic Society of Japan, Tokyo, Japan, p. G305EN001-G305EN012.

Jaijel, R, Tchernov, BN, Biton, E, Weinstein, Y, Katz, T (2021). Optimizing a standard preparation procedure for grain size analysis of marine sediments by laser diffraction (MS-PT4SD: Marine sediments-pretreatment for size distribution). *Deep-Sea Research I*, 167, 103429. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2020.103429>.

Jamieson, AJ (2015) *The hadal zone: Life in the deepest Oceans*. Cambridge University Press.

Janssen, A, Kaiser, S, Meissner, K, Brenke, N, Menot, L, Arbizu, PM (2015) A reverse taxonomic approach to assess macrofaunal distribution patterns in abyssal Pacific polymetallic nodule fields. *Plos one*, 10(2).

Jombart, T, Devillard, S, Balloux, F (2010) Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, 11, 94.

Joseph, A (2014) Eulerian-Style Measurements Incorporating Mechanical Sensors. *Measuring Ocean Currents*, 241–265. Doi:10.1016/b978-0-12-415990-7.00008-9.

Jumars, PA (1981) Limits in predicting and detecting benthic community responses nodule mining. *Marine Mining*, 3: 213- 229.

Jombart, T, Devillard, S, Balloux, F (2010) Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, 11, 94.

Karstensen, J (2005) How to process mooring data? A cookbook for MicroCat, ADCP and RCM data. Kiel, Germany, IFM-GEOMAR, Universitat Kiel, 44 pp. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.2514.7044>.

Klaas C, Archer DE (2002) Association of sinking organic matter with various types of mineral ballast in the deep sea: Implications for the rain ratio. *Global Biogeochem. Cycles*. 16(4), 1116, <https://doi.org/10.1029/2001GB001765>.

Klevjer, TA, Irigoien, X, Røstad, A, Fraile-Nuez, E, Benítez-Barríos, VM, Kaartvedt, S (2016) Large scale patterns in vertical distribution and behaviour of mesopelagic scattering layers. *Sci. Rep.* 6, 19873, <https://doi.org/10.1038/srep19873>.

Knap, A, Michaels, A, Close, A, Ducklow, H, Dickson, A (eds.) (1996) *Protocols for the Joint Global Ocean Flux Study (JGOFS) Core Measurements*. JGOFS Report Nr. 19, vi+170 pp. Reprint of the IOC Manuals and Guides No. 29, UNESCO 1994.

Knight, RD, Roberts, S, Cooper, MJ (2018) Investigating monomineralic and polymineralic reactions during the oxidation of sulphide minerals in seawater: Implications for mining seafloor massive sulphide deposits. *Applied Geochemistry* 90: 63-74.

Kong, RYC, Giesy, JP, Wu, RSS, Chen, EXH, Chiang, MWL, Lim, PL, Yuen, BBH, Yip, BWP, Mok, HOL, Au, DWT (2008) Development of a marine fish model for studying in vivo molecular responses in ecotoxicology. *Aquatic Toxicology* 86: 131–141. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.10.011>.

Kossel, E, Bigalke, N, Pinero, E, Haeckel, M (2013) *The SUGAR Toolbox: a library of numerical algorithms and data for modelling of gas hydrate systems and marine*

environments. GEOMAR Report 8, GEOMAR Helmholtz Centre for Ocean Research Kiel, 160 p, <https://doi.pangaea.de/10.1594/PANGAEA.846280>.

Kuhn, G (2013) Don't forget the salty soup: Calculations for bulk marine geochemistry and radionuclide geochronology. Goldschmidt 2013 Florence, Italy, 25 August 2013–30 August 2013. Doi:10.1180/minmag.2013.077.5.11.

Kuhner, MK (2006) lamarc 2.0: Maximum likelihood and Bayesian estimation of population parameters. *Bioinformatics*, 22, 768–770.

Labrenz, M, Brettar, I, Christen, R, Flavier, S, Botel, J, Holfe, MG (2004) Development and application of a real-time PCR approach for quantification of uncultured bacteria in the central Baltic Sea. *Appl Environ Microbiol*, 70(8), 4971-4979. <https://doi.org/10.1128/aem.70.8.4971-4979.2004>.

Lam, PJ, Lee, JM, Heller, MI, Mehic, S, Xiang, Y, Bates, NR (2018). Size - fractionated distributions of suspended particle concentration and major phase composition from the U.S. GEOTRACES eastern Pacific zonal transect (GP16). *Marine Chemistry*, 201, 90 – 107. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2017.08.013>.

Lamarche, G, Lurton, X (2018) Recommendations for improved and coherent acquisition and processing of backscatter data from seafloor-mapping sonars *Mar. Geophys. Res.* 39:5–22. <https://doi.org/10.1007/s11001-017-9315-6>.

Langdon, C (2010) Determination of Dissolved Oxygen in Seawater By Winkler Titration using Amperometric Technique. In, *The GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines. Version 1*, (eds Hood, E.M., C.L. Sabine, and B.M. Sloyan). 18pp.. (IOCCP Report Number 14; ICPO Publication Series Number 134). 可在线查阅, 网址是: <http://www.go-ship.org/HydroMan.html>.

Langenkämper, D, Zurowietz, M, Schoening, T, Nattkemper, TW (2017) BIIGLE 2.0 - Browsing and Annotating Large Marine Image Collections. *Frontiers in Marine Science* 4 (83).

Lao, Y, Anderson RF, Broecker, WS, Trumbore, SE, Hofmann, HJ, Wolfli, W (1992) Transport and Burial Rates of Be-10 and Pa-231 in the Pacific-Ocean During the Holocene Period. *Earth and Planetary Science Letters* 113, 173-189. [https://doi.org/10.1016/0012-821X\(92\)90218-K](https://doi.org/10.1016/0012-821X(92)90218-K).

Le Menn, M, Poli, P, David, A, Sagot, J, Lucas, M, O'Carroll, A, Belbeoch, M, and Herklotz, K (2019) Development of Surface Drifting Buoys for Fiducial Reference Measurements of Sea-Surface Temperature. *Frontiers in Marine Science*, 6:578 12pp. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00578>.

Levin, LA, Mendoza, GF, Konotchick, T, Lee, R (2009) Community structure and trophic relationships in Pacific hydrothermal sediments. *Deep-Sea Res II* 56: 1632–1648.

Longhurst, A (1998) *Ecological Geography of the Sea*. Academic Press, New York.

Luff, R, Haeckel, M, Wallmann, K (2001) Robust and fast FORTRAN and MATLAB libraries to calculate pH distributions in a non-steady state model for aqueous systems. *Computers & Geosciences* 27, 157-169.

Lumpkin, R, Özgökmen, T, Centurioni, L (2017) Advances in the Application of Surface Drifters. *Annual Review of Marine Science*, 9(1), 59–81. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010816-060641>.

Macheriotou L, Rigaux A, Derycke S, Vanreusel A (2020) Phylogenetic clustering and rarity imply risk of local species extinction in prospective deep-sea mining

- areas of the Clarion–Clipperton Fracture Zone. *Proc. R. Soc. B* 287 <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2019.2666>.
- Manni, F, Guerard, E, Heyer, E (2004) Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: How barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. *Human Biology*, 76, 173–190.
- Marsaglia, K, Milliken, K, Doran, L (2013) IODP digital reference for smear slide analysis of marine mud. Part 1: Methodology and atlas of siliciclastic and volcanogenic components. IODP Technical Note 1. <http://iodp.tamu.edu/publications/TN/TN1-SS-Pt1-Atlas-inter.pdf>.
- Marsaglia, K, Milliken, K, Leckie, R, M, Tentori, D, Doran, L (2015) IODP Smear Slide Digital Reference for Sediment Analysis of Marine Mud. Part 2: Methodology and Atlas of Biogenic Components. IODP Technical Note 2. http://iodp.tamu.edu/publications/TN/Tnote_2.pdf.
- Marsaglia, K, Shapiro, S, Doran, L, Tentori, D (2015) ODP Core Photo Atlas. IODP Technical Note 3. http://iodp.tamu.edu/publications/TN/Tnote_3.pdf.
- Mazzullo, J, Graham, AG (Eds.), 1988. Handbook for shipboard sedimentologists. ODP Tech. Note, 8. Doi:10.2973/odp.tn.8.1988.
- McCord, JM, Fridovich, I (1969) Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemocuprein. *Journal of Biological Chemistry* 244: 6049–6055.
- McDonnell, AMP, Lam, PJ, Lamborg, CH, Buesseler, KO, Sanders, R, Riley, JS, Marsay, C, Smith, HEK, Sargent, EC, Lampitt, RS, Bishop, JKB (2015) The oceanographic toolbox for the collection of sinking and suspended marine particles. *Prog. Oceanogr.* 133: 17–31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocean.2015.01.007>.
- McIntyre, AD, Warwick, RM, (1984) Meiofaunal techniques, In: Holme, NA, McIntyre, AD (Eds.), *Methods for the Study of the Marine Benthos*, 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 217–244 (IBP Handbook, No. 16).
- McQuaid KA, Attrill MJ, Clark MR, Cobley A, Glover AG, Smith CR, Howell KL (2020) Using habitat classification to assess representativity of a protected area network in a large, data-poor area targeted for deep-sea mining. *Frontiers in Marine Science*, 7: 1066 <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.558860>.
- McTaggart, KE, Johnson, GC, Delahoyde, MCFH, Swift, JH (2010) Notes on CTC/O2 Data Acquisition and Processing Using Sea-Bird Hardware and Software (As Available). In, *The GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines. Version 1*, (eds Hood, E.M., C.L. Sabine, and B.M. Sloyan). 10pp. (IOCCP Report Number 14; ICPO Publication Series Number 134). 可在线查阅，网址是：<http://www.go-ship.org/HydroMan.html>。
- Meckler, AN, Schubert, CJ, Cowie, GL, Peiffer, S, Dittrich, M (2004) New organic matter degradation proxies: Valid in lake systems? *Limnology and Oceanography* 49(6): 0024-3590, <https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.6.2023>.
- Meirmans PG, Van Tienderen PH (2004) GENOTYPE and GENODIVE: Two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular Ecology Notes*, 4, 792–794.
- Mestre, NC, Rocha, TL, Canals, M, Cardoso, C, Danovaro, R, Dell'Anno, A, Gambi, C, Regoli, F, Sanchez-Vidal, A, Bebianno, MJ (2017) Environmental hazard assessment of a marine mine tailings deposit site and potential implications for deep-sea mining. *Environ. Pollut.* 228, 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.027>.
- Mewes, K, Mogollón, J. M, Picard, A, Rühlemann, C, Kuhn, T, Nöthen, K, Kasten, S (2014) Impact of depositional and biogeochemical processes on small scale variations in nodule

abundance in the Clarion-Clipperton Fracture Zone, Deep Sea Research Part I 91: 125-141, <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2014.06.001>.

Millero, FJ (2013). Chemical Oceanography, 4th Edn. Boca Raton, FL: CRC Press, 552.

Moore C, Barnard, A, Fietzek, P, Lewis, M, Sosik, H, White, S, Zielinski, O (2009) Optical tools for ocean monitoring and research. Ocean Science. 661-684. <https://doi.org/10.5194/os-5-661-2009>.

Mourgaud, Y, Martinez, E, Geffard, A, Andral, B, Stanisiere, JY, Amiard, JC (2002) Metallothionein concentration in the mussel *Mytilus galloprovincialis* as a biomarker of response to metal contamination: validation in the field. Biomarkers. 7(6):479-490. <https://doi.org/10.1080/1354750021000034528>

Nöthen, K, Kasten, S (2011). Reconstructing changes in seep activity by means of pore water and solid phase Sr/Ca and Mg/Ca ratios in pockmark sediments of the Northern Congo Fan. Mar. Geol. 287, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.margeo.2011.06.008>.

National Measurement Office, Marine Scotland, The Crown Estate, Robinson SP, Lepper PA, Hazelwood RA (2014) NPL Good Practice Guide No. 133: Good Practice Guide for Underwater Noise Measurement, ISSN: 1368-6550, 2014.

Numerical Models of Oceans and Oceanic Processes (2000) Edited by Lakshmi H. Kantha, Carol Anne Clayson. Volume 66, Pages 1-940.

Ocean Best Practices System (2020) Best Practices document template: data management. Version 6. Oostende, Belgium, International Oceanographic Data and Information Exchange (IODE) for Ocean Best Practices System, 12pp. <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-760>.

Ogashawara, I (2015) Terminology and classification of bio-optical algorithms. Remote Sensing Letters 6, 613–617.

Orr, JC, Epitalon, JM, Dickson, AG, Gattuso, JP (2018) Routine uncertainty propagation for the marine carbon dioxide system. Mar. Chem. 207, 84–107.

Paul, SAL, Gaye, B, Haeckel, M, Kasten, S, Koschinsky, A (2018) Biogeochemical Regeneration of a Nodule Mining Disturbance Site: Trace Metals, DOC and Amino Acids in Deep-Sea Sediments and Pore Waters. Front. Mar. Sci. 5, 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00117>.

Petihakis, G, Haller, M, Petersen, W, Nair, R, Seppälä, J. and Salvetat, F (2014) JERICO Report on Calibration Best Practices: D4.2 (Version 1.3 - 27/06/14). Issy-les-Moulineaux, France, Ifremer for JERICO Project, 61pp. <https://doi.org/10.13155/49740>.

Pham, M, Sanchez-Cabeza, J, Povinec, P, Andor, K, Arnold, D, Benmansour, M, et al, International Atomic Energy Agency, (2008) A new certified reference material for radionuclides in Irish Sea sediment (IAEA-385). Applied Radiation and Isotopes, 66(11), 1711–1717. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2007.10.020>.

Pham, MK, Betti, M, Povinec, PP., et al. (2011) A certified reference material for radionuclides in the water sample from Irish Sea (IAEA-443), J Radioanal Nucl Chem 288, 603–611, <https://doi.org/10.1007/s10967-010-0976-8>.

Planquette, Hélène, Sherrell, Robert M., (2012), Sampling for particulate trace element determination using water sampling bottles: methodology and comparison to in situ pumps, Limnol. Oceanogr. Methods, 10, <https://doi.org/10.4319/lom.2012.10.367>.

Pritchard, JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 155, 954–959.

Proud, R, Cox, MJ, Brierley AS (2017) Biogeography of the Global Ocean's Mesopelagic Zone. Current Biology 27, 113–119 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2016.11.003>.

Przeslawski, R, Berents, P, Clark, M, Edgar, G, Frid, C, Hughes, L, Ingleton, T, Kennedy, D, Nichol, S, Smith, J, (2018) Marine Sampling Field Manual for Grabs and Box Corers [Version 1]. In: Field Manuals for Marine Sampling to Monitor Australian Waters, Version 1 (eds Przeslawski, R. and Foster, S.). Canberra, Australia, NESP Marine Biodiversity Hub, pp. 172-195.

Pusceddu, A, Dell'Anno, A, Fabiano, M, Danovaro, R (2009) Quantity and bioavailability of sediment organic matter as signatures of benthic trophic status. *Mar Ecol Prog Ser* 375:41-52, <https://doi.org/10.3354/meps07735>.

Regoli, F, d'Errico, G, Nardi, A, Mezzelani, M, Fattorini, D, Benedetti, M, Di Carlo, M, Pellegrinni, D, Gorbi, S (2019) Application of a Weight of Evidence Approach for monitoring complex environmental scenarios: the case-study of off-shore platforms. *Frontiers Marine Science* <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00377>.

Revsbech, NP, Jørgensen, BB (1986) Microelectrodes and their use in microbial ecology, in: Marshall KC (Ed.), *Advances in Microbial Ecology*. Plenum Press, New York, pp. 293-352.

Robinson IS. *Measuring the Oceans from Space. The principles and methods of satellite oceanography* (2004) ISBN 978-3-540-42647-9.

Robinson, SP, Lepper, PA, Hazelwood, RA (2014) *Good Practice Guide for Underwater Noise Measurement*. Teddington, England, National Measurement Office, Marine Scotland, The Crown Estate, 95pp (NPL Good Practice Guide No. 133).

Ronconi, RA, Burger, AE (2009) Estimating seabird densities from vessel transects: distance sampling and implications for strip transects. *Aquatic Biology*, 4(3), 297-309.

Rothwell, RG, Rack, FR (2006) New techniques in sediment core analysis: an introduction. In: Rothwell, RG, (ed.) *New techniques in sediment core analysis*. London, UK, Geological Society of London, 1-29, 266pp (Geological Society Special Publication, 267). <https://doi.org/10.1144/GSLSP.2006.267.01.01>.

Schoening, T, Osterloff, J, Nattkemper, TW, 2016. RecoMIA—Recommendations for Marine Image Annotation: Lessons Learned and Future Directions. *Frontiers in Marine Science* 3 (59).

Schönfeld, J, Alve, E, Geslin, E, Jorissen, FJ, Korsun, S, Spezzaferri, S, Members of the FOBIMO group (2012) The FOBIMO (Foraminiferal Bio-Monitoring) initiative—Towards a standardised protocol for soft-bottom benthic foraminiferal monitoring studies. *Marine Micropaleontology* 94-95, 1-13.

Sgih, HH, Sprenke, J, Payton, C. and Mero, T (2001) *Towing Basin Speed Verification of Acoustic Doppler Current Profiling Instruments*. Silver Spring, MD, NOAA NOS Center for Operational Oceanographic Products and Services, 53pp (NOAA Technical Report NOS CO-OPS 033). DOI: <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-139>.

Simon-Lledo E, Bett BJ, Huvenne VAI, Schoening T, Benoist NMA, Jeffreys RM, Durden JM, Jones DOB (2019). Megafaunal variation in the abyssal landscape of the Clarion Clipperton Zone. *Progress in Oceanography*, 170, 119–133. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2018.11.003>.

Simpson, S, Batley, G (eds) (2016) *Sediment quality assessment: a practical guide*. Second edition. Clayton, Australia, CSIRO Publishing, 346pp. <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-498>.

Stewart, RH (1985) *Methods of Satellite Oceanography*. 360 pp. Berkeley, Los Angeles, London: University of California Press. ISBN 0-520-04226-3. <https://doi.org/10.1017/S0016756800026674>.

- Stratmann, T, Mevenkamp, L, Sweetman, AK, Vanreusel, A, Van Oevelen, D (2018) Has phytodetritus processing by an abyssal soft-sediment community recovered 26 years after an experimental disturbance? *Frontiers in Marine Science*, 5, 59, 2018.
- Sutton, TT, Clark MR, Dunn DC, Halpin PN, Rogers AD, Guinotte J, Bograd SJ, Angel MV, Perez JAA, Wishner K, Haedrich RL, Lindsay DJ, Drazen JC, Vereshchakam A, Piatkowski U, Morato T, Błachowiak-Samołyk K, Robison BH, Gjerder KM, Pierrot-Bults A, Bernalt P, Reygondeau G, Heino M (2017) A global biogeographic classification of the mesopelagic zone: An aid for marine conservation planning. *Deep-Sea Research I*. 126: 85-102 <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2017.05.006>.
- Sweetman, AK, Middelburg, JJ, Berle, AM, Bernadino, AF, Schander, C, Demopoulos, AWJ, Smith CR (2010) Impacts of exotic mangrove forests and mangrove deforestation on carbon remineralization and ecosystem functioning in marine sediments. *Biogeosciences*, 7, 2129 – 2145.
- Sweetman AK, Levin, LA, Rapp, HT, Schander, C (2013) Faunal trophic structure at hydrothermal vents on the southern Mohn's Ridge, Arctic Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 473, 115-131.
- Sweetman, AK, Smith, CR, Shulse, CN, Maillot, B, Lindh, M, Church, MJ, Meyer, KS, Van Oevelen, D, Stratmann, T, Gooday, AJ (2019) Key role of bacteria in the short-term cycling of carbon at the abyssal seafloor of the eastern Clarion Clipperton Fracture Zone. *Limnology and Oceanography*, 64(2): 694-713.
- Taboada S, Riesgo A, Wiklund H, Paterson GLJ, Koutsouveli V, Santodomingo N, Dale AC, Smith CR, Jones DOB, Dahlgren TG, Glover AG (2018) Implications of population connectivity studies for the design of marine protected areas in the deep sea: An example of a demosponge from the Clarion-Clipperton Zone. *Molecular Ecology*, 27(23) 4657–4679. <https://doi.org/10.1111/mec.14888>.
- Talley, LD, Pickard, GL, Emery, WJ, Swift, JH (2011) *Instruments and Methods*. S16. Pp. 1-77. *Descriptive Physical Oceanography. An Introduction*. Sixth edition.
- Tamburri, M (2006) *Protocols for Verifying the Performance of In Situ Turbidity Sensor*. Solomons, MD, Alliance for Coastal Technologies, 22pp (ACTPV0601 5/3/06). <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-347>.
- Thurnherr, AM, Visbeck, M, Firing, E, King, BA, Hummon, JM, Krahnemann, G, Huber, B (2010) A - The GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines. IOCCP Report No. 1, ICPO Publications Series No. 134, Version 1, 2010. <http://www.go-ship.org/HydroMan.html>.
- Thomson, RE, Emery, WJ (2014) *Data Acquisition and Recording. Data Analysis Methods in Physical Oceanography*, 1–186. Doi:10.1016/b978-0-12-387782-6.00001-6.
- Thorpe, SA (2007) *The Turbulent Ocean*, Cambridge University Press, New York, 439pp.
- Uchida, H, Johnson, GC, McTaggart, GC (2010) CTD Oxygen Sensor Calibration Procedures. In, *The GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines*. Version 1, (eds Hood, E.M., C.L. Sabine, and B.M. Sloyan), 17pp. (IOCCP Report Number 14; ICPO Publication Series Number 134). 可在线查阅, 网址是: <http://www.go-ship.org/HydroMan.html>。
- U.S. Environmental Protection Agency. Method 180.1: Determination of Turbidity by Nephelometry. Edited by James W. O'Dell. Revision 2.0. August 1993. 可在线查阅, 网址是: https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-08/documents/method_180-1_1993.pdf。

U.S. Integrated Ocean Observing System (2016) Manual for Quality Control of Temperature and Salinity Data Observations from Gliders. Version 1.0. Silver Spring, MD, U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Ocean Service, Integrated Ocean Observing System, 23pp. & Appendices. <http://hdl.handle.net/11329/289>.

U.S. Integrated Ocean Observing System (2017) Manual for Real-Time Quality Control of Passive Acoustics Data: A Guide to Quality Control and Quality Assurance for Passive Acoustics Observations. Silver Spring, MD, U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Ocean Service, Integrated Ocean Observing System, 24pp. & Appendices. <http://hdl.handle.net/11329/342>.

U.S. Integrated Ocean Observing System (2019a), Manual for Real-Time Quality Control of In-Situ Current Observations. Version 2.1. Silver Spring, MD, U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Ocean Service, Integrated Ocean Observing System, 54pp. <https://doi.org/10.25923/sqe9-e310>.

U.S. Integrated Ocean Observing System (2020) Manual for Real-Time Oceanographic Data Quality Control Flags. Version 1.2. Silver Spring, MD, U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Ocean Service, Integrated Ocean Observing System, 24pp. <https://doi.org/10.25923/w8y6-d298>.

U.S. Integrated Ocean Observing System (2020) Manual for Real-Time Quality Control of In-situ Temperature and Salinity Data Version 2.1: a Guide to Quality Control and Quality Assurance of In-situ Temperature and Salinity Observations. Silver Spring, MD, U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Ocean Service, Integrated Ocean Observing System, 50pp. <https://doi.org/10.25923/x02m-m555>.

van Sebille, E, Griffies, SM, Abernathy, R, et al (2018) Lagrangian ocean analysis: Fundamentals and practices. *Ocean Modelling*, 121, pp.49-75. <https://doi.org/10.1016/j.ocemod.2017.11.008>.

Verfuss, UK, Gillespie, D, Gordon, J, Marques, TA, Miller, B, Plunkett, R, Theriault, JA, Tollit, DJ, Dominic J, Zitterbart, DP, Hubert, P, Thomas, L (2018) Comparing methods suitable for monitoring marine mammals in low visibility conditions during seismic surveys. *Marine Pollution Bulletin* 126 1-18, <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.10.034>.

Wallmann, K, Aloisi, G, Haeckel, M, Obzhairov, A, Pavlova, G, Tishchenko, P (2006) Kinetics of organic matter degradation, microbial methane generation, and gas hydrate formation in anoxic marine sediments, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70(15): 3905-3927, <https://doi.org/10.1016/j.gca.2006.06.003>.

Watling L, Guinotte J, Clark MR, Smith CR (2013) A proposed biogeography of the deep ocean floor. *Progress in Oceanography* 111: 91-112. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocean.2012.11.003>.

Wenneck, T deL, Falkenhaus, T, Bergstad, OA (2008) Strategies, methods and technologies adopted on the RV G.O. Sars MAR-ECO expedition to the Mid-Atlantic Ridge in 2004. *Deep-Sea Research II* 55, 6–28.

Wenzhöfer, F, Adler, M, Kohls, O, Hensen, C, Strotmann, B, Boehme, S, Schulz, HD (2001) Calcite dissolution driven by benthic mineralization in the deep-sea: In situ measurements of Ca²⁺, pH, pCO₂ and O₂. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 65(16), 2677-2690.

Werdell, PJ, McKinna, LIW, Boss, E, Ackleson, SG, Craig, SE, Gregg, WW, Lee Z, Maritorena S, Roesler CS, Rousseaux CS, Stramski D, Sullivan JM, Twardowski MS, Tzortziou M, Zhang, X (2018). An overview of approaches and challenges for retrieving marine inherent optical properties from ocean color remote sensing. *Progress in Oceanography*, 160, 186–212. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2018.01.001>.

Wong, GSK, Zhu, S (1995) Speed of sound in seawater as a function of salinity, temperature, and pressure. *Journal of the Acoustical Society of America*. 97(3): 1732—1736. <https://doi.org/10.1121/1.413048>.

Woo, LM (2019) Ocean Glider delayed mode QA/QC best practice manual, Version 2.1. Hobart, Australia, Integrated Marine Observing System, 59pp. <http://dx.doi.org/10.26198/5c997b5fdc9bd>.

Yoder, M, Irma Tandingan De Ley, I, King, IW, Mundo-Ocampo, M, Mann, J, Blaxter, M, Poiras, L, De Ley, P (2006) DESS: a versatile solution for preserving morphology and extractable DNA of nematodes. *Nematology*, 2006, Vol. 8(3), 367-376.

Yokoyama, Y, Nguyen, HV (1980) Direct and non-destructive dating of marine sediments, manganese nodules, and corals by high resolution gamma-ray spectrometry. In: *Isotope marine chemistry*, edited by E.D. Goldberg and Y. Horibe, p. 259-289, Tokyo, 1980.

Zeebe, RE, Wolf-Gladrow, D (2001) *CO₂ in Seawater: Equilibrium, Kinetics, Isotopes*. Elsevier, Amsterdam, 346 pp.

九. 简称和缩略语

盐温深	电导率、温度和深度
ddRADseq	双酶切限制性酶切位点关联 DNA 测序
DESS	二甲基亚砷、乙二胺四乙酸二钠和饱和氯化钠
DNA	脱氧核糖核酸
eDNA	环境脱氧核糖核酸
EPA	美国环境保护署
欧洲海观系统 DATA-MEQ 工作组	欧洲全球海洋观测系统数据管理、交换和质量工作组
FAU	福尔马胂衰减单位
FNU	福尔马胂散射浊度单位
Go-Ship	全球海洋船基水文调查计划
原子能机构	国际原子能机构
IAPSO	国际海洋自然科学协会
海考会	国际海洋考察理事会
海委会	联合国教育、科学及文化组织政府间海洋学委员会
ISO	国际标准化组织
JGOFS	全球联合海洋通量研究
MOCNESS	多层开闭网和环境感知系统

NTU	散射浊度单位
RADseq	限制性酶切位点关联 DNA 测序
rcf	相对离心力
RNA	核糖核酸
rRNA	核糖体核糖核酸
TEOS-10	2010 年海水热力学方程
