جمهوری اسلامی ایران

سازمان برنامه و بودجه کشور

راهنمای اندازه‌گیری مشخصه‌های زیست دریایی

ضابطه شماره ۷۹۵

معاونت فنی، امور زیربنایی و تولیدی — سازمان بنادر و دریانوردی

امور نظام فنی اجرایی، مشاورین و پیمانکاران — اداره کل مهندسی سواحل و بنادر

nezamfanni.ir — http://www.pmo.ir/

۱۳۹۸

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

باسمه تعالی

ریاست جمهوری
سازمان برنامه و بودجه کشور
رییس سازمان

بخشنامه به دستگاه‌های اجرایی، مهندسان مشاور و پیمانکاران	شماره:	۹۸/۶۳۸۳۳۷
	تاریخ:	۱۳۹۸/۱۱/۰۵

موضوع: راهنمای اندازه‌گیری مشخصه‌های زیست دریایی

در چارچوب ماده (۳۴) قانون احکام دائمی برنامه‌های توسعه کشور موضوع نظام فنی و اجرایی یکپارچه، ماده(۲۳) قانون برنامه و بودجه و آیین‌نامه استانداردهای اجرایی طرح‌های عمرانی، به پیوست ضابطه شماره ۷۹۵ امور نظام فنی اجرایی، مشاورین و پیمانکاران با عنوان «**راهنمای اندازه‌گیری مشخصه‌های زیست دریایی**» از نوع گروه سوم ابلاغ می‌شود.

رعایت مفاد این ضابطه در صورت نداشتن ضوابط بهتر، از تاریخ ۱۳۹۹/۰۱/۰۱ الزامی است.

امور نظام فنی اجرایی، مشاورین و پیمانکاران این سازمان دریافت‌کننده نظرات و پیشنهادهای اصلاحی در مورد مفاد این ضابطه بوده و اصلاحات لازم را اعلام خواهد کرد.

محمد باقر نوبخت

omoorepeyman.ir

ش‌ش: ۳۷۹۰۲۹۵

omoorepeyman.ir

اصلاح مدارک فنی

خواننده گرامی:

امور نظام فنی اجرایی، مشاورین و پیمانکاران سازمان برنامه و بودجه کشور، با استفاده از نظر کارشناسان برجسته مبادرت به تهیه این ضابطه نموده و آن را برای استفاده به جامعه مهندسی کشور عرضه نموده است. با وجود تلاش فراوان، این اثر مصون از ایراد و اشکال نیست.

از این‌رو، از ***شما خواننده گرامی صمیمانه تقاضا دارد در صورت مشاهده هرگونه ایراد و اشکال فنی مراتب را به صورت زیر گزارش فرمایید:***

۱- شماره بند و صفحه موضوع مورد نظر را مشخص کنید.

۲- ایراد مورد نظر را به صورت خلاصه بیان دارید.

۳- در صورت امکان متن اصلاح شده را برای جایگزینی ارسال نمایید.

۴- نشانی خود را برای تماس احتمالی ذکر فرمایید.

کارشناسان این امور نظرهای دریافتی را به دقت مطالعه نموده و اقدام مقتضی را معمول خواهند داشت.

پیشاپیش از همکاری و دقت نظر جنابعالی قدردانی می‌شود.

نشانی برای مکاتبه: تهران، میدان بهارستان، خیابان صفی علی‌شاه –

مرکز تلفن ۳۳۲۷۱ سازمان برنامه و بودجه کشور، امور نظام فنی اجرایی، مشاورین و پیمانکاران

web: nezamfanni.ir **Email:info@nezamfanni.ir**

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

بسمه تعالی

پیشگفتار

نظام فنی و اجرایی کشور (مصوبه شماره ۴۲۳۳۹/ت ۳۳۴۹۷ه، مورخ ۱۳۸۵/۴/۲۰ هیات وزیران) به کارگیری معیارها، استانداردها و ضوابط فنی در مراحل تهیه و اجرای طرح و نیز توجه لازم به هزینه‌های نگهداری و بهره‌برداری در قیمت تمام شده طرح‌ها را مورد تاکید جدی قرار داده است و این امور براساس نظام فنی اجرایی یکپارچه، موضوع ماده ۳۴ قانون احکام دائمی برنامه‌های توسعه کشور، ماده ۲۳ قانون برنامه و بودجه و آیین‌نامه استانداردهای اجرایی مصوب هیات محترم وزیران، تهیه و تدوین ضوابط و معیارهای فنی طرح‌های توسعه‌ای کشور را به عهده دارد.

سازمان بنادر و دریانوردی کشور در چارچوب طرح تهیه ضوابط و معیارهای فنی مدیریت سواحل، تهیه ضابطه حاضر را در قالب مجموعه اندازه‌گیری مشخصه‌های دریایی از شماره ۷۹۲ تا ۷۹۶ با هماهنگی امور نظام فنی اجرایی، مشاورین و پیمانکاران سازمان برنامه و بودجه کشور در دستور کار قرار داد.

ضابطه حاضر به شماره ۷۹۵ با عنوان «راهنمای اندازه‌گیری مشخصه‌های زیست دریایی» در قالب برنامه کارگروه تخصصی ضوابط و معیارهای فنی و اجرایی سازه های ساحلی و دریایی کشور تهیه شده است.

با همه تلاش‌های انجام شده قطعا هنوز کاستی‌هایی در متن موجود است که امید است، کاربرد عملی و در سطح وسیع این ضابطه توسط مهندسان موجبات شناسایی و برطرف نمودن آن‌ها را فراهم آورد. پیشنهادهای دریافت شده بررسی شده و در صورت نیاز به اصلاح در متن ضابطه، نسبت به تهیه متن اصلاحی، اقدام و از طریق پایگاه اطلاع‌رسانی نظام فنی و اجرایی کشور برای بهره‌برداری عموم، اعلام خواهند شد. به همین منظور و برای تسهیل در پیدا کردن آخرین ضوابط ابلاغی معتبر، در بالای صفحات، تاریخ تدوین مطالب آن صفحه درج شده است که در صورت هرگونه تغییر در مطالب هر یک از صفحات، تاریخ آن نیز اصلاح خواهد شد. ازاین‌رو همواره مطالب صفحات دارای تاریخ جدیدتر معتبر خواهد بود.

.

حمیدرضا عدل

معاون فنی، امور زیربنایی و تولیدی

زمستان ۱۳۹۸

omoorepeyman.ir

تهیه و کنترل «راهنمای اندازه‌گیری مشخصه‌های زیست دریایی» [ضابطه شماره ۷۹۵]

اعضای گروه تهیه‌کننده:

حمید رضایی مارنانی	شرکت مهندسین مشاور دریانگارپارس	دکتری اقیانوس‌شناسی زیستی
فاطمه پورجمعه	شرکت مهندسین مشاور دریانگارپارس	دکتری زیست دریا
نفیسه امینی	شرکت مهندسین مشاور دریانگارپارس	کارشناسی ارشد زیست دریا

اعضای گروه هدایت و راهبری (سازمان بنادر و دریانوردی):

محمدرضا اله‌یار	معاون مهندسی و توسعه امور زیربنایی
حمید خلیلی	مدیر کل مهندسی سواحل و بنادر
محمدحسین نعمتی	رئیس اداره مهندسی سواحل
عباس عینعلی	کارشناس اداره مهندسی سواحل

اعضای گروه هدایت و راهبری (سازمان برنامه و بودجه کشور):

علیرضا توتونچی	معاون امور نظام فنی اجرایی، مشاورین و پیمانکاران
فرزانه آقارمضانعلی	رئیس گروه امور نظام فنی اجرایی، مشاورین و پیمانکاران
حمیدرضا خاشعی	کارشناس امور نظام فنی اجرایی، مشاورین و پیمانکاران
محمدامیر طباخها	کارشناس امور راه و ترابری و مدیریت عمران شهری و روستایی

omoorepeyman.ir

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
مقدمه	۱
فصل اول - کلیات	**۳**
۱-۱- مقدمه	۵
۱-۲- اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای فعالیت‌های گوناگون دریایی	۵
۱-۲-۱- اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای طراحی و بهره‌برداری بنادر و زیرساخت‌های معمول ساحلی	۵
۱-۲-۲- اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای طراحی سازه‌های فراساحلی و خطوط لوله دریایی	۸
۱-۲-۳- اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای طراحی آبگیرهای دریایی	۱۰
۱-۲-۴- اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای فعالیت‌های لایروبی و استحصال زمین‌ساحلی	۱۰
۱-۲-۵- اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای فعالیت‌های شیلاتی و آبزی‌پروری	۱۰
۱-۲-۶- اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای ارزیابی اثرات زیست‌محیطی	۱۱
فصل دوم - زیست دریا	**۱۳**
۲-۱- روش‌های عملیاتی استاندارد فیتوپلانکتون	۱۵
۲-۱-۱- ابزار موردنیاز	۱۵
۲-۱-۲- روش نمونه‌برداری	۱۷
۲-۱-۳- تهیه محلول فرمالین	۱۹
۲-۱-۴- تهیه محلول لوگل	۱۹
۲-۱-۵- منجمد کردن	۱۹
۲-۱-۶- عملیات آزمایشگاهی	۲۰
۲-۱-۷- کالیبراسیون میکروسکوپ	۲۱
۲-۱-۸- آماده‌سازی اسلاید نمونه	۲۱
۲-۱-۹- نمونه فیتوپلانکتونی فیلتر شده	۲۲
۲-۱-۱۰- محاسبه تعداد فیتوپلانکتون‌ها	۲۲
فصل سوم - تعیین کلروفیل	**۲۷**
۳-۱- مقدمه	۲۹
۳-۲- تعیین کلروفیل-a به روش اسپکتروفتومتری	۲۹
۳-۲-۱- ابزار موردنیاز	۲۹
۳-۲-۲- روش کار	۳۰

omoorepeyman.ir

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۳-۲-۳- نکات ضروری	۳۰
۳-۳- تعیین کلروفیل-a به روش فلورومتری	۳۱
۳-۴- سامانه یکپارچه نقشه‌کشی دریایی فلورومتری C-FINS™	۳۲
فصل چهارم - تولید اولیه	**۳۳**
۴-۱- مقدمه	۳۵
۴-۲- ابزار کار	۳۵
۴-۳- روش کار	۳۶
۴-۳-۱- روش نمونه‌برداری	۳۶
۴-۳-۲- روش آزمایشگاهی	۳۷
۴-۴- بطری نیسکین	۳۹
۴-۴-۱- ابزار مورداستفاده	۴۰
۴-۴-۲- عملیات نمونه‌برداری توسط بطری نیسکین	۴۱
۴-۵- روزت یا خوشه	۴۱
۴-۵-۱- مراحل انداختن روزت در دریا	۴۲
فصل پنجم - زئوپلانکتون‌ها	**۴۳**
۵-۱- مقدمه	۴۵
۵-۲- ابزار موردنیاز	۴۵
۵-۳- روش کار	۴۶
۵-۴- تعیین زی‌توده زئوپلانکتون	۴۹
۵-۴-۱- ابزار موردنیاز	۴۹
۵-۴-۲- روش کار	۴۹
۵-۵- تور مولتی نت هیدروبیوز	۵۳
۵-۵-۱- روش کار	۵۳
۵-۶- نوستون جانوری	۵۵
۵-۶-۱- ابزار مورداستفاده	۵۵
۵-۶-۲- روش کار	۵۶
۵-۷- دستگاه ثبت پلانکتونی	۵۸

omoorepeyman.ir

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل ششم - کفزیان	**۶۱**
۶-۱- مقدمه	۶۳
۶-۲- نمونه‌برداری از کفزیان ماکروبنتوز	۶۳
۶-۲-۱- ابزار موردنیاز در بسترهای نرم برای نمونه‌برداری از کفزیان ماکروبنتوز	۶۳
۶-۲-۲- روش کار	۶۳
۶-۳- اندازه‌گیری زی‌توده	۶۶
۶-۴- موجودات میوفونا	۶۷
۶-۴-۱- ابزار موردنیاز	۶۷
۶-۵- لایروب یا درج	۷۶
۶-۵-۱- ابزار موردنیاز	۷۶
۶-۶- تور ترال کفی	۷۸
۶-۷- پریفیتون	۷۹
۶-۷-۱- ابزار موردنیاز برای اندازه‌گیری زی‌توده و ترکیب گونه‌ای پریفیتون‌ها	۸۰
۶-۷-۲- روش کار	۸۰
۶-۷-۳- پردازش نمونه‌های پریفیتون	۸۱
۶-۸- تخمین پوشش مرجانی	۸۴
۶-۸-۱- روش مانتا تو	۸۴
۶-۹- بررسی ماهیان مرجانی	۸۹
۶-۹-۱- شمارش بصری سریع ماهیان مرجانی	۸۹
۶-۹-۲- انتخاب زیستگاه	۹۰
۶-۹-۳- تخمین فراوانی ماهیان مرجانی	۹۰
۶-۹-۴- سامانه‌های ویدئویی در زیر دریا برای بررسی مرجان‌ها و ماهیان مرجانی	۹۲
فصل هفتم - بررسی جزر و مدی	**۹۵**
۷-۱- بررسی جزر و مدی	۹۷
۷-۲- مراحل انجام نقشه‌برداری برای بررسی نیمرخ ساحلی موجودات کفزی	۹۸
۷-۳- تقسیم‌بندی زیستگاه‌ها	۹۹
فصل هشتم - مطالعات مولکولی	**۱۰۱**

omoorepeyman.ir

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۸-۱- مقدمه	۱۰۳
۸-۲- مزایای استفاده از ژنوم میتوکندری	۱۰۳
۸-۱-۱ ابزار موردنیاز	۱۰۴
۸-۲-۱- نمونه‌برداری	۱۰۶
۸-۲-۲- استخراج DNA	۱۰۷
پیوست ۱- دستگاه اندازه‌گیری تولید اولیه	**۱۱۱**
پیوست ۲- فهرست واژگان	**۱۱۵**
منابع و مراجع	**۱۲۱**

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۲-۱- محفظه Sedgewick rafter	۱۷
شکل ۲-۲- محفظه Utermohl	۱۷
شکل ۲-۳- پمپ پلانکتونی KC	۱۸
شکل ۳-۱- دستگاه فلورومتر Turner Au-10	۳۱
شکل ۳-۲- دستگاه فلورومتر C-FINS	۳۲
شکل ۳-۳- نحوه استفاده از فلورومتر زیردریایی Diving Pam	۳۲
شکل ۴-۱- دستگاه شمارشگر مایع سینتیلاسیون Packard TRI-CARB 44301	۳۶
شکل ۴-۲- بطری نمونه بردار نیسکین و وزنه	۴۰
شکل ۴-۳- روزت یا خوشه	۴۲
شکل ۵-۱- تور زئوپلانکتون گیر بونگو	۵۱
شکل ۵-۲- فلومتر	۵۱
شکل ۵-۳- محل نصب عمق‌سنج دستی و فلومتر	۵۱
شکل ۵-۴- زاویه‌سنج یا کلینومتر	۵۲
شکل ۵-۵- باگت	۵۲
شکل ۵-۶- تقسیم‌گر پلانکتونی	۵۲
شکل ۵-۷- محفظه پلانکتونی بوگوروف	۵۳

omoorepeyman.ir

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۵-۸- تور مولتی نت	۵۴
شکل ۵-۹- استقرار تور مولتی نت در دریا	۵۴
شکل ۵-۱۰- وزنه V شکل	۵۵
شکل ۵-۱۱- دستگاه هدایت‌کننده در عرشه	۵۵
شکل ۵-۱۲- تور نوستون در حال کشیده شدن	۵۷
شکل ۵-۱۳- پیپت استمپل	۵۸
شکل ۵-۱۴- دستگاه ثبت پلانکتونی در پشت کشتی (تصویر از British Antarctic Survey)	۵۹
شکل ۶-۱- گرب ون وین	۶۴
شکل ۶-۲- نحوه شستن و الک کردن کفزیان	۶۴
شکل ۶-۳- گرب Petersen	۶۶
شکل ۶-۴- گرب Smith-McIntyre	۶۶
شکل ۶-۵- نمونه‌گیر Box corer	۶۷
شکل ۶-۶- نمونه‌برداری از میوفونا در نواحی جزر و مدی ماسه‌ای	۷۱
شکل ۶-۷- الف- نمونه‌ها از سری الک ۱ میلی‌متر و ۶۳ میکرون عبور داده شد، ب- باقیمانده آن‌ها در الک ۶۳ میکرومتر شستشو و به لوله‌آزمایش منتقل شد و به مدت ۳ دقیقه بر روی ورتکس قرار داده شدند.	۶۳ ۷۳
شکل ۶-۸- نمونه‌برداری از بستر توسط اسنورکل	۷۴
شکل ۶-۹- مراحل نمونه‌برداری میوفونا از بستر	۷۵
شکل ۶-۱۰- مغزه‌گیر Craib	۷۵
شکل ۶-۱۱- لایروب یا درجی که در بستر دریا کشیده می‌شود	۷۸
شکل ۶-۱۲- تورترال کفی در بستر دریا	۷۸
شکل ۶-۱۳- جمع‌آوری ترال کفی در کشتی	۷۹
شکل ۶-۱۴- پریفیتون‌ها بر سطوح صخره‌ها	۸۰
شکل ۶-۱۵- موجودات میکروسکوپی در پریفیتون	۸۱
شکل ۶- ۱۶- نحوه انجام مانتاتو	۸۵
شکل ۶-۱۷- نحوه عمل مانتا تو (اقتباس از اینترنت)	۸۵
شکل ۶-۱۸- تخته مانتا تو	۸۵

omoorepeyman.ir

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۶-۱۹- نحوه قرار گرفتن ترانسکت بر روی مرجان‌های سخت در بستر دریا	۸۷
شکل ۶-۲۰- بررسی به روش فتوکوادرات از مرجان‌ها	۸۸
شکل ۶-۲۱- فتوکوادرات از مرجان‌ها	۸۸
شکل ۶-۲۲- پس از نصب تصویر فتوکوادرات در کامپیوتر	۸۹
شکل ۶-۲۳- شمایی از یک ترانسکت و نحوه شمارش ماهیان مرجانی توسط عملیات غواصی	۹۱
شکل ۶-۲۴- نحوه ثبت اطلاعات ماهی در زیر دریا	۹۱
شکل ۶-۲۵- نحوه عملکرد ویدئو ترانسکت در بستر مرجانی	۹۴
شکل ۷-۱- نمونه‌برداری در مناطق جزر و مدی	۹۷
شکل ۷-۲- تکنیک فتوکوادرات تصادفی برای شمارش سریع موجودات جزر و مدی	۹۸
شکل ۷-۳- برداشت نیمرخ طولی با استفاده از دستگاه توتال استیشن و رفلکتور	۹۹
شکل ۷-۴- نیمرخ تهیه‌شده در نرم‌افزار اکسل (منطقه صفین)	۹۹
شکل ۸-۱- ابزار مورد نیاز	۱۰۵
شکل ۸-۲- دستگاه سانتریفیوژ	۱۰۵
شکل ۸-۳- همزن برقی	۱۰۵
شکل ۸-۴- دستگاه PCR	۱۰۶
شکل ۸-۵- دستگاه الکتروفورز	۱۰۶
شکل ۸-۶- آماده‌سازی در میکرو تیوب	۱۰۸
شکل ۸-۷- تصویر ژل	۱۰۹
شکل ۸-۸- مراحل PCR (تکثیر DNA با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز)	۱۱۰
شکل پ.۱-۱- اینکوباتور ICES	۱۱۳

فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
جدول ۲-۱- روش و واحد شمارش	۲۲
جدول ۶-۱- مقایسه تعیین زیست‌توده موجودات کفزی	۶۷
جدول ۶-۲- تعداد ماهی‌ها در گروه‌های فراوانی بر اساس لگاریتم ۴ رتبه فراوانی	۹۱

omoorepeyman.ir

مقدمه

زیست دریا به بررسی موجودات دریایی، رفتار و اندرکنش آن ها با طبیعت می‌پردازد. زیست شناسان دریایی به مطالعه اقیانوس شناسی زیستی و جنبه‌های وابسته به آن شامل شیمی، فیزیک و زمین شناسی دریایی می‌پردازد. در این مطالعات، موجودات کفزی (گیاهی و جانوری) در نواحی جزر و مدی و بستر دریا، شناورزی‌ها (فیتو و پلانکتون) شناسایی شده و اکولوژی آن‌ها بررسی می‌شود. همچنین، اندرکنش پارامترهای فیزیکی (عمق، شوری و دما)، شیمیایی (اکسیژن محلول، pH) و زیستی (کلروفیل-a و رقابت برای فضا و غذا) در نظر گرفته می‌شوند. این اطلاعات اغلب در غالب مطالعات اکولوژیک، ارزیابی‌های زیست محیطی و گشت‌های دریایی جمع‌آوری شده و تجزیه و تحلیل آماری می‌شوند. زیست‌شناسی دریایی یک بررسی کلی است و از این‌رو، هر یک از پژوهشگران موضوع خاصی را برگزیده و در آن تخصص می‌گیرند. برای مثال، تخصص می‌تواند بر مبنای شناسایی گونه، گروه، رفتار، روش یا اکوسیستم باشد. شاید یکی از مهم‌ترین موضوعات در زیست دریا، بررسی پستانداران دریایی (دلفین و نهنگ‌ها) باشد. در اینجا، از روش‌های استاندارد نمونه‌برداری در نقاط مختلف جهان و به ویژه از منطقه خلیج فارس و دریای عمان اقتباس شده و تلاش گردیده تا جای ممکن از تصاویر مختلف برای نشان دادن دستگاه‌ها و روش‌های مختلف نمونه‌برداری استفاده شود تا درک مطالب برای خواننده با سهولت بیش‌تری صورت گیرد.

با رشد جمعیت در کره زمین، توانایی ما برای تولید غذا، آب و پناهگاه دچار استرس شده و انسان الزاما به اقیانوس‌ها روی می‌آورد تا نیازهای اولیه خود را فراهم کرده و پایدار نگاه دارد. پیشرفت‌های فناوری و افزایش درخواست برای آن‌ها، توانایی انسان‌ها برای فراهم کردن غذا، آب، منابع انرژی، دفع زباله و حمل و نقل در اقیانوس‌ها را بهبود می‌بخشد. این به عهده ما و نسل‌های بعدی است تا بر اساس دانش فعلی از اقیانوس‌ها و پتانسیل آن‌ها نیازهای ساکنین کره زمین را تامین کنیم.

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

فصل ۱

کلیات

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

۱-۱- مقدمه

زیست دریا به بررسی حیات در اقیانوس‌ها و سایر محیط‌های دریایی مثل مصب‌ها پرداخته و همه گیاهان و جانوران دریایی از پیکوپلانکتون تا بزرگ‌ترین مخلوقات دنیا یعنی نهنگ‌ها را مورد مطالعه قرار می‌دهد. زیست‌شناسان دریایی به بررسی ویژگی‌های زیستی، شیمیایی، فیزیکی و زمین‌شناسی دریایی می‌پردازند به‌طوری‌که همانند سایر رشته‌های علمی، زیست دریا نیز از روش‌های علمی تبعیت می‌کند و به دنبال کشف حقیقت است. زیست‌شناسی دریایی رشته بسیار وسیعی است، به‌طوری‌که بسیاری از محققان، یک‌رشته خاص از علاقه خود را انتخاب کرده و در آن تخصص می‌گیرند و به مطالعه یک‌گونه، گروه، رفتار، روش و یا اکوسیستم می‌پردازند.

در ادامه اندازه‌گیری های مورد نیاز برای انجام مطالعات و احداث زیرساخت‌های گوناگون دریایی به تفکیک ارائه شده‌است.

۱-۲- اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای فعالیت‌های گوناگون دریایی

در این بخش اندازه‌گیری‌های مورد نیاز پیشنهادی برای فعالیت‌های گوناگون دریایی به تفکیک ارائه شده است. شایان ذکر است برخی از این اندازه‌گیری‌ها ضروری و برخی در شرایط خاص مورد نیاز است.

۱-۲-۱- اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای طراحی و بهره‌برداری بنادر و زیرساخت‌های معمول ساحلی

۱-۲-۱-۱- بندر

بندر به مکانی گفته می‌شود که محیطی حفاظت شده در برابر امواج بلند و جریان‌های قوی ایجاد می‌کند و به‌اندازه‌ای عمیق است که کشتی‌ها بتوانند در آن پهلو بگیرند. قبل از شروع به ساخت چنین سازه‌ای چندین مشخصه فیزیکی باید سنجیده شود:

الف- بازدیدمیدانی و غواصی

این مرحله برای شناخت عمومی منطقه مورد مطالعه الزامی است.

ب- جریان

محیطی که بندر در آن ساخته می‌شود دارای زیست‌بومی حساس است که به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم تحت تاثیر تخلیه پسماندهای صنعتی و خانگی است. همچنین رنگ کردن، تمیز کردن و برطرف نمودن رسوبات زیستی از کشتی‌ها و هرز آب‌های حاصل از آن‌ها از منابع مهم آلودگی در بندرها هستند. به منظور برآورد محصولات حاصل از تغییرات فیزیکی، شیمیایی و زیستی که تحت فرآیندهای فرارفت و پخش، تمامی محیط بندر را تحت تاثیر قرار می‌دهند، اطلاعات دقیق از الگوی هیدرودینامیکی گردش جریان در منطقه ضروری است. همچنین یکی از عوامل

omoorepeyman.ir

تاثیرگذار بر الگوی جریان، طریقه‌ی طراحی بنادر و موج‌شکن‌ها است که باید مدنظر قرار گیرد. مطالعه‌ی الگوی گردش آب در بندر به‌واسطه‌ی اندازه‌گیری کمیت‌های زیر است:

- نیمرخ سرعت
- اندازه‌گیری باد
- نیمرخ دما و شوری در عمق

علاوه بر موارد ذکرشده، به منظور شبیه‌سازی جریان، دست‌یابی به نتیجه بررسی‌های زیر الزامی است:

- ژرفاسنجی[1]
- سنجش تراز آب (جزرومد)

ج- موج

طراحی دهانه‌ی بندر مستلزم شناخت دقیق جهت موج غالب است. همچنین امواج، تعیین‌کننده طراحی میزان مقاومت و شکل موج‌شکن‌ها هستند.

د- جنس و نرخ انتقال رسوب در منطقه

با توجه به این‌که ساخت هرگونه سازه ساحلی به خصوص موج‌شکن بندر به علت تغییرات هیدرولوژیکی که به منطقه اعمال می‌کند، ممکن است باعث فرسایش یا رسوب‌گذاری شود، مطالعه‌ی نوع و نرخ انتقال رسوب در منطقه از اقدامات ضروری است.

هـ- عمق سنجی

با افزایش تقاضا و نیاز به توسعه و افزایش کارآیی هر چه بیش‌تر بنادر، کشتی‌ها روزبه‌روز بزرگ‌تر و ظرفیت آن‌ها بیش‌تر می‌شود. درنتیجه هیدروگرافی بنادر برای تعیین مسیر امن ناوبری کشتی‌ها در درجه‌ی اول اهمیت قرار دارد. ابزار موردنیاز در این مورد، شامل طیف وسیعی از عمق‌سنج‌هایی است که تراز آب را در هر موقیت جغرافیایی مشخص و ثبت می‌نمایند. ثبت رکوردهای عمق‌سنجی در زمان‌های مختلف برای تخمین میزان انتقال رسوبات ساحلی و ارزیابی تغییرات مورفودینامیک مورد نیاز است.

و- کدورت

مشخصه‌ای که در تعیین میزان رسوبات معلق حائز اهمیت است.

1- Bathymetry

omoorepeyman.ir

ز- دورسنجی

برای تخمین نرخ انتقال رسوب و نیز تخمین غیر مستقیم الگوهای جریان می‌تواند موثر باشد.

۱-۲-۱-۲- موج‌شکن

با ساخت موج‌شکن، حوضچه‌ای در دل آن ایجاد می‌شود که از موج در امان است و درنتیجه قایق‌ها می‌توانند در آن پهلو بگیرند. رانه‌گیرها[1] نیز سازه‌هایی هستند که از لحاظ ساختاری به موج‌شکن‌ها شباهت داشته اما عملکرد متفاوتی دارند. ازجمله تمهیدات مربوط به اندازه‌گیری برای این سازه‌ها عبارتند از:

الف- بازدید میدانی و غواصی

شناخت عمومی منطقه مورد مطالعه الزامی است.

ب- تهیه هیدروگرافی دقیق از منطقه

بررسی هیدروگرافی منطقه به منظور استفاده در شبیه‌سازی‌ها و محاسبه احجام لایروبی و مصالح موردنیاز برای ساخت، لازم است.

ج- بررسی ژئوتکنیکی بستر دریا

به منظور مشخص کردن نوع بنیان سازه و میزان گستردگی آن، به بررسی ژئوتکنیکی بستر دریا نیاز است. نتیجه این بررسی، ارتباط مستقیم با میزان پایداری نوع موادی دارد که برای ساخت موج‌شکن استفاده می‌شود.

د- اندازه‌گیری امواج و پیش‌یابی و تعیین ارتفاع موج طرح

ارتفاع موجی که به موج‌شکن برخورد می‌کند، تعیین‌کننده اندازه و عملکرد موج‌شکن است؛ بنابراین به دست آوردن مقادیر واقعی موج مورد انتظار در منطقه از اهمّ اقدامات است. اندازه‌گیری امواج برای صحت‌سنجی و واسنجی مدل‌ها مورد نیاز است.

ه- نمونه‌برداری از رسوب بستر و انجام آزمایش‌های مرتبط با دانه‌بندی

تعیین مشخصات دانه‌بندی رسوبات در حوالی محل احداث بندر یا موج‌شکن مورد نیاز است.

1- Jetty

omoorepeyman.ir

و- اندازه‌گیری تراز آب

اندازه‌گیری تراز آب برای تعیین ترازهای طراحی مورد نیاز است.

ز- دورسنجی

برای تخمین نرخ انتقال رسوب و نیز تخمین غیر مستقیم الگوهای جریان می‌تواند موثر باشد.

۱-۲-۲- اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای طراحی سازه‌های فراساحلی و خطوط لوله دریایی

۱-۲-۲-۱- خطوط لوله زیردریایی

شاخص‌هایی همچون خصوصیات موج، جریان، هواشناسی، هیدروگرافی[۱] و چگونگی شکل و جنس بستر در تعیین مسیر خط لوله حائز اهمیت است به‌طوری‌که شرایط دریا بر روش نصب خط لوله، انتخاب شناور لوله‌گذار و زمان مناسب برای نصب تاثیرگذار است. به منظور شناسایی مکان‌های مناسب برای عبور خطوط لوله ثبت مشخصه‌های زیر الزامی است:

الف- بازدیدمیدانی و غواصی

برای شناخت عمومی منطقه مورد مطالعه لازم است.

ب- موج و جریان

تحلیل پایداری در کف برای اطمینان از پایداری خط لوله، زمانی که در معرض امواج، نیروهای جریان و دیگر بارهای داخلی و خارجی (مثل بارهای خمش در قسمت‌های خمیده خط لوله)، قرار می‌گیرد، انجام می‌شود. بار جریان معمولا در بسیاری از مناطق تعیین کننده شرایط طراحی می‌باشد و در نواحی نزدیک ساحل امواج نیز اهمیت می‌یابند.

ج- باد و پارامترهای هواشناسی

اطلاعات مربوط به باد به علت ارتباط نزدیک بین باد و جریان اغلب مورد نیاز است. برخی پارامترهای هواشناسی از جمله دما، رطوبت و بارش برای طراحی لوله در مناطق نزدیک ساحل کاربردی است.

د- دما و شوری

به منظور تعیین تغییر شکل‌های ناشی از تغییرات دما، تغییرات شار حرارتی انتقالی به/ از خط لوله و نیز واداشت‌های جریان ناشی از این دو کمیت اندازه‌گیری دما و شوری ممکن است مورد نیاز باشد.

۱- برای اطلاعات بیش‌تر از نحوه هیدروگرافی به دستورالعمل همسان نقشه‌برداری نشریه ۷-۱۹۹ مراجعه شود.

omoorepeyman.ir

ه- تراز آب و نقشه کف دریا

تراز سطح آب به همراه داده‌های عمق‌سنجی، برای بسیاری از فعالیت‌های طراحی مانند محاسبه موج و جریان سیال در محل استقرار خط لوله لازم است. جاگذاری لوله‌ها تحت تاثیر ویژگی‌های خاک و پدیده‌هایی مثل آب شستگی، جابه‌جایی رسوب و دیگر ناپایداری‌های کف دریا می‌باشد. در بعضی بخش‌ها داده‌های عمق سنجی برای شناخت ناهمواری بستر می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

و- جنس و نرخ انتقال رسوب

ز- مقاومت خاک

ح- هدایت الکتریکی

خوردگی خارجی خط لوله در آب دریا یک فرآیند الکتروشیمیایی است. زمانی که یک جریان الکتریکی میان یک ناحیه آندی و یک ناحیه کاتدی جریان می‌یابد (که در آن آب دریا به‌عنوان یک الکترولیت عمل می‌کند) یک عنصر گالوالنیک ساخته می‌شود؛ بنابراین هدایت الکتریکی آب یکی از عوامل موثر در پیش‌بینی میزان خوردگی لوله خواهد بود.

ط- دورسنجی

برای تخمین غیر مستقیم الگوهای جریان و تعیین تغییرات دمای سطح آب می‌تواند موثر باشد.

۱-۲-۲-۲- سکوهای نفت و گاز

- بازدیدمیدانی و غواصی برای شناخت عمومی منطقه مورد مطالعه
- دمای متوسط سالیانه و دمای فصول مختلف
- موج
- نیم‌رخ جریان
- باد و پارامترهای هواشناسی
- عمق‌سنجی
- مقاومت خاک
- جنس رسوبات
- نیم‌رخ‌های عمقی دما و شوری
- دورسنجی برای تخمین غیر مستقیم الگوهای جریان و تعیین تغییرات دمای سطح آب می‌تواند موثر باشد.

omoorepeyman.ir

۱-۲-۳- اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای طراحی آبگیرهای دریایی

- بازدیدمیدانی و غواصی برای شناخت عمومی منطقه مورد مطالعه
- موج
- نیم‌رخ جریان
- باد و پارامترهای هواشناسی
- عمق‌سنجی
- مقاومت خاک
- جنس رسوبات بستر
- نیم‌رخ‌های عمقی دما و شوری بر روی پلیگون برای مطالعه پخش شوری و دما
- دورسنجی برای تخمین نرخ انتقال رسوب، تخمین غیر مستقیم الگوهای جریان و تعیین تغییرات دمای سطح آب می‌تواند موثر باشد

۱-۲-۴- اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای فعالیت‌های لایروبی و استحصال زمین‌ساحلی

- بازدید میدانی و غواصی برای شناخت عمومی منطقه مورد مطالعه
- موج
- نیم‌رخ جریان
- باد
- عمق سنجی (پیش و پس از لایروبی)
- جنس رسوبات بستر
- میزان رسوبات معلق (در حین لایروبی)
- آلاینده‌های رسوب
- دورسنجی برای تخمین غیر مستقیم الگوهای جریان و بررسی اولیه حوزه تاثیر پلوم‌های رسوبی در آب می‌تواند موثر باشد.

۱-۲-۵- اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای فعالیت‌های شیلاتی و آبزی‌پروری

در زمینه شیلات (برای نمونه پرورش ماهی در قفس)، اندازه‌گیری مشخصه‌های فیزیکی از قبیل دما، شوری و جریان الزامی است. با توجه به این مشخصه‌ها امکان معرفی گونه‌های مناسب پرورش در محیط آبی فراهم می‌شود. همچنین اندازه‌گیری شاخص‌های هواشناسی، عمق، موج و بستر از عواملی هستند که با موقعیت قرارگیری یک قفس در منطقه ارتباط دارد که در ذیل به شرح آن‌ها پرداخته شده است:

omoorepeyman.ir

- بازدیدمیدانی و غواصی برای شناخت عمومی منطقه مورد مطالعه
- عمق سنجی
- جریان آب
- امواج

امواج از دو منظر طراحی سازه و بهره‌برداری از مزارع دریایی مد نظر قرار دارند.

- دما و شوری

اندازه‌گیری دما در حوضچه‌های پرورش ماهی به منظور نگه‌داشتن دما در شرایط مطلوب انجام می‌پذیرد. نوسانات بیش از حد دمای آب باعث تاثیر نامطلوب بر بدنه حوضچه، وارد شدن تنش به میگو و از بین رفتن جلبک‌ها می‌شود.

ماهی و دیگر ارگانیسم‌های آبزی، وسیله‌ای برای کنترل دمای بدن ندارند و دمای بدن آن‌ها با دمای محیط تغییر می‌کند. افزایش دما موجب افزایش سرعت سوخت‌وساز و مصرف مداوم اکسیژن می‌شود که به دنبال آن تولید آمونیاک و دی‌اکسید کربن در محیط افزایش می‌یابد. شوری نیز مقیاسی از مقدار مواد جامد محلول در آب است که معمولا با واحد قسمت در هزار بیان می‌شود. اصولا ارتباط شوری با آبزی‌پروری در مسئله کنترل فشار اسمزی است زیرا شوری می‌تواند روی تعادل یونی جانداران آبزی اثرگذار باشد.

- باد و پارامترهای هواشناسی
- پارامترهای کیفی آب قبل از احداث و حین بهره‌برداری
- پارامترهای شیمیایی آب قبل از احداث و حین بهره‌برداری
- شناخت وضعیت موجودات کف زی قبل از احداث و حین بهره‌برداری
- اندازه‌گیری‌های فیزیکی، شیمیایی رسوبات
- دورسنجی برای تخمین غیر مستقیم الگوهای جریان، تعیین تغییرات دمای سطح آب و میزان کلروفیل می‌تواند موثر باشد. همچنین برای هشدار پدیده کشند قرمز می‌توان از دورسنجی بهره برد.

۱-۲-۶- اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای ارزیابی اثرات زیست‌محیطی

- بازدیدمیدانی و غواصی برای شناخت عمومی منطقه مورد مطالعه
- جریان آب
- امواج
- باد و پارامترهای هواشناسی
- پارامترهای کیفی آب
- پارامترهای شیمیایی آب
- شناخت وضعیت موجودات کف‌زی
- شناخت زیست‌بوم‌های منطقه

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

فصل ۲

زیست دریا

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

۲-۱- روش‌های عملیاتی استاندارد فیتوپلانکتون

فیتوپلانکتون‌ها اساس چرخه غذایی در اکوسیستم‌های دریایی به شمار می‌آیند و در گروه‌های بزرگی همانند دیاتمه‌ها، تاژکداران و کوکولیتوفوریدها[1] دسته‌بندی می‌شوند. تولیدات و ساختار جمعیتی آن‌ها بر روی جانداران دیگر به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم همانند، تولید مواد غذایی برای زئوپلانکتون‌ها و ماهیان، جذب و پخش نور و یا انتشار مواد آلی حل‌شده، تاثیر دارد. فیتوپلانکتون‌ها به تغییر در غلظت مواد مغذی بسیار حساس و تحت تاثیر تغییرات هیدرولوژیکی و آب و هوایی می‌باشند به‌طوری‌که افزایش مواد غذایی و یا حتی تولیدات مواد رادیواکتیو، موجب افزایش تولید اولیه و حتی انفجار جمعیتی آن‌ها می‌شود (Stark, 2008). نرخ رشد این‌گونه از آغازیان بسیار زیاد است به‌طوری‌که جهت ادامه حیات خود مواد مغذی لازم را از آب جذب کرده و درنتیجه اکسیژن محلول محیط کاهش می‌یابد و موجب خفگی و مرگ‌ومیر موجودات درون آب به خصوص ماهی‌ها می‌شود (Verlencar and Desai, 2004).

اگرچه اندازه‌گیری میزان کلروفیل-a سنجش دقیقی برای اندازه‌گیری توده زیستی به شمار نمی‌رود، اما به دلیل اندازه‌گیری راحت به‌طور گسترده‌ای مورداستفاده قرار می‌گیرد (Stark, 2008). فیتوپلانکتون‌ها علاوه بر نور و اکسیژن، به مواد مغذی اصلی همانند فسفات (PO_4)، نیترات (NO_3) و کربن به شکل دی‌اکسید کربن (CO_2) نیازمند هستند. فیتوپلانکتون‌ها نقش مهمی در چرخه غذایی دریا دارند و مواد را به مولکول‌های آلی پیچیده برای سطوح تغذیه‌ای بالاتر در شبکه غذایی همانند زئوپلانکتون‌ها، ماهیان و پستانداران تبدیل می‌نمایند. برخی فیتوپلانکتون‌ها همانند دیاتومه‌ها به دلیل ساختن پوسته «شیشه مانند» خود نیازمند به سیلیکون (سیلیکات، SiO_4) نیز هستند (Verlencar and Desai, 2004).

اهمیت شناخت فیتوپلانکتون‌ها از آن‌جایی مشخص می‌شود که نقش مهمی را در کنترل میزان دی‌اکسید کربن اتمسفر ایفا می‌نمایند؛ می‌توان از مضرات آن‌ها به تولید انواع ترکیبات سمی دریایی اشاره کرد. این مواد سمی در آب‌های اطراف منتشر شده و با ورود به شبکه غذایی، در ماهی و صدف جمع می‌شوند و حتی موجودات زنده در چرخه غذایی بالاتر را مانند پستانداران دریایی و یا انسان را بیمار ساخته و گاهی موجب مرگ‌ومیر آن‌ها می‌شود. تقریبا در تمامی موارد نوع سم زیستی تولیدشده توسط این فیتوپلانکتون‌ها را تنها می‌توان از طریق تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی شناسایی نمود (Verlencar and Desai, 2004).

۲-۱-۱- ابزار موردنیاز

- تور ساده
- بطری نیسکین

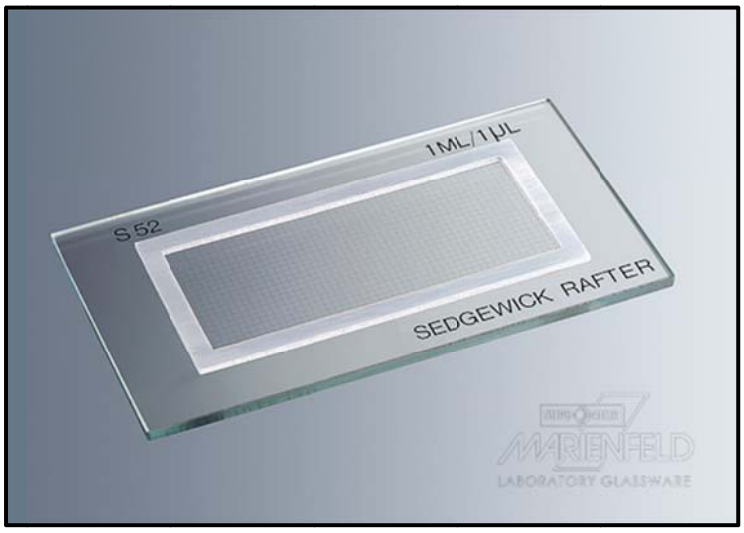
1- Coccolithophorids

omoorepeyman.ir

- پمپ پلانکتون
- بطری نمونه‌برداری
- سامانه موقعیت‌یاب جهانی[1]
- محلول لوگل
- محلول فرمالین
- برگه‌های نمونه‌برداری
- ماژیک ضد آب
- طناب
- یونولیت
- تخته شاسی
- برچسب و چسب و تور اضافه
- وزنه رها کننده[2]
- برس پلاستیکی
- میکروسکوپ معکوس[3]
- محفظه Sedgewick rafter (شکل ۲-۱)
- محفظه Utermohl chamber (شکل ۲-۲)
- میکرو پیپت
- استوانه مدرج
- شیلنگ

1- GPS
2- Messenger
3- Inverted Microscope

omoorepeyman.ir



شکل ۲-۱- محفظه Sedgewick rafter

شکل ۲-۲- محفظه Utermohl

۲-۱-۲- روش نمونه‌برداری

الف- بطری نیسکین

۱- دو درب بطری نیسکین باز گذارده شود.

۲- بطری برای نمونه‌برداری از ستون آب توسط وینچ به عمق مورد نظر فرستاده می‌شود.

۳- با قرارگیری بطری در عمق مورد نظر، وزنه رها کننده ارسال و با برخورد به دریچه‌های بطری، دریچه‌ها را می‌بندد.

۴- بطری به‌آرامی به عرشه شناور انتقال داده می‌شود.

۵- شیری در بخش پایین بطری قرار دارد که با باز کردن آن، آب برداشت‌شده به درون بطری تخلیه می‌شود.

۶- باید ده قطره محلول لوگل به نمونه‌ها اضافه گردد.

omoorepeyman.ir

۷- برچسب اطلاعات بر روی بطری‌ها نصب شود.

۸- نهایتا نمونه‌ها به کلمن انتقال داده شده و در جای خنک نگهداری می‌شود.

ب- پمپ پلانکتونی

۱- شیلنگ پمپ پلانکتون برای نمونه‌برداری از ستون آب به اعماق پایین فرستاده و پمپ روشن می‌شود (شکل ۲-۳).

۲- از کل ستون آب نمونه‌برداری صورت پذیرد.

۳- زمان حرکت پمپ در هر یک از لایه‌ها توسط کرونومتر ثبت می‌شود.

۴- آب انتقال‌یافته به عرشه شناور، فیلتر[1] شده و به تفکیک لایه‌های عمقی در ظروف پلی‌اتیلنی جمع‌آوری می‌شود.

۵- اضافه نمودن ده قطره محلول لوگل به نمونه‌ها

۶- در این مرحله نمونه‌ها برچسب و علامت گذاری می‌شود.

۷- نمونه‌ها باید در جای تاریک و خنک نگهداری شوند.

شکل ۲-۳- پمپ پلانکتونی KC

1- Filter

omoorepeyman.ir

ج- تور پلانکتون

۱- از تور پلانکتون مخروطی برای نمونه‌برداری از لایه‌های آب به‌طور افقی و عمودی استفاده می‌شود.
۲- تور پلانکتون توسط سیم بوکسل و وینچ به همراه یک فلومتر در یک عمق مشخص با سرعت یکسان کشیده می‌شود.
۳- تور پلانکتون ساده توسط سیم بوکسل و وینچ هیدرولیک به همراه یک وزنه متصل به تور برای نمونه‌برداری از ستون آب به اعماق پایین‌تر فرستاده شود.
۴- با قرار گیری تور پلانکتون در عمق موردنظر، تور با سرعت ۱m/s بر روی عرشه شناور بالا کشیده شود.
۵- تور از بخش بیرون، از بالا به پایین با آب دریا شسته شود.
۶- مخزن پایین تور جداشده و به بطری‌های از پیش برچسب خورده انتقال می‌یابد.
۷- ده قطره محلول لوگل به بطری‌ها اضافه و به شدت تکان داده شود.
۸- سپس نمونه‌ها را به کلمن انتقال داده و در جای خنک نگهداری می‌شود.

۲-۱-۳- تهیه محلول فرمالین

فرمالین، یک تثبیت کننده و نگه‌دارنده موثر برای نگهداری انواع مختلفی از موجودات ازجمله پلانکتون‌ها به‌حساب می‌آید. فرمالین تجاری از فرمالدئید ۴۰٪ (اشباع) محلول در آب به دست می‌آید. فرمالین را باید در ظروف شیشه‌ای یا پلاستیکی ذخیره کرد. ظروف فلزی برای این مرحله مناسب نیست زیرا محلول با فلز واکنش می‌دهد. برای حفظ و نگهداری نمونه‌های فیتوپلانکتون از فرمالدئید ۲٪ استفاده می‌شود (Verlencar, 2004).

۲-۱-۴- تهیه محلول لوگل

لوگول یک ماده نگه‌دارنده خوب به خصوص برای فیتوپلانکتون‌های تاژک‌دار و مژه‌دار به منظور حفظ تاژک و مژک است. این محلول از ۱۰ گرم ید، ۲۰ گرم یدور پتاسیم محلول در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲۰ گرم اسید استیک تشکیل شده است. این محلول می‌تواند چند روز جلوتر ساخته‌شده و در یک بطری تیره ذخیره شود (Verlencar, 2004). با انتقال نمونه‌ها به بطری‌های موردنظر ۱۰ الی ۲۰ قطره محلول لوگل به آن اضافه شود. درنهایت ظرف نمونه تا جایی تکان داده شود تا کل نمونه کاملا همسان شود. شایان‌ذکر است که بطری‌ها باید تا زمان انتقال به آزمایشگاه در جای خنک و تاریک نگهداری شوند.

۲-۱-۵- منجمد کردن

اگر لازم است تا نمونه‌های جمع‌آوری شده برای آنالیز زنده باشند، آن‌ها را می‌توان داخل یخدان یا یخچال برای چند ساعت ذخیره و سپس برای تجزیه و تحلیل آماده نمود در غیر این‌صورت برای نگهداری بلند مدت باید فیتوپلانکتون‌ها با ثابت‌کننده و یا نگه‌دارنده حفظ شود.

omoorepeyman.ir

۲-۱-۶- عملیات آزمایشگاهی

۲-۱-۶-۱- روش تغلیظ نمونه

نمونه‌های آب برداشته شده از دریا در اکثر مواقع قبل از انجام آنالیزهای آزمایشگاهی باید تغلیظ شود. سه روش متداول برای تغلیظ فیتوپلانکتون‌ها موجود است که شامل ته‌نشینی، فیلتر کردن و سانتریفیوژ کردن است.

۲-۱-۶-۲- روش ته‌نشینی[1]

اگرچه در روش ته‌نشینی نانوپلانکتون‌ها، پیکوپلانکتون‌ها و تاژکدارها با شنای فعال نمی‌توانند ته‌نشین شوند، اما این روش از لحاظ غیرانتخابی (برخلاف فیلتر نمودن) و غیر مخرب بودن (برخلاف فیلتر نمودن و سانتریفیوژ)، روش مناسبی است. درجه غلظت با فراوانی موجودات رابطه عکس و با تیرگی آب مرتبط است. برای انجام این روش میزان نمونه از ۱ میلی‌لیتر تا ۱ لیتر می‌تواند باشد. زمان ته‌نشینی برای یک تا دو لیتر نمونه ۱۶ الی ۲۴ ساعت در نظر گرفته می‌شود (Taylor et al., 2007).

۲-۱-۶-۳- روش فیلتراسیون

روش فیلتراسیون امکان دستیابی به پلانکتون‌های کوچک همانند سیانوباکترها و تاژک‌داران شناور را فراهم می‌کند اما باید این مهم را در نظر داشت که تاژک‌داران ظریف به‌وسیله هرگونه فیلتراسیون، حتی آهسته، آسیب می‌بینند. زمانی که نمونه فیلتر شود، میزان مواد معلق افزایش یافته و فیلتر را مسدود و موجب گیر کردن موجودات در بین مواد معلق می‌شود؛ اندازه روزنه‌های فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر است. بهتر است در زمان فیلتر نمودن نمونه کم‌تر از ۵۰ کیلو پاسکال خلا ایجاد شود تا زمانی که فقط ۵ سانتی‌متر از میزان نمونه باقی‌مانده باشد. سپس محیط خلا را به حدود ۱۲ کیلو پاسکال تقلیل داده و اجازه خروج نمونه را تا زمانی که فیلتر کاملا خشک نشود می‌بایست ادامه داد.

۲-۱-۶-۴- روش سانتریفیوژ

این روش برای جداسازی گونه‌های متحرک کاربرد فراوان دارد. در این روش ۱ میلی‌لیتر از نمونه فیتوپلانکتون، با حدود ۵ میلی‌لیتر محیط کشت[2] در سانتریفوژ به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ rpm قرار داده می‌شود. اطراف لوله سانتریفوژ باید طوری با یک فویل آلومینیوم پوشانده شود که قسمت کمی از محیط کشت در بالای ظرف در معرض نور قرار گیرد. پس از مدتی که تراکم فیتوپلانکتون‌ها در بالای لوله زیاد شد به‌وسیله یک پیپت استریل آن را برداشت کرده و برای شناسایی و یا کشت می‌توان استفاده نمود.

1- Sedimentation
2- Guillard

omoorepeyman.ir

۲-۱-۷- کالیبراسیون میکروسکوپ

(برای کالیبره کردن عدسی در بزرگنمایی‌های مختلف)

۱- عدسی چشمی را باید خارج کرد.

۲- جایگزینی اکولر مدرج[1] به جای عدسی چشمی

۳- لام مدرج را روی صفحه میکروسکوپ قرار داده و با تنظیم وضوح[2] مناسب در بزرگ‌نمایی ۴× و سپس ۱۰× بخش مدرج لام را یافت.

۴- با چرخش اکولر مدرج و حرکت لام باید دو درجه‌بندی را برهم منطبق کرد به طوری که از سمت چپ صفحه، اولین درجه لام مدرج، دقیقا در راستای اولین درجه اکولر مدرج باشد.

۵- نزدیک نمودن این دو درجه با پیچ‌های تنظیم امکان‌پذیر است.

۶- در بزرگ‌نمایی ۱۰× از سمت راست، دو درجه‌ای را که دقیقا باهم انطباق دارند را شمرده و هر درجه از لام مدرج که شمرده می‌شود باید در ۱۰× ضرب شود تا با توجه به توضیحات، اندازه لام مدرج برحسب میکرون به‌دست آید.

۷- این اندازه را باید معادل تعداد درجه شمرده شده از اکولر مدرج قرار داد و در تناسب یک درجه از اکولر محاسبه کرد.

۸- عددی که به‌دست می‌آید عدد کالیبره اکولر مدرج در بزرگ‌نمایی ۱۰× است، یعنی فاصله یک درجه از اکولر مدرج در بزرگ‌نمایی ۱۰× چند میکرون است. نهایتا به این نکته توجه شود که عدد کالیبره با بزرگ‌نمایی نسبت عکس دارد.

۹- عدد کالیبراسیون هر میکروسکوپ با میکروسکوپ دیگر متفاوت و برای عدسی‌های شیء مختلف نیز متفاوت است؛ بنابراین عدد کالیبره را برای بزرگنمایی‌های مختلف می‌توان به‌دست آورد.

۲-۱-۸- آماده‌سازی اسلاید نمونه

۱- نمونه را به‌شدت تکان داده تا محلول همسان شود.

۲- ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه توسط پیپت کالیبره شده (از قبل تمیز شده) بیرون کشیده و درون اسلاید شیشه‌ای قرار داده شود.

۳- روی نمونه با یک درپوش یا پارافیلم برای جلوگیری از بخار شدن پوشانده شود.

۴- دور آن‌را با یک حلقه چسب همانند لاک ناخن زده و سپس به اسلاید نمونه یک قطره گلیسیرین اضافه شود.

1- Eye Piece Micrometer
2- Contrast

omoorepeyman.ir

۲-۱-۹- نمونه فیتوپلانکتونی فیلتر شده

۱- پس از فیلتر کردن، سریعا فیلتر بر روی یک قطره روغن ایمرسیون قرار داده شود.
۲- سپس دو قطره روغن روی آن ریخته تا فیلتر کاملا اشباع و شفاف شود این فرآیند حدود ۲۴ تا ۴۸ ساعت طول می‌کشد.
۳- با قرار دادن فیلترها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، این روند می‌تواند در حدود ۱ الی ۲ ساعت انجام شود.
۴- در آخر دو طرف فیلتر، اسلاید قرار داده شود.

۲-۱-۱۰- محاسبه تعداد فیتوپلانکتون‌ها

۲-۱-۱۰-۱- شمارش واحد

برخی از فیتوپلانکتون‌ها تک سلولی و برخی دیگر به‌صورت کلنی هستند. تنوع در فرم قرارگیری در شمارش گونه‌ها مشکل ایجاد می‌نماید. به‌عنوان‌مثال، یک کلنی چهار سلولی باید یک کلنی و یا چهار سلول تک سلولی شمرده شود. لیست زیر برای این سوال در نظر گرفته شده است (APHA, 1998) (جدول ۲-۱)

جدول ۲-۱- روش و واحد شمارش

روش شمارش	شمارش واحد	گزارش واحد
شمارش کل سلول‌ها	تک سلول	Cells/ml
شمارش واحدی (شمارش توده‌ای)	یک موجود (هر موجود تک سلولی و یا کلنی‌های معمولی)	Units/ml
شمارش واحد استاندارد محیطی	$۴۰۰\mu m^2$	Units/ml

۲-۱-۱۰-۲- مراحل شمارش

به منظور شمارش پلانکتون‌ها می‌توان از سلول‌های حجم فضای محفظه[1] که برای شمارش جمعیت آماده شده است، استفاده نمود. سلول‌هایی که دیواره آن‌ها شکسته شده و یا تاژک خود را از دست داده‌اند به هیچ عنوان در شمارش محاسبه نمی‌شوند (APHA, 1998).

۲-۱-۱۰-۳- روش بزرگ‌نمایی پایین (تا X۲۰۰)

برای شمارش پلانکتون‌ها می‌توان از یک شمارنده عرضی[2] (S-R) استفاده کرد (شکل ۲-۱). بزرگ‌نمایی برای شناسایی و شمارش بسیار حائز اهمیت است که در S-R معمولا از بزرگ‌نمایی X100 و یا X200 استفاده می‌شود. فضای داخلی این قطعه شامل ۵۰ میلی‌متر طول، ۲۰ میلی‌متر عرض و ۱ میلی‌متر عمق است که موجب تشکیل محیط ۱۰۰۰

1- Chamber
2- Sedgwick Rafter

omoorepeyman.ir

میلی‌مترمربع و حجم ۱۰۰۰ میلی‌مترمکعب (۱ میلی‌لیتر) می‌شود بنابراین ضروری است این وسیله قبل از استفاده با میکرومتر اندازه‌گیری و سپس کالیبره شود. تنها عیب استفاده از این قطعه عدم کارایی آن در بزرگنمایی‌های بالا است؛ بنابراین برای شناسایی نانوپلانکتون‌ها کاربردی ندارد. برای استفاده، باید قبل از انتقال نمونه به داخل S-R پوشش را بر روی آن تا نیمه قرار داد و بعد از انتقال کامل، به آهستگی پوشش را روی آن کشید این فرآیند به منظور جلوگیری از ورود حباب بر روی نمونه است. شایان ذکر است که قبل از شروع به بررسی باید ۱۵ دقیقه فرصت ته‌نشینی به نمونه داده شود (APHA, 1998).

در شمارش خطی، یک نوار برابر با طول ۵۰ میلی‌متر، عمق ۱ میلی‌متر و عرضی برابر با تمامی شبکه Whipple است. نتیجه‌گیری نهایی پس از شمارش از طریق رابطه ۲-۱ محاسبه می‌شود (APHA, 1998).

$$No./ml = \frac{C \times 1000\ mm^2}{L \times D \times W \times S} \quad (۱-۲)$$

C= تعداد موجودات شمارش شده

L = طول یک سلول S-R برحسب میلی‌متر

D = عمق هر سلول S-R برحسب میلی‌متر

W = عرض هر سلول S-R برحسب میلی‌متر

S = تعداد سلول‌های S-R

در نمونه‌هایی با تراکم پلانکتونی بالا، شمارش سلولی سریع‌تر از شمارش خطی است. تعداد سلول‌های شمارش شده، ارتباط مستقیم با تراکم پلانکتون‌ها و دقت آماری مورد نظر دارد. پس از شمارش، نتیجه‌گیری نهایی از طریق رابطه ۲-۲ انجام می‌گیرد (APHA, 1998).

$$No./ml = \frac{C \times 1000\ mm^2}{A \times D \times F} \quad (۲-۲)$$

C = تعداد موجودات شمارش شده

A = محیط یک سلول برحسب میلی‌متر مربع

D = عمق هر سلول برحسب میلی‌متر

F = تعداد زمینه سلول‌های شمارش شده

۲-۱-۱۰-۴- روش بزرگ‌نمایی متوسط (کم‌تر از X ۵۰۰)

برای شمارش نانوپلانکتون‌ها با بزرگ‌نمایی متوسط می‌توان از قطعه Palmer-Maloney (P-M) استفاده کرد. این وسیله به‌گونه‌ای طراحی شده است که برای شمارش نانوپلانکتون‌ها P-M مناسب است. این قطعه دارای یک محفظه دایره‌ای شکل به قطر ۱۷/۹ میلی‌متر، عمق ۰/۴ میلی‌متر و حجم ۰/۱ میلی‌لیتر است. تنها عیب این قطعه عدم کارایی آن

omoorepeyman.ir

در قدرت بزرگ‌نمایی بیش از X۴۰۰ الی X۴۵۰ است که این میزان برای شناسایی و شمارش نانوپلانکتون‌ها کافی نیست (APHA, 1998).

۱- ابتدا، نمونه از کانال ۲ الی ۵ میلی‌متری اسلاید وارد شود.

۲- پوشش شیشه‌ای بر روی نمونه قرار داده شود.

۳- باید به مدت ۱۰ دقیقه اجازه ته‌نشینی به نمونه‌ها را داد.

۴- برای شمارش باید تمام فضای دایره شمرده شود.

۵- پس از شمارش، نتیجه‌گیری نهایی از طریق رابطه (۲-۳) قابل محاسبه است (APHA, 1998).

$$\text{No./ml} = \frac{C \times 1000\ \text{mm}^2}{A \times D \times F} \qquad (۳-۲)$$

C = تعداد موجودات شمارش شده

A = محیط یک سلول برحسب میلی‌مترمربع

D = عمق یک سلول برحسب میلی‌متر

F = تعداد سلول‌های شمارش شده

۲-۱-۱۰-۵- روش بزرگ‌نمایی بالا

به منظور بزرگ‌نمایی بالا نیاز به استفاده از روغن ایمرسون است در این مرحله لازم است از میکروسکوپ معکوس، فیلتر غشایی، اسلاید ته‌نشینی و روش Lackey drop استفاده شود (APHA, 1998).

الف- میکروسکوپ معکوس

ابتدا نمونه به محفظه انتقال داده شده و زمانی به منظور ته‌نشین شدن آن در نظر گرفته می‌شود. سپس محفظه را به زیر میکروسکوپ انتقال داده و شمارش و شناسایی نمونه‌ها را از خطوط عمودی شروع می‌شود. جهت شمارش باید از صفحه مشبک Whipple و یا چشمی مخصوص که دارای خطوط عمودی قابل تنظیم که همراه با یک صلیب در مرکز قرار دارد استفاده نمود. پس از شمارش خطی، نتیجه‌گیری نهایی از طریق رابطه (۲-۴) قابل محاسبه است (APHA, 1998).

$$\text{Strip count (No./ml)} = (C \times A_t) / (A_f \times F \times V) \qquad (۴-۲)$$

C = تعداد موجودات شمارش شده

A_t = محیط زمینه محفظه برحسب میلی‌متر مربع

L = طول یک خط برحسب میلی‌متر

W = پهنای یک خط برحسب میلی‌متر

S = تعداد خطوط شمارش شده

V= حجم نمونه وارد شده به محفظه برحسب میلی‌لیتر

omoorepeyman.ir

توجه داشته باشید که اگر شمارش از روش شمارش سلولی باشد، نتیجه‌گیری نهـایی از طریـق فرمـول رابطـه (۲-۵) انجام می‌گیرد (APHA, 1998).

$$\text{strip count}\left(\text{No.}/\text{ml}\right)=\frac{C\times A_t}{A_f\times F\times V} \qquad (۵-۲)$$

A_f = محیط سلول برحسب میلی‌مترمربع

F = تعداد سلول‌های شمارش شده

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

فصل ۳

تعیین کلروفیل

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

۳-۱- مقدمه

سبزینه یا کلروفیل، رنگینه‌ای سبز رنگ است که در اکثر گیاهان، خزه‌ها و سیانوباکتری‌ها یافت می‌شود. سبزینه بخش اعظم نور آبی و قرمز را جذب و نور سبز و زرد را از بین طیف‌های الکترومغناطیسی منعکس می‌کند؛ رنگ سبز گیاهان به دلیل انعکاس نور سبز از کلروفیل‌ها است. وظیفه سبزینه، نورساخت (فتوسنتز) در یاخته است که گیاه را قادر می‌سازد از نور خورشید انرژی کسب کند. درواقع کلروفیل ماده‌ای شیمیایی است که تقریبا در برگ و ساقه تمام گیاهان وجود دارد و رنگ آن‌ها را سبز می‌کند. گیاهان، برای ساختن غذایشان به کلروفیل نیاز دارند به‌طوری‌که نور خورشیدی که روی برگ درختان می‌تابد با کلروفیل واکنش می‌دهد تا دی‌اکسید کربن موجود در هوا و آب مکش شده به‌وسیله ریشه گیاه از زمین را به غذای حاوی قند و نشاسته تبدیل کند.

۳-۲- تعیین کلروفیل-a به روش اسپکتروفتومتری

این روش توسط گروه SCOR/UNESCO توافق شده و در مونوگراف روش‌های دریایی UNESCO به چاپ رسیده است.

۳-۲-۱- ابزار موردنیاز

- دستگاه‌های صافی کردن شامل اقلام ذیل:
  - پمپ خلا
  - منی فولد (۳ یا ۶)
  - قیف بوخنر (۳ یا ۶)
  - پنس فیلتر کردن
- بطری استوانه‌ای پلی‌اتیلنی یک لیتری
- بطری استوانه‌ای پلی‌اتیلنی دو لیتری
- کاغذ فیلتر سلولزی با چشمه ۴۵ میکرومتری
- اسپکتروفتومتر با سلول‌های ۱ و ۱۰ سانتی‌متر
- دستگاه گریز از مرکز چرخشی
- ویال‌های سمباده‌دار پلی‌اتیلن با حجم ۱۵۰۰ میلی‌لیتر
- بطری نیسکین
- مواد شیمیایی موردنیاز
  - کربنات منگنز: ۱ گرم کربنات منگنز را به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب یون‌زدایی شده در فلاسک ارلن اضافه کرده و آن را تکان دهید به طوری که پودر آن کاملا حل شود.

omoorepeyman.ir

- محلول استن ۹۰ درصد: ۱۰۰ میلی‌لیتر آب یونیزه شده را در یک فلاسک حجمی ریخته و به آن ۹۰ میلی‌لیتر استن خالص اضافه می‌شود تا دقیقا به یک لیتر برسد. محلول حاصل به بطری شیشه‌ای کهربایی انتقال و درب آن باید محکم بسته شود.

۳-۲-۲- روش کار

بطری نیسکین به عمق موردنظر انتقال داده شده و پس پر شدن به کشتی منتقل شود، بعد از بالا آوردن آن به عرشه کشتی یا شناور، محتویات آن باید به یک ظرف پلاستیکی تیره ریخته و به‌سرعت فیلتر شود، در غیر این صورت این محلول را تنها برای برای مدت محدودی می‌توان در مکانی تاریک گذاشته و سپس فیلتر نمود.

۳-۲-۳- نکات ضروری

۱- میزان حجمی نمونه منوط به مقدار فیتوپلانکتون در نمونه است. در آب‌های اقیانوسی ۴ تا ۵ لیتر نمونه باید فیلتر شود اما در آب‌های ساحلی گاهی یک‌دهم این مقدار نیز کافی است.

۲- یک سیستم فیلتر در داخل شناور و یا آزمایشگاه نصب و قیف بوخنر را در منی‌فولد نصب شود. در صورت ممکن از قیف بوخنر مغناطیسی استفاده شود تا نیازی به گیره برای نگه‌داشتن قیف نباشد.

۳- حجم نمونه آب موردنیاز باید در یک لوله استوانه‌ای پلی‌اتیلنی اندازه‌گیری و به یک ظرف پلی‌اتیلنی انتقال داده شود و قبل از صاف کردن به خوبی مخلوط (تکان داده) شود.

۴- نمونه آب را از میان یک تور نایلونی با چشمه ۰/۳ میلی‌متر عبور داده تا زئوپلانکتون آن برداشته و آب در درون قیف ریخته شود، عمل صاف کردن با روشن کردن پمپ خلا آغاز می‌شود.

۵- قبل از پایان فیلتر کردن ۱ میلی‌لیتر از محلول کربنات منگنز به چند میلی‌لیتر نمونه آب مانده اضافه شود.

۶- پس از فیلتر کردن نمونه آب کاغذ صافی توسط پنس به چهار قسمت تا و برای انتقال به آزمایشگاه درون ورق آلومینیومی قرار می‌گیرد.

۷- ورق آلومینیومی باید در یک مکان تاریک و در دمای پایین (ترجیحا یخچال) نگهداری شود.

۸- زمانی که تمام نمونه‌های یک ایستگاه فیلتر شدند، لازم است کاغذهای صافی درون ورق آلومینیومی گذاشته و سپس ورقه‌ها توسط نوارچسب بسته‌بندی و برچسب زده شوند.

۹- شماره ایستگاه و تاریخ برداشت بر روی نمونه‌ها درج و سپس به یخچال منتقل شود.

۱۰-کاغذ صافی در یک ویال ۱۵ میلی‌لیتری گریز از مرکز[1] قرار داده شود.

1- Centrifuge

omoorepeyman.ir

۱۱- بر مبنای نوع کاغذ صافی که در این مرحله استفاده می‌شود، میزان استون افزوده شده متغیر خواهد بود. به عنوان نمونه، اگر از کاغذ صافی میلی پور[1] استفاده می‌شود، ۸ میلی‌لیتر استون ۹۰ درصد به آن افزوده سپس درب آن را بسته و محلول را تا اختلاط کامل تکان دهید.

۱۲-در این مرحله، نمونه در دستگاه گریز از مرکز با تنظیمات زمان ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور بر دقیقه قرار داده می‌شود.

۱۳-از اسپکتروفتومتری با مشخصات طول باند ۳ نانومتر یا کم‌تر برای قرائت ضریب جذب در طول موج‌های ۶۶۳ به ۶۴۵ و ۶۳۰ و ۷۵۰ نانومتر در برابر شاهد (استون ۹۰ درصد) استفاده شود.

۳-۳- تعیین کلروفیل-a به روش فلورومتری[2]

روش فلورومتری برای سنجش رنگینه‌های کلروفیل (کلروفیل– a و فئوپیگمنت‌ها) به کار می‌رود. دستگاه Fluorometer Au-10 برای اندازه‌گیری کلروفیل در آزمایشگاه و در عملیات میدانی به کار می رود و می‌تواند به‌طور مداوم میزان کلروفیل را در آب دریا اندازه‌گیری کرده و با نصب فیلترهای خاص به‌آسانی ترکیبات متفاوتی را سنجش نماید. همچنین با این دستگاه، کلروفیل-b و رنگینه‌های فئوپیگمنت طبق روش Welschmeyer (1994) قابل اندازه‌گیری است. دستگاه فلورومتر 10-Au تا محدوده ۰/۰۲۵۰ $\mu g\ l^{-1}$ کلروفیل را طبق روش EPA 455.5 تشخیص می‌دهد.

شکل ۳-۱- دستگاه فلورومتر Turner Au-10

1- MILLIPORE
2- (Fluorometer 10-Au) Turner Design

omoorepeyman.ir

۳-۴- سامانه یکپارچه نقشه‌کشی دریایی فلورومتری C-FINS™

در این سامانه، خروجی داده‌های فلورومتر زیردریایی با سامانه موقعیت‌یاب جهانی ادغام می‌شود تا به سهولت نقشه داده‌ها مشاهده شود. یک ماژول نرم‌افزاری سامانه C-FINS™ را با ArcGIS ادغام می‌کنند تا نقشه فلورسنت، دما، عمق و کدورت نشان داده شود.

شکل ۳-۲- دستگاه فلورومتر C-FINS

اخیرا دستگاه فلورومتر زیردریایی[1] (شکل ۳-۲) برای بررسی میزان فتوسنتز گیاهان زیر دریا که شامل علف‌های دریایی، جلبک‌ها و زئوزانتلا در مرجان‌ها است ابداع شده و به کار می‌رود. در این دستگاه، به‌غیراز کلروفیل، حسگرهای دما و عمق نیز تعبیه‌شده که به‌طور خودکار این پارامترها را سنجیده و ثبت می‌کند.

شکل ۳-۳- نحوه استفاده از فلورومتر زیردریایی Diving Pam

1- Diving Pam

omoorepeyman.ir

فصل ۴

تولید اولیه

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

۴-۱- مقدمه

تولید اولیه به مقدار مواد آلی تولید شده در واحد سطح و واحد زمان گویند. اکثرا تولید اولیه در دریاها توسط موجودات میکروسکوپی به نام فیتوپلانکتون صورت می‌گیرد و نقش مهمی در شبکه غذایی، چرخه زیست، زمین، شیمی و شیلات ایفا می‌کند (Cloern et al., 2014).

۴-۲- ابزار کار

- دستگاه شمارشگر مایع سینتیلاسیون[۱] (شکل ۴-۱)
- استن
- دستمال کاغذی
- کاغذ صافی (نوکلئوپر) با چشمه ۰/۲ میکرومتر و قطر ۲/۵ سانتی‌متر
- درپوش پلاستیکی (۲)
- پیپت پاستور ۹ اینچی (استریلیزه شده)
- استوانه مدرج
- فلاسک شیشه‌ای دسته‌دار
- سیستم فیلتر کردن (۲۵۰cc Gelco)
- صفحه فیلتر[۲] پلاستیکی
- لوله پلاستیکی به قطر ۹ میلی‌متر
- قیف شیشه‌ای
- پنس برای گرفتن کاغذ صافی
- پیپت حجمی ۱ میلی‌لیتری
- ویال‌های ۲۰ میلی‌لیتری

۱- این دستورالعمل مربوط به دستگاه Packard TRI-CARB 4430 است در صورت استفاده از دیگز دستگاه‌ها بهتر است به دفترچه راهنما مراجعه شود.

2- Filter Plate-

omoorepeyman.ir

شکل ۴-۱- دستگاه شمارشگر مایع سینتیلاسیون Packard TRI-CARB 44301

۴-۳- روش کار

۴-۳-۱- روش نمونه‌برداری

۱- نمونه‌برداری به‌طور تقریبی ۳ ساعت باید قبل از طلوع آفتاب انجام شود، ۱۲ لیتر آب توسط بطری نیسکین برداشت شود.

۲- در شرایط نور کم، نمونه‌های آب به بطری‌های تفریخ پلی‌اتیلنی (۵۰۰ میلی‌لیتر) منتقل شده و در تاریکی نگهداری شوند. در موقع نمونه‌برداری از دستکش‌های پلی‌اتیلنی استفاده شود.

۳- به منظور دوره تفریخ[1]، سه بطری سفید و سه بطری تاریک به همراه یک بطری شاهد در هر عمق از هر ایستگاه برداشت شود و در کیف‌های دولایه‌ای مخصوص گذاشته شود.

پس ازآنکه آب همه نمونه‌ها از بطری نمونه‌برداری برداشت شد، با پیپت تمیز مخصوص، ۲۵۰ میکرو لیتر از محلول مادر کربنات سدیم نشان‌دار با C^{14} برداشته و به هر یک از نمونه‌ها اضافه می‌گردد. نمونه‌ها پیش از غروب در روی بویه‌ی شناور قرار داده می‌شوند.

در زمان غروب خورشید، بطری‌ها از بویه‌ها برداشت شده و به‌سرعت در تاریکی قرار داده شود؛ تمامی بطری‌ها در مکان نمونه‌برداری در تاریکی قرارگرفته و به‌سرعت بررسی و زمان بازگشت ثبت شود.

1- Incubation

omoorepeyman.ir

۴-۳-۲- روش آزمایشگاهی

الف- معرف‌ها

آب بافر شده: آب یون‌زدایی شده با کیفیت آزمایشگاهی تهیه شده و سدیم هیدروکساید ۰/۱۸ نرمال قطره به قطره به آن افزوده شده تا pH به ۹/۵ افزایش یابد. به ازای هر آمپول C^{14}، ۴۰۰ میلی‌لیتر از این بافر موردنیاز است. محلول تهیه شده در یخچال و در دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شود. برای تهیه معرف اسید هیدروکلریک ۰/۵ نرمال باید ۴/۲۵ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید غلیظ به ۸۰۰ میلی‌لیتر آب یون‌زدایی شده افزوده و به حجم ۱ لیتر برسد.

ب- فیلتراسیون

به‌محض بازیابی بطری‌های اتیکول شده، فیلترکردن نمونه‌ها در شرایط نوری کم آغاز می‌شود. نمونه‌های آب باید بلافاصله بعد از تکمیل زمان دوره تفریخ در محیطی تاریک فیلتر شوند. فشار پمپ به‌کار رفته برای این عمل نباید از ۰/۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع تجاوز کند. اندازه‌ی چشمه‌های فیلتر یا صافی شده نباید از ۰/۴۵ میکرومتر بیش‌تر باشد همچنین کل زمان فیلتراسیون برای تمام بطری‌ها نباید از ۱ ساعت بیش‌تر شود. درصورتی‌که نمونه‌ها تا مدت ۲ ساعت پس از پایان انکوباسیون فیلتر نشوند، برای جلوگیری از اتلاف C^{14} در اثر تنفس، نمونه‌ها باید در فرمالین ۴۰ درصد (۰/۵ میلی‌لیتر به‌ازای هر ۱۰۰ میلی‌لیتر) تثبیت شود. این نمونه‌ها در محیط تاریک و دماهای پایین تا دو روز قابل نگهداری است. دیگر عوامل تثبیت کننده نباید به کار گرفته شود.

- از پاکیزگی کامل ظروف شیشه‌ای اطمینان حاصل شده و بعد از نمونه‌برداری آن‌ها را در پوشش‌های تیره پیچیده و در دماهای بالا استریل[1] شوند. ظروف همچنان در داخل پوشش‌های تیره رنگ خود تا لحظه‌ی استفاده نگهداری شوند.
- ادوات فیلتراسیون آماده و از فیلتر ۰/۲ میکرومتر (Nucleopore) استفاده شود.
- محلول بافری خنک شده را به داخل قیف فیلتر ریخته و پمپ روشن شود. در مدت زمان فیلتراسیون، قیف با پوششی پوشانده شود.
- در صورت لزوم، فیلترها تعویض شود.
- پس از فیلتراسیون، ادوات فیلتراسیون را جدا کرده و ظرف فیلتر با پارافیلم تا لحظه‌ی آنالیزها پوشیده شود.
- تقریبا ۲۰ میلی‌لیتر آب فیلتر شده به داخل بشر منتقل و از آن برای شستشو استفاده شود. بشر با پارافیلم پوشیده شود.

1- Autoclave

omoorepeyman.ir

ج- سنجش دستگاهی

برای شمارش تعداد واپاشی‌های C^{14} در هر ثانیه، تکنیک شمارشگر آشکارسازهای (سنتیلاسیون) مایع توصیه می‌شود. بعد از فیلتراسیون، فیلترها باید بلافاصله در معرض هیدروکلریک اسید برای مدت ۵ دقیقه قرارگرفته و سپس در ظروف شمارشگری قرار گذارده شوند.

- درصورتی‌که فیلترهای به‌دست‌آمده مستقیما برای شمارشگری استفاده نشود، فیلترها باید در بخار فرمالین ۴۰ درصد قرار داده شوند.
- ویال‌های شمارشگر آشکارساز (سینتیلاسیون) را از سمت دریچه نگهداشته و دیواره‌ی خارجی آن را توسط دستمال کاغذی آغشته به استون پاک و با یک دستمال تمیز خشک شود. به علت قابلیت اشتعال بالای استون، این کار باید در زیر هود انجام شود.
- ویال‌های شمارشگر سینتیلاسیون به سینی‌های سینتیلاسیون منتقل و به منظور سازگاری به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی واقع شود.
- اطمینان حاصل شود که شماره‌ی روی دریچه‌ی ویال‌ها خوانا بوده و به ترتیب نوشته شده باشد.
- ویال‌ها از سمت دریچه در شمارشگر قرار داده شود.
- هر سری از نمونه‌ها، استانداردهای میدانی و پایه (شاهدهای آزمایشگاهی) باید به مدت ۲۰ دقیقه شمارش شوند.
- راندمان شمارشگر باید تعیین شود تا نتایج در برنامه مدیریت حفاظت از داده‌ها[1] (DPM) گزارش شود. اکثر شمارشگرهای آشکارساز سنتیلاسیون نتایج را به‌صورت مدیریت داده‌ها درصورتی‌که مجموعه‌ای از استانداردها فراهم شود، نشان خواهد داد.

د- محاسبه نمونه

جذب کربن، به وسیله رابطه ۴-۱ قابل محاسبه است:

$$C^{12} = CU^{14} \times CA^{12} \times 1.06) / (CA^{14} \times t) \qquad (۱-۴)$$

t = زمان تماس (ساعت)

C^{12} = نرخ جذب کربن (mg/C/L/Hr)

CU^{14} = فعالیت نمونه (DPM)

CA^{14} = فعالیت اضافه شده (DPM)

1- Data Protection Management

omoorepeyman.ir

CA^{12} = کربن معدنی موجود برحسب میلی‌گرم بر لیتر که توسط میانگین قلیائی و pH و یا اندازه‌گیری مستقیم کربن معدنی کل به‌دست‌آمده است.

۱/۰۶= ثابت تاثیر ایزوتوپ

نرخ جذب کربن با غلظت کلروفیل نرمال شده:

$C^{12}uptake / Chl.$

Chl. = غلظت کلروفیل برحسب میلی‌گرم بر لیتر

برای هر یک از نمونه‌های انکوبه شده، موارد زیر باید گزارش شود:

- نرخ تولید تعدیل نشده (mg C/L/hr)
- نرخ تولید نرمال شده (C/L/hr/mg chl.)
- شدت نوری که در آن نمونه تفریخ شده
- مدت‌زمان تفریخ

نکات زیر باید ثبت شوند:

اطلاعات مربوط به میزان کربن دی‌اکسید کل، دما، pH و شوری نمونه‌های آب و نیز شرایط هواشناسی محل (باد، موج و صافی آسمان) در طی نمونه‌برداری باید ثبت گردد.

باید عمق نمونه‌برداری و عمق رؤیت دیسک سشی یادداشت شود.

زمان دقیق جمع‌آوری نمونه، زمان دقیق اضافه کردن C^{14} و مدت زمان اینکوباسیون و زمان شروع و پایان فیلتراسیون به‌دقت یادداشت شود.

شماره‌ی فیلتر و نیز اندازه‌ی چشمه‌های تور ذکر گردد.

برای هر یک از نمونه‌های تفریخ شده (اینکوبه شده)، اطلاعات زیر گزارش شود:

۱- نرخ تولید تعدیل نشده در واحد mg/L/hr

۲- نرخ تولید نرمالیزه شده در واحد .mgC/L/hr/mg Chl

۳- میزان نوری که در آن نمونه تفریخ شده است.

۴- مدت زمان تفریخ شدن

(برای توضیحات بیش‌تر به پیوست الف مراجعه شود)

۴-۴- بطری نیسکین

بطری نیسکین نوعی بطری از جنس پی‌وی‌سی (شکل ۴-۲) است که برای نمونه‌برداری از آب استفاده می‌شود. بطری نیسکین یک استوانه پلاستیکی با دو دریچه در هر طرف است. دریچه‌ها توسط کش‌های لاستیکی با یک مکانیزم ساده

omoorepeyman.ir

باز می‌شود. یکی از دریچه‌ها در بالا و یکی در پایین بطری است که توسط یک کش لاستیکی به بطری متصل هستند. در پایین بطری یک شیر به منظور تخلیه نمونه آب برداشته شده وجود دارد. تمامی فلزات ساخته شده در این بطری‌ها از استیل ضدزنگ است. نحوه نمونه‌برداری با بطری نیسکین به این‌صورت است که بطری با دو سر باز و توسط سیم بوکسل وینچ هیدرولیک به پایین فرستاده می‌شود. لازم به ذکر است برای جلوگیری از تکان خوردن بطری براثر جریان آب، به انتهای آن یک وزنه ۳ الی ۴ کیلوگرمی وصل می‌شود. زمانی که بطری در عمق مورد نظر قرار گرفت، با ارسال وزنه رها کننده[1] (شکل ۴-۲) و برخورد با سر بطری، دهانه بالایی آن بسته شده و دهانه پایینی توسط طناب داخل بطری کشیده می‌شود و دو سر بطری بسته و آب عمق مورد نظر برداشته خواهد شد و درنهایت به عرشه شناور منتقل می‌شود. نمونه برداشته شده باید به‌آرامی به ظروف خاص که از قبل مشخصات ایستگاه و عمق نمونه‌برداری بر روی آن مشخص شده است تخلیه شود.

۴-۴-۱- ابزار مورداستفاده

- بطری نیسکین
- طناب یا کابل
- وینچ درصورتی‌که کار بر روی کشتی تحقیقاتی انجام شود
- وزنه رها کننده

شکل ۴-۲- بطری نمونه بردار نیسکین و وزنه

1- Messenger

omoorepeyman.ir

۴-۴-۲- عملیات نمونه‌برداری توسط بطری نیسکین

۱- پیش از انجام نمونه‌برداری، تمامی سطوح بطری چک شود تا از عدم سوراخ شدن آن اطمینان حاصل شود. اگر سوراخی مشاهده شد و یا بخشی از آن مشکل داشته به طوری که امکان جمع‌آوری نمونه آب فراهم نباشد، این مهم باید در برگه میدانی ثبت شود.

۲- عملیات نمونه‌برداری معمولا توسط دو نفر انجام می‌شود. فرد نمونه‌بردار A وینچ را اداره می‌کند و به سوار کردن بطری بر روی طناب کمک می‌کند؛ فرد نمونه‌بردار B بطری را بر روی طناب سوار کرده، وزنه رها کننده را بر روی طناب فرستاده، محتویات آن را در ظروف مختلف ریخته و دمای آب پس از بالا آمدن بطری مورد سنجش قرار می‌گیرد. درصورتی‌که نمونه‌های فسفات گرفته شود، از دستکش‌های پلاستیکی تمیز استفاده شود تا مانع از آلودگی نمونه‌ها با دست گردد.

۳- درصورتی‌که جریان آب نسبتا زیاد باشد، یک وزنه ۵ کیلوگرمی به انتهای طناب و به فاصله حدود ۳۰ cm از انتهای بطری متصل می‌شود تا براثر ضربه، بطری آسیب نبیند.

۴- بعد از نمونه‌برداری، برچسب ظروف نمونه‌برداری باید شامل شماره ایستگاه، عمق، شماره بطری و سایر خصوصیات باشد.

۴-۵- روزت یا خوشه[1]

فریم روزت (شکل ۴-۳) چهارچوبی است که به آن تعدادی بطری نیسکین یا بطری‌های نمونه‌بردار دیگر، متصل است. در نمونه‌بردار روزت از ابزار نمونه‌برداری برای جمع‌آوری آب برای سنجش پارامترهای زیستی (فیتوپلانکتون، کلروفیل-a، شیمیایی (اکسیژن محلول، مواد مغذی و فلزات سنگین) و پارامترهای فیزیکی (دما، کدورت، pH و شوری) استفاده می‌شود. به همراه این سیستم، طول و عرض جغرافیایی، تاریخ و ساعت و تعداد بطری‌هایی که نمونه گرفته‌اند به‌طور خودکار ثبت می‌شود. روزت می‌تواند تا ۳۶ بطری را حمل کند.

نمونه‌ها از یک سری اعماق مختلف جمع‌آوری می‌شود. اعماق موردنظر، تابع ایستگاه، فصل نمونه‌برداری، عمق ایستگاه و نیمرخ دمایی است. پیش از انداختن خوشه یا روزت، تمامی دریچه‌های بطری نیسکین باید بازمانده و به یک مکانیسم آزاد کردن دریچه‌ها متصل شوند. اگر دریچه‌های بطری‌های نیسکین در زمان انداختن روزت به دریا بسته باقی بمانند، فشار زیاد در اعماق زیاد موجب خورد شدن بطری‌ها می‌شود.

1- Rosette

omoorepeyman.ir

شکل ۴-۳- روزت یا خوشه

۴-۵-۱- مراحل انداختن روزت در دریا

۱- دکمه مغناطیسی قبل از شروع به فعالیت[1] نرم‌افزار چرخانده شود.

۲- روزت به کمک وینچ در سطح نگه‌داشته و زمانی برای ثبت داده‌های عمق و شوری در نظر گرفته شود حدود ۵ دقیقه زمان مناسبی است تا حسگرها ثابت شود.

۳- کابل متصل به روزت با سرعت ۱۰ متر در دقیقه یا کم‌تر به منظور ارسال به عمق موردنظر آزاد شود.

۴- با رسیدن روزت به عمق موردنظر، تکنسین یا محقق ساکن بر روی شناور با فشار دکمه‌ای تعبیه شده بر روی تجهیزات دستور بسته شدن اولین بطری را دهد تا آب جمع‌آوری شود.

۵- روزت به عرشه کشتی انتقال داده و دستگاه با پیچاندن دکمه مغناطیسی خاموش شود.

۶- نمونه‌های آب با باز کردن شیر بطری‌های نیسکین در ظروف از پیش آماده شده جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال یابد.

1- Prompt

omoorepeyman.ir

فصل ۵

زئوپلانکتون‌ها

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

۵-۱- مقدمه

زئوپلانکتون به پلانکتون‌ها یا شناورزی‌های جانوری گویند که به‌صورت سرگردان در محیط‌های آبی زیست کرده، قادر به شنا کردن نیستند و از فیتوپلانکتون‌ها و یا زئوپلانکتون‌های دیگر تغذیه می‌کنند و خود توسط ماهیان و زئوپلانکتون‌های دیگر شکار می‌شوند. این موجودات توسط تورهای پلانکتون گیر به‌صورت افقی، مورب، مورب پلکانی و عمودی در دریا صید می‌شوند.

۵-۲- ابزار موردنیاز

تور پلانکتون (تور بونگو) با چشمه ۳۰۰ µm یا ۵۰۰µm (شکل ۵-۱)

- طناب
- فلومتر (شکل ۵-۲)
- عمق‌سنج دستی (شکل ۵-۳)
- وزنه ۱۰ الی ۱۵ کیلوگرمی برای سنگین کردن تور
- دفترچه یا فرم ثبت داده‌ها
- دبه‌های کیپ پلاستیکی
- قیف پلاستیکی در اندازه‌های مختلف
- تشت پلاستیکی
- فرمالین ٪۴ بافر شده
- ماژیک ضد آب
- موقعیت‌یاب جهانی
- شگل[1]
- اکوساندر دستی
- کورنومتر
- کابل متر
- برس پلاستیکی
- وینچ

1- Shackle

omoorepeyman.ir

- تخته‌شاسی
- کاربین پیچ‌دار
- شیلنگ
- تور پلانکتون در تکه‌های مختلف برای چسب زدن تور پاره شده
- ساک کتانی برای نگهداری از تور
- پنس سر ریز
- زاویه‌سنج[1] (شکل ۵-۴)

۵-۳- روش کار

الف- جهت کشش تور به‌صورت عمودی

۱- کشتی به حالت توقف باشد.

۲- در وسط تورها یک جفت فلومتر نصب می‌کنیم.

۳- بر روی فریم یا چهارچوب تور یک عمق‌سنج دستی نصب شود.

۴- ارقام روی فلومتر در برگه میدانی ثبت شود.

۵- در بخش پاشنه کشتی واقع در سمت راست آن، تور با سرعت ۱ m/s به کمک وینچ به عمق موردنظر فرستاده شود.

۶- دو الی سه دقیقه باید صبر کرد و سپس تور را به آهستگی با سرعت ۱ m/s به بالا کشید.

۷- قبل از رسیدن تور به عرشه، دو بار آن را از بیرون با آب دریا شسته تا زئوپلانکتون‌ها به درون بخش انتهایی[2] تور (شکل ۵-۵) رانده شود.

۸- سپس شماره فلومتر و عمق حقیقی از روی عمق‌سنج دستی خوانده شده و در برگه میدانی یادداشت شود.

۹- محفظه انتهایی تور باید به آهستگی باز شود و محتویات آن را در دبه‌های پلاستیکی از پیش آماده شده (برچسب خورده) با استفاده از قیف ریخت و به‌اندازه ۱/۲ تا ۱/۳ از حجم ظرف به آن محلول فرمالین بافر شده با بوراکس اضافه و حجم آن تا سه برابر پر شود تا موقع حمل‌ونقل نمونه‌ها صدمه نبینند. یک تا ۲ بار به آهستگی دبه چرخانده شود تا نمونه تثبیت شود. دبه‌ها باید به‌دقت برچسب خورده و اطلاعات برچسب به‌اندازه کافی نمونه را مشخص کند. برچسب باید شامل اسم شناور، شماره گشت، تاریخ، زمان، شماره ایستگاه، عمق کشش تور، زمان کشش، نام نمونه‌بردار و تعداد نمونه‌ها در هر ایستگاه باشد.

1- Clinometer
2- Cod-end

omoorepeyman.ir

۱۰-دبه‌های تثبیت شده باید در یونولیت یا کلمن قرار داده شود.

درصورتی‌که دو تور با چشمه مختلف استفاده شود، برای مثال، تور ۰/۳۰۰ µm و تور ۶۴ µm، بهتر است رنگ محفظه انتهایی با یکدیگر متفاوت باشد، مثلا سیاه و سفید.

ب- کشش تور به‌صورت مورب

درصورتی‌که تور به‌طور مورب کشیده شود، باید از زاویه‌سنج استفاده نمود. توصیه می‌شود که تور از پاشنه کشتی کشیده نشود تا از کف به وجود آمده از پروانه موتور در امان باشد؛ به‌عبارت‌دیگر، تور از سمت راست یا چپ پاشنه کشیده شود و یا کابل به‌اندازه کافی در آب رها شود تا از برخورد کف ایجاد شده در پشت کشتی در امان باشد. سرعت کشتی بین ۱ الی ۳ گره باشد تا زاویه تور متصل به کابل با کشتی به حدود ۴۰ تا ۴۵ درجه برسد.

۱- پس از رسیدن به ایستگاه مورد نظر، عمق آب از اتاق فرمان درخواست و ثبت گردد. عمق آب عمقی است که تور باید در نزدیکی آن فرود آید و تعیین‌کننده طول کابلی است که باید رها شود.

۲- شماره فلومتر خوانده و ثبت شود.

۳- یک وزنه ۱۰ الی ۲۰ کیلوگرمی به تور متصل شده تا سنگین شود.

۴- تور بونگو به کابل متصل شود.

۵- زاویه‌سنج به کابل نصب شود. به‌اندازه کافی کابل رها شود تا زاویه مورد نظر کشش به دست آید.

۶- ابتدا کابل متر را صفر نمایید و به اتاق فرماندهی علامت دهید (توسط بیسیم) تا کشیدن تور آغاز شود. توصیه می‌شود که سرعت کشتی بین ۱ الی ۳ گره باشد که البته این مهم تابع وضعیت دریا است. زاویه کابل باید بین ۴۰ تا ۴۵ درجه حفظ شود.

۷- انتهای تورها به‌آرامی وارد دریا شده و به‌محض آنکه از گره نخوردن تور اطمینان حاصل شد، کابل را رها کرده تا تور به عمق موردنظر برسد.

۸- شمارش کرنومتر از زمانی که فلومتر به زیر دریا می‌رود آغاز می‌شود. کرنومتر، زمان فرورفتن و کشیدن تور را با ثانیه نشان می‌دهد و این اطلاعات باید در برگه میدانی ثبت شود. زمان طی شده با محاسبه مسافت طی شده در زمان کشش تور و سرعت تور محاسبه می‌شود.

۹- زمان وارد شدن تور باید به‌صورت زمان ۲۴:۰۰ تا آخرین ۵ دقیقه ثبت شود. زمان روز و شب می‌تواند برای مقایسه راندمان صید به کار رود.

۱۰-زمانی که کابل به‌اندازه کافی رها شد، کرنومتر زده و زمان سقوط تور ثبت شود و مجددا شروع به کار می‌کند. به لحاظ آن‌که تور در زمان سقوط هم نمونه‌برداری می‌کند، زمان سقوط، به‌اندازه کشیدن آن حائز اهمیت است.

۱۱-موقعی که کرنومتر مجددا شروع به کار کرد، تورها پس از ۳۰ ثانیه کشیده شوند، در این زمان، تورها در زیر آب از حالت سکون خارج شده و به حالت کشیده در می‌آیند.

omoorepeyman.ir

۱۲-پس از ۳۰ ثانیه، کرنومتر مجددا شروع به کار کرده، زاویه کابل در آن عمق ثبت و کشیدن تور آغاز می‌شود. توصیه می‌شود که کشیدن تور به مدت ۱۰ دقیقه به طول بیانجامد. اگر در یک ناحیه، شکوفایی فیتوپلانکتونی رخ دهد، زمان تور کشی باید به ۵ دقیقه تقلیل یابد تا مانع از گرفتگی تور شود. نرخ تورکشی باید در صورت امکان به‌طور ثابت باشد تا از کشیدن تور به مدت ۱۰ دقیقه اطمینان حاصل شود و از تمام اعماق مورد نظر نمونه‌برداری شود. حفظ کابل در زاویه (۳ ± ۴۵) درجه حائز اهمیت است تا میزان آب به‌اندازه کافی فیلتر شود. به نظر نگارنده حفظ زاویه ۴۵ درجه همیشه امکان‌پذیر نیست و تابع وضعیت آب‌وهوا، امواج و تجربه کافی ناخدای کشتی است.

۱۳-تورها باید با سرعت ثابتی به بالا کشیده شود و نباید زمان زیادی در سطح آب کشیده شوند، زیرا سبب نمونه‌برداری بی‌رویه از سطح آب شده که از لحاظ آماری صحیح نیست. زمانی که فلومترها به سطح آب برسند، کرنومتر متوقف و زمان کشش تور به ثانیه ثبت شود.

۱۴-شماره فلومتر خوانده و در برگه میدانی ثبت شود و از شماره قبلی آن کم شده تا شمارش نهایی حاصل شود.

۱۵-تورها از بیرون شسته شوند تا تمامی زئوپلانکتون‌ها به داخل محفظه انتهایی تور رانده شود. به این منظور، از یک شیلنگ آب دریا با فشار متوسط استفاده شود. این عملیات معمولا چند دقیقه به طول می‌انجامد.

۱۶-بعد از شستن تورها، آن‌ها را بالا کشیده و محفظه انتهایی‌شان جدا شود . باید دقت لازم را به منظور جلوگیری از هدر رفتن نمونه‌ها بر اثر بی احتیاطی یا حرکت کشتی اعمال نمود.

۱۷-نمونه‌ها در ظروف از پیش آماده شده با فرمالین ۴٪ بافر شده با بوراکس تثبیت شود.

۱۸-پس از آنکه نمونه‌ها تثبیت شد، دبه‌ها برچسب گذاری شده و در جای مناسب نگهداری شوند، محفظه‌های انتهایی تور شسته شده و برای نمونه‌برداری بعدی به تور متصل شود.

۱۹-زمان کشیدن تور= زمان سقوط تور + زمان صعود تور

۲۰-معمولا اکثر تغییرات زمانی در موقع سقوط تور رخ می‌دهد که در آن کابل کندتر یا سریع‌تر سقوط می‌کند. توصیه می‌شود که کابل با سرعت ۵۰ متر در دقیقه آزاد شود. در برخی شرایط، مثل کنترل ضعیف کشتی، جریان مخالف زیر آب، تور را در زمان سقوط تحت تاثیر قرار می‌دهد. اپراتور وینچ باید مواظب باشد که تور گره نخورد و در صورت گره خوردن تور، باید آن را یادداشت نمود.

۲۱-زمان کل کشیدن تور، زمانی است که تور از آب خارج شده باشد.

۲۲-موقعیت جغرافیایی هر ایستگاه در برگه میدانی ثبت شود، اما معمولا این موقعیت‌ها در انتهای گشت دریایی از ناخدای کشتی گرفته می‌شود.

۲۳-در آزمایشگاه، هر نمونه در جایی که نیاز شود توسط تقسیم‌گر پلانکتونی (Folsom) (شکل ۵-۶) تا حد $\frac{1}{4}$ تا $\frac{1}{16}$ تقسیم می‌شود. هر زیر نمونه در یک بشر ریخته شده و توسط یک همزن برقی به آهستگی به هم زده شود.

۲۴-سه نمونه ۱۰ میلی‌لیتری به‌طور زیگزاگ از محتویات بشر برداشت و در محفظه بوگوروف (شکل ۵-۷) ریخته شده و توسط استریوسکوپ یا میکروسکوپ نوری شمارش و شناسایی می‌شوند. از پنس سر ریز برای تشریح،

omoorepeyman.ir

جدا کردن و شمارش زئوپلانکتون‌ها استفاده می‌شود.

کشش عمودی تور که از عمق انتخابی یا بستر شروع و از ستون آب برداشت می‌شود، این روش به گونه‌ای طراحی شده است که در آن می‌توان پلانکتون‌ها را در همه اعماق نمونه‌برداری کرد. روش کشش عمودی تور عموما برای مطالعات کمی پلانکتون‌ها به کار می‌رود.

ج- محاسبات

داده‌های اطلاعاتی را می‌توان با محاسبه حجم آب نمونه‌برداری شده به طرز زیر محاسبه نمود:

طولی که تور کشیده شده است × π × شعاع دهانه تور = حجم نمونه

برای فلومتر هیدروبیوز:

شماره خوانده شده فلومتر× ۰/۳ ×مساحت دهانه تور (m^3) = حجم نمونه

۵-۴- تعیین زی‌توده زئوپلانکتون

۵-۴-۱- ابزار موردنیاز

- لوله استوانه‌ای مدرج
- قیف بوخنر
- پنس
- پمپ خلا
- فیلتر ۱۰۰ یا ۳۰۰ میکرومتر
- الکل
- ترازو
- دفتر یادداشت
- آب‌پاش دستی

۵-۴-۲- روش کار

الف- روش حجمی

سریع‌ترین روش در کشتی است و اگر نمونه‌ها برای شناسایی بکار روند، بهترین روش محسوب می‌شود.

۱- نمونه‌های تثبیت شده در یک لوله استوانه‌ای مدرج ۵۰ الی ۱۰۰ میلی‌لیتری یا ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته (Lillelund and Kinzer, 1966) و به‌دقت مخلوط شود. زئوپلانکتون‌های باقی‌مانده در ظرف نمونه توسط آب

omoorepeyman.ir

دریای فیلتر شده با آب‌پاش دستی شسته شده و به لوله استوانه‌ای اضافه شود.

۲- زئوپلانکتون‌ها به آهستگی توسط نیروی جاذبه نشست می‌کند. زمان نشست ۲۴ ساعت به طول می‌انجامد (Lohman, 1908). در این مرحله باید از حرکت و ارتعاش اجتناب شود. میزان حجمی زئوپلانکتون درصورتی‌که اندازه آن‌ها بزرگ نباشد قابل قبول است. برای مثال، در صورت حضور موجودات ژلاتینی، روش کار با دقت کم‌تری انجام می‌شود (Beers, 1976) و بهتر است که این موجودات به‌صورت جداگانه سنجیده شوند.

ب- روش تعیین زی توده تر (بیومس تر)

زی‌توده تر نمونه‌های زئوپلانکتونی تثبیت شده، با کاهش زیست‌توده (بیومس) مواجه است که این امر تابع زمان تثبیت است.

۱- نمونه‌های زئوپلانکتونی که فاقد ژله ماهی است، بر روی یک فیلتر ۳۰۰ میکرومتری ریخته شود.

۲- پمپ خلا را روشن کرده و محتویات ظرف پلانکتون در آن ریخته و پیش از آنکه عمل فیلتر کردن تمام شود، به آن چند ۱۰ میلی‌لیتر الکل ۷۰٪ اضافه گردد تا آب‌شور باقی‌مانده بر فیلتر شسته شود Böttger, 1982.

۳- کاغذ فیلتر با ترازو تا ۰/۱mg وزن شود.

ج- روش تعیین بیومس خشک

۱- نمونه‌های زئوپلانکتونی فیلتر شده در فوق را در ظروف آلومینیومی گذارده تا به مدت ۱ الی ۲ روز در دمای ۶۰°C در خشک شود (Omori and Ikeda, 1984).

۲- کاغذهای فیلتر را به مدت ۴ ساعت در دسیکاتور گذارده تا به دمای اتاق برسند.

۳- هر یک از ظروف حاوی کاغذ فیلتر، توسط ترازوی دقیق تا ۰/۱ mg وزن شود.

۴- محاسبه وزن خشک

[وزن نمونه خشک شده با کاغذ فیلتر در ظرف آلومینیومی (mg)] / [حجم آب فیلتر شده (m^{-3})] = (mgm^{-3})

د- روش بیومس فاقد خاکستر

۱- نمونه زئوپلانکتونی خشک و وزن شده در روی فیلتر که در ظروف آلومینیومی قرار دارند به مدت ۱۲ ساعت در کوره در دمای ۵۰۰°C سوزانده شوند (Salorien et al., 1976).

۲- ظروف آلومینیومی در دسیکاتور گذاشته شود تا در دمای اتاق خنک شوند.

۳- هر یک از ظروف حاوی کاغذ فیلتر توسط ترازوی دقیق تا ۰/۱ mg وزن شود.

۴- وزن فاقد خاکستر

[وزن خشک نمونه با کاغذ فیلتر در ظرف آلومینیومی]-[وزن فاقد خاکستر بر روی فیلتر در ظرف آلومینیومی (mg)]

/ [حجم آب فیلتر شده (m^{-3})] = (mgm^{-3})

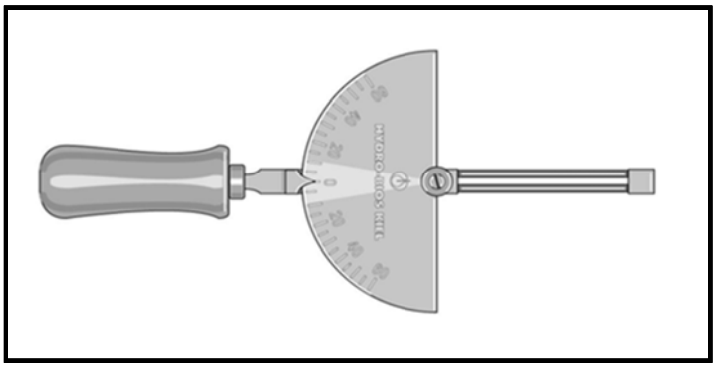
omoorepeyman.ir

شکل ۵-۱- تور زئوپلانکتون گیر بونگو

شکل ۵-۲- فلومتر

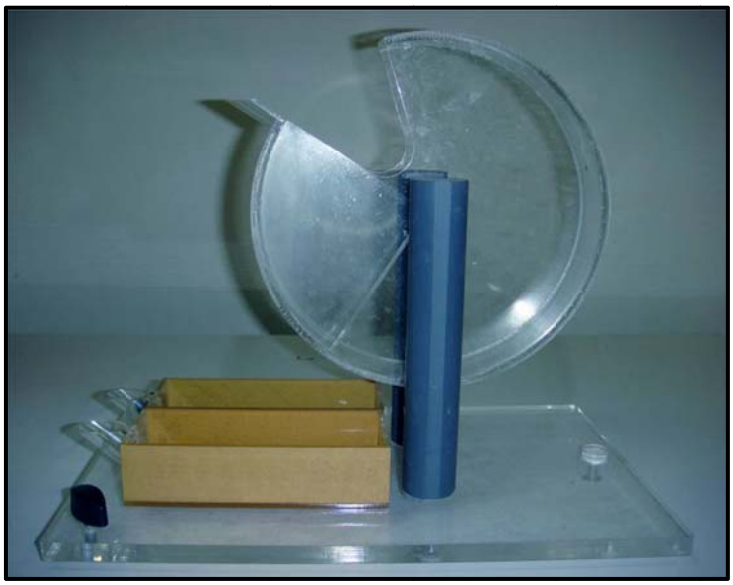
شکل ۵-۳- محل نصب عمق‌سنج دستی و فلومتر

omoorepeyman.ir



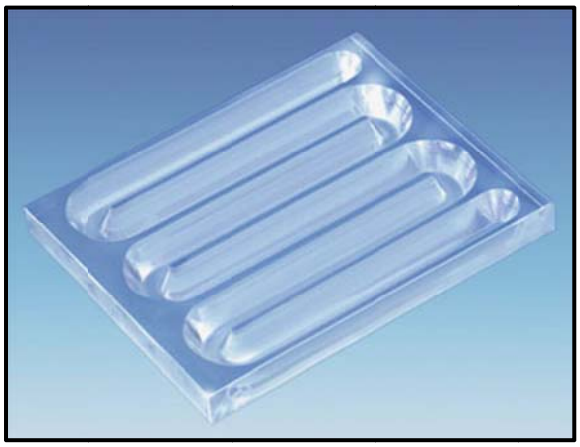
شکل ۵-۴- زاویه‌سنج یا کلینومتر

شکل ۵-۵- باگت



شکل ۵-۶- تقسیم‌گر پلانکتونی

omoorepeyman.ir



شکل ۵-۷- محفظه پلانکتونی بوگوروف

۵-۵- تور مولتی نت هیدروبیوز[1]

تور مولتی نت (شکل ۵-۸ و شکل ۵-۹) برای نمونه‌برداری همزمان به‌طور افقی و عمودی در لایه‌های مختلف آب دریا به کار می‌رود. تورها توسط زیپ شدن به فریم یا چهارچوب تور متصل می‌شوند. تورها به‌صورت الکترونیک باز و بسته می‌شوند. برای جمع‌آوری نمونه‌های زئوپلانکتونی به‌صورت افقی، پیشنهاد می‌شود از تور با چشمه ۳۰۰ µm استفاده شود. برای نمونه‌برداری به‌صورت عمودی، بهتر است از تورهایی با چشمه‌های ۵۵ µm الی ۷۸۰ µm استفاده شود. یک فشارسنج متصل به تور، عمق را به‌طور مداوم سنجش کرده و اطلاعات را به اتاق فرمان در عرشه منتقل می‌کند. فلومترها و تصحیح کننده خودکار زاویه در درون چهارچوب تور تعبیه می‌شود. برای نمونه‌برداری به‌صورت افقی، از یک وزنه V شکل (شکل ۵-۱۰) که به چهارچوب تور متصل است، استفاده می‌شود.

۵-۵-۱- روش کار

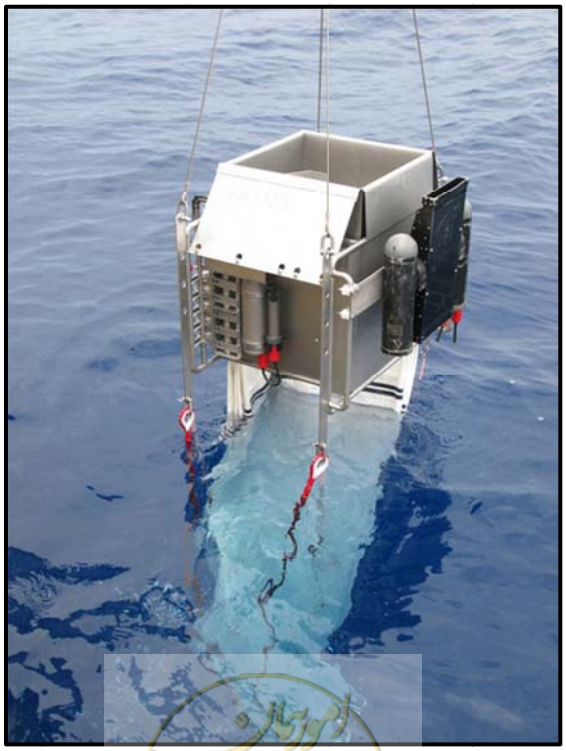
۱- در ابتدا، تور مولتی نت به کمک وینچ به آب انداخته می‌شود و تمامی تورها بسته مانده و آب به‌طور آزاد از چهارچوب تور عبور می‌کند.
۲- تور باید با سرعت زیاد به عمق موردنظر برسد.
۳- اولین تور توسط فشار دکمه به دستگاه هدایت‌کننده (شکل ۵-۱۱) در عرشه بسته می‌شود.
۴- دومین تور باز می‌شود.
۵- این روش برای سایر تورها به اجرا در می‌آید.
۶- آخرین تور کم‌ترین عمق موردنظر را تا سطح دریا جمع‌آوری می‌کند.

1- Hydrobios Multinet

omoorepeyman.ir

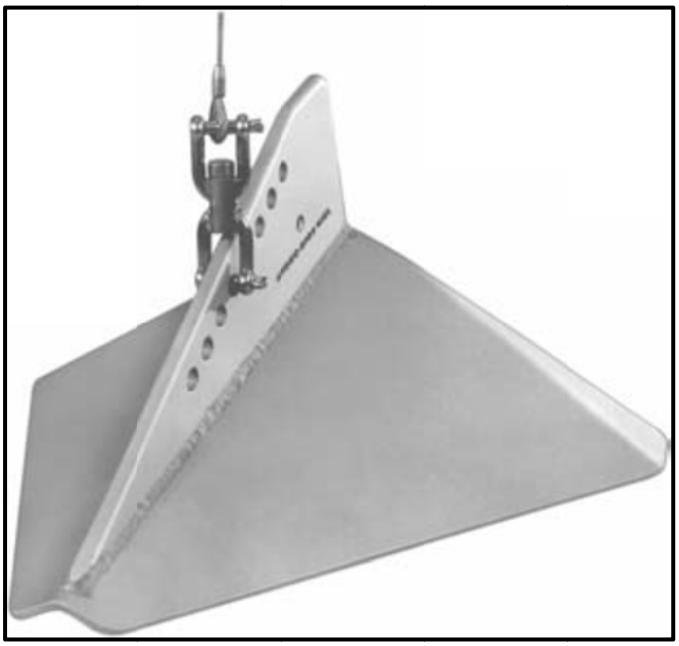
۷- درصورتی‌که کابل هادی در شناور موجود نباشد، عمق‌های مورد نظر می‌تواند از پیش توسط کامپیوتر شخصی برنامه‌نویسی شود. تورها به‌طور خودکار در فواصل عمقی فعال می‌شوند. در موقع عملیات، تمامی داده‌ها در یک حافظه داخلی ۱۶ مگابایتی ذخیره و در کشتی توسط کامپیوتر خوانده می‌شود.

شکل ۵-۸- تور مولتی نت



شکل ۵-۹- استقرار تور مولتی نت در دریا

omoorepeyman.ir



شکل ۵-۱۰- وزنه V شکل

شکل ۵-۱۱- دستگاه هدایت‌کننده در عرشه

۵-۶- نوستون جانوری

نوستون به پلانکتون‌های سطحی آب (تا cm ۱۰) گویند که شامل فیتو و زئوپلانکتون می‌شود. در اینجا تنها به زئونوستون اکتفا می‌شود.

۵-۶-۱- ابزار مورداستفاده

۱- تور نوستون به ابعاد cm ۲۰ × ۱۲۰ که شامل فلوتر است (شکل ۵-۱۲).

۲- فلوتر

omoorepeyman.ir

۳- طناب
۴- دبه‌های کیپ پلاستیکی
۵- فرمالین بافر شده با بوراکس
۶- قیف پلاستیکی
۷- تشت پلاستیکی
۸- ماژیک ضد آب
۹- موقعیت‌یاب جهانی
۱۰-برس پلاستیکی
۱۱-شیلنگ آب
۱۲-تخته شاسی
۱۳-دفتر یادداشت ثبت اطلاعات
۱۴-کورنومتر
۱۵-لوپ دوچشمی
۱۶-میکروسکوپ نوری
۱۷-پنس سر ریز

۵-۶-۲- روش کار

۱- هماهنگی کاملی باید بین ناخدای شناور و فردی که تور را می‌کشد وجود داشته باشد. تور را باید از سمت پاشنه کشتی به آرامی در دریا انداخته تا با سینه کشتی زاویه ۳۰ الی ۴۰ درجه تشکیل داده و سپس کشیده شود. برای انجام این کار به دو نفر نیاز است، یک نفر برای کشیدن تور با دست یا وینچ و دیگری برای یادداشت کردن داده‌ها.
۲- شماره فلومتر یادداشت شود.
۳- تور با سرعت ۵ الی ۱۰ دقیقه با سرعت ثابت ۱ تا ۳ گره کشیده شود. ۲ الی ۳ تکرار نیاز است. تور را به‌آرامی بالا کشیده و به آن محلول بوراکس اضافه و تا لبه دبه پر شود.
۴- محتویات تور را در ظروف از پیش آماده شده اضافه کرده و به آن محلول بوراکس اضافه شود. باید هر یک از ظروف را به‌آرامی دو تا سه بار به هم زده تا محتویات آن با محلول بوراکس مخلوط شود.
۵- ظروف فوق در جای محفوظی مثل یونولیت و ترجیحا به دور از نور خورشید نگهداری شود.
۶- احتیاط شود که چیزی از داخل تور به بیرون ریخته نشود، به عبارت دیگر تور وارونه نشود.

omoorepeyman.ir

۷- تور را باید به آرامی بالا کشیده و آن را از بیرون و بالا به پایین ۲ تا ۳ مرتبه با آب دریا شستشو داد تا محتویات آن به داخل محفظه انتهایی منتقل شود.

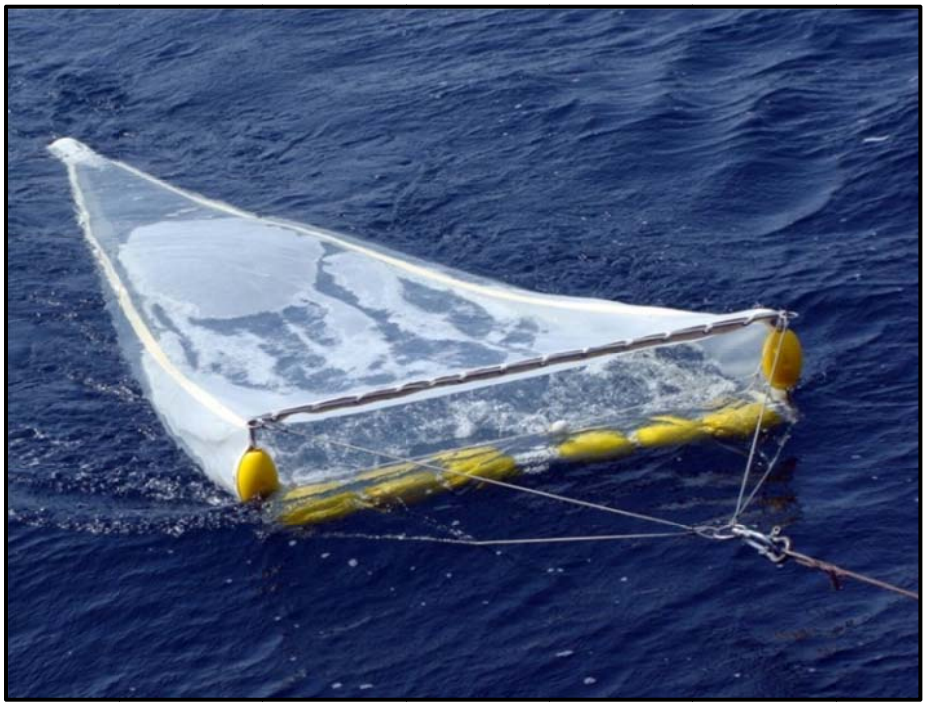
۸- شماره فلومتر ثبت شود.

۹- دکمه شروع به کار کرنومتر از زمانی که فلومتر زیر آب می‌رود باید زده شود. این زمان، فرورفتن و کشش تور را در ثانیه نشان داده و باید ثبت شود. زمان کشش تور برای محاسبه سرعت کشش به کار می‌رود.

۱۰-نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه توسط تقسیم‌گر پلانکتونی موتودا یا فولزوم تقسیم و در یک شیشه قرار داده شود و توسط همزن برقی به‌آرامی مخلوط گردد.

۱۱-توسط میکرو پیپت یا پیپت استمپل[1] (شکل ۵-۱۳) سه نمونه $10\ cm^3$ به‌طور زیگزاگ از محتوای نمونه، برداشته و در محفظه بوگوروف ریخته می‌شود و توسط استریوسکوپ یا لوپ چشمی شمارش و شناسایی شود و برای شناسایی بیش‌تر از میکروسکوپ نوری استفاده می‌شود.

۱۲-برای شناسایی برخی از موجودات زئوپلانکتونی، به خصوص پاروپایان به تشریح آن‌ها در زیر میکروسکوپ یا استریوسکوپ نیاز است تا در حد جنس یا گونه شناسایی شوند.



شکل ۵-۱۲- تور نوستون در حال کشیده شدن

1- Stemple Pipette

omoorepeyman.ir

شکل ۵-۱۳- پیپت استمپل

۵-۷- دستگاه ثبت پلانکتونی[۱]

نمونه‌ای از این دستگاه در شکل (۵-۱۴) نشان داده‌شده است که شامل چهارچوبی است که در آن تـور زئوپلانکتـون تعبیه‌شده است و در دریا کشیده می‌شود. دسـتگاه ثبـت پلانکتـونی LHPR یـک سیسـتم پلانکتـونی اسـت کـه در آن پلانکتون در دو لایه تور ریز جمع‌آوری می‌شود. این دستگاه قادر است پلانکتـون را از عمـق ۱۰۰۰ متـری تـا سـطح آب جمع‌آوری کرده و توسط یک سیستم تصویربرداری و کابل تور کنترل می‌شود. ازاین‌جهت، دستگاه LHPR می‌تواند یـک سری از نمونه‌های زئوپلانکتونی را ثبت کند. دستگاه LHPR مجهز به گیرنده‌های مختلفی برای ثبت پارامترهای فیزیکی در مکان صید پلانکتون است.

۱- در این دستورالعمل از دستگاه Longhurst-Hard Plankton Recorder=LHPR استفاده شده است، در صورت استفاده از دستگاه‌های دیگر به دفترچه راهنما دستگاه توجه شود.

omoorepeyman.ir

شکل ۵-۱۴- دستگاه ثبت پلانکتونی در پشت کشتی (تصویر از British Antarctic Survey)

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

فصل ۶

کفزیان

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

۶-۱- مقدمه

به مجموعه‌ای از موجودات دریایی که شامل گیاهان، جانوران و دیگر جانداران دریایی است، کفزیان[1] گویند. کفزیان در بسترهای نرم رسی، گلی، سیلتی و همچنین بسترهای سخت مثل صخره‌های جزر و مدی و یا دریایی زیست می‌کنند. برای شناسایی این جانداران دستگاه‌های مختلفی طراحی شده که نمونه‌ای از آن دستگاه برای نمونه‌برداری کمی از کفزیان گرب نام دارد.

۶-۲- نمونه‌برداری از کفزیان ماکروبنتوز

۶-۲-۱- ابزار موردنیاز در بسترهای نرم برای نمونه‌برداری از کفزیان ماکروبنتوز

- گرب ون وین $0/25\ m^2$ یا $0/1\ m^2$ (شکل ۶-۱) (Holme and McIntyre, 1984) و وزنه‌های متصل به آن در صورت نیاز
- طناب
- اکوساندر دستی یا عمق‌سنج
- موقعیت‌یاب جهانی
- دفترچه یادداشت صحرایی
- وینچ در صورت نیاز

۶-۲-۲- روش کار

در آغاز بهتر است یک بررسی اولیه در نواحی تحت بررسی انجام شود.

۶-۲-۲-۱- روش کار میدانی

به کمک وینچ، گرب به‌صورت عمودی از شناور ساکن رها شده و به بستر اصابت می‌کند. در صورت وجود جریان تند در زیر آب، باید از گربی استفاده شود که به آن وزنه اضافه شده باشد یا از گرب بزرگ‌تر مثل گرب $0/1\ m^2$ استفاده نمود.

پس از اصابت گرب به بستر (شکل ۶-۱)، آن را باید به‌آرامی بالا کشید و به کمک شلنگ آب از یک الک $0/5\ mm$ یا $0/1\ mm$ عبور داد. بهترین راه تخلیه کردن رسوبات استفاده از یک الک چوبی به چشمه ۰/۵ یا ۱ میلی‌متر است تا به کمک آن و شلنگ آب رسوبات الک شود (شکل ۶-۲). سپس، به وسیله یک پنس یا قاشق چوبی، نمونه‌های بزرگ‌تر جدا و در ظروف مجزا قرار گیرد و با فرمالین بافر شده (بوراکس) تثبیت شود.

omoorepeyman.ir

شکل ۶-۱- گرب ون وین

شکل ۶-۲- نحوه شستن و الک کردن کفزیان

تمامی ظروف باید حاوی برچسب شامل نام یا شماره ایستگاه، موقعیت جغرافیایی، زمان و تاریخ باشد. سایر اطلاعات شامل شرایط جوی و جزر و مد نیز باید ثبت شود. برای عدم تداخل ظروف با یکدیگر و تشخیص هر ظرف و شرایط جوی آن بهتر است بر روی آن‌ها برچسب‌های ضد آب نصب و با ماژیک ضد آب مشخصات بر روی ظروف یادداشت شود.

omoorepeyman.ir

در نمونه‌هایی که حاوی مواد آلی پوسیده[1] زیاد مثل جنگل‌های حرا است و دارای رسوبات سیلتی است، می‌توان از محلول‌های رنگ‌آمیزی، مانند رز بنگال، Rhodamine B، Eosin استفاده کرد. در میان مواد رنگ‌آمیزی و تثبیت‌کننده، رز بنگال ($4g\ l^{-1}$ از ۳۶٪ فرمالدهاید) از همه بیش‌تر مورد استفاده است.

۶-۲-۲-۲- روش کار آزمایشگاهی

۱- در آزمایشگاه برای سهولت کار، نمونه‌های جمع‌آوری شده در فرمالین T باید با آب شسته شود. فرمالین را باید از یک الک رد نمود تا نمونه‌ها از بین نروند، سپس با آب فیلتر شده شسته شود.

۲- نمونه‌های تثبیت شده در الکل نیز به همین طریق شسته شود.

۳- در صورت امکان از محلول‌های تثبیت‌کننده استفاده شود.

۴- باید موجودات کوچک‌تر را در گروه‌های خاص خود و موجودات بزرگ‌تر مثل مرجان‌ها و جلبک را در تشت‌های جدا قرار داد.

۵- نمونه‌های ریزتر باید به‌دقت برداشت شود (کرم‌ها)؛ به منظور سهولت در کار می‌توان از پنس‌های سر ریز استفاده نمود.

۶- شناسایی موجودات کفزی حداقل تا حد خانواده و در صورت امکان تا گونه انجام شود.

۷- محتویات ظروف پلاستیکی حاوی کفزیان را در ظروف پتری ریخته و با پنس و به کمک لوپ دو چشمی (استریوسکوپ) به‌طور کامل جداسازی و شمارش کرده و یا در صورت ازدیاد موجودات زیر نمونه کرده و سپس شمارش و شناسایی انجام می‌شود.

از گرب‌های متفاوتی برای نمونه‌برداری از بستر استفاده می‌شود که در اینجا تنها به ذکر نام آن‌ها اکتفا شده است:

- گرب Petersen (شکل ۶-۳) برای نمونه‌برداری از فیوردهای دانمارک.
- گرب Okean که شبیه گرب Van veen است، اما عملکرد آن بهتر است.
- گرب Smith-MacIntyre (شکل ۶-۴) که در شرایط دشوار دریا از آن استفاده می‌شود.

از نمونه‌گیر جعبه‌ای Box Corer (شکل ۶-۵) برای نمونه‌برداری از مناطق عمیق و نمونه‌های دست نخورده استفاده می‌شود.

1- Detritus

omoorepeyman.ir

- مغزه‌گیر

در مورد مغزه‌گیرها در بخش راهنمای زمین‌شناسی دریایی توضیحات کامل داده شده است. مغزه‌گیرکارایی بیش‌تری در فرو رفتن در بستر نرم نسبت به گرب را دارند. در بعضی از انواع مغزه‌گیرها ممکن است رسوبات ماسه‌ای در هنگام بالا کشیدن مغزه‌گیر به سمت بالا تا اندازه‌ای از آن بریزد. البته در صورت عمق نسبتا کم، فرد غواص می‌تواند مغزه‌گیر را در بستر فرو کرده و درپوش آن را بگذارده و به سطح آب بیاورد. بهترین مغزه گیرها، آن‌هایی هستند که بتوانند به‌طور عمیق در بستر فرورفته و از بسترهای نسبتا دست‌نخورده نمونه‌برداری کنند.

۶-۳- اندازه‌گیری زی‌توده

اندازه‌گیری زیست‌توده به‌طور منظم در مطالعات کفزیان به کار می‌رود که شامل وزن تر، وزن خشک و وزن بدون خاکستر است. برای موجودات صدف‌دار، توده صدف به‌طور جداگانه تعیین می‌شود، سپس وزن بدون خاکستر از وزن خشک کم می‌شود. روش‌های متفاوت تعیین زی‌توده‌ها در جدول (۶-۱)، نشان داده شده است.

شکل ۶-۳- گرب Petersen

شکل ۶-۴- گرب Smith-McIntyre

omoorepeyman.ir

شکل ۶-۵- نمونه‌گیر Box corer

جدول ۶-۱- مقایسه تعیین زیست‌توده موجودات کفزی

متغیر	روش استاندارد
وزن تر	خشکاندن در دمای ۶۰°C طی مدت ۲۴ ساعت
وزن خشک	سوزاندن در کوره در دمای ۵۵°C طی مدت ۴ ساعت
وزن خاکستر	سوزاندن در کوره در دمای ۵۷۰-۵۸۰°C طی مدت ۴ ساعت

۶-۴- موجودات میوفونا[1]

گروهی از موجودات کفزی هستندکه از مکروفونا کوچک‌تر، اما از میکروفونا بزرگ‌تر هستند و جثه آن‌ها بین ۴۲ الی ۶۳ میکرومتر است. تمام موجودات کفزی که بر الک با چشمه ۶۳ میکرومتر باقی می‌مانند را، میوفونا می‌نامند.

۶-۴-۱- ابزار موردنیاز

- مغزه‌گیر

1- Meiofauna

omoorepeyman.ir

- مینی مغزه‌گیر پلاستیکی در صورت لزوم
- رزبنگال
- دفتر شاسی و دفتر یادداشت
- پنس سر ریز
- لوپ دوچشمی و میکروسکوپ
- پتری دیش
- الک ۶۳ میکرومتر
- فرمالین بافر شده
- ظروف پلاستیکی
- میکروسکوپ
- لوپ دو چشمی
- دستگاه ورتکس

۶-۴-۱-۱- روش کار

رسوبات در سه تکرار به کمک گرب برداشت می‌شود. گرب از رسوبات سطح ضخامتی حدود ۴ الی ۵ سانتی‌متر برداشت می‌کند، نمونه حاصله توسط فرمالین بافر شده با بوراکس و محلول رزبنگال تثبیت می‌شود.

۶-۴-۱-۲- روش‌های آزمایشگاهی بررسی میوفونا

روش‌های استخراج متعددی برای جداسازی میوفونا از رسوبات وجود دارد، از جمله:

۱- تخلیه کردن[1]

۲- خاک‌شست[2]

۳- جداسازی توسط شیب چگالی با استفاده از Ludox (Pfannkuche and Thiel, 1988).

هیچ‌کدام از این روش‌ها به‌تنهایی قادر به جداسازی همگی نمونه‌های گروه‌های مختلف نیستند (Soltwedel, 2000). درنتیجه، الک کردن و جداسازی توسط دست و در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی کم، بهترین روش استخراج میوفونا از یک نمونه تثبیت شده است. برای سنجش اندازه میوفونا و همچنین سهولت در روند جداسازی، عموما رسوبات از یک سری الک‌ها عبور داده می‌شوند، به‌طوری‌که چشمه این الک‌ها از بالا به پایین کاهش می‌یابد. کم‌ترین چشمه به‌کاررفته

1- Decantation
2- Elutriation

omoorepeyman.ir

در مطالعات میوفونا بین ۳۲ الی ۷۴ میکرون است؛ اما محققین در مطالعات میوفونا معمولا از الک ۴۰ الـی ۴۵ میکـرون استفاده می‌کنند (Soltwedel, 2000). رنگ‌آمیزی کارایی جداسازی میوفونا را افزایش می‌دهـد. باقیمانـده رسـوبات روی الک عموما با رزبنگال رنگ‌آمیزی می‌شود. بیش‌تر جانوران تنها پس از چند دقیقه به‌خوبی رنگ می‌گیرند. به‌عنوان‌مثـال، پروتوپلاسم نوعی از روزنه داران است که به‌خوبی رنگ می‌گیرد، اما در بسیاری موارد تشخیص زنده‌بودن نمونـه در زمـان جمع‌آوری مشکل است؛ زیرا رزبنگال می‌تواند لایه درونـی سـخت روزنـه‌داران را رنـگ‌آمیـزی کنـد، درنتیجـه تشـخیص زنده‌بودن جانور را با تردید مواجه می‌سازد (Douglas, 1979). این موضوع می‌تواند علی‌رغـم اهمیـت بـوم‌شـناختی ایـن جانوران، یکی از دلایل عدم به‌حساب آوردن آن ها در بیش‌تر مطالعات میوفوناشناسی باشد. دلیل دیگـر، عـدم احتسـاب روزنه داران بـا روش‌هـای مطالعـاتی میوفونـا ایـن اسـت کـه ایـن جانـداران بـه‌درسـتی قابـل‌شـمارش نیسـتند (Soltwedel, 2000). Armenteros همکاران (2009) در مطالعه خود بر روی میوفونای جمع‌آوری‌شده از خلیج مکزیک از سه روش جداسازی میوفونا در آزمایشگاه استفاده کردند که شامل روش‌های ذیل می‌باشد:

الف- روش تکان دادن و تخلیه[1]

برای جداسازی نمونه‌ها از رسوبات شنی (میانگین درصد گل و رس (S/C ۸/۵٪؛ بین ۱/۱ الی ۱۲/۱ ٪) از روش تکان دادن و تخلیه استفاده می‌شود. برای هر یک از نمونه‌های رسوب، مواد باقی‌مانده در الک ۶۳ میکرون به یک ویال منتقـل و به ازای هر بخش از نمونه رسوب حدود ۱۰ برابر رسوب، آب اضافه می‌شود و هر یک از لوله‌های آزمایشگاهی به مدت ۳ دقیقه و با سرعت زیاد توسط دستگاه ورتکس مخلوط می‌شود. پس‌ازآن، ظرف حـاوی آب و رسـوب ۲ تـا ۳ ثانیـه ثابـت نگهداشته شده تا رسوبات محتویات آن بی‌حرکت و ذرات شن، ته‌نشین شود. سپس آب بالای رسوب فورا از یک الک ۴۵ میکرون عبور داده می‌شود. این روند ۱۰ مرتبه تکرار شده و درنهایت مواد باقی‌مانده بر روی الک در یک ظرف و رسوبات در ظرف دیگری قرار داده می‌شود. رسوبات باقی‌مانده در زیر یک لوپ دو چشمی مشاهده مـی‌شـوند. سـپس، موجـودات جداشده در زیر میکروسکوپ وارونه با بزرگ‌نمایی ۲۵ برابر مشاهده‌شده تا گروه‌های اصلی بیش‌تری شناسایی شود.

ب- روش محلول شکر

در این روش، موجودات از رسوبات گلی (میانگین درصد S/C ۳۹/۰ بین ۷ الی ۷۰/۴٪) جدا می‌شود. نمونه رسـوب از یک الک ۴۵ میکرونی را عبور داده و به یک فلاسک ۲۰۰ میلی‌لیتری منتقل و آب بالای آن که در انتهـای آن تـوری بـا چشمه ۳۵ میکرون تعبیه‌شده توسط پیپتی خارج می‌شود. به محلول شکر فوق اشباع، به‌اندازه ۶ برابر رسوب اضافه شود. فلاسک حاوی نمونه به روش قبلی مخلوط و به مدت ۲۰-۳۰ دقیقه برای ته‌نشین شدن رسوبات در مکان آرامی قرار داده

1- Agitation and Decantation

omoorepeyman.ir

شود، سپس آب بالای آن، به‌دقت در الک ۴۵ میکرون تخلیه شده و مواد باقی‌مانده به فلاسک دیگری منتقل شود. این روند ۳ بار برای هر نمونه تکرار می‌گردد. درنتیجه از هر نمونه ۳ ظرف حاوی آب بالای سطح و ۱ ظرف حاوی رسوب باقی می‌ماند. استفاده از روش محلول شکر یا نمک این محدودیت را دارد که فقط می‌تواند جانداران گروه‌های خاصی از جانوران را جداسازی نماید. برای مثال محلول شکر می‌تواند کرم‌های کم تار و نرم‌تنان را جداسازی کند، اما جداسازی نماتدها در این روش تقریبا غیرممکن است. محلول نمک برای جداسازی کوپه‌پود و کنه‌های آبی مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما نمی‌توان با استفاده از این روش استراکدها، کرم‌های کم تار و نماتدها را جداسازی نمود.

وقتی رسوبات به‌طور کامل ته‌نشین شدند (حدودا ۱۵ الی ۲۰ دقیقه) آب بالای رسوب توسط پیپت جمع‌آوری شده و محلول شکر فوق اشباع (مانند روش ۱) به میزان ۴ برابر رسوب به آن اضافه می‌شود. پس از آن، هر لوله توسط دستگاه ورتکس با سرعت‌بالا به مدت ۳ دقیقه مخلوط شده و به مدت ۲۰ الی ۳۰ دقیقه در مکانی آرام نگه‌داشته، سپس آب بالای آن در داخل الک ۴۵ میکرون ریخته می‌شود؛ این روند باید ۳ مرتبه برای هر نمونه تکرار شود، نهایتا نتیجه آن ۴ ظرف برای هر نمونه است.

روش تحریک و تخلیه که در استخراج میوفونا استفاده می‌شود، کارایی بالاتری دارد. این روش برای نمونه‌هایی با درصد S/C ۲۰٪ یا کم‌تر از آن مناسب است. درحالی‌که در مقادیر S/C بیش‌تر میزان ذرات ریز رسوباتی که هنگام تخلیه به داخل الک می‌ریزند، زمان مشاهده زیر استریو میکروسکوپ را افزایش داده و تشخیص جانوران را با مشکل مواجه می‌سازد.

ج- روش سانتریفیوژ

در این روش، مواد باقی‌مانده باید از یک الک ۴۵ یا ۶۳ میکرومتری عبور داده شده و محتویات آن را به ۴ الی ۵ ویال هم وزن گریز از مرکز منتقل نمود، به‌طوری‌که در هر لوله ۱۰ الی ۱۲ میلی‌لیتر رسوب نگهداری شود و هر یک از آن‌ها به مدت ۱۰ دقیقه، در g ۱۸۰۰ سانتریفیوژ می‌شود. نهایتا آب بالای این محلول از یک الک ۶۳ میکرومتری عبور داده شود.

۶-۴-۱-۳- نمونه‌برداری کمی میوفونا در سواحل ماسه‌ای در معرض قرارگرفته

نمونه‌برداری کمی از سواحل ماسه‌ای در معرض قرارگرفته، به سهولت توسط یک مغزه‌گیر کوچک انجام می‌شود. به این منظور، انتهای یک سرنگ پلاستیکی کنده می‌شود (شکل ۶-۶). در این روش تعداد زیادی از نمونه‌های ریز به تعداد کمی از نمونه‌های بزرگ ارجحیت دارد. در این روش معمولا ۵۰ میلی‌لیتر نمونه در ۳ الی ۵ تکرار برداشت می‌شود.

omoorepeyman.ir

شکل ۶-۶- نمونه‌برداری از میوفونا در نواحی جزر و مدی ماسه‌ای

Heip و همکاران (1974) از روش گریز از مرکز برای جداسازی نماتدها استفاده نمودند. در این روش، ابتدا نمونه‌ها رقیق و از شن‌ها جدا شده و پس‌ازآن نمونه‌ها از الک عبور کرده و در محلول ساکارز ۹۰۰ الی ۱۰۰۰ گرم بر لیتر، قرار داده می‌شود، در ادامه، نمونه‌ها در دستگاه گریز از مرکز با سرعت ۶۰۰۰ در دقیقه به مدت ۵ دقیقه قرار داده می‌شود. آب بالای نمونه بلافاصله در الک ۰/۰۳۸ میلی‌متری ریخته شده تا ساکارز موجود در آن زدوده شود. استفاده از محلول Ludox – AM و روش گریز از مرکز کارایی بالایی دارد، اما قیمت بالا است و به دلیل سمیت آن، استفاده از آن را در بسیاری آزمایشگاه‌ها محدود می‌کند.

روش‌های جداسازی دیگری توسط Giere (2009) در کتابی با عنوان Meiobenthology: the Microscopic Motile Fauna of Aquatic Sedimentation بیان‌شده است. روش‌های مختلف استخراج میوفونا به طبیعت و ساختار رسوبات بستگی دارد که برای جداسازی میوفونا در مطالعات کیفی، باید رسوبات مرطوب را به مدت یک روز در دمای معمولی اتاق نگهداری کرد، این عمل موجب می‌شود تا بیش‌تر موجودات میوفونا در نزدیکی سطح متراکم شوند؛ می‌توان برای بررسی نمونه‌های غنی، از سطح رسوب آن ها را برداشت کرد. برای نمونه‌های بزرگ ماسه ای، مناسب‌ترین روش برای به دست آوردن سریع فراوانی میوفونا همان روش تخلیه با استفاده از الک ۴۵ یا ۶۳ میکرون است، این روش برای رسوبات ماسه ای متوسط تا خشن مناسب‌تر از رسوبات دانه‌ریز است. یک روش مناسب برای جداسازی، حتی برای جداسازی نمونه‌های چسبیده، ریختن آن‌ها در آب شیرین، تخلیه در الک و بلافاصله بازگرداندن آن‌ها در آب دریا است. شوک آب شیرین باعث جدا شدن جانوران از بستر می‌شود.

روش‌هایی که Giere (2009) برای مطالعات کمی به‌کاربرده، به شرح زیر است:

الف- روش تخلیه کردن

روش تخلیه که توضیح داده شد اگر با تکرار همراه باشد و نمونه به قسمت‌های کوچکی تقسیم شود، خصوصا اگر نمونه با رزبنگال رنگ‌آمیزی شده باشد می‌تواند منجر به شمارش کمی خوبی شود (Ankar and Elmgren, 1976).

omoorepeyman.ir

رسوبات گلی و رسی را می‌توان پس از ته‌نشین شدن به مدت ۱۰ ثانیه، به‌آرامی الک کرده و جانوران باقی‌مانده را مشاهده نمود (Murrell and Fleeger, 1989). اگر این روند چندبار تکرار شود، کارایی بالاتری دارد.

ب- روش خاکشست[1]

در این روش، از جریان آب برای جداسازی نمونه‌ها از رسوب استفاده می‌شود. استفاده از محلول ۷٪ $MgCl_2$ در نمونه‌هایی که در رزبنگال نگه‌داری شده و بررسی کمی می‌شود، مفید است. برای از دست نرفتن نمونه‌ها بهتر است که آن‌ها از سری الک عبور داده شوند. این روش درصورتی‌که دقیق انجام گیرد از روش دکانت کردن مفیدتر است، اما در مورد نمونه‌های نرم به دلیل احتمال آسیب به نمونه‌ها این روش خیلی کارآمد نیست.

ج- روش آب یخ دریایی[2]

این روش برای میوفونایی نظیر تاژک‌داران، مژکداران و کرم‌های پهن مناسب است، ولی برای گونه‌هایی نظیر نماتود-هالاکارید، تاردیگرادها، کرم‌های حلقوی و برخی پاروپایان هارپاکتیکوئید کارآمد نیست. مهم‌ترین ویژگی این روش این است که باید بر روی نمونه‌های تازه با جانوران فعال اعمال شود (Uhlig, 1964).

د- روش شناور شدن[3]

در این روش که جایگزین روش جداسازی توسط دست شده است، نمونه‌ها در ماده‌ای که وزنی نزدیک به وزن گونه‌ها را دارا می‌باشد، معلق و توسط دستگاه گریز از مرکز از رسوب جدا می‌شود. ماده‌ای که به‌طور سنتی در این روش به‌کار می‌رود، محلول شکر است که فراوانی و دسترسی آسان، آن را بسیار قابل‌استفاده ساخته است (Esteves and Da Silva, 1998). بااین‌حال، امروزه محلول شکر با محلول Ludox که یک محلول سیلیکات کلوئیدی است جایگزین شده است. ازآنجایی‌که افزودن مستقیم این محلول به آب دریا موجب رسوب سیلیکای معلق می‌شود، بنابراین نمونه‌های موجود در آب دریا باید ابتدا به داخل آب شیرین ریخته شود.

Armonies و Hellwig (1987) برای جداسازی نمونه‌های میوفونا از روش دکانت کردن و به هم زدن شدید استفاده نموده‌اند، به‌طوری‌که نمونه‌های رسوب را در درون بشر ریخته و سپس آب‌شور فیلتر شده به آن اضافه شود. سپس، محتویات بشر به‌آرامی تکان داده شده و آب قرارگرفته بر روی رسوب به‌آرامی به بشر دیگری منتقل می‌شود. این روند همراه با تکان دادن و چرخاندن ظرف ۱۰ مرتبه تکرار می‌شود. در دو مرتبه آخر شستشو توسط آب شیرین به‌جای آب‌شور انجام می‌پذیرد. شایان‌ذکر است زمان شستشو با آب شیرین باید کم‌تر از یک دقیقه باشد تا به نمونه‌ها آسیبی

1- Elutriation
2- Sea Water Ice Method
3- Flotation Method

omoorepeyman.ir

وارد نشود. درنهایت آب شناور بر روی سطح از الک ۵۰۰ و ۴۰ میکرون عبور داده شود تا جانوران موجود در آن غلظت بیش‌تری یابند. محتویات الک توسط آب دریا به پتری دیش منتقل و رسوب باقی‌مانده در بشر نیز به ۲ الی ۲۰ عدد پتری دیش مدرج دیگر منتقل می‌شود. سپس، گروه‌های مهم میوفونا از تمام بشرها قابل تفکیک است.

۶-۴-۱-۴- روش به‌کاررفته در جداسازی میوفونا

در دو روش قبلی، تعداد محدودی از جانوران جداسازی شده‌اند بنابراین با توجه به نوع رسوبات و حجم نمونه‌ها، این روش‌ها از کارایی کافی برخوردار نیستند. هنگام استفاده از روش تحریک و تخلیه، زمانی که این مراحل با تکرار انجام شود، به دلیل کم بودن حجم نمونه، از تعداد گونه‌ها به‌طور چشم‌گیری کاسته می‌شود. بنابراین برای جداسازی نمونه‌ها استفاده از روش زیر که فاقد تکرار مفیدتر است (Armenteros et al., 2008).

۱- هر یک از نمونه‌ها از سری الک ۱ میلی‌متر و ۶۳ میکرون عبور داده و باقیمانده آن‌ها در الک ۶۳ شستشو و به لوله‌آزمایش منتقل می‌شود (شکل ۶-۷).

۲- لوله‌آزمایش محتوی رسوب و میوفونا به مدت ۳ دقیقه باید بر روی ورتکس قرار گرفته تا جانوران موجود در رسوب در آب بالای آن معلق شود (شکل ۶-۷).

۳- آب بالای رسوب را از الک ۶۳ عبور داده و موجودات بر جای مانده در الک در زیر لوپ مجزا شود.

۴- رسوبات باقیمانده توسط دستگاه همزن یکنواخت شده و مقداری از آن نیز در زیر لوپ دو چشمی برای تشخیص موجودات میوفونا جداسازی می‌شود.

۵- موجودات جداسازی شده در زیر میکروسکوپ وارونه مورد بررسی و تصویربرداری قرار می‌گیرند.

شکل ۶-۷- الف- نمونه‌ها از سری الک ۱ میلی‌متر و ۶۳ میکرون عبور داده شد، ب- باقیمانده آن‌ها در الک ۶۳ میکرومتر شستشو و به لوله‌آزمایش منتقل شد و به مدت ۳ دقیقه بر روی ورتکس قرار داده شدند.

omoorepeyman.ir

۶-۴-۱-۵- نمونه‌برداری میوفونا از رسوبات عمیق

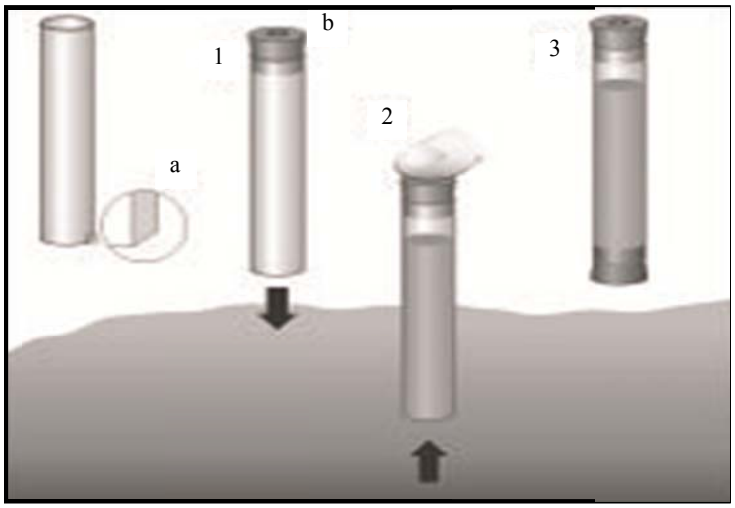
نمونه‌برداری کمی به کمک مغزه‌گیر قابل انجام و حجم مغزه‌گیر رسوب مشخص است. در صورت امکان، نمونه‌ها باید توسط عملیات غواصی (Fleeger et al., 1988) یا اسنورکل برداشت شود (شکل ۶-۸ و شکل ۶-۹). غواصان معمولا نمونه‌های خوبی را برداشت می‌نمایند، زیرا می‌توانند به‌دقت و آهستگی مغزه‌گیر را در رسوبات فرو کنند و آن را ببندند (McIntryre, 1971). درزمانی که عملیات غواصی مقدور نباشد، از مغزه‌گیر Craib (شکل ۶-۱۰) استفاده می‌شود.

در آزمایشگاه، دریچه پایینی مغزه‌گیر باز شده و برای از دست ندادن نمونه، دریچه پایینی توسط پیستون مغزه‌گیر جایگزین می‌شود. سپس، دریچه فوقانی مغزه‌گیر برداشت شده تا آب‌های بالاتر توسط یک سرنگ به یک ظرف نمونه انتقال یابد، زیرا برخی از موجودات میوفونا ممکن است از رسوبات به سمت آب حرکت کرده باشند. سپس رسوبات از مغزه‌گیر خارج شده و ۱۰ سانتی‌متر از رسوبات بخش فوقانی مغزه‌گیر به ظروف از پیش برچسب خورده منتقل می‌شود. یک محلول بی‌حس‌کننده (۷٪ $MgCl_2$) ($6H_2O$ و $MgCl_2$ ۵۷ گرم محلول در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به‌عنوان بی‌حس‌کننده به ظروف نمونه اضافه و محلول هم زده شود، سپس ۱۰ دقیقه به محلول زمان داده شود تا واکنش‌ها به طور کامل انجام پذیرند. نهایتا محلول به فرمالین بافر شده (با ۲۰۰ گرم بوراکس در لیتر) اضافه شود تا غلظت نهایی به ۱۰٪ برسد (باید حجم رسوب، حجم آب و $MgCl_2$ را در نظر داشت).

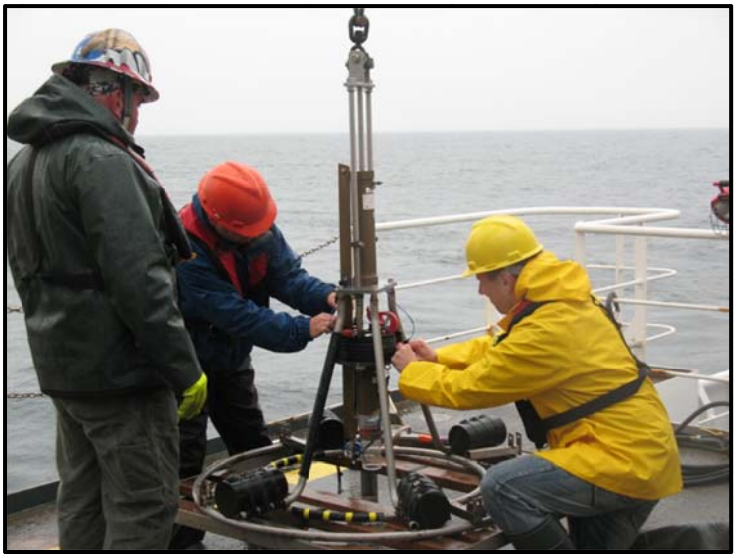
ظروف نمونه با چند بار تکرار (به سمت بالا و پایین) تکان داده شود که این عمل منجر به مخلوط شدن کامل مواد تثبیت‌کننده با رسوبات می‌شود، نهایتا محلول را مدتی در دمای آزمایشگاه گذارده تا هم دمای محیط شود.

شکل ۶-۸- نمونه‌برداری از بستر توسط اسنورکل

omoorepeyman.ir



شکل ۶-۹- مراحل نمونه‌برداری میوفونا از بستر



شکل ۶-۱۰- مغزه‌گیر Craib

۶-۴-۱-۶- سنجش زی‌توده موجودات میوفونا

کوچک بودن اندازه موجودات میوفونا سبب محدودیت‌هایی در اندازه‌گیری مستقیم زی‌توده می‌شود. عموما سنجش زی‌توده این موجودات توسط وزن و تعیین کربن انجام نمی‌شود.

۱- زی‌توده موجودات میوفونا از طریق سنجش حجمی آن‌ها با مراجعه به وزن مخصوص ۱/۱۳ انجام می‌شود (Weiser, 1959).

۲- برای گروه‌های «سخت»، تخمین حجمی از طریق طول بدن (L) و حداکثر پهنای جانور (W) صورت می‌گیرد؛ حجم هر یک از این موجودات برابر با $V = LW^2C$ است.

C = مرتبط با شکل بدن است، چون میزان عددی C تنها به‌صورت تقریب است، از میانگین تخمین عددی C هر گروه استفاده می‌شود.

omoorepeyman.ir

از نسبت وزن تر به وزن خشک کم‌تر برای اکثر گروه‌های میوفونا استفاده می‌شود. تخمین وزن خشک نماتدها بین ۲۰٪ تا ۳۰٪ وزن تر در نوسان است (Gerlach, 1971). این تبدیل برای سایر موجودات میوفونا نیز قابل استفاده است.

۶-۵- لایروب یا درج[1]

درج یک ابزار نیمه کمی برای بررسی کفزیان است. لایروب‌ها معمولا در بستر دریا یا رودخانه کشیده می‌شود و موجودات کفزی (کفشک ماهی، دوکفه‌ای‌ها، ستارگان دریایی) را صید می‌کند. لایروب سبب اختلال در سطح رسوبات شده و موجب آسیب‌های جدی به موجودات بستر زی می‌شود. شایان ذکر است که برای بسترهای نرم از لایروب مستطیل شکل استفاده می‌شود.

۶-۵-۱- ابزار موردنیاز

- درج تور دار با چشمه ۲ سانتی‌متر
- طناب و شیلنگ آب
- ظروف نگهداری برچسب خورده
- تشت پلاستیکی بزرگ
- پنس
- دوربین عکاسی
- وینچ
- دفتر شاسی

۶-۵-۱-۱- روش کار

۱- درج توسط وینچ شناور به آب انداخته و در بستر کشیده می‌شود. برای به حداقل رساندن آسیب به بستر زمان کشیدن درج نباید از ۵ دقیقه در سطح بستر بیش‌تر باشد.

۲- با انتقال درج به عرشه کشتی محتویات آن در داخل یک تشت بزرگ حاوی آب روان دریا تخلیه شود. در این مرحله، جانوران موجود در تشت به‌سرعت پخش می‌شوند تا مانع از خفگی شود. یک سطل آب خنک و تمیز نیز باید تهیه شود تا به توان موجودات شکننده را به منظور وارد شده آسیب در آن قرار داد.

۳- موجوداتی که هدف بررسی نیستند باید به‌سرعت از تشت برداشت شده و به دریا بازگردانده شوند. رها کردن

1- Dredge

omoorepeyman.ir

جانوران به‌صورت توده‌ای شانس بقاء آن‌ها را در مقایسه با رها کردن آن‌ها به‌صورت انفرادی افزایش می‌دهد، زیرا رها کردن یک جانور به‌طور انفرادی در دریا شانس شکار توسط سایر جانوران را افزایش می‌دهد.

۴- درصورتی‌که کیسه هوایی ماهی منبسط شده باشد، نباید آن‌ها را به دریا انداخت، چون قادر به شنا کردن نخواهند بود و آن‌ها را در معرض شکار قرار می‌دهد. در برخی نقاط دنیا، جانوران مجروح را به ظروف مخصوصی منتقل و پس از بهبودی در دریا رها می‌شوند.

۵- می‌توان از یک چارچوب فلزی یا چوبی که در آن یک الک استیل یک میلی‌متری تعبیه شد است برای جداسازی نمونه‌ها استفاده کرد. این فرایند به وسیله فشار متوسط آب دریا که موجب شستشوی رسوبات و جدا نمودن موجودات می‌شود امکان‌پذیر است.

۶- جانوران هدف‌بندی شده در بررسی توسط پنس برداشت و در ظروف پلاستیکی ریخته می‌شوند و با فرمالین ۴٪ بافر شده تثبیت و به آزمایشگاه منتقل می‌شوند.

۷- در آزمایشگاه، برای بررسی دقیق‌تر، نمونه‌های برداشت شده توسط استریوسکوپ و میکروسکوپ نوری مشاهده و درنهایت شناسایی تا حد جنس و گونه انجام می‌شود. درصورتی‌که لایروب به‌سرعت پر شود، شاید لازم باشد تا زمان کشش لایروب را کوتاه کرد.

۸- آماده نمودن یک سری از الک‌ها از قبل که شامل الک‌های ۲، ۳، ۴ و ۵ میلی‌متری است.

۹- پس از ۵ تا ۱۰ دقیقه لایروب یا درج را به کمک وینچ بالا آورده و در چهارچوبی از جنس چوب که الک به آن متصل است تخلیه می‌شود.

۱۰-شیلنگ آب به‌آرامی روی چهارچوب چوبی گرفته و در حین شستن رسوبات، نمونه‌های بزرگ‌تر جدا می‌شوند.

۱۱-نمونه‌های کوچک‌تر از الک عبور کرده، سپس با پنس جدا و به ظروف خاص منتقل می‌شوند.

۱۲-خارپوستان و مرجان‌های نرم و اسفنج‌ها در الکل ٪۷۰ و مابقی جانوران باید در محلول فرمالین بافر شده ۱۰٪ تثبیت شوند.

۶-۵-۱-۲- نکات موردتوجه

- موقعیت جغرافیایی ایستگاه توسط موقعیت‌یاب جهانی مشخص می‌شود.
- داده‌های مرتبط با پارامترهای مکان، تاریخ، زمان، عمق و دستگاه استفاده شده، تعداد تکرار و سایر داده‌ها یادداشت می‌شوند.
- کشیدن درج عمود بر ترانسکت‌ها و یا به‌موازات آن انجام می‌شود.
- حداقل باید ۳ تکرار از هر ایستگاه برداشت گردد.
- توجه به محفظه انتهایی تور درج، الزامیست تا گیر نداشته باشد.

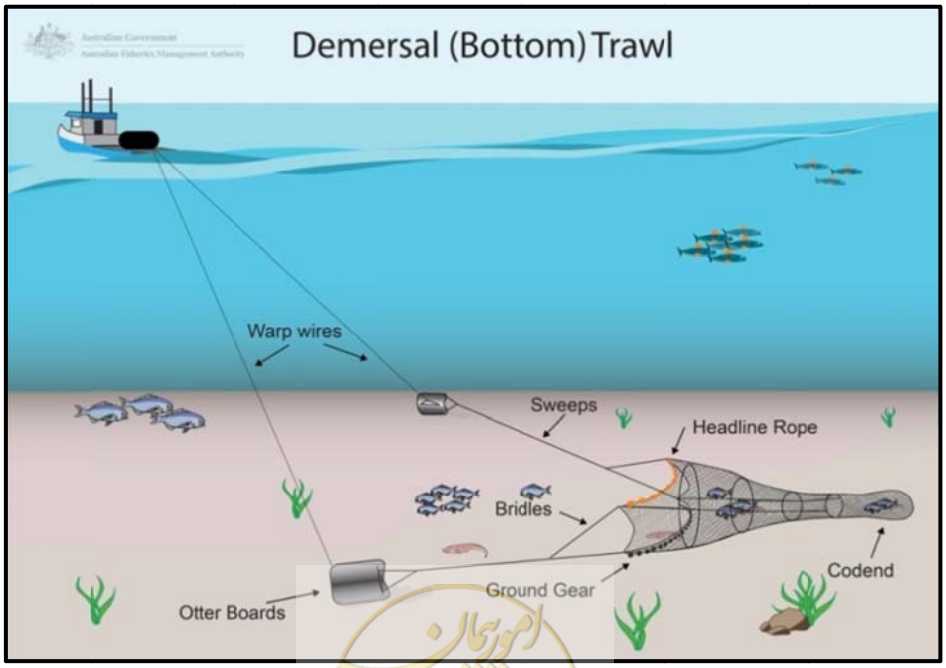
omoorepeyman.ir

- درج توسط طناب یا کابل در آب فرو می‌رود، طول کابل آن باید دست‌کم ۶ برابر عمق آب در هر ایستگاه و تا ۱۵ برابر در آب‌های کم‌عمق باشد.
- لایروب در بستر (شکل ۶-۱۱) دریا باید با سرعت ۲ گره به مدت ۱۰ دقیقه به‌موازات ساحل یا در امتداد یک شیب عمقی یکنواخت کشیده شود. زمان کشش از زمانی که کابل به‌اندازه کافی در آب رها شد، آغاز می‌شود.

شکل ۶-۱۱- لایروب یا درجی که در بستر دریا کشیده می‌شود

۶-۶- تور ترال کفی

استفاده از تور ترال کفی (شکل ۶-۱۲)، روش دیگری برای نمونه‌برداری و صید نیمه کمی از موجودات کفزی بستر است. در این روش، کفزیان بیش‌تری صید می‌شوند؛ اما انجام این روش، تخریب بسیاری در بستر ایجاد می‌نماید. شکل (۶-۱۳) جمع‌آوری ترال کفی در کشتی را نشان داده است.



شکل ۶-۱۲- تورترال کفی در بستر دریا

omoorepeyman.ir

شکل ۶-۱۳- جمع‌آوری ترال کفی در کشتی

۶-۷- پریفیتون

در کتاب روش‌های استاندارد[1]، پریفیتون به اجتماعی از گیاهان و جانوران میکروسکوپی اطلاق می‌شود که بر سطوح اشیاء غوطه‌ور در آب می‌چسبند (شکل ۶-۱۴). تعدادی از موجودات به آن متصل بوده و بعضی دورتادور آن در حال حرکت می‌باشند. تعداد زیادی از تک‌یاخته‌ای‌ها و بی‌مهرگان و جلبک‌های کوچک دیگر که به‌صورت پلانکتون یافت می‌شوند نیز شامل پریفیتون هستند. شایان‌ذکر است که بخش عمده‌ای از میکروارگانیسم‌های در حال رشد روی سنگ‌ها، چوب‌ها، ماکروفیت‌های آبزی و دیگر سطوح غوطه‌ور در آب به‌طور قابل‌توجهی کیفیت آب را تحت تاثیر قرار داده و در ارزیابی اثرات آلاینده‌ها بر روی دریاچه‌ها و رودها بسیار مفید هستند. این موجودات نقش بسیار مهمی در اکوسیستم‌های آبی ایفاء می‌کنند و در افزایش تولیدات بیولوژیکی و در مرحله خود پالایی آب بسیار موثر می‌باشند. همچنین این جانداران در اکوسیستم‌های دریایی نیز نقش اکولوژیکی خیلی مهمی را ایفاء می‌کنند و به‌عنوان یکی از حلقه‌ها در زنجیره زیستی بین پلانکتون و کفزیان هستند.

1- Standard Methods

omoorepeyman.ir

۶-۷-۱- ابزار موردنیاز برای اندازه‌گیری زی‌توده و ترکیب گونه‌ای پریفیتون‌ها

- تله به حجم ۱ مترمکعب
- کیسه‌های زیپ کیپ
- استوانه مدرج سوراخ شده (حفره‌دار) به حجم ۲۰۰۰ میلی‌لیتر
- کلمن با یخ
- مداد، کاغذ ضد آب و ماژیک
- pH متر/ شوری‌سنج/ دماسنج
- خط‌کش
- دوربین دیجیتالی ضد آب
- حسگر خاک

۶-۷-۲- روش کار

۱- ثبت میدانی توسط مداد بر روی کاغذ ضد آب انجام می‌شود و پس از بازگشت به آزمایشگاه فتوکپی و در کامپیوتر ثبت می‌شود.

۲- هر یک از چهارچوب‌های ۱ مترمربعی به‌صورت تصادفی در یک مختصات خاص پرتاب می‌شود. از چهارچوب یا فریم برای نصب یک دوربین دیجیتالی ۳ مگاپیکسلی ضد آب برای تعیین پوشش پریفیتون استفاده می‌شود.

شکل ۶-۱۴- پریفیتون‌ها بر سطوح صخره‌ها

omoorepeyman.ir

شکل ۶-۱۵- موجودات میکروسکوپی در پریفیتون

۳- پارامترهای محیطی شامل جنس بستر (صخره، مارل) و صفات غالب پریفیتون (آهکی و آلی، آهکی)، عمق آب (اندازه‌گیری با خط‌کش)، دما، pH، شوری و عمق رسوب (سنجش توسط میله حسگر) ثبت شود.

۴- پوشش پریفیتون بر مبنای بستر چسبیده تخمین زده می‌شود و شامل: درصد رسوب صخره‌ای که از پریفیتون پوشیده شده است، درصدی که ساقه گیاه از پریفیتون پوشیده شده و شناسایی سه گیاه اپی‌فیت با بیش‌ترین فراوانی، درصد آب سطحی که توسط پریفیتون پوشیده شده و شناسایی بستر شناور (در صورت وجود) است.

۵- تمامی پریفیتون‌ها و مواد گیاهی چسبیده به آن از تله خارج‌شده و در یک استوانه مدرج حفره‌دار ۲ لیتری قرار داده می‌شود و حجم کل ثبت می‌شود.

۶- مواد گیاهی چسبیده از استوانه مدرج برداشته شده و حجم پریفیتون مجددا اندازه‌گیری می‌شود.

۷- نمونه پریفیتون توسط جنس بستر و صفات دیگر (درصد بستر آهکی، اپی‌فیت‌های آهکی و مواد آهکی شناور، جلبک‌های سبز و یا دتریتوس‌های کرکی) توصیف می‌شود.

۸- ۵۰۰ میلی‌متر زیر نمونه از پریفیتون در یک کیسه برچسب خورده گذارده و با کلمن یخ دار به آزمایشگاه منتقل می‌شود.

۶-۷-۳- پردازش نمونه‌های پریفیتون

۶-۷-۳-۱- ابزار موردنیاز

- محفظه‌های پلاستیکی ۲۰۰ میلی‌لیتری ادرار با دریچه آن
- بشرهای ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌لیتری

omoorepeyman.ir

- پتری دیش و پنس
- کاغذ آلومینیومی
- همزن برقی
- میکروپیپت کالیبره شده
- پیپت‌های ۵ الی ۱۰ میلی‌لیتری کالیبره شده
- میکرو ویال پلاستیکی ۲ میلی‌لیتری
- ویال‌های پلاستیکی ۱۴ میلی‌لیتری
- یخدان
- استون
- ویال شیشه‌ای ۱۰ میلی‌لیتری با درپوش
- اسیدسولفوریک ۷۰ درصد
- پرمنگنات پتاسیم کریستالی
- اسید اگسالیک کریستالی
- فلاسک‌های ۲۰۰۰ میلی‌لیتری
- شیشه‌های لامل (۲۲ میلی‌متری)
- چسب تثبیت کننده (نفرکس)
- لاک ناخن
- دستگاه فلورومتر
- آب یون‌زدایی شده/ آب فیلتر شده
- هود، دستکش‌های آزمایشگاهی، روپوش و عینک آزمایشگاهی
- گرماساز برقی و ترازوی آزمایشگاهی
- تیغ

۶-۷-۳-۲- روش‌های زیر نمونه گرفتن و تعیین زی‌توده

۱- ثبت در آزمایشگاه با مداد بر روی برگه‌های ضد آب انجام پذیرد، از برگه کپی تهیه شود و به‌صورت الکترونیک در رایانه ثبت گردد.

۲- در طی ۲۴ ساعت پس از نمونه‌برداری:

- وزن تر نمونه‌های پریفیتون در کیسه‌های توزین شده، تعیین شود.

omoorepeyman.ir

- یک زیر نمونه تر ۱۲۰ میلی‌لیتری در یک ظرف پلاستیکی (که از قبل توزین شده است) با درپوش محکم قرار داده شده و وزن آن ثبت شود.
- زیر نمونه‌ها تا پایان آنالیز در حالت انجماد نگاه داشته شوند.
- داده‌های میدانی به‌صورت الکترونیکی ثبت و تصاویر گرفته‌شده دانلود و توسط شماره سایت یا اسم آن نام‌گذاری شود.

۳- نمونه‌های پریفیتون منجمد شده در تاریکی در کم‌تر از ۳ ساعت آب شده و به یک پتری دیش انتقال داده شود.

۴- پریفیتون‌ها توسط یک میکروسکوپ نوری قابل مشاهده است.

- ذرات بزرگ ماکروفیت توسط پنس برداشت و در یک پوش‌برگ گذارده و در دمای ثابت ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شوند.
- بی‌مهرگان برداشت شده و دور ریخته شوند.

۵- پریفیتون‌های تمیز شده به یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل و توسط یک هموژنیایزر زیستی، همگن شوند.

۶- نمونه به یک استوانه مدرج منتقل شده (با استفاده از آب فیلتر شده برای تمیز کردن تمامی سطوح) و حجم آن تا ۱۰ میلی‌لیتر (فاکتور رقت حداکثر تا ۳۰۰ میلی‌لیتر) رقیق و حجم نهایی ثبت شود.

۷- یک مغناطیس در بشر انداخته و بر روی یک همزن برقی قرار داده شود.

۸- از یک پیپت کالیبره شده برای برداشت ۱ میلی‌لیتر از زیر نمونه برای سنجش کلروفیل- a استفاده می‌گردد. سپس، از یک فیلتر GFF ۲۵ میلی‌متری عبور داده‌شده و در یک میکرو ویال ۲ میلی‌لیتری قرار داده و منجمد می‌شود.

۹- از پیپت کالیبره شده برای برداشت ۱ میلی‌لیتر جلبک نرم و آنالیز آن استفاده می‌گردد. زیر نمونه در یک میکرو ویال ۲ میلی‌لیتری برچسب خورده قرار گیرد و منجمد شود.

۱۰-از پیپت کالیبره شده برای برداشت ۱۰ میلی‌لیتر دیاتمه استفاده می‌شود. زیر نمونه در یک ویال ۱۴ میلی‌لیتری گذاشته و منجمد شود.

۱۱-۴۰ میلی‌لیتر از نمونه هموژنایزر شده و به یک استوانه مدرج ریخته و نهایتا به ظرف از پیش توزین شده منتقل گردد.

۱۲-مابقی نمونه در یک ظرف پلاستیکی ریخته می‌شود و به منظور آنالیز مواد مغذی در دمای ثابت ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شود.

۱۳-ظروف و پریفیتون در دمای ثابت ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشکانده شده و وزن خشک نهایی آن‌ها اندازه‌گیری شود.

۱۴-ظروف نمونه در کوره به مدت ۱ ساعت در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و وزن خاکستر آن‌ها تعیین شود.

۱۵-نمونه‌های خشک شده خراشیده و در ویال شمارشگر سنتیلاسیون برچسب خورده و برای سنجش فسفر کل نگهداری می‌شود.

omoorepeyman.ir

۶-۸- تخمین پوشش مرجانی

۶-۸-۱- روش مانتا تو[1]

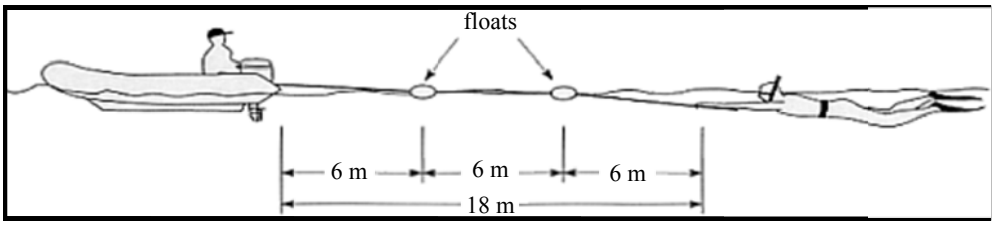
این روش توسط Moran and De'ath (1992) شرح داده شده است. در این روش، فرد غواص با سرعت ثابت در پشت قایق به کمک طناب یا تخته مانتا کشیده می‌شود و در توقف‌های منظم و با توجه به خصوصیات بستر، داده‌ها را ثبت می‌نماید (شکل ۶-۱۶ و شکل ۶-۱۷). این روش بهترین راه برای کسب توصیف کلی درباره یک منطقه بزرگ، یا اندازه‌گیری تغییرات کلی در فراوانی و پراکنش موجودات زنده است به طوری که بررسی در فواصل زیاد یا برای انتخاب منطقه مورد مطالعه بسیار مفید است و یک تخمین نیمه کمی از داده‌ها را ارائه می‌دهد. برای به‌دست آوردن نتایج مطلوب‌تر، روش‌های مانتا تو و غواصی باید باهم ترکیب شود؛ به‌طورکلی از این روش برای بررسی مرجان‌ها در مقیاس بزرگ استفاده می‌گردد. برای اجتناب از اشتباهات احتمالی و خطاهای فردی، ترجیحا باید از یک نفر غواص در تمامی مراحل کار استفاده نمود و این فرد نباید تعویض شود. کشیدن غواص بدین طریق توسط شناور تنها در آب‌های کم‌عمقی که فرد غواص دید کافی داشته باشد میسر و مناسب است. مختصات جغرافیایی تمام ایستگاه‌های مورد بررسی در طول مسیر مانتا تو به کمک موقعیت‌یاب جهانی گارمین اندازه‌گیری و در برگه‌های مخصوص ثبت می‌شود.

۶-۸-۱-۱- ابزار موردنیاز

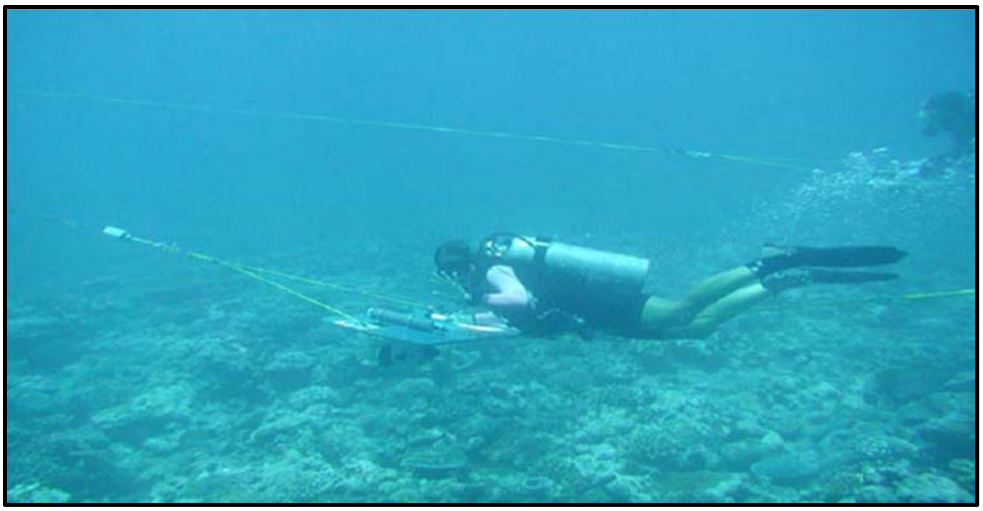
- ۱۷ متر طناب به قطر ۱۰ میلی‌متر
- گره اتصال طناب به پشت شناور
- تخته مانتا (شکل ۶-۱۸) و مداد
- نقشه هوایی سنگفرش مرجانی تحت بررسی
- بویه مشخص کننده
- ساعت یا کرنومتر ضد آب برای اندازه‌گیری زمان کشش طناب
- ۳ فرد متبحر، یک فرد در قایق برای حفظ شناور یا سرعت ثابت، فرد با تجربه برای نوشتن داده‌ها و یک نفر در زیر آب برای مانتاتو

1- Manta Tow

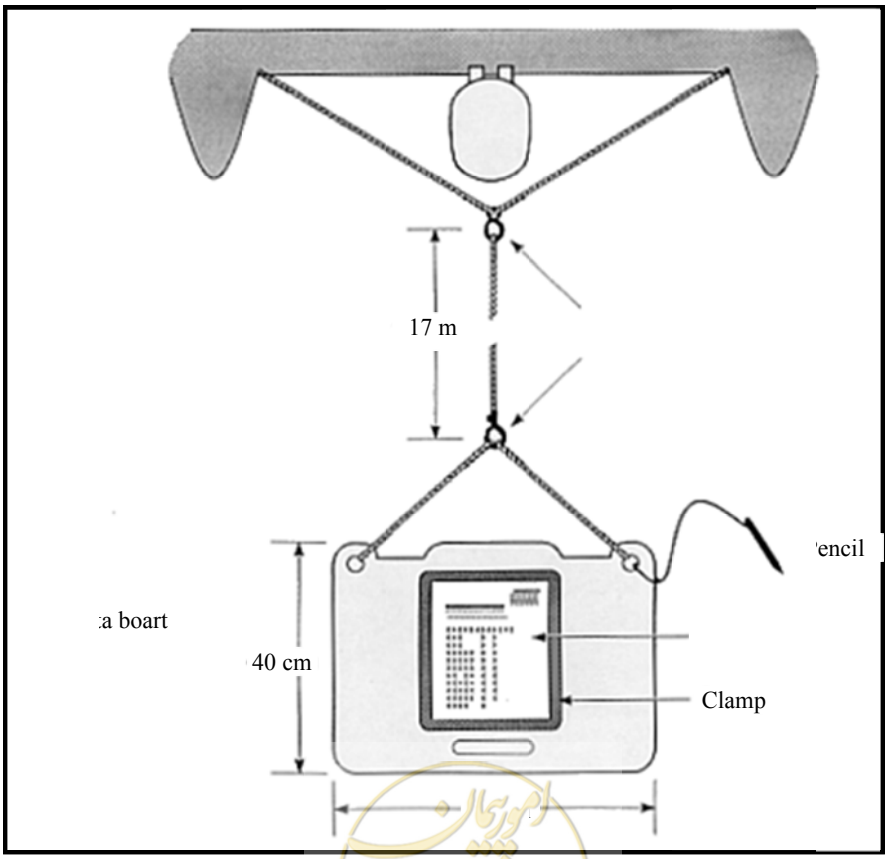
omoorepeyman.ir



شکل ۶- ۱- نحوه انجام مانتاتو



شکل ۶-۱۷- نحوه عمل مانتا تو (اقتباس از اینترنت)



شکل ۶-۱۸- تخته مانتا تو

omoorepeyman.ir

۶-۸-۱-۲- روش کار

۱- فرد غواص را به مدت ۲ دقیقه کشیده و پس از هر کشش دو دقیقه‌ای، فرد غواص از مشاهدات خود در زیر آب یادداشت برداری می کند و یا برای تسریع کار، آن را برای فرد باتجربه‌ای در قایق می‌خواند. قایقران تعداد کشش‌ها و مختصات جغرافیایی را یادداشت می‌نماید. این روند چندین بار تکرار می‌شود تا سنگفرش‌های موردنظر بررسی شود.

۲- مسیر شناور به‌موازات خط ساحل و در دو عمق ۴-۵ و ۹-۱۰ متر انجام می‌شود.

۳- سرعت قایق باید ثابت بوده و بین ۳ الی ۵ کیلومتر در ساعت باشد. پارامترهایی مثل شرایط دریا و جریانات دریایی که می‌تواند بر سرعت تاثیر گذار باشد باید در نظر گرفته شود.

۴- فرد مشاهده کننده در زیر آب یک پهنای ۱۰ تا ۱۲ متر را برحسب شفافیت آب در نظر گرفته و پراکندگی و فراوانی موجودات را به‌طور اجمالی بررسی و تخمین می‌زند.

۵- مسیر بررسی تحت تاثیر پارامترهایی مثل باد، جریانات دریایی و زاویه خورشید است. مسیر بررسی باید طوری استاندارد باشد تا نیازی به بررسی مجدد نباشد (English et al., 1997; Bass and Miller, 1998) .

۶-۸-۱-۳- روش ترانسکت خطی

پس از یک بررسی اولیه توسط مانتا تو در اطراف مکان موردنظر به کمک شناور و اشنورکل، محدوده تراکم پوشش مرجانی یا سنگفرش مرجانی مشخص و موقعیت جغرافیایی هر ایستگاه به‌وسیله دستگاه مختصات یاب جغرافیایی جهانی ردیابی و در برگه‌های مخصوص عملیات میدانی ثبت شود. سپس توسط عملیات غواصی ترانسکت‌های خطی (شکل ۶-۱۹) در ایستگاه‌هایی که دارای سنگفرش هستند در فاصله عمقی ۴ الی ۹ متر به‌موازات ساحل نصب و موجودات کفزی زیر ترانسکت طبق روش Hill, J., Wilkinson, C. (2004) تا حد سانتی‌متر بررسی شود. ازآنجایی‌که پوشش مرجان‌ها در آب‌های خلیج‌فارس بیش‌تر و به‌طور عمده در فاصله عمقی ۵ تا ۱۰ متر قرار دارند، بررسی بیش‌تر در این فاصله عمقی انجام می‌شود. بدین منظور از ۳ الی ۵ ترانسکت خطی ۲۰ متر (درمجموع ۸۰ تا ۱۰۰ متر) در هر دامنه عمقی و در هر ایستگاه استفاده می‌شود، این اطلاعات به شرح ذیل است:

مرجان‌های سخت (HC) که خود شامل مرجان‌های شاخ گوزنی (ACR)، مغزی (BC)، فویا (Fav) و توده‌ای (Por)، مرجان‌های نرم (SC)، مرجان‌های مرده (DC)، جلبک‌های مکرو و آهکی (AL) و غیر زیستی‌ها شامل ماسه (S)، خرده و تکه‌های مرجانی (Rb)، اسفنج (SP)، صخره (RC)، سیلت (SI)، جلبک شاخص مواد مغذی (NIA) و سایر موجودات (OT) که شامل نرم‌تنان، آبفشانیان، شقایق‌های دریایی می‌شود، است. علاوه بر این، صفات عمومی زیست‌محیطی مرجان‌ها، گونه‌های مرجانی و سایر مشاهدات نیز به اطلاعات حاصل شده اضافه خواهد شد.

omoorepeyman.ir

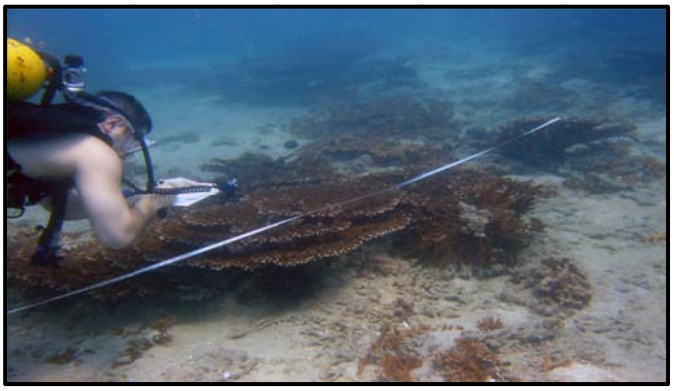
۶-۸-۱-۴- کوادرات و فتوکوادرات

استفاده از کوادرات و فتوکوادرات برای نمونه‌برداری تمامی شاخه‌های اکولوژی کاربرد دارد (Greig-Smith, 1983). برای ارزیابی سنگفرش‌های مرجانی، هر کورادرات معمولا دارای سطحی است که به‌صورت یکنواخت به یک شبکه ۱۰۰ قسمتی تقسیم شده است (هر کوادرات دارای ۴ ضلع است که به شبکه‌های cm^2 ۱۰ × ۱۰ تقسیم‌شده است). هر بخشی از شبکه نشان‌دهنده ۱٪ پوشش است. برای بررسی پوشش جلبک‌ها، اندازه کورادرات می‌تواند به m^2 ۰/۲۵ کاهش یابد. استفاده از فتوکوادرات برای بررسی مرجان‌ها و جلبک‌ها مفید است و اطلاعات دقیقی را درزمینه‌ی پوشش آن‌ها فراهم می‌آورد (Rogers et al., 2014). کوادرات یک واحد مربع یا مستطیل شکل است که در آن موجودات شمرده شده و یا درصدگیری (مثل جلبک‌ها) می‌شوند. اندازه مناسب کوادرات تابع اندازه و فراوانی مکانی موجودات در آن است.

از تصویر برداری زیر آبی توسط دوربین دیجیتالی و فیلم‌برداری زیر آبی در برخی از ترانسکت‌ها و مرجان‌ها برای تکمیل‌تر شدن اطلاعات استفاده می‌شود. بدین طریق، تجزیه‌وتحلیل‌های بعدی نیز با سهولت بیش‌تری امکان‌پذیر است. مدت زمان عملیات غواصی باید در هر نوبت نمونه‌برداری، در برگه‌های از پیش آماده شده ثبت شود. برای تسریع در کار و مقایسه با روش ترانسکت خطی، در برخی ایستگاه‌ها از فن فتوکوادرات (شکل ۶-۲۰ و شکل ۶-۲۱) استفاده می‌شود تا در فرصت بعدی در صفحه نمایش کامپیوتر سنجش شوند (شکل ۶-۲۲). این روش به‌غیر از تسریع در کار، از دقت بیش‌تری نیز برخوردار است.

۶-۸-۱-۵- تهیه نقشه پراکنش مرجان‌ها

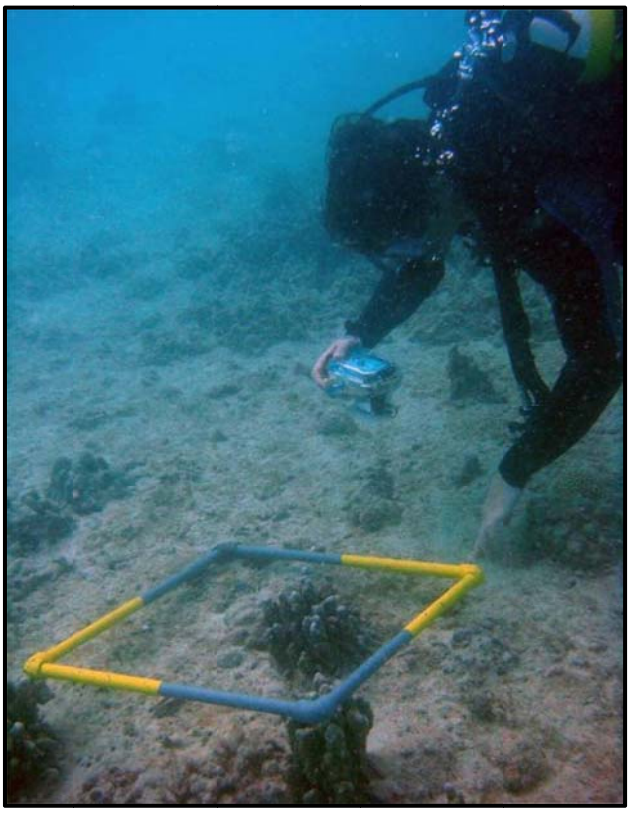
تمامی اطلاعات جمع‌آوری شده در مورد مرجان‌ها به کمک سامانه اطلاعات جغرافیایی[1] و نرم‌افزار ArcGIS مورد پردازش قرار می‌گیرد. نقاط مطالعه شده و داده‌ها به نرم‌افزار موردنظر داده شده و نهایتا نقشه‌ای کلی از چگونگی پراکنش مرجان‌ها تهیه می‌شود.



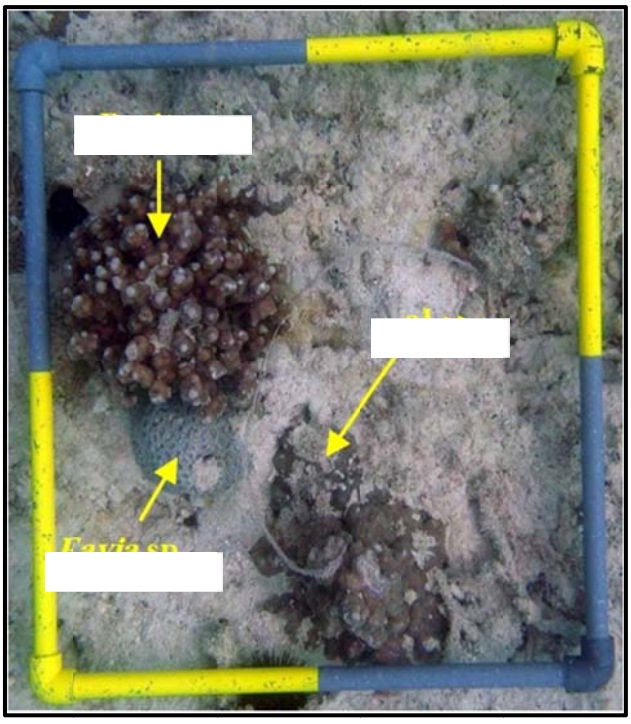
شکل ۶-۱۹- نحوه قرار گرفتن ترانسکت بر روی مرجان‌های سخت در بستر دریا

1- GIS

omoorepeyman.ir

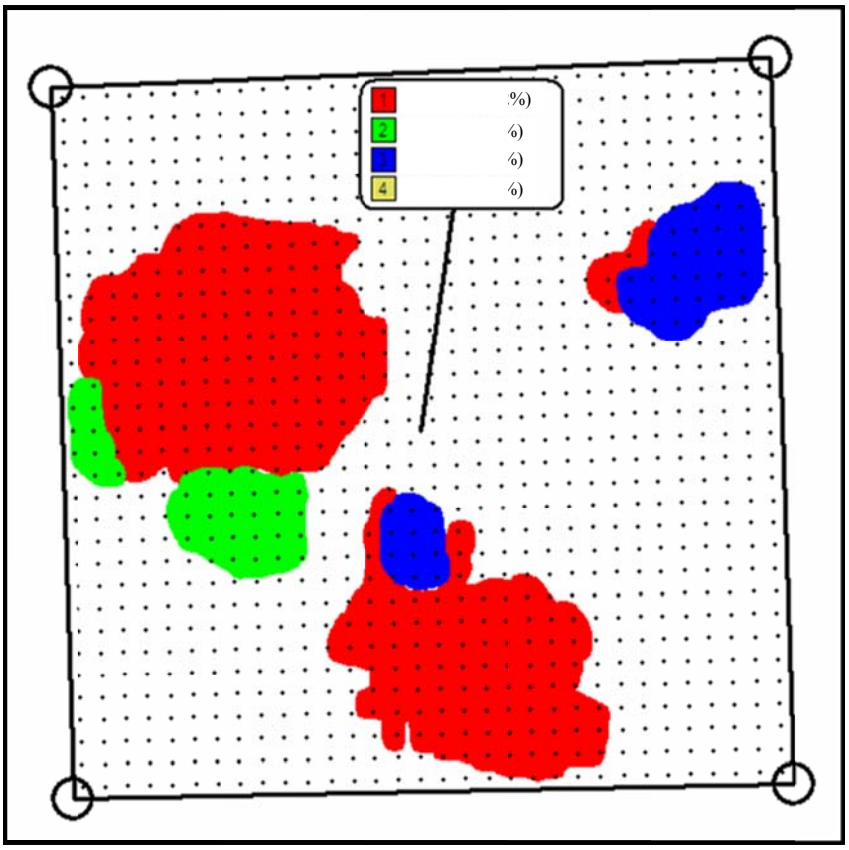


شکل ۶-۲۰- بررسی به روش فتوکوادرات از مرجان‌ها



شکل ۶-۲۱- فتوکوادرات از مرجان‌ها

omoorepeyman.ir



شکل ۶-۲۲- پس از نصب تصویر فتوکوادرات در کامپیوتر

۶-۹- بررسی ماهیان مرجانی

غواصان در طول ترانسکت در یک متری بالای متر نواری شنا می‌کنند و در فاصله ۲/۵ متری از طرفین متر نواری و ۵ متر بالاتر از لایه زیرین (شکل ۶-۲۳)، فراوانی گونه‌های شاخص را ثبت می‌کنند (جدول ۶-۲). این کار تا تمام شدن ۵۰ متر ترانسکت انجام می‌شود. فراوانی گونه‌های شاخص بدون در نظر گرفتن اندازه بر روی یک صفحه استاندارد یادداشت می‌شود (شکل ۶-۲۴). گروه در شروع غواصی، یک نشانه ۲/۵ متری در زیر آب را مشاهده می‌کند تا به‌این‌ترتیب مقیاس این فواصل در زیر سطح آب سنجش شود. نمونه‌برداری در فصول مختلف و با استفاده از ماسک و اسنورکل و در برخی مواقع عملیات غواصی در مناطق کم‌عمق ۰ تا ۳ متری و یا عمیق‌تر ۴ الی ۸ متری در ایستگاه‌های مختلف انجام می‌شود.

۶-۹-۱- شمارش بصری سریع ماهیان مرجانی

شمارش بصری سریع در مناطقی قابل استفاده است که زمان و منابع لازم برای به‌دست آوردن اطلاعات جزئی (مانند اطلاعاتی راجع به تعداد گونه‌ها) در دسترس نباشد. این شمارش‌ها به‌صورت کیفی و یا نیمه کمی انجام می‌گیرد. غواصان با شنای دلخواه بدون استفاده از ترانسکت‌ها و یا نوار متری این روش را انجام می‌دهند. غواص‌ها بر روی سنگفرش‌های مرجانی در یک مدت زمان مشخصی شنا کرده و گونه‌های ماهی و فراوانی آن‌ها را یادداشت می‌کنند.

omoorepeyman.ir

همچنین این روش برای آموزش غواصان برای به‌دست آوردن اطلاعاتی مانند (گونه‌های ماهی، فراوانی و طول آن‌ها) مفید است. از مزایای این روش می‌توان به ارزیابی منطقه وسیعی بدون از دست دادن زمان (برای ترانسکت‌های تکراری) اشاره کرد. این روش برای گونه‌هایی که بسیار متحرک و ترسو می‌باشند و ممکن است در هنگام نصب ترانسکت‌ها از منطقه فرار کنند، مناسب است. با توجه به تفاوت‌هایی مانند قدرت دید در زیرآب، مهارت غواص و توانایی وی، احتمال جمع‌آوری اطلاعات مختلفی امکان‌پذیر است.

به‌طورکلی روش شمارش بصری سریع در موارد خاصی مانند تفسیر الگوهای پراکندگی و فراوانی ماهی‌هایی که بر روی انواع مختلفی از سنگفرش‌های مرجانی می‌زیند کاربرد دارد. در این بررسی غواص‌ها بر روی شیب خارجی سنگفرش‌های مرجانی، به‌صورت زیگزاگی از سطح تا عمق ۱۳ متری و در ۵ متری هر سمت شنا و ماهی‌های مشاهده شده را یادداشت می‌کنند.

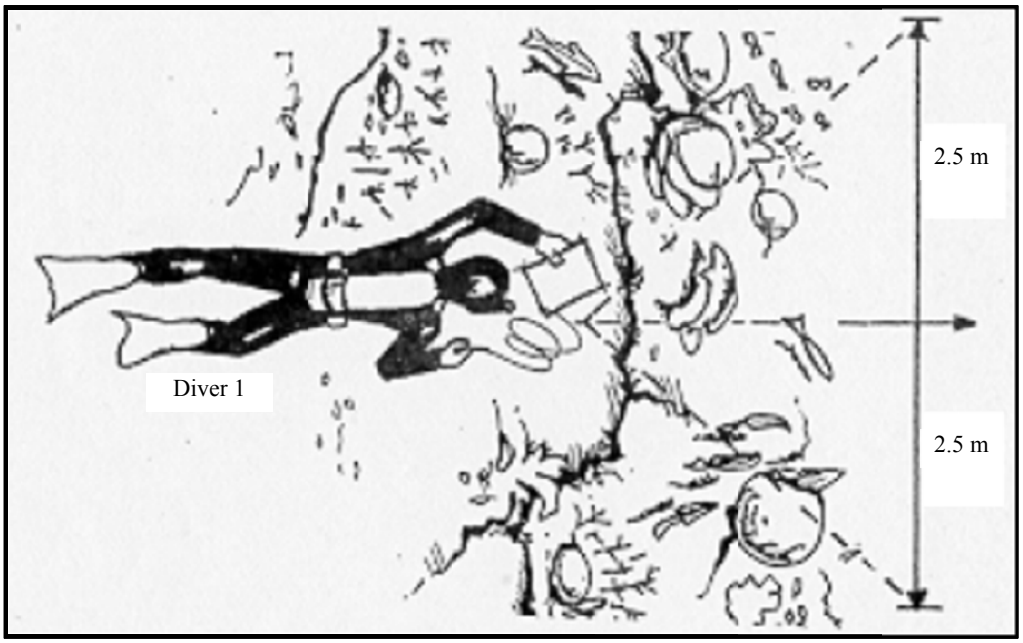
۶-۹-۲- انتخاب زیستگاه

در هنگام ارزیابی‌ها و برنامه‌های پایش، ماهی‌های مرجانی و تمام انواع صخره‌های مرجانی منطقه مورد مطالعه قرار گیرند. لازم است لیستی از تمامی مرجان‌های موجود در منطقه تهیه شود که این اطلاعات ممکن است از تصاویر ماهواره‌ای و تجربیات گروه ارزیاب و اطلاعات قبلی حاصل شود. در مورد ارزیابی گونه‌های شاخص در زیستگاه‌ها (برخی ماهی‌های آکواریومی ساکن در زیستگاه‌های مسطح مرجان) یا بررسی رابطه بین زیستگاه و تراکم ماهی‌ها، لازم است زیستگاه‌های بیش‌تری موردمطالعه قرار گیرد.

۶-۹-۳- تخمین فراوانی ماهیان مرجانی

برخی ماهی‌ها به صورت گروه‌های بسیار بزرگی هستند که در چنین حالتی برای غواص ناظر بدون تجربه، شمارش آن‌ها کار مشکلی است. شمارش کامل این ماهی‌ها، زمان‌بر است و احتمال عدم شمارش دیگر گونه‌ها وجود دارد، بنابراین برای شمارش آن‌ها از جداول لگاریتمی استفاده می‌شود (جدول ۶-۲). در این روش تعداد ماهی در یک گروه بر اساس گروه‌های فراوانی لگاریتمی تخمین زده می‌شود، به‌طوری‌که از کوچک‌ترین مقدار عددی برای گروه فراوانی به منظور نمایش گرافیکی نتایج تحقیق در روش گروه‌های فراوانی استفاده می‌شود. در هنگام آنالیز نتایج حاصل از این روش، پیش از انجام کارهای آماری، رتبه‌های فراوانی با استفاده از میانگین رتبه فراوانی هر گروه به فراوانی تبدیل می‌شود. برای مثال رتبه فراوانی در گروه ۴ به فراوانی ۱۹ ماهی تبدیل می‌شود. به‌علاوه، شمارش ماهیان توسط شنا کردن به مدت ۵ دقیقه از مکان‌های مختلف سنگفرش مرجانی انجام می‌پذیرد و فراوانی و اسم گونه ماهیان در کاغذ زیر آبی که نام ماهیان مرجانی پیش از انجام عملیات غواصی در آن به‌چاپ رسیده است، ثبت می‌شود. در این روش، ماهیان پنهان و ماهیان شبانه تخمین کم‌تری دارند، اما این نواقص برای همه سنگفرش‌ها صدق کرده و مقایسه میان سنگفرش‌ها را امکان‌پذیر می‌سازد. برای کاهش خطا، همیشه بهتر است نمونه‌برداری توسط یک فرد غواص انجام شود و غواص با فرد دیگری تعویض نشود.

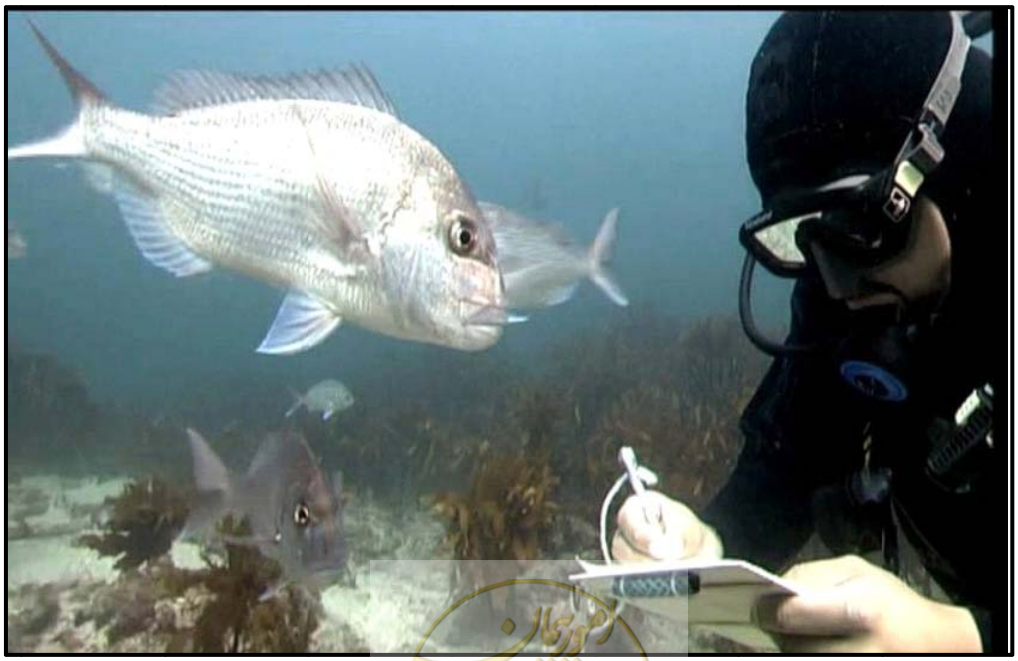
omoorepeyman.ir



شکل ۶-۲۳- شمایی از یک ترانسکت و نحوه شمارش ماهیان مرجانی توسط عملیات غواصی

جدول ۶-۲- تعداد ماهی‌ها در گروه‌های فراوانی بر اساس لگاریتم ۴ رتبه فراوانی

تعداد ماهی	Log_4 فراوانی
۱	۱
۲-۴	۲
۵-۱۷	۳
۱۸-۶۴	۴
۶۵-۲۵۶	۵
۲۵۷-۱۰۲۴	۶



شکل ۶-۲۴- نحوه ثبت اطلاعات ماهی در زیر دریا

omoorepeyman.ir

۶-۹-۴- سامانه‌های ویدئویی در زیر دریا برای بررسی مرجان‌ها و ماهیان مرجانی

فیلم‌برداری برای ثبت ظاهری زیستگاه‌ها و بازرسی از وضعیت لوله‌ها یا کابل‌های موجود در بستر بسیار مفید است. با فیلم‌برداری در یک سمت (در جهت یک ترانسکت خطی)، اطلاعات مفیدی از یک ایستگاه ثبت می‌شود. سامانه‌های ویدئویی تصویر بهتری را از دوربین‌های عکاسی در نور کم فراهم می‌کنند.

۶-۹-۴-۱- ابزار موردنیاز

- دوربین فیلم‌برداری
- قفسه دوربین
- چهارچوب استیل
- فلاش دوربین
- کابل برق سیار در صورت نیاز
- شناور و قایقران
- ۲ نفر برای همکاری
- سیستم وینچ
- عمق‌سنج
- حسگر ثبت دمایی
- عمق‌سنج توسط کامپیوتر مچی غواصی
- نصب کلوز آپ در صورت نیاز برای شناسایی برخی گونه‌ها
- نصب لیزر برای نشان دادن اندازه مرجع
- نصب حسگر اضافه برای سنجش اکسیژن محلول
- سامانه موقعیت‌یاب جهانی
- دفترچه یادداشت زیر آبی و مداد
- ۵۰ × ۵ متر پلاستیکی
- حلقه پلاستیکی دوربین و پیچ‌گوشتی برای نصب دوربین به قفسه آن
- شارژر باطری
- کنترل از راه دور برای دوربین
- تکه پارچه برای تمیز کردن عدسی
- دو دست کامل وسایل غواصی
- چسب سیلیکون

omoorepeyman.ir

- صفحه‌نمایش بزرگ در آزمایشگاه
- کامپیوتر با پخش‌کننده DVD

۶-۹-۴-۲- روش کار

۱- مکان موردنظر را با استفاده از سامانه موقعیت‌یاب جهانی یا اطلاعات قبلی از توپوگرافی سنگفرش مرجانی مشخص کنید با رسیدن به موقعیت مورد نظر غواص اسنورکل ابتدای ترانسکت خطی اول را توسط بویه شناور با طناب ۳۰ متری متصل به یک وزنه مشخص می‌کند. سپس شناور در محلی لنگر می‌اندازد که خسارتی به ترانسکت اول نزند و اگر غواصان برای شمارش ماهیان وارد شوند، موجب فرار ماهیان نگردند.

۲- چهار غواص وارد آب شده و غواص مراقب در قایق می‌ماند. غواص اول که کار شمارش ماهی را انجام می‌دهد مجهز به یک تخته یادداشت زیر آبی[1]، مداد و فرم عملیاتی ضد آب است. غواص دوم متر پلاستیکی ۵۰ متری را در بستر پهن می‌کند. غواص سوم مجهز به دوربین فیلم‌برداری، مداد، تخته یادداشت زیر آب و دفترچه است. غواص چهارم که محقق است مجهز به دوربین فیلم‌برداری، مداد، تخته یادداشت زیر آب و دفترچه یادداشت زیرآبی است.

۳- در آغاز ترانسکت اول، غواص اول با حمل میله‌ای صلیب‌شکل در امتداد ترانسکت خطی ۵۰ متر و به ۲/۵ متر در هر جهت از ترانسکت شنا کرده و به شمارش ماهیان می‌پردازد.

۴- پس از طی مدت ۱۵ دقیقه، غواص دوم متر پلاستیکی ۵۰ متری را در بستر مستقر می‌کند.

۵- ۵ الی ۱۵ دقیقه بعد، غواص محقق جانوران کفزی مثل ستاره دریایی، شکم پا۲ و جانداران دیگر را ثبت می‌نماید (Bass and Miller, 1996) و غواص چهارم پشت سر غواص محقق به فیلم‌برداری می‌پردازد.

۶- پس از تکمیل ۵ ترانسکت ۵۰ × ۵ متری توسط غواص شمارشگر ماهی، وی به ابتدای ترانسکت بازگشته و ماهیان Pomacentrid را شمارش می‌نماید.

۷- پس از تکمیل پنجمین ترانسکت، غواص محقق با جمع‌آوری متر پلاستیکی به ابتدای ترانسکت بازمی‌گردد. در طی این مدت، غواص فیلم‌بردار از موجودات کفزی فیلم‌برداری کرده و اطلاعاتی را که با فیلم‌برداری غیرممکن می‌باشد را در دفترچه یادداشت ثبت می‌کند.

۸- پس از اتمام عملیات فوق، غواصان به ابتدای ترانسکت برگشته و از آب خارج می‌شوند.

1- Slate
2- Drupella

omoorepeyman.ir

الف- ثبت اطلاعات ویدئویی

۱- اطلاعات ترانسکت را که شامل نام سنگفرش مرجانی، تاریخ، شماره سایت، شماره ترانسکت و نام فرد ثبت‌کننده است باید در فرم عملیاتی ثبت نمود.

۲- در سمت راست جدول، شناسه زمان ثبت می‌شود (T1, 00, 01).

۳- دکمه روشن را در دوربین فشار داده و اطلاعات ویدئو در فرم صحرایی ثبت شود.

ب- ترانسکت

۱- باید دوربین در فاصله ۵۰ سانتی‌متر از بستر نگه داشته شود. سپس (شکل ۶-۲۵) دکمه فوکوس را زده تا فاصله کانونی بین ۰/۵ الی ۱ متر لحاظ شود.

۲- مدت زمانی که در منظره یاب مشاهده می‌شود، ثبت شود.

ج- سرعت ویدئو

زمان ثبت ویدئوئی باید بین ۴ تا ۵ دقیقه در یک ترانسکت ۵۰ متری باشد. این مدت زمان تابع پیچیدگی بستر و جریان آب است. حفظ سرعت یکسان در زمان فیلم‌برداری حائز اهمیت بوده و سرعت یکسان فیلم‌برداری در شرایط متفاوت تنها با تمرین حاصل می‌شود.

شکل ۶-۲۵- نحوه عملکرد ویدئو ترانسکت در بستر مرجانی

omoorepeyman.ir

فصل ۷

بررسی جزر و مدی

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

۷-۱- بررسی جزر و مدی

به دلیل آنکه رشد و رویش جلبک‌ها و بی‌مهرگانی که از جلبک‌ها تغذیه می‌کنند در فصل بهار به حداکثر می‌رسد، بهتر است زمان نمونه‌برداری در فصل بهار برگزیده شود. بررسی به‌طور کمی در نواحی ساحلی در ایستگاه‌ها پس از انجام گشت مقدماتی برحسب جنس بستر و نوع ساحل (دهانه‌ای و دماغه‌ای) برگزیده و سپس نمونه‌برداری انجام و مختصات ایستگاه‌ها توسط دستگاه مختصات‌یاب جغرافیایی ثبت شود. نمونه‌برداری در موقع جزر زیاد انجام می‌شود تا ساختارهای جزر و مدی به‌وضوح مشاهده و ثبت اطلاعات در مدت زمان بیش‌تری انجام پذیرد.

به منظور نمونه‌برداری، از روش کوادرات‌های تصادفی (Stoddart and Johannes, 1978; Castric-Fey, 1984; Barratt et al., 1990) در هر ایستگاه استفاده می‌شود به‌گونه‌ای که با شرایط منطقه سازگار باشد. بدین منظور، از یک کوادرات به سطح مقطع $0/25\ m^{-2}$ در امتداد ترانسکت خطی (شکل ۷-۱) استفاده می‌شود و در هر یک از نواحی جزر و مدی (فوقانی، میانی و تحتانی)، کوادرات‌هایی ($1\ m^2$) برداشت می‌شود. پیشنهاد می‌شود برای تسریع در کار، در برخی ایستگاه‌ها از تکنیک فتوکوادرات تصادفی (شکل ۷-۲) نیز استفاده نمود تا در فرصت بعدی در صفحه کامپیوتر سنجش شود. این تکنیک به‌غیراز تسریع در کار، از دقت بیش‌تری نیز برخوردار است. در این روش، میزان پوشش جلبک‌ها به‌صورت درصد در $0/25\ m^2$ سنجش خواهد شد، لیکن فراوانی جانوران به‌استثنای زئوآنتیدها در مترمربع قابل محاسبه است.

شکل ۷-۱- نمونه‌برداری در مناطق جزر و مدی

omoorepeyman.ir

شکل ۷-۲- تکنیک فتوکوادرات تصادفی برای شمارش سریع موجودات جزر و مدی

۷-۲- مراحل انجام نقشه‌برداری برای بررسی نیمرخ ساحلی موجودات کفزی

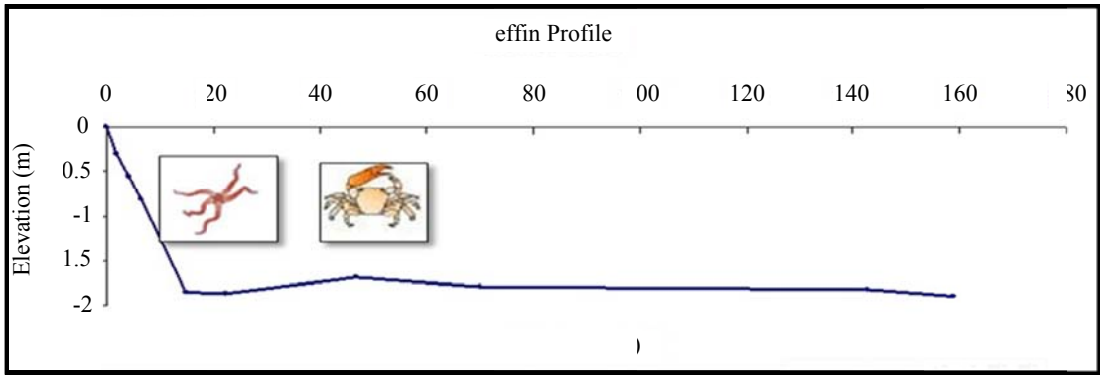
برای تولید نیمرخ‌های ساحلی از دستگاه‌های مختلفی استفاده می‌شود، به عنوان نمونه توتال استیشن Leica tcr407 نمونه‌ای از این دستگاه‌ها است که در این عملیات استفاده می‌شود (شکل ۷-۳). همچنین برای تعیین مختصات جهانی از دستگاه مختصات‌یاب دستی موقعیت‌یاب جهانی گارمین مدل Etrex می‌توان استفاده نمود. به منظور توجیه نیمرخ‌ها نسبت به شمال، نقطه‌ای دیگر به‌عنوان نقطه نشانه و بافاصله‌ای در حدود ۱۰۰ متر با نقطه پایه و در مکانی مشخص انتخاب و مختصات آن نیز با موقعیت‌یاب جهانی برداشت می‌شود. در ادامه با استقرار از دستگاه بر روی نقطه پایه و قراول‌روی به نقطه نشانه و همچنین صفر-صفر کردن دستگاه، نقاط نیمرخ برداشت می‌شود. درنهایت با پیاده کردن این امتداد بر روی نقشه تمامی نقاط نیمرخ دارای مختصات، جهانی می‌شود.

اطلاعات توصیفی مربوط به هر نیمرخ را (جنس بستر، تاریخ و ساعت مشاهده) باید به آن الصاق نمود. در این راستا، سعی می‌شود تا انواع سواحل ازنظر جنس بستر و شکل برای برداشت نیمرخ مدنظر قرار گیرد. یک نمونه از این نیمرخ‌ها در شکل (۷-۴) که مربوط به منطقه صفین است در نرم‌افزار اکسل[1] تهیه‌شده به تصویر آمده است.

1- Excel

omoorepeyman.ir

شکل ۷-۳- برداشت نیمرخ طولی با استفاده از دستگاه توتال استیشن و رفلکتور



شکل ۷-۴- نیمرخ تهیه‌شده در نرم‌افزار اکسل (منطقه صفین)

۷-۳- تقسیم‌بندی زیستگاه‌ها

برای تهیه نقشه زیستگاه‌های دریایی توسط داده‌های بررسی‌شده به یک سیستم تقسیم‌بندی نیاز است تا به کمک آن ساختارهای بستر یا اجتماعات مشابه مرزبندی شود. اطلاعات حاصل از گرب، مشاهدات غواصان و سایر عملیات میدانی به منظور توصیف زیستگاه‌ها و رنگ‌های مناسب برای به تصویر درآوردن زیستگاه‌ها در مقیاس‌های متفاوت به‌کار می‌رود. این نقشه‌ها ابزار اصلی برای مدیریت مناطق حساس یک منطقه ساحلی هستند. این نکته را در نظر داشته باشید که نقشه‌های تولیدشده توسط این روش‌ها در معرض خطای مختصات جغرافیایی قرار دارند. دقت نقشه نهایی تابع دامنه پارامترهایی همانند دقت سیستم ناوبری، زمان، تاثیرات جوی و غیره است. شایان‌ذکر است، دقت مختصات کشیده شده کم‌تر از وضوح داده‌هایی است که برای تولید آن‌ها به‌کار رفته است.

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

فصل ۸

مطالعات مولکولی

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

۸-۱- مقدمه

روش‌های مولکولی به خصوص مطالعات فیلوژنتیکی، به منظور تکمیل و تایید نتایج حاصل از مطالعات مورفولوژیکی بسیار مفید و موثر است (Bayha et al., 2010). از مارکرهای ژنتیکی مولکولی برای شناسایی گونه‌ها در زمانی که شباهت‌های مورفولوژیکی بسیاری بین آن‌ها وجود دارد، استفاده می‌شود.

DNA میتوکندریایی یکی از مارکرهای عملی در علوم شیلاتی، حفاظتی و مدیریتی است (Kapuscinski and Jacobson, 1987; Çiftci and Okumuş, 2002; Okumus and Çiftci, 2003; Liu and Cordes, 2004). در سال‌های اخیر، مشخص شدن این مطلب که میتوکندری‌ها و اندامک‌های دیگر سلول می‌توانند درجاتی از استقلال را داشته باشند موجب آغاز مرحله کاملا جدیدی در مطالعه این اندامک‌ها شده است. میتوکندری اندامک نیمه‌خودکاری است، زیرا واجد یک DNA به وزن مولکولی ۱۰ به توان ۷ کیلو دالتون است که در حدود ده کپی از آن در میتوکندری وجود دارد. در بسیاری از گونه‌های بررسی شده، DNA میتوکندری (mtDNA) طول ثابتی حدود ۵ میکرومتر دارد. از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز یا PCR برای تکثیر دو ژن COI و 28S rDANA استفاده می‌شود. تکثیر ژن 28S با استفاده از آغازگرهای (5′-gaacrgctcaagcttraaatct-3′) Aa-L28S-21 و (5′-gaaacttcggagggaaccagctac-3′) Aa-H28S-1078 انجام می‌شود (Bayha et al., 2010).

۸-۲- مزایای استفاده از ژنوم میتوکندری

از دلایل موردتوجه قرار گرفتن ژنوم میتوکندری به‌عنوان نشانگر ژنتیکی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱- میتوکندری که در تمامی رده‌های جانوری موجود است نقش و خصوصیات مشابهی را در تمامی جانوران بر عهده دارد.

۲- ژنوم میتوکندری ازنظر ساختار و عملکرد در مقایسه با ژنوم هسته ساده‌تر است.

۳- برخلاف ژنوم هسته، عناصر ژنوم میتوکندری در هنگام میوز دچار نوترکیبی[1] نمی‌شود (Smith et al., 1989).

۴- ژنوم میتوکندری دارای توارث مادری است. توارث پدری فقط در مگس سرکه[2]، دوکفه‌ای میتیلوس[3] و موش گزارش شده است (Rezvani-Gilkolaei, 1997).

۵- نرخ تکامل ژنوم میتوکندری در پستانداران ۵ تا ۱۰ برابر سریع‌تر از بخش مشابه در ژنوم هسته است.

۶- اندازه‌گیری تفاوت ژنتیکی بین جمعیت‌ها مزیت بزرگ تحلیل‌های mtDNA است. این مزیت به دلیل توارث

1- Crossingover
2- Drosophila
3- Mytilus

omoorepeyman.ir

مادری و نرخ سریع تکامل است (Chang et al., 1994).

۷- mtDNA حاوی اطلاعاتی است که در نشانگرهای هسته‌ای نمی‌تواند نگهداری شود (Chang et al.1994).

۸- گمان می‌رود ژنوم میتوکندری ترمیم و همانندسازی را با دقت کم‌تری نسبت به ژنوم هسته انجام دهد (Mabuchi et al., 2005).

۹- ژنوم میتوکندری تداخل شناخته شده‌ای با محیط ندارد، به‌طوری‌که ظاهرا تنوع ژنتیکی بین افراد درواقع بازتابی از وجود جدایی تولیدمثلی است (Mabuchi et al., 2005).

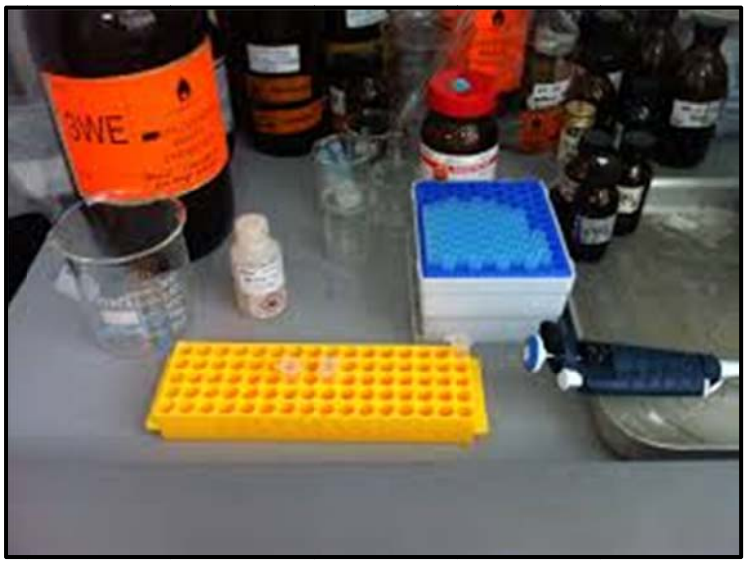
۱۰-یکی از ژن‌های میتوکندریایی ژن COI است که با داشتن Universal Primer در مطالعات فیلوژنتیکی نسبت به دیگر ژن‌های میتوکندری بیش‌تر استفاده شده است (Folmer et al., 1994; Zhang and Hewitt 1997; Hebert et al., 2003).

۸-۱-۱ ابزار موردنیاز

در شکل (۸-۱)، برخی از ابزار موردنیاز نشان داده شده است.

- الکل اتیلیک
- میکروتیوب
- گریز از مرکز (شکل ۸-۲)
- همزن برقی (شکل ۸-۳)
- دستگاه PCR (شکل ۸-۴)
- پیپت خودکار
- دستگاه الکتروفورز (شکل ۸-۵)

omoorepeyman.ir



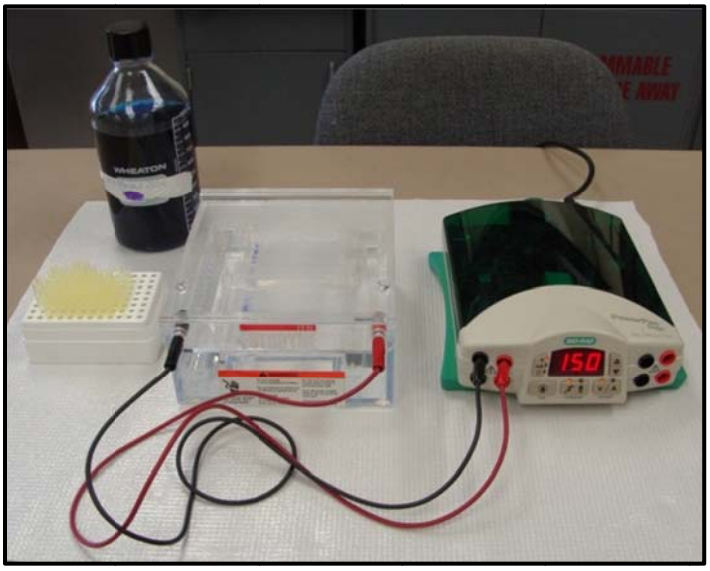
شکل ۸-۱- ابزار مورد نیاز

شکل ۸-۲- دستگاه سانتریفیوژ

شکل ۸-۳- همزن برقی

omoorepeyman.ir

شکل ۸-۴- دستگاه PCR



شکل ۸-۵- دستگاه الکتروفورز

۸-۲-۱- نمونه‌برداری

برای انجام آنالیزهای مولکولی، بخش‌های موردنظر (گناد عروس دریایی و یا بازوهای دهانی آن) از جانور جدا و بر اساس خصوصیات فیزیولوژیکی هر جانور، در ظروف برچسب‌دار حاوی الکل اتیلیک ۷۰٪ یا ۱۰۰٪ و یا محلول DEMSO تثبیت شده و به آزمایشگاه منتقل شود.

omoorepeyman.ir

۸-۲-۲- استخراج DNA[1]

برنامه به کار گرفته شده در دستگاه PCR برای ژن COI عبارت است از مرحله واسرشت سازی اولیه به مدت ۱۲۰ ثانیه در حرارت ۹۴ درجه سانتی‌گراد، سپس ۳۵ چرخه که شامل واسرشتگی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۴۵ ثانیه، اتصال آغازگرها در ۴۸ درجه برای ۶۰ ثانیه، بسط در ۷۲ درجه برای ۹۰ ثانیه و بسط نهایی در ۷۲ درجه برای ۶۰۰ ثانیه است. درنهایت محصول به‌دست‌آمده در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود.

تکثیر ژن COI با استفاده از آغازگرهای (5´-ggtcaacaaatcataaagatattggaac-3´) LCO1490 و (5´-taaacttcagggtgaccaaaaaatca-3´) HCO2198 انجام می‌شود (Folmer et al., 1994). برنامه به کار گرفته شده در PCR برای ژن S ۲۸ عبارت است از مرحله واسرشت سازی اولیه به مدت ۸ دقیقه در حرارت ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۲ دقیقه در ۴۹ درجه سانتی‌گراد، ۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد، ۴ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، دو دقیقه در ۵۰ درجه سانتی‌گراد،۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و سپس ۳۳ چرخه که شامل واسرشتگی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۴۵ ثانیه، اتصال آغازگرها در ۴۵ درجه برای ۵۱ ثانیه، بسط در ۷۲ درجه برای ۶۰ ثانیه و بسط نهایی در ۷۲ درجه برای ۱۰ دقیقه است. درنهایت محصول به‌دست‌آمده در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری خواهد شد. کیفیت محصولات PCR هر دو ژن بر روی ژل آگارز ۱٪ بررسی می‌شود (http://www.macrogen.com).

۸-۲-۲-۱- مراحل استخراج DNA

برای استخراج DNA از پروتکل استاندارد فنول-کلروفرم استفاده می‌شود. مراحل استخراج به شرح ذیل است:

۱- نمونه‌ها پیش از استخراج در دمای اتاق به منظور خشک شدن الکل آن قرار داده شود.

۲- مقداری از نمونه به میکروتیوب‌های شماره‌گذاری شده با حجم ml ۲ ریخته شود (شکل ۸-۶).

۳- برابر حجم نمونه تامپون لیز درون لوله‌ها ریخته و ۱۵ تا ۲۰ میکرو لیتر پروتئیناز K به آن اضافه شود.

۴- نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در حمام خشک با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد تفریخ[2] می‌شود.

۵- نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد درون گرم‌کن نگهداری شود.

۶- ۲۵۰ میکرولیتر فنول و ۲۵۰ میکرولیتر کروفرم ایزو امیل الکل به نمونه‌ها اضافه می‌شود.

۷- نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در همزن قرار داده شود.

۸- نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه گریز از مرکز با دور ۱۲۰۰۰ قرار داده شود.

۹- پس‌ازآن، فاز رویی به میکروتیوب‌های جدید منتقل شده و هم‌حجم آن کلروفرم ایزو امیل الکل به آن اضافه می‌شود.

1- DNA
2- Incubation

omoorepeyman.ir

۱۰-نمونه‌ها مجددا به مدت ۱۵ دقیقه در همزن قرار داده شود.

۱۱-در این مرحله مجددا نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه گریز از مرکز با دور ۱۲۰۰۰ قرار داده می‌شود.

۱۲-مجددا فاز رویی به میکرو تیوب‌های جدید انتقال داده شده و این بار دو برابر حجم اتانول مطلق سرد اضافه شود. در این مرحله هاله شیری رنگ DNA دیده می‌شود.

۱۳-نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۷۰۰۰ قرار داده شود.

۱۴-محلول رویی دور ریخته و ۵۰۰ میکرو لیتر الکل ۷۰٪ به آن‌ها اضافه شود.

۱۵-مجددا نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در دستگاه گریز از مرکز با دور ۷۰۰۰ قرار داده شود.

۱۶-الکل رویی دور ریخته می‌شود و میکرو تیوب‌های حاوی DNA در دمای اتاق قرار گیرد.

۱۷-سپس، ۴۰ الی ۷۰ میکرو لیتر محلول TE (1X) به میکروتیوب‌ها اضافه شود و برای حل شدن رسوب DNA، نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گیرد.

شکل ۸-۶- آماده‌سازی در میکرو تیوب

۸-۲-۲-۲- مراحل PCR[1]

۱- به منظور انجام PCR به DNA استخراج شده، آب مقطر استریل، محلول Master Mix و Primer Forward و Reverse Primer اضافه می‌شود.

۲- محلول حاصل در داخل دستگاه PCR قرارداده و بر اساس مقالات مشابه برنامه موردنیاز شامل زمان و تعداد واکنش‌های پی‌سی‌آر به دستگاه داده شود.

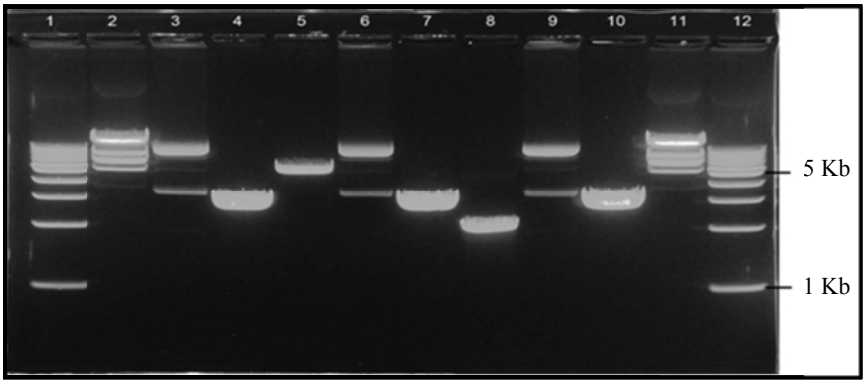
1- PCR

omoorepeyman.ir

۳- پس از پایان کار دستگاه نمونه‌ها خارج و برای بررسی کیفیت DNA تکثیر شده، بر روی ژل آگـارز در دسـتگاه الکتروفورز نشان داده شود. حرکت آن‌ها بر روی ژل بر اساس وزن مولکولی است. درصد ژل اگارز بسته به سـایز باند ژن مربوطه متفاوت است.

۴- با استفاده از دستگاه UV از ژل عکس‌برداری شود (شکل ۸-۷)، زیرا رنگ موجود در محلـول Master Mix کـه پیش از PCR به نمونه‌ها اضافه‌شده توسط اشعه UV قابل مشاهده است.

۵- پس از تایید کیفیت ژل، محصولات PCR به منظور انجام ترتیب‌دهی[1] به آزمایشگاه‌های مربوط فرستاده شود.

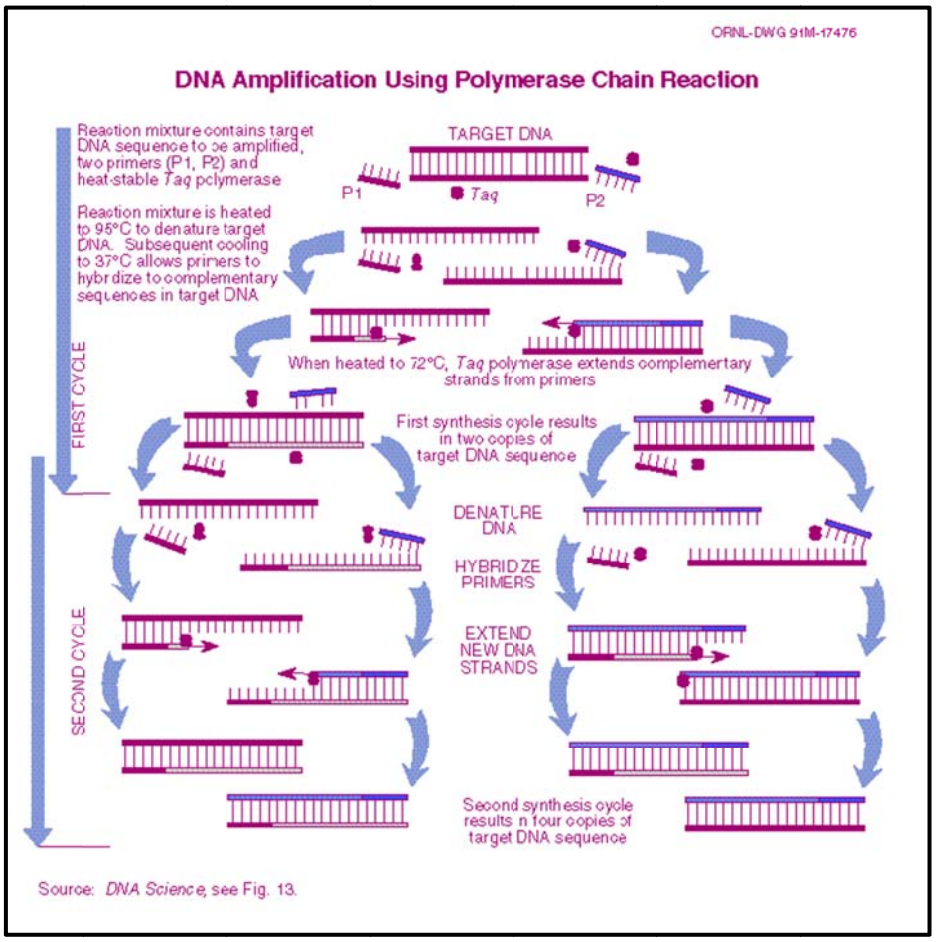


شکل ۸-۷- تصویر ژل

کلیه مراحل فوق به‌طور خلاصه در شکل (۸-۸) نشان داده شده است:

1- Sequencing

omoorepeyman.ir



شکل ۸-۸- مراحل PCR (تکثیر DNA با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز)

omoorepeyman.ir

پیوست ۱

دستگاه اندازه‌گیری تولید اولیه

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

اینکوباتر ICES دستگاه دیگری ساخت شرکت هیدروبیوز (شکل پ.۱-۱) است که برای سنجش تولید اولیه به کار می‌رود. این دستگاه از تانک پلکسی گلاس شفاف تشکیل شده است که در آن ۱۲ بطری آزمایشگاهی تعبیه شده است. روش به‌کاررفته ^{14}C نام دارد که بر مبنای جذب رادیواکتیو ^{14}C ایزوتوپ کربن استوار است (Steemann-Nielsen,1952). ایزوتوپ ^{14}C که در زی‌توده جلبکی ادغام شده، در یک شمارشگر مایع سنتیلاسیون خوانده می‌شود.

شکل پ.۱-۱- اینکوباتور ICES

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

پیوست ۲

فهرست واژگان

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

A

Autoclave	دستگاه اتوکلاو (برای فرآیند استریل کردن)

B

Benthos	کفزیان
Biomass	بیومس (زی‌توده)
Buchner funnel	محفظه بوخنر
Bogorove chamber	قیف بوخنر

C

Calibration	کالیبره کردن (واسنجی)
Centrifuge	سانتریفیوژ (گریز از مرکز)
Chlorophyll	کلروفیل یا سبزینه
Clinometer	زاویه سنج
Coccolithophore	کوکولیتوفورها (گیاهان تک سلولی پلانکتونی توسط پلیت‌های آهکی احاطه شده‌اند)
Cod-end	باگت (بخش انتهایی تور که در آن پلانکتون جمع می‌شود)
Corer	مغزه‌گیر

D

Dessicator	دسیکاتور
Data protection management	مدیریت حفاظت از داده‌ها
Detritus	دتریتوس (مواد آلی پوسیده)
DNA	دی ان ای
Dredge	لایروب

E

Electrophoresis	دستگاه الکتروفورز

F

Filteration	صافی کردن
Flowmeter	فلومتر
Fluorometer	فلورسنج نوری

omoorepeyman.ir

G

GIS	سامانه اطلاعات مکانی (سامانه موقعیت‌یاب جهانی)
Grab	گرب (نمونه‌بردار رسوب)

I

Incubation	انکوباسیون یا تفریخ
Inverted microscope	میکروسکوپ معکوس

M

Manifold	منی فلد
Massenger	وزنه رها کننده
Meiofauna	کفزیان میو فونا

N

Neuston	نوستون (پلانکتونهای نزدیک به سطح دریا)
Nannoplankton	نانوپلانکتون (فیتوپلانکتون‌های ریز با اندازه ۲ تا ۲۰ میکرومتر)
Niskin bottle	بطری نیسکین

P

Phytoplankton	فیتوپلانکتون (پلانکتون گیاهی)
PCR	دستگاه پی سی آر (واکنش زنجیره‌ای پلیمراز)
Piccoplankton	پیکوپلانکتون (پلانکتون‌های ریز با اندازه ۰/۲ تا ۲ میکرومتر)
Plankton	پلانکتون (شناورزی)
Plankton Recorder	دستگاه ثبت پلانکتونی

R

Rosette	روزت یا خوشه

S

Sedimentation	ته نشین شدن
Shackle	شگل
Slate	تخته شاسی زیر دریایی

omoorepeyman.ir

تقسیم‌گر	Splitter
پیپت استمپل	Stemple pipette

Z

زئوپلانکتون (پلانکتون جانوری)	Zooplankton

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

منابع و مراجع

1- APHA (1998), Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater American Public Health Association, 20th Edition. ISBN. 0-97553-235-7.

2- Armenteros, M., Ruiz-Abierno, A., Fernandez-Garces, R., Perez-Garcia, J.A., Diaz-Asencio, L., Vincx, M., Decraemer, W. (2009), Biodiversity patterns of free-living marine nematodes in a tropical bay: Cienfuegos, Caribbean Sea. Estuarine, Coastal and Shelf Science 85, pp.179–189.

3- Bayha, K.M., Dawson, M.N. (2010), New family of allomorphic jellyfishes, Drymonematidae (Scyphozoa, Discomedusae), emphasizes evolution in the functional morphology and trophic ecology of gelatinous zooplankton. Biology Bulltein 219, pp.249–267.

4- Barratt, L. (1984), An ecological study of the rocky shores of the southern coast of Oman. Report by IUCN to UNEP Regional Seas Programme, Contract KA-0503-82-09 (2362), Tropical Marine Research Unit. (abridged as IUCN/ ROPME/UNEP, 1986. UNEP Regional Seas Reports and Studies No. 71. 14 pp.).

5- Bass, D. K., Miller, I. R. (1996), Crown-of-thorns starfish and coral surveys using the manta tow and scuba search techniques. Long-term Monitoring of the Great Barrier Reef SOP No 1, Australian Institute of Marine Science, 33 p.

6- Çiftci, Y., Okumuş, İ. (2002), Fish Population Genetics and Applications of Molecular Markers to Fisheries and Aquaculture: I-Basic Principles of Fish Population Genetics. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2, pp. 145-155.

7- Cloern, J.E., Foster, S.Q., Kleckner, A.E. (2014), Phytoplankton primary production in the world's estuarine coastal ecosystem. Biogeosciences 11, pp. 2477–2501.

8- Douglas, R. G. (1979), Benthic foraminiferal ecology and paleoecology: a review of concepts and methods. In: Lipps, L. H., Berger. W. H., Buzas, M. A., Douglas, R. G., Ross, C. A. (eds.) Foraminiferal ecology and paleoecology. Society of Economic Paleontologists and Mineralogists, Short Course notes Vol. 6, Houston, pp. 21-53.

9- English, S., Wilkinson, C., Baker, V. (1997), Survey Manual for Tropical Marine Resources. Austr.Inst.Mar.Sci., Townsville, Australia: pp. 378.

10- EPA methods, SW-846.1996. Method 3630C, SILICA GEL CLEANUP, Revision 3; method 3550: ULTRASONIC EXTRACTION, Revision 2.

11- Esteves, A. M., Silva, V.M.A.P. (1998), The behavior of sugar flotation technique in meiofauna extraction from different sand types. Trop. Ecol., 39 (2), pp-283-284.

12- Fleeger, J. W., Thistle, D., Thiel, H. (1988), Sampling equipment.In: Higgins. R. P., Thiel, H. (eds.) Introduction to the study of meiofauna. Srnithsonian Institution Press, Washington, D.C., pp. 115-125.

13- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R. (1994), DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3, pp. 294– 299.

14- Gerlach, S.A. (1953), Die Biozonotische Gliederung der Nematodenfauna an den Deutschen Kusten. Zeitschrift Morphologie und Okologie der Tiere 41, 411–512.

15- Giere, O. (2009), Meiobenthology: The Microscopic Motile Fauna of Aquatic Sedi-ments, 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

16- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., DeWaard, J.R. (2003), Biological identifications through DNA barcodes. Proc. R .Soc. Lond. B. Biol. Sci. 270, pp. 313–321.

omoorepeyman.ir

17- Heip, C., Vincx, M., Vraken, G. (1985), The ecology of marine nematodes. Oceanogr. mar. Biol. Ann. Rev. 23, pp. 399-489.
18- Hill, J., Wilkinson, C. (2004), Methods for Ecological Monitoring of Coral Reefs. Version 1: A Resource for Managers. Austr.Inst.Mar.Sci.Townsville, Australia, p. 117.
19- Kapuscinski, A.R. Jacobson, L.D. (1987), Genetic guidelines for fisheries management. University of Minnesota Sea: Minnesota Sea Grant college program, Minnesota Sea Grant Research Report 17, Duluth.
20- Liu, Z.J., Cordes, J.F. (2004), DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture, 238, pp. 1-37.
21- Mabuchi, T., Kokubun, H., Mii, M., Ando, T. (2005), Nuclear DNA content in the genus Hepatica (Ranunculaceae). J.Plant Res., 118, pp. 37–41.
22- Moran, P.J., De'ath, G. (1992), Suitability of manta tow method for estimating the relative and absolute abundance of crown-of-thorns starfish and corals. Austr.J.mar. Freshwat.Res., 43, pp. 357-378.
23- Murrell, M. C., Fleeger, J. W. (1989), Meiofauna abundance on the Gulf of Mexico continental shelf affected by hypoxia, Cont. Shelf Res., 9, pp. 1049–1062.
24- Okumus, I., Çiftci, Y. (2003), Fish population genetics and molecular markers: II-molecular markers and their applications in fisheries and aquaculture. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 3, pp. 51-79.
25- Omori, M., Ikeda, T. (1984), Methods in Marine Zooplankton Ecology. John Wiley & Sons, New York, 332 pp.
26- Rezvani Gilkolaei, S., Kavan, S.L., Safari, R. (2012), A Study of Genetic Structure of Rutilus frisii kutum in Anzali Lagoon, Using Microsatellite Markers. Journal of Agricultural Science and Technology. 14, pp. 327-337.
27- Rogers, C.S., Garrison, G., Grober, R, Hillis, Z.M., Franke, M.A. (1994), Coral reef monitoring manual for the Carribean and Western Atlantic. Virgin Islands National Park, St. John, US Virgin Islands, 107, USA.
28- Smith, D. R., Taylor, O.R. Brown, W. M. (1989), Neotropical Africanized honey bees have African mitochondrial DNA. Nature 339, pp. 213-215.
29- Soltwedel, T. Hasemann, C., Queric, NV, von Juterzenka, K. (2005), Gradients in activity and biomass of the small benthic biota along a channel system in the deep Western Greenland Sea. Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers 52 (5), pp. 815–835.
30- Uhlig, G.(1964), Eine einfache Methode zur Extraktion der vagilen mesopsammalen Mikrofauna Helgolander Wiss. Meeresunters, 11, pp. 178-185.
31- Verlencar, X.N., Desai, S. (2004), Phytoplankton Identification Manual, First Edition: March 2004, National Institute of Oceanography, Dona Paula, Goa, India.
32- Wieser, W. (1959), The effect of grain size on the distribution of small invertebrates inhabiting the beaches of Puget Sound. Limnol. Oceanogr. 4, pp. 181-194.
33- Zhang, D.X., Hewitt, G. (1997), Assessment of the universality and utility of a set of conserved mitochondrial COI primers in insects Insect Molecular Biology 6, pp.143-150.

omoorepeyman.ir

خواننده گرامی

امور نظام فنی اجرایی، مشاورین و پیمانکاران سازمان برنامه و بودجه کشور، با گذشت بیش از چهل سال فعالیت تحقیقاتی و مطالعاتی خود، افزون بر هفتصد عنوان نشریه تخصصی - فنی، در قالب آیین‌نامه، ضابطه، معیار، دستورالعمل، مشخصات فنی عمومی و مقاله، به‌صورت تالیف و ترجمه، تهیه و ابلاغ کرده است. ضابطه حاضر در راستای موارد یاد شده تهیه شده، تا در راه نیل به توسعه و گسترش علوم در کشور و بهبود فعالیت‌های عمرانی به کار برده شود. فهرست نشریات منتشر شده در سال‌های اخیر در سایت اینترنتی **nezamfanni.ir** قابل دستیابی می‌باشد.

omoorepeyman.ir

Abstract

Marine biology is the study of marine organisms, their behaviors and interactions with the environment. Marine biologists study biological oceanography and the associated fields of chemical, physical, and geological oceanography to understand marine organisms. Marine biology is a very broad area, so most researchers select a particular area of interest and specialize in it. Specializations can be based on a particular species, group, behavior, technique, or ecosystem. As growing global population stresses the ability of our society to produce food, water, and shelter, we will continue to look to the oceans to help sustain our basic needs. Advances in technology, combined with demand, will improve our ability to derive food, drinking water, energy sources, waste disposal, and transportation from the ocean. It will be up to this and future generations to build upon our existing knowledge of the ocean and its potential to help meet the needs of the world and its inhabitants. In this project, standard operation procedures (SOP) of different aspects (if not all) of marine biology and biological oceanography are explained step-wise. Efforts are made to include SOP of recent methods employed in particular in the Persian Gulf and the Sea of Oman. In addition, efforts have been made to incorporate as many pictures as possible on the oceanographic equipment so the reader could better understand the methodologies involved.

omoorepeyman.ir

Islamic Republic of Iran
Plan and Budget Organization

Standard Operating Procedures for Biological Oceanography

No . 795

Deputy of Technical, Infrastructure and Production Affairs

Department of Technical and Executive Affairs, Consultants and Contractors

nezamfanni.ir

Ports & Maritime Organization

Directorate General for Coastal and Port Engineering

http://www.pmo.ir/

2019

omoorepeyman.ir

omoorepeyman.ir

این ضابطه

با عنوان «راهنمای اندازه‌گیری مشخصه‌های زیست دریایی»، موضوعات کلی زیست دریا، اندازه‌گیری‌های مورد نیاز برای ارزیابی اثرات زیست‌محیطی، روش‌های عملیاتی استاندارد فیتوپلانکتون و زئوپلانکتون‌ها، تعیین کلروفیل، کفزیان، بررسی جزر و مدی، مطالعات مولکولی و تولید اولیه به منظور بررسی‌های زیست دریا مورد توجه قرار گرفته است.

omoorepeyman.ir