



وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
پژوهشگاه آبی پروری آبهای داخلی

روشهای نمونه برداری از موجودات کفزی آبهای ساکن ، جاری و دانه بندی رسوب TOM



تهیه و تدوین : یعقوبعلی زحمتکش

پائیز ۱۳۹۸

فهرست مندرجات

۲	پیش گفتار
۲-----۳	مقدمه
۳	هدف
۳	دامنه کاربرد
۳	مسئولیت
۴-----۷	روش کار (نمونه برداری) در آبهای ساکن - جاری
۸-----۹	تثبیت نمونه ها
۹	علامت گذاری
۹-----۱۰	بررسیهای آزمایشگاهی
۱۰-----۱۲	فرم های استاندارد صحرایی و آزمایشگاهی
۱۳	روش سنجش دانه بندی
۱۳-----۱۴	اندازه گیری مواد آلی TOM
۱۴	نکات مهم اجرایی
۱۵	منابع و مستندات

۱- پیشگفتار:

بی مهرگان کفزی، جانوران ساکن بسترند که حداقل بخشی از دوره زندگی خود را بر روی و یا داخل بستر برکه ها، دریاچه ها و نهرها و یا رودخانه ها سپری می کنند. آنها در فضاهای باریک، بین سنگهای بستر، لابه لای مواد آلی و دیتریته ها، بر روی ذرات درشت و گیاهان آلی و یا داخل رسوبات ریز (رس ولای) ساکن هستند. از نظر تکنیکی، بی مهرگان جانورانی هستند. فاقد ستون مهره اند. اکثریت گونه های بی مهرگان کفزی در نهرها حشرات آبزی هستند. علاوه بر حشرات آبزی که عمدتاً دوران لاروی خود را در آبگیرها سپری می کنند، سخت پوستان

(خرچنگ ها ، آمفی پودا ، ایزوپودا) ، نرمتنان (صدفها و شکم پایان) ، کم تاران (زالوها و کرمهای خاکی)
وعنکبوتیان نیز در بین آنها مشاهده می شوند.

یک تقسیم بندی رایج ، بی مهرگان کفزی را براساس اندازه شان طبقه بندی می کند . بدین ترتیب که به موجودات بنتیک بزرگتر از ۵/۰ میلی متر یا ۵۰۰ میکرون (ماکروبتوز یا بی مهرگان کفزی درشت) (Macroinvertebrates) گفته می شود ، و به موجودات کمتر از ۵/۰ میلی متر و بزرگتر از ۱۰۰ میکرون (مایو بنتوز) گفته می شود مانند فرامینو فرا ، استراکودا ، و نماتودا . و به موجودات کمتر از ۱۰۰ میکرون (میکروبتوز) گفته می شود مانند باکتریها و پروتوزوا .

۲- مقدمه:

ماکرو بنتوزها درحقیقت مصرف کنندگان اولیه و گاها ثانویه می باشد که بسیاری از آنان ، هم محتوای پلانکتونی و هم از مواد آلی رسوبات بستر تغذیه می کنند ودرعین حال خود مورد تغذیه بسیاری از طعمه خواراند. کلاً می توان گفت که بنتوزها علاوه بر نقش معدنی کردن مواد غیرقابل دسترس که در بستر رسوب می کنند ودر اختیار نهادن آنها برای تولید کنندگان اولیه ، خود با تغذیه از مواد بی ارزشی چون دیتریتها و مواد آلی بستر ، آنها را به پروتئین و مواد غذایی قابل انتقال به چرخه بالاتر زنجیره غذایی تبدیل می کنند. در واقع بنتوزها حلقه اصلی در روند تولید میباشند و در مطالعاتی که به منظور تعیین توان تولیدی آبگیرها انجام میگردد ، علاوه بر تعیین تولید اولیه محاسبه مقدار ماکرو بنتوزها و تولیدات آنها اساسی می باشد . مطالعه توالی و وقایع سریع بیولوژیکی در یک منبع آبی جهت محاسبه تولید ماهی و محصول ، الزامی می باشد که در راستای بنتوزها نقش اساسی دارند .

۳- هدف:

آشنایی کارشناسان و مجریان و تولید کنندگان با روش فوق الذکر می باشد

۴- دامنه کاربرد :

اهمیت ماکروبتوزها وجایگاه ویژه آنها در تغذیه ماهیان و برآورد دقیق آن در منابع آبی مورد مطالعه ، در امر پرورش ماهیان و توان تولید منبع آبی مورد نظر، هم برای تولید کنندگان و هم برای کارشناسان مرتبط به آن بسیار مهم و ضروری می باشند. این دستورالعمل به منظور بهره برداری کارشناسان، پژوهشگران علوم شیلاتی و اکولوژی و همچنین سایر بهره برداران از منابع آبی تهیه گردیده است.

۵- مسئولیت:

با کارشناسان، مجریان و مدیران بهره بردار در مباحث اکولوژی و تکثیر و پرورش دهندگان ماهی می باشد.

۶- تعاریف، واژه ها و اصطلاحات:

۷- روش کار : روشها و وسایل نمونه برداری :

آب های ساکن :

در آبهای ساکن نظیر دریاچه ها ،تالابها ،آبندان ها، استخرها و نیز دریاچه های مخزنی معمولاً از رسوبگیرها تحت عنوان کلی گراب (Dredge) استفاده میشود. یکی از متداول ترین رسوبگیرها ،نمونه بردار اکمن (Ekman Dredge) می باشد که برای بررسیهای کمی بکار میرود. برای اطمینان از نفوذ مناسب دستگاه در بستر ، می توان در اطراف آن وزنه هایی را تعبیه کرد. اگر مقدار رسوب جمع آوری شده توسط گراب ۲۰ تا ۸۰ درصد حجم آن باشد در آنصورت نمونه قابل قبول است. حال آرواره های دستگاه را باز نموده و برای کاهش حجم نمونه و جدا نمودن ذرات و رسوبات و مواد اضافی، آن را از یک الک با چشمه های ۵۰۰ میکرون عبور می دهیم . محتوای باقیمانده نمونه را جمع آوری کرده و داخل ظرف نمونه تخلیه نموده و سپس با انواع تثبیت کننده های مناسب تثبیت میشوند. به ظرف نمونه برچسب مربوطه را که حداقل مشخصات نمونه و محل نمونه برداری و زمان نمونه برداری در آن ثبت شده، می چسبانند. دستگاه اکمن ممکن است در سایزهای متفاوتی ساخته شوند ولی معمولاً متداول ترین انداز آن ۲۰*۲۰ سانتیمتر است از انواع دیگر دستگاههای نمونه بردار و رسوبگیرها می توان به : Van Veen Grab اشاره نمود .

سایر نمونه بردارها – نمونه بردار های Ponar و Peterson است ، به دلیل وزن نسبتاً زیاد عملاً کار با آنها مشکل است و معمولاً جابجایی آنها بوسیله وینچ ها انجام می شود.



دستگاه گراب (Grab) برای نمونه برداری از آبهای ساکن

روش نمونه برداری در آبهای ساکن :

- ۱- انتخاب ایستگاههای مطالعاتی و تعیین تعداد تکرار مورد نیاز در هر ایستگاه
- ۲- رفتن به محل نمونه برداری توسط قایق یا شناور مورد دسترس
- ۳- آماده نمودن دستگاه با باز کردن فکهای آنها
- ۴- پایین فرستادن لایروب تا برخورد به بستر
- ۵- در گراب اکمن توسط رها کردن وزنه و در سایرین توسط کشیدن طناب ،فکین دستگاه بسته و رسوب جمع آوری میشود
- ۶- کشیدن گراب محتوی نمونه به سطح و تخلیه آن در یک ظرف یا سطل که دارای سطح و عمق مناسب باشد
- ۷- ایجاد یک ترکیب همگن از رسوبات تخلیه شده توسط له کردن کلوخه های گلی و لجنی
- ۸- عبور محتوای ظرف از الک ۰/۵ میلی متری و جمع آوری مواد و محتویات الک و تخلیه آن در ظرف نمونه

۹- اضافه نمودن فرمالین ۴٪ به منظور تثبیت نمونه ها

۱۰- برچسب زدن به ظرف نمونه (ایستگاه ، شماره تکرار ، تاریخ نمونه برداری و محل نمونه برداری و ساعت نمونه برداری)

۱۱- حمل به آزمایشگاه و بررسیهای آزمایشگاهی.

نمونه برداری از آبهای جاری :

برای بررسی فون ماکرو بنتوز آبهای جاری بسته به نوع بستر ، شدت جریان ، عمق و هدف بررسی، از نمونه بردارهای مختلفی استفاده میشود. اگر بررسی با هدف کمی انجام گیرد یعنی بدست آوردن فراوانی در واحد سطح ، دستگاه نمونه بردار سوربر یکی از وسایل نمونه برداری مناسب آبهای جاری با بسترهای سنگلاخی و نسبتا پر جریان می باشد. این دستگاه از دو چهارچوب که در یک ضلع عمود برهم می باشند، ساخته شده است . تور قیفی شکل با منافذ ۳۵۰ یا ۵۰۰ میکرون در یک سمت چهارچوبی که عمود بر بستر رودخانه قرار داده می شود نصب است . چهار چوب دیگر بر بستر قرار گرفته و شخص نمونه بردار در خلاف جهت جریان آب سنگها و سنگریزه ها و قطعات و ذرات محدوده آنرا بدقت شستشو داده و موجودات بنتیک توسط جریان آب به انتهای تور شسته و حمل میشوند. مساحت چهار چوب کف همان سطح نمونه برداری است . (Nabavi 1988).



دستگاه سوربر (surber) برای نمونه برداری از آبهای جاری

تثبیت نمونه ها:

یکی از مهمترین کارهایی که در خلال بررسی های بنتیک بخصوص هنگامی که نمونه ها برای مدت نسبتا زیادی انبار می شوند باید انجام پذیرد، عمل تثبیت نمونه ها می باشد. زیرا همانگونه که می دانیم اکثر این موجودات حساس بوده و بسرعت تغییرات جمعیتی در بین آنها رخ میدهد و موجبات اشکال و اشتباه در برآورد های کمی و کیفی را فراهم می آورد.

فیکس کننده ها (Fixative) نگاهدارنده ها (Preservatives). عملا از این دو عبارت بصورت مترادف استفاده می شود ولی فرمالین و محلول کال (Kahle) تثبیت کننده ها هستند که برای کشتن و تثبیت نمونه ها در فیلد بکار میروند، در حالیکه اتانول بدرستی بر نگاه دارنده دلالت می کند که برای ذخیره نمونه ها بمدت طولانی استفاده می شود.

۱ - فرمالین ۱۰ درصد (فرمالین ۱۰۰ درصد = محلول آبی فرمالدئید سی وهفت درصد):

برای تهیه فرمالین ۱۰٪ به حجم یک لیتر باید ۹۰۰ میلی لیتر آب را به ۱۰۰ میلی لیتر فرمالین ۱۰۰٪ اضافه نمود. فرمالین اگرچه موجب از دست رفتن رنگ و بی قوامی نمونه ها می شود ولی یک تثبیت کننده خوبی است که بطور وسیعی استفاده می شود.

محلول ۱۰٪ کال در آب:

برای ساخت یک لیتر = ۱۵ قسمت حجمی اتانول ۹۵٪ (۲۹۰ میلی لیتر)، ۶ قسمت حجمی فرمالین ۱۰۰٪ (۱۱۵ میلی لیتر)، یک قسمت حجمی اسید استیک گلاشیال (۲۰ میلی لیتر) و ۳۰ قسمت حجمی آب مقطر (۵۷۵ میلی لیتر) را بهم می افزایند. محلول کال برای حشرات تثبیت کننده خوبی است ولی برای خرچنگ و نرم تنان ظرف چند ساعت باید به الکل ۷۰٪ منتقل شوند.

۳- اتانول ۷۰٪ در آب: (۷۵۰ میلی لیتر الکل اتانول ۹۵ درصد را با آب به حجم ۱ لیتر می رسانیم). یک نگاهدارنده خوب بخصوص برای سخت پوستان و حشرات است اما برخلاف فرمالین بافتها را تثبیت نمی کند. فایده اصلی آن پایین بودن مقدار سمیتش برای انسان است، اما مصرف حجم بالای آن گران خواهد بود. ایزوپروپیل الکل و متانل نیز گاهی می تواند جایگزین آن شوند.

علامت گذاری نمونه ها:

کیسه های پلاستیکی نمونه یا ظروف حمل نمونه ها باید علامت گذاری و برچسب زده شود. برچسب یا علامت نمونه باید حاوی اطلاعاتی چون شماره ایستگاه، محل ایستگاه، اسم دریاچه یا نهر و تاریخ نمونه برداری باشد.

بررسیهای آزمایشگاهی :

نمونه هایی که به آزمایشگاه منتقل میشوند باید بررسی و جداسازی شده و واحد پایین ترین شاخه سیستماتیک (بسته به هدف تحقیق) مورد شناسایی قرار گیرند. ابتدا نمونه ها توسط الکهای ۰/۵ میلی متری شستشو می دهیم تا ذرات و مواد اضافی موجود در نمونه ها و نیز فیکساتیو آن شسته شود. سپس محتوای آن را به داخل یک سینی پهن و سفیدرنگ تخلیه و برای سهولت در جداسازی موجودات اندکی آب به آن اضافه می - نماییم. نمونه ها بدقت در زیر نور چراغ مطالعه از مواد و دیتریتهای زمینه جداسازی شده و توسط میکروسکوپ مورد شناسایی قرار می گیرند. البته پس از جذب آب سطحی موجودات هر گروه توسط کاغذ خشک کن و توزین آنها می توان وزن تریا زیتوده را نیز تعیین نمود.

فرمهای استاندارد صحرایی و آزمایشگاهی :

یک مطلب بسیار مهم در ارتباط با بررسی بی مهرگان کفزی ، تنظیم و تهیه فرمهای مناسبی جهت ثبت خصوصیات محیطی مربوط به زیستگاه نمونه برداری شده و نیز فرمهایی جهت ثبت اطلاعات حاصل از بررسی و شمارش نمونه ها در آزمایشگاه می باشد.

LAKE AND STREAM SURVEY BOTTOM FOOD SUMMARY		Type of Dredge _____		FISH SAMPLED		Gear used _____ Collection Jar no. _____	
Stage of life: A - Adult, L - Larvae, P - Pupae				Species	Number	Remarks	
Station No				1.			
Depth Meters				2.			
Area of Bottom				3.			
Vol. of Sample cc				4.			
ORGANISMS	No.	No.	No.	5.			
Turellaria				6.			
Nematoda				7.			
Oligocheta				8.			
Hirudinea							
Gastropoda							
Pelecypoda							
Amphipoda							
Hydracanna							
Ephemeroptera							
Plecoptera							
Anisoptera							
Zygoptera							
Neuroptera							
Hemiptera							
Coleoptera							
Tricoptera							
Chaoborus							
Chironomidae							
Other Diptera							
Total Numbers							
AQUATIC VEGETATION				FISH SIGHTED			
Species	Relative Abundance			Species	Number	Remarks	
				1.			
				2.			
				3.			
				4.			
				5.			

place of sampling:		station no.:				
date of sampling 81.4.5		date of processing:				
animals	family	Genus	samp.1	samp.2	samp.3	freq.n/m ²
Diptera						
Ephemeroptera						
Plecoptera						
Trichoptera						
Coleoptera						
Oligochaeta						
Hirodinea						
total						

روش سنجش دانه بندی :

در ادامه نمونه برداری، مقداری از رسوب را بصورت تصادفی از رسوبات جهت تعیین دانه بندی بستر و مواد آلی کل (Total organic matter) برداشت گردید تا ارتباط فراوانی موجودات با خصوصیات بستر مورد ارزیابی قرار گیرد.

جهت تعیین درصد دانه بندی (حدوداً ۵۰ گرم) رسوب درآون دردمای ۷۰ درجه گذاشته تا کاملاً رطوبت آن گرفته شود. سپس ۲۵ گرم از رسوب خشک شده را در داخل بشر یک لیتری ریخته و ۱۰ گرم نمک هگزا متافسفات را به آن افزوده، و یک لیتر آب به آن اضافه می شود. بعد از ۲۴ ساعت نمونه را جهت رقیق شدن با توجه به نوع رسوب در مدت زمان ۱۵ دقیقه با دستگاه هم زن مخلوط می کنیم. و با جریان ملایم آب از الک هایی با سایز ۱، ۵/۰، ۲۵۰/۰، ۱۲۵/۰، ۶۲/۰، میلیمتر عبور می دهیم. الک ها را داخل آون دردمای ۷۰ تا ۱۰۰ قرارداده تا رسوب کاملاً خشک گردد. رسوب باقیمانده بر روی الک را به صورت

مجزا با ترازوی ۰/۰۰۱ وزن نموده و ثبت می شود ، وجهت محاسبات بعدی به ۱۰۰ گرم تعمیم می دهیم . رسوبی که ازالک ها عبور کرده جزء بافت سیلت محسوب می گردد.

اندازه گیری موادآلی (TOM):

به منظور اندازه گیری مجموع موادآلی از سه قسمت مختلف رسوب برداشت شده بصورت تصادفی نمونه برداری می شود. اندازه گیری موادآلی موجود در رسوبات بر حسب درصد وزن خشک رسوب صورت می گیرد. مقداری از رسوب رادربوته چینی که قبلا توزین شده (C) منتقل کرده و به مدت ۲۴ ساعت در داخل آون دردمای ۷۰ درجه قرار داده تا رطوبت آن کاملا گرفته شود . پس از گذشت زمان مربوطه و خشک شدن رسوب توزین شده (A) و در کوره دردمای ۵۵۰ درجه به مدت ۶ ساعت قرار داده می شود . بعد از سرد شدن در دیسکاتور، آنها را توزین کرده (B) و بدین ترتیب کاهش وزن بوته های حاوی رسوبات نسبت به قبل از سوزاندن آنها مقدار موادآلی (TOM) را مشخص میکند. (Nabavi ,1988).

$$\%TOM = \frac{A - B}{A - C} * 100$$

Nabavi,S.M.B. , 1988.A comparision of foraminiferan community associated with a rang of sediment habitats Dept. of oceanography .Teresz (eds).Plenum press, New York, pp.105-176.

۸- نکات مهم اجرایی:

پس از اتمام عملیات نمونه برداری و فیکس نمودن نمونه ها ، حتما باید آنها را با دقت به آزمایشگاه انتقال داده شده و حداکثر صرف مدت دو هفته بررسی و جداسازی گردد چون اگر نمونه ها بیش از اندازه نگهداری شود و مورد مطالعه قرار ننگرفته باشد احتمال خطا در بدست آوردن داده ها و آنالیز آن وجود دارد .

۹- منابع و مستندات:

مختصری برچگونگی موجودات کفزی تالاب (شهرام عبدالملکی) پاییز ۱۳۷۱
گزارش دوره بنتوز (مریم فلاحی - شهرام عبدالملکی) آذرماه ۱۳۷۹
مطالعه موجودات کفزی جهت کار در آزمایشگاه (شهرام عبدالملکی) فروردین ۱۳۸۶