

HJ

中华人民共和国环境保护标准

HJ □□—20□□

生物物种监测技术指南 大型真菌

Technical Guidelines for Species Monitoring

Macrofungi

(征求意见稿)

20□□-□□-□□发布

20□□-□□-□□实施

环 境 保 护 部

发 布

目次

前言..... iii

1 适用范围..... 1

2 规范性引用文件..... 1

3 术语和定义..... 1

4 监测原则..... 1

5 监测方法..... 2

6 监测内容和指标..... 4

7 监测时间和频次..... 4

8 数据分析..... 4

9 质量控制和安全措施..... 6

10 监测报告编制..... 6

附录 A（资料性附录）地表和地下大型真菌样方记录表..... 7

附录 B（资料性附录）木生大型真菌记录表..... 8

附录 C（资料性附录）濒危物种样方记录表..... 9

附录 D（资料性附录）大型真菌监测报告编写格式..... 10

前言

为贯彻落实《中华人民共和国环境保护法》和《中国生物多样性保护战略与行动计划》（2011-2030 年），规范我国大型真菌监测工作，掌握大型真菌多样性的现状及其受环境变化的影响，保护生物多样性，制定本标准。

本标准规定了大型真菌监测的主要内容、技术要求和方法。

本标准附录 A、B、C、D 为资料性附录。

本标准为指导性标准。

本标准为首次发布。

本标准由环境保护部科技标准司组织制订。

本标准主要起草单位：中国科学院微生物研究所和环境保护部南京环境科学研究所。

本标准环境保护部 2014 年□□月□□日批准。

本标准自 2014 年□□月□□日起实施。

本标准由环境保护部解释。

生物物种监测技术指南 大型真菌

1 适用范围

本标准规定了大型真菌监测的主要内容、技术要求和方法。

本标准适用于中华人民共和国范围内大型真菌多样性监测。

2 规范性引用文件

本标准内容引用了下列文件或其中的条款。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

HJ623-2011	区域生物多样性评价标准
HJ628-2011	生物遗传资源采集技术规范（试行）
GB8170	数值修约规则
GB10111	利用随机数骰子进行随机抽样的办法
GB4883	数据的统计处理和解析正态样本异常值的判断和处理

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 真菌 fungi

指在传统上被定义为行吸收营养、具细胞壁、能产孢、无叶绿素、以无性和有性两种方式繁殖的真核有机体。

3.2 大型真菌 macrofungi

泛指所有能够形成肉眼可见的子实体的真菌。

3.3 盘菌 cup fungi

指有性阶段形成子囊盘的子囊菌，包括绝大多数所有肉眼可见的子囊菌，其子囊果为杯状、盘状、钟状、马鞍状、舌状、羊肚状等。

3.4 地下真菌 hypogeous fungi

指子实体整个生长过程都在地表以下的大型真菌，包括子囊菌和担子菌的部分种类。

3.5 菌根 mycorrhiza

指真菌菌丝与植物根系形成的共生联合体。

3.6 外生菌根 ectomycorrhiza

指菌丝只生长于细胞间隙，而不侵入寄主植物细胞壁内的一种菌根。

3.7 外生菌根真菌 ectomycorrhizal fungi

指与木本植物根系形成外生菌根共生关系的一些大型真菌，绝大多数为担子菌，少数为子囊菌。

4 监测原则

4.1 科学性原则。监测样地和监测对象应具有代表性，能够全面反映监测区域典型大型真菌群落的物种和遗传多样性、分布格局及其动态变化。

4.2 可操作性原则。监测方案应考虑所拥有的人力、资金和后勤保障等条件，使监测工作切

实可行。应采用效率高、成本低的监测方法。

4.3 持续性原则。监测工作应满足生物多样性保护和管理的需要，并能对生物多样性保护和管理起到指导及预警的作用。监测样地、样线和样方一经确定，不能随意改动。

4.4 保护性原则。大型真菌对其所处生态系统的形成、演化和稳定都发挥着重要作用，任何对大型真菌的破坏都不可避免地给整个生态系统造成不良影响。应做到不破坏样地及周边的大型真菌资源和其他物种及其生境，避免超出客观需要的频繁监测。

5 监测方法

5.1 监测准备

5.1.1 收集监测区域气候、地理和植被等自然环境的资料，掌握常见植物和大型真菌的分布及其鉴别知识，准备监测区域高分辨率地形图。

5.1.2 准备好监测器具，包括样方设置、标本采集制备、菌种分离、鉴定、生物量测定、记录、防护、环境因子检测等方面的工具。

5.2 监测对象

5.2.1 具有重要经济、生态价值和受威胁的大型真菌。包括可食用和药用的种类，与树木共生的外生菌根真菌，降解植物残体的腐生大型真菌，以及一些寄生于动植物、依靠寄主营养的种类等。

5.2.2 能够反映环境变化和评估生态系统健康程度的指示物种。

5.3 样地设置

5.3.1 代表性样地法。在监测区域内，选取物种种类和数量都比较丰富的地点。这种地点的监测结果无法准确反映整个监测区域的情况，其结果也不能用于统计分析。

5.3.2 随机抽样法。将监测区域划分为若干样地。每个样地内划分为许多固定面积的样方并编号，然后用Fisher的随机数字表进行随机取样，通常采用的是不放回的方法。该方法的缺点是当样地地形复杂时，到达取样地点可能要耗费很多时间，另外大型真菌分布的不均匀性会对结果造成一定的影响。这时可采用分层随机抽样法。

5.3.3 分层随机抽样法。可考虑生境类型、气候、海拔、土地利用类型或物种丰富度等因素进行分层，使层内变异尽量小。

5.4 野外采样

5.4.1 子实体显见的地生大型真菌采样

5.4.1.1 这种方法主要适用于地表子实体显见大型真菌的抽样监测。

5.4.1.2 在所选的样地内设置若干条样线，样线不一定是直线。样线应覆盖样地内主要生境类型，每种生境类型至少有2条样线，每条样线至少保持50 m距离，每条样线长度在0.5-1km。用GPS仪定位样线起点和终点坐标，在1:10万地图上标注样线。

5.4.1.3 沿着样线，每隔20 m设置一个半径1.262 m、面积5 m²的圆型样方，使每种生境类型的样方数量达50个左右。样方内生境必须尽可能同质。用一定标志标明样方的位置。

5.4.1.4 统计所选样方中地表大型真菌的种类、个体数量（样方记录表见附录A）。对于无法

鉴别种类的大型真菌，采集少量子实体，对其进行编号后，放入相应的袋子。

5.4.1.5 在进行样方采样时，应同时拍摄样方原生境照片，并详细记录采集日期、地点、海拔、生态特征（如着生基质、周围植被、共生生物等）、采集人等。

5.4.2 子实体较小种类的样方取样

5.4.2.1 这种方法主要适合于子实体较小种类的监测（如子囊菌中的一些盘菌等）。

5.4.2.2 样地每年至少抽样两次，一般在子实体发生季节的中间和末尾进行。

5.4.2.3 在靠近 5.4.1 中大型真菌样方的附近建立样方。

5.4.2.4 以 0.56 m 为半径，建立 1 m² 的圆形样方，以 1 周内可完成抽样调查为标准，确定样方数目。

5.4.2.5 统计所选样方中子实体小型真菌的种类、个体数量，少量采集样方内各小型真菌物种子实体用于鉴定，编号后放入相应的袋子。同时按 5.4.1.5 记录相关信息。

5.4.3 木腐大型真菌采样

5.4.3.1 被调查的圆木直径必须大于 20 cm，长度超过 2 m，并且倒伏在地面上。

5.4.3.2 按照腐朽程度将圆木划分为三个等级：一等，刚刚倒伏，树皮仍完整；二等，中度腐烂，树皮脱落，用刀可以不费力地切入到 2 cm 深处；三等，完全腐烂，手指可以损毁。每个样地内，每个腐朽等级选择 30 个圆木作为样品。

5.4.3.3 每棵圆木用一彩色的塑料标牌标记并编号，同时在地图上标记其位置。鉴定倒木的种类，记录其长度和直径。如果圆木两端直径差异较大，则需要记录两端及中间直径。如果圆木存在主要的分枝，则每个分枝也需要进行测量。

5.4.3.4 统计每棵圆木上生长的大型真菌种类和个体数（记录表见附录 B）。对于无法鉴别种类的大型真菌，采集少量子实体，对其进行编号后，放入相应的袋子。同时按 5.4.1.5 记录相关信息。

5.4.4 地下真菌抽样一样线法

5.4.4.1 取样的样方沿着一条通过样地的线设置，这条线不一定是直线。在样地内，样线可分散。如果同一区域内重复设置样线，样线至少保持 20 m 距离。

5.4.4.2 沿着样线，每隔 6 m 设置一个 4 m² 的圆形样方。通常每 5-15 ha 面积设置 25 个样方，总取样面积达 100 m²。

5.4.4.3 如果监测地区是一个斜坡，可以在斜坡的顶部、中部和底部各设置一条样线，每个样线的样方数分别为 8、9 和 8 个。

5.4.4.4 统计所选样方中地下真菌的种类、个体数量，少量采集样方内各地下真菌物种子实体用于鉴定，编号后放入相应的袋子。同时按 5.4.1.5 记录相关信息。

5.4.5 濒危物种采样

5.4.5.1 在所选样地内有濒危物种分布的地块上，设置若干 10m×10 m 的样方。

5.4.5.2 统计样方内濒危物种的种类和个体数（记录表见附录 C）。采集大小适中的个别子实体，对其称重，用以推测样方内该物种子实体的生物量，或通过以往年份采集子实体样品重量推测其生物量。同时按 5.4.1.5 记录相关信息。

5.5 标品制备和保存

5.5.1 大型真菌标本制备和保存。采集的标本应及时分离菌种和制作用于提取 DNA 的组织

块。标本采用烘干箱在 40–50 °C 温度下及时烘干。含水量较多且个体较大标本烘干时需要剖开、切成薄片后烘干。烘干的标本置于 -40°C 以下的冰柜中冷冻杀虫一周以上，个别体积较大标本的冷冻时间应延长。冷冻后的标本保存在标本馆等适宜场所。

5.5.2 用于提取 DNA 的组织块的制备和保存。用解剖刀或镊子从子实体上选取无深色色素且较为干净的组织，用干净的吸水纸包裹后，放入装有变色硅胶的封口袋中干燥处理。为保证干燥的效果，应及时更换变色硅胶，以获得完全干燥的样品。干燥后的组织块保存在放有少量变色硅胶的自封袋内，并避开高温高湿的环境。

5.5.3 土壤和菌根样品的处理和保存。清洗掉外生菌根上的土壤粒子以及植物碎片等杂质。将含有菌根的土样放在土壤筛中，用水管轻轻地冲掉其表面比较松散的杂质。把树根浸泡在水里，并置于解剖镜下，用纤细的镊子和软的小毛刷仔细清洗。清洗干净的外生菌根放在塑料管的蒸馏水中，然后放入 -20°C 的冰箱中待用。

5.5.4 大型真菌子实体形态鉴定。依据形态特征对大型真菌子实体进行鉴定。对标本的宏观和微观形态特征以及化学显色反应进行观察和描述，对照权威文献鉴定物种。

5.5.5 大型真菌子实体和培养物的分子鉴定。通过 DNA 测序获得标本特征性基因的序列信息，与 Genbank 和监测人员自测的可靠的大型真菌基因序列相对照，给出标本正确的名称。

6 监测内容和指标

6.1 大型真菌多样性监测指标，包括种类组成、分布格局、密度、频度、物种多样性指数和群落演替指数等。

6.2 特定物种监测指标，包括遗传多样性、分布格局等。

6.3 环境变化对大型真菌影响监测的指标，包括植物种类组成、分布格局、树龄、郁闭度、气温、地温、降水量、土壤含水量、空气湿度、光照条件、空气污染程度、土壤和子实体污染物蓄积量等。

7 监测时间和频次

7.1 监测时间应贯穿监测区域大型真菌子实体的生长季节，北方地区在 6 月末至 9 月初，中南部亚热带地区在 5 月至 10 月，南方热带地区在 4 月至 11 月。

7.2 一般自生长季的起始至末期，每两周监测 1 次；在子实体发生盛季，可每周监测 1 次。

7.3 对于一些形成革质或木栓质子实体的一年生种类，在生长季的初期、中期和末期各监测 1 次。

7.4 子实体多年生的种类在每个生长季的末期监测 1 次。

7.5 由于子实体的发生年际存在差异，在保证监测结果可比性的基础上，监测时间和频次可根据生长季作一定的微调。但监测时间和频次一经确定，一般应保持固定。

8 数据分析

8.1 密度。指单位面积上某物种的个体数，按式 (1) 计算。

$$D_i = N_i / A \quad (1)$$

式中， D_i ——物种 i 的密度，株/m²；

N_i ——样方内物种 i 的个体数，株，每个克隆株按一个个体计数；

A——样方面积，m²。

8.2 相对密度。按式（2）计算。

$$RDE = \frac{D_i}{\sum D_i} \times 100 \quad (2)$$

式中，RDE——相对密度，%；

D_i ——样方内某物种 i 的密度，株/m²；

$\sum D_i$ ——样方中所有物种密度的总和，株/m²。

8.3 频度。指某物种在样地中出现的百分率，按（3）计算。

$$F_i = \frac{Q_i}{\sum Q} \times 100 \quad (3)$$

式中， F_i ——物种 i 的频度，%；

Q_i ——样地内某物种 i 出现的样方数，个；

$\sum Q$ ——样地内被调查的样方总数，个。

8.4 相对频度。按式（4）计算。

$$RFE = \frac{F_i}{\sum F_i} \times 100 \quad (4)$$

式中，RFE——相对频度，%；

F_i 为——物种 i 的频度，%；

$\sum F_i$ ——所有物种的总频度，%。

8.5 丰富度指数

Patrick (1949) 丰富度指数 $D_p = S$

Margalef (1958) 丰富度指数 $D_{Ma} = (S - 1) / \ln N$

Menhinick (1964) 丰富度指数 $D_{Me} = S / \sqrt{N}$

式中， S ——物种数，

N ——样地内所有物种的个体数。

8.6 多样性指数

Shannon-Wiener 多样性指数 $H' = -\sum P_i \ln P_i$

Simpson 多样性指数 $D = 1 / \sum P_i^2$

式中， P_i 为物种 i 的个体数占样地内总个体数的比例， $i=1, 2, \dots, S$ 。

8.7 均匀度指数

Pielou 均匀度指数1 $J_{sw} = (-\sum P_i \ln P_i) / (\ln S)$

Pielou 均匀度指数2 $J_{st} = (1 - \sum P_i^2) / (1 - 1/S)$

8.8 Sørensen 相似性指数

$$C_s = \frac{2j}{a+b}$$

式中， C_s ——相似性指数，(%)；

j ——两个群落或样地共有种数，个；

a ——样地 A 的物种数，个；

b ——样地 B 的物种数，个。

8.9 大型真菌群落演替指数按式 (5) 计算。

$$E = 1 - \frac{S_{LMi}}{S_{LMo}} \quad (5)$$

式中， E ——演替速率；

S_{LMi} ——第 i 时刻群落的相似性指数；

S_{LMo} ——初始群落的相似性指数。

9 质量控制和安全措施

9.1 严格按照指南要求进行监测样地、样线和样方的设置。采取相应措施保护好样地、样线和样方。

9.2 编制监测区域大型真菌鉴定手册，对观测人员开展监测知识培训，提升观测人员的监测能力和水平。

9.3 认真填写监测记录表，需要更正时，应在错误数据（文字）上划一横线，在其上方写上正确内容，并在所划横线上加盖修改者签章。

9.4 保持记录本完整，作废的表格需写明原因并加盖经手人签章，不得撕毁其中任一表格。原始记录及数据整理过程记录都需要建立档案并存档。

9.5 建立数据审核程序，全面、细致地审核监测数据的正确性和完整性，发现可疑、缺漏数据及时补救。

9.6 建立数据备份制度，将所有监测数据和文档换成电子文档并进行备份（光盘、硬盘），防止数据丢失。

9.7 购买必要的防护用品和应急药品，做好安全防护工作，防止毒蛇和昆虫叮咬，在确保人身安全的情况下方可进行监测，避免单人作业。

10 监测报告编制

大型真菌监测报告应包括前言，监测区域概况，监测方法，监测区域大型真菌的种类组成、区域分布、种群动态、面临的威胁，对策建议等。监测报告编写格式见附录 D。

地表和地下大型真菌样方记录表

[illegible]

附录 B
(资料性附录)
木生大型真菌记录表

[illegible]

附录 C
(资料性附录)
濒危物种样方记录表

[illegible]

附录 D
(资料性附录)
大型真菌监测报告编写格式

大型真菌监测报告由封面、报告目录、正文、致谢、参考文献、附录等组成。

1. 封面

包括报告标题、监测单位、编写单位及编写时间等。

2. 报告目录

一般列出二到三级目录。

3. 正文

包括：

- (1) 前言；
- (2) 监测区域概况；
- (3) 监测目标；
- (4) 工作组织；
- (5) 监测方法；
- (6) 大型真菌的种类组成、区域分布、种群动态、面临的威胁；
- (7) 对策建议。

4. 致谢

5. 参考文献

按照《文后参考文献著录规则》(GB/T 7714-2005)的标准执行。