الفصل الرابع

طرق التحليل البيولوچى للماء

Methods of Biological Analysis of Water

قبل أخذ العينة يجب الوقوف على إجابات بعض الأسئلة التي يجب أن يسألها لنفسه الباحث ، مثلاً : أي الكائنات تعتبر هامة ؟ وهل يتطلب الأمر معلومات كمية أو وصفية كلاهما ؟ متى وأين يجب أخذ العينة ؟ كم عدد العينات الواجب جمعها ؟ ما هي أفضل طرق جمع العينات ؟ كيفية حفظ العينات على ضوء المعلومات المطلوب جمعها من هذه العينات ؟ كيفية عدّ العينة ؟ .

أولا : البلانكتون النباتي Phytoplankton :

جمع العينة :

أكثر طرق جمع العينات انتشارا هي استخدام شبكة البلانكتون Plankton Net ، إلا أنها ذات فائدة محدودة ؛ لأنه يصعب معها تقدير العدّ الكلي ، حجم العينة ، والتركيب النوعي . وشباك البلانكتون عالية الاختيارية ، وثقوبها تستبعد معظم البلانكتون الدقيق الهام غالبا (حتى ٦٥٪ من إجمالي الكتلة) . والطريقة الأفضل هي استخدام أواني العينات بملء أواني بلاستك من عمق ١٠سم تحت السطح . وإذا كان الماء فقير البلانكتون فيؤخذ عينة ٥ لتر ، وإذا كان الماء وفير البلانكتون فتؤخذ العينة بحجم لتر واحد لفحص وعدّ كل الأنواع الشائعة . وهناك أوان لجمع عينات من أعماق مختلفة لدراسة التوزيع الرأسي .

حفظ العينة :

العينات التي ستفحص خلال ساعات قليلة من جمع العينة يجب حفظها باردة (يفضل ثلاجة) ، وإلا فيجب تثبيت وحفظ العينة باستخدام فورمالين ١٠٪ ، أو محلول يود لوجول Lugol's Iodine ، إلا أن الفورمالين يعيبه أنه يؤدي إلى طفو الطحالب الخضراء المزرقة الهشة .

ويتكون محلول يود لوجول من ١٠ جم يود + ٢٠ جم يوديد بوتاسيوم + ٢٠٠ مل ماء مقطرا + ٢٠ جم حامض خليك ثلجيا (يضاف قبل الاستخدام بعدة أيام) في آنية زجاج داكنة . ويضاف للعينة بنسبة ١ : ١٠٠٠ . ويعمل يود لوجول على الترسيب لكن يتلف أو يشوه بعض الطحالب الخضراء .

التقدير:

لفحص البلانكتون النباتي والتعرف عليه وعده ينبغي تركيزها من عينة الماء ، وذلك بالترسيب أو الطرد المركزي أو كليهما . ويتم الترسيب بترك أواني العينات ساكنة ، ثم سحب الرائق بنظرية السيفون لتترك الطحالب مركزة في حجم صغير من العينة (٥-٢٥ مل على حسب عدد الطحالب وطريقة الفحص) . ويمكن طرد العينات مركزيا لمدة ٢٠ دقيقة لسرعة الترسيب إلا أن ذلك يتلف الأنواع الهشة Fragile Species .

التعرف على البلانكتون النباتي وعده يجرى باستخدام ميكروسكوب مركب أو مركب محول ، وأبسط طريقة بوضع نقطة عينة على شريحة ، وتغطيتها بغطاء شريحة وفحصها على القوة الصغرى (٤ × أو ١٠×) ثم القوى الكبرى (٤٠×) للعدسات الشيئية أو الميكروسكوب المركب . ولسوء الحظ فإن تقسيم البلانكتون النباتي معقد جدا لدرجة أنه يصعب غالبا توزيعها على أنواع .

ولعد الطحالب – كذلك – مشاكلها ، فهل يجب عدّ كل الخلايا في المستعمرة ؟ أم يجب فقط تسجيلها كمستعمرة أي كوحدة ؟ فهذا يعتمد على ما إذا كان الواجب تسجيل كثافة الطحالب كخلايا في المليلتر أو كوحدات (مستعمرات) في المليلتر ، والأكثر شيوعا هي الأخيرة ، مع عدم الأخذ فى العدد الخلايا الميتة أو المكسرة . وأفضل طرق عدّ الطحالب باستخدام شريحة ميكرومترية ، أي شريحة مزودة بحقل للعد يحجز حجم معلوم من العينة ومنها خلايا Sedgwick - Rafter (S-R) وهي بطول ٥٠ م وعرض ٢٠ م وعمق ١ م وحجمها الكلي ١ مل ، فتملأ الخلية وتغطي لعزل فقاقيع الهواء وتترك ١٥ دقيقة ساكنة لترسيب البلانكتون . احسب عدد الأنواع في ١٠ حقول أو أكثر . استخدم المعادلة التالية :

$$\text{العدد / مل} = \frac{\text{ع} \times ١٠٠٠}{\text{م} \times \text{ق} \times \text{ح}}$$

حيث ع = العد الكلي للكائنات المعدودة

م = مساحة الحقل م^{٢}

ق = عمق الحقل م

ح = عدد الحقول المعدودة .

ثانيا : البلانكتون الحيواني :

جمع العينة :

هناك مشاكل في الدراسة الكمية للبلانكتون الحيواني ، لتوزيعها الفراغي غير المنتظم

والندرة النسبية للأنواع الأقل انتشارا ، كما أن عديدا من الأنواع لها هجرة رأسية على مدار اليوم . وتفضل أواني العينات سابقة الاستخدام في عينات البلانكتون النباتي وذلك لجمع البلانكتون الحيواني الدقيق Nannozooplankton كالبروتوزوا والقشريات في أطوارها غير الناضجة ، إلا أن البلانكتون الحيواني الأكبر يجمع بشبكة ؛ لأنها يمكن أن تهرب من ممر آخذ العينات . ويتوقف حجم الثقوب وطول الشبكة وطريقة السحب وحجم فوهتها وغيرها على نوع الدراسة المطلوبة . وأفضل مواد الشباك من النيلون الذي لاينكمش بالبلل متجانسة في حجم الثقوب ، ويفضل حجم ثقوبها ٥٠ ميكرومتر للبلانكتون الحيواني الصغير ، بينما شباك ثقوبها ١٢٦ ميكرومتر تكفي للأنواع الأكبر .

وهناك أنواع (Rotifers) لايمكن جمعها كميا بالشباك حتى لو كان حجم ثقوبها ١٠ ميكرومتر . ويمكن أخذ عينة سطحية بسيطة بسحب الشبكة خلف قارب أو جرها عبر حوض ، إلا أن للدراسات الكمية أو التوزيعية ينبغي استعمال طريقة أدق . ويمكن أخذ عينات مجمعة بأخذ سحبة رأسية من القاع للسطح ، فيكفي الماء لترشيحه وجمع الأنواع الأقل شيوعا . وفي أحواض السمك حيث يكون عمقها عادة أقل من ٣م فإنه يفضل أخذ ٥-٦ سحبات Hauls وتجميعها ، مع ارتفاع الشبكة بمعدل ٠,٥ – ١م / ثانية ، ويقدر الحجم المرشح من المعادلة :

ح = ع ط نق^{٢} .

حيث ح = حجم الماء المرشح م^{٣}

ع = عمق عينة الماء (م)

نق = نصف قطر فوهة الشبكة (م)

ط = ٧/٢٢ .

وعادة تؤخذ سحبات أفقية من أعماق مختلفة باستخدام قارب مثبت فيه حاجز معلق فيه شبكة بلانكتون حيواني ذات وزن ، كما تتطلب هذه الطريقة كذلك مقياس زاوية ويقدر العمق للشبكة بضرب طول السلك الممتد في جيب تمام الزاوية Cosine للسلك مع الرأسي وتظل زاوية السلك ثابتة بحفظ سرعة القارب ثابتة .

حفظ العينة :

تحفظ العينة في كحول إيثايل ٧٠٪ ، فورمالين منظم ٥٪ (مع كربونات ماغنسيوم لمعادلة أي حموضة) ، أو محلول يود لوجول . وإذا كانت العينات ستحفظ لفترة طويلة فيضاف ٥٪ جليسرين عادة لمنع البخر .

التقدير :

البلانكتون الحيواني في الماء العذب يتكون أساسا من Rotifers (غالبا صغيرة) ، قشريات Cladoceran Crustaceans (صغيرة إلى كبيرة) ، Ostracods (صغيرة) . بينما البلانكتون الحيواني في البحر متنوع كثيرا ، ويحتوي أشكال يرقية عديدة (Meroplakton) والتي تتطور إلى أشكال بالغة غير بلانكتونية .

البلانكتون الحيواني الدقيق Nannozooplankton بما فيه Rotifers يجب التعرف عليها وعدها أثناء فحص البلانكتون النباتي على شرائح العد . البلانكتون الحيواني الأكبر يفحص تحت ميكروسكوب مركب ويعد في شرائح عد أكبر ، وينسب عدد البلانكتون الكبير لكل متر مكعب من المعادلة :

$$\text{العدد / م}^3 = \frac{\text{ع} \times \text{ح}'}{\text{ح}'' \times \text{ح}'''}$$

حيث ع = عدد الكائنات المعدودة

ح' = حجم العينة المركزة (مل)

ح'' = الحجم المعدود فيه (مل)

ح''' = حجم العينة الصافي المرشح (م٣) .

ثالثا : اللافقاريات ساكنة القاع Benthos :

وهي حيوانات ترى بالعين المجردة ، ويجرى فحصها في دراسات مسح عامة ، أو لتقدير إنتاجها ، أو كجزء من دراسة التلوث وكلها تهم علماء الأسماك والاستزراع السمكي . فالمسح يفيد في معرفة ما إذا كان هناك تلوث ما قد حدث في الماضي القريب ، وإذا ما كان الملوث ساما أو عضويا . فالتلوث العضوي يحدد من أعداد الأنواع، بينما الأنواع القليلة التي توجد فتتواجد بأعداد كبيرة جدا . والملوثات السامة تبيد تقريباً كل الحيوانات الموجودة ما عدا الأنواع القليلة عالية المقاومة . فمسح Survey الحيوانات اللافقارية أكثر استخداما عن تحليل عينة ماء ، حيث إن عينة الماء تبرز عينة واحدة فقط أخذت في زمن بسيط معين، ولا تفيد كثيرا فيما حدث من هدم وتأثيرات على مدى بعيد في جودة الماء.

جمع العينات :

العينات الكمية والتعرف على حيواناتها على مستوى الأنواع شيء معقد . تجمع العينات بالكبش Grab والقلب Corer وأخذ عينات من قاع المجرى Stream-Bottom Sampler أو بالشبك . والكباش عبارة عن صندوق بفكين Jaws يرسل للقاع مفتوح الفكين ، ثم يغلق الفكين ميكانيكيا ، ثم يسحب لأعلى . وقد تجر شباك على إطار أبعاده

٣٠×٣٠سم على أن يكون طرف من الإطار على . عمق ٦سم على الأقل من القاع فتسحب أى حيوانات موجودة وتغسل داخل الشبكة ، وتستخدم في المياه الضحلة . أما القلابات فتستخدم في الأرض ذات الرواسب الطرية ، وفي مساحات صغيرة ، وتأخذ عيناتها في أنابيب من أعماق أكبر من غيرها .

حفظ العينة :

الأفضل حفظ العينة قبل تصفيتها ؛ لأن ذلك يقلل من خطورة تلف الحيوانات ذات الأجسام الطرية مثل Oligochaetes ، إلا أن ذلك يجعل من الصعب التعرف على الحيوانات الأخرى مثل الديدان Leeches و Turbellarians . وتحفظ العينات في ١٠ ٪ فورمالين أو ٧٠ ٪ إيثانول .

الفحص :

تركز اللافقاريات الكبيرة عادة ، وتفرز من الراسب الناعم بنخل العينة برفق خلال منخل قطر ثقوبه ٥٠٠ ميكرومتر . وهذه الأقطار تفقد عديداً من الحيوانات اللافقارية الصغيرة ويرقات Chironomid ؛ لذلك يفضل استخدام منخل قطر ثقوبه ٢٠٠ – ٣٠٠ ميكرومتر ، وإن كان ذلك يأخذ وقتاً أطول . وتفرز الحيوانات باستخدام ميكروسكوب مجسم Stereoscopic Microscope . وللتعرف على مستوى الأنواع فمن الضروري التعرف على أجزاء الفم ، أو تعد الحيوانات على شرائح باستخدام بولي فينيل لاكتوفينول والفحص تحت القوى الكبرى .

المراجع :

- Bogd, C.E.(1981) Water Quality in Warmwater Fish Ponds Auburn Univ. , Alabama .
- Carlbery , S. (1967) FAO Fish. Tech .Pap. NO 137 .
- Harris L.E (1985) in : Fish Feed Technology Reprent Aquaculture Development and Coordination Programme ADCP / REP / 80 / 11, FAO Rome pp: 141 - 142 .
- Laevastu . T. (1965) FAO Manuals in Fish. Sci No.1, Fascicule 1&9, FAO Rome .
- Stirling, H.P. (1985) Chemical and biological Methods of Water

analysis for aquaculturalists. Institute of Aquaculture , Univ . of Stirling , Scotland .

- Woyewode . A.D. et al . (1986) Can .Tech . Rep Fish & Aquatic Sci. No . 1448 .