

متابعة اثار النفايات البحرية على السلاحف البحرية



بروتوكول تجميع المعطيات حول ابتلاع النفايات
والتشابك معها بالنسبة للسلحفاة الضخمة الرأس
(*Caretta caretta* Linnaeus, 1758)

تحديد التوصيات

فريق عمل INDICIT ، 2018.

متابعة آثار النفايات البحرية على السلاحف البحرية. بروتوكول لتجميع المعطيات عن ابتلاع النفايات والتشابك معها للسحفاة البحرية ضخمة الرأس (*Caretta caretta* Linnaeus, 1758).

مخرجات الفقرة د 2.6 من المشروع الأوروبي "تنفيذ مؤشرات تأثير القمامة البحرية على السلاحف البحرية والكائنات الحية في الاتفاقيات الإقليمية لإقليم البحار وإطار الإستراتيجية البحرية في توجيهات المناطق"

(indicit-europa.eu).

اتفاقية منحة 11.0661 / 2016/748064 / SUB / ENV.C2 / بروكسل. 22 ص.

لأي أسئلة تتعلق بالبروتوكول ، يرجى الاتصال بـ :

coordination@indicit-europa.eu



المقدمة

أ. معلومات عامة على العينات الحية والميتة

1 أ الملاحظات الأولى على موقع الاكتشاف

1. الاتصال..... 5
2. على السلاحف..... 5
3. على الموقع..... 5

2 أ وصف حالة جسم الحيوان

1. حالة الحفظ أو مستوى التحلل..... 6
2. ظروف الاكتشاف..... 6
3. الأسباب المحتملة للوفاة / الجنوح..... 7
4. الوضع الصحي..... 7
5. وسائل الصيد المتسببة في الصيد العرضي..... 7
6. الاصابات الرئيسية..... 8
7. الجزء المتضرر من الجسم..... 8
8. نوع التشابك..... 8
9. النفائات التي تسببت في التشابك..... 9
10. بيانات أخرى..... 9

3 أ القياسات البيومترية

ب. أخذ عينات النفائات البحرية من الجثث - البروتوكول الخاص بالحيوانات الميتة

1. تشريح جثة السلاحف..... 11
2. استخراج محتوى القناة الهضمية..... 12
3. استخراج الحطام البحري..... 12

ج - أخذ العينات البحرية من البراز - البروتوكول الخاص بالحيوانات الحية

1. جمع البراز..... 13
2. جمع الحطام من البراز..... 13

د. تحليل النفائات وتصنيفها

1. تصنيف النفائات..... 14
2. جمع البيانات..... 15

المراجع

الملحق 1 - ورقة الملاحظات

الملحق 2 - قائمة المعدات

1. لاستعادة الحيوان وجمع العينات في موقع الاكتشاف..... 19
2. لجمع العينات الخاصة بالأفراد الميتة في المخبر واستخراج النفائات المبتلعة من الجهاز الهضمي..... 19
3. لجمع العينات من السلاحف الحية في مراكز الإنقاذ واستخراج النفائات من البراز..... 19

دليل استخراج الميكرو بلاستيك (اختياري)

1. الأعمال التحضيرية لضمان عدم التلوث..... 20
2. بالنسبة للحيوانات الميتة..... 20
3. بالنسبة للحيوانات على قيد الحياة..... 20
4. استخراج الحطام البالغ الصغر المبتلع..... 20

الغرض من البروتوكول التالي هو الاستجابة لمتطلبات توجيهات إطار الإستراتيجية البحرية (MSFD) الفاصلة بالمؤشر 10.2.1 "الاتجاهات في كمية ونوعية النفايات التي ابتلعها الحيوانات البحرية". برنامج INDICIT اقترح السلائف البحرية كمؤشر لدراسة تأثير ابتلاع القمامة البحرية على الكائنات الحية وذلك من خلال تطوير وتنفيذ مؤشر رئيسي واحد وهو "القمامة التي تبتلعها السلائف البحرية". تبرز هذه الوثيقة منهجيات موحدة لاستخراج القمامة المبتلعة من السلائف الميئة والحية. أجريت بعض التعديلات على المنهجية الأصلية التي تم صياغتها واقتبارها في إيطاليا منذ عام 2012 (Matiddi et al., 2013 MSFD TG Litter, et al., 2014), بعد التطبيقات الأولى (Matiddi et al., 2017) وضمن المشروع الأوروبي / SUB / 2016/748064 / GA n ° 11.0661 INDICIT (ENV.C2) وكذلك بفضل ردود أفعال مراكز الإنقاذ وشبكات جنوب السلائف.

يقترح جمع كل من المعايير "الأساسية" و "الاختيارية". تتوافق **المعايير الأساسية** (المشار إليها فيما بعد بالخط العريض) مع الحد الأدنى للمعايير الأساسية لتحديد شروط المؤشر. وتسمح **المعايير الاختيارية** (المشار إليها فيما بعد باللون الرمادي الغامق المائل) باكتساب مزيد من المعرفة بشأن سلوكيات السلائف واعتمادية ابتلاع النفايات وتفسيرين تحديد معايير المؤشر في عملية التنمية. كما يمكن أن تساعد المعايير الاختيارية في تقييم مدى ملاءمة مؤشرين جديدين بشأن آثار النفايات التي تجري عليها دراسات أولية ("تشابك العظام البحري مع الكائنات الحية" و "الميكرو بلاستيك الذي تبتلعه سلفاغة البحر والأسماك"). تبعا لدراسات مجموعة فرعية فنية تابعة لـ MSFD بشأن القمامة البحرية (Galgani et al., 2013)، وقرار اللجنة الجديد (القرار 2017/848 بتاريخ 17 مارس 2017)، اعتبر الحد الأدنى لجميع المواد المكونة للقمامة و التي يمكن أخذها في الاعتبار في مؤشر "القمامة التي تبتلعها سلائف البحر" هو 1 مم، بما في ذلك الميكرو-بلاستيك (5-1 ملم) و الماكرو- بلاستيك (< 5 مم).

توجد **ورقة ملاحظات** في الملحق. من أجل تسهيل تحليل البيانات والإحصائيات، يجب ملء البيانات في **الجدول الموحدة** طبقا لبرنامج INDICIT، وذلك من خلال احترام الوحدات و خيارات القائمة المقترحة، وتحديد الملاحظات أو الاقتراحات الأخرى في العمود الأخير "ملاحظة". **يجب ملء جميع المربعات**، إما عن طريق المعلومات (البيانات) أو عن طريق 0 أو "NA" (المعلومات غير متوفرة أو غير مدروسة).

ملاحظة: السلائف البحرية *Caretta caretta* هي نوع من الأنواع المحمية، لذلك لا يمكن إلا للأشخاص المصرح لهم التعامل مع الحيوانات الحية أو الميتة أو أجزاء منها. عند العثور على الحيوان، ينبغي الإبلاغ عنه والعمل على استعادته بالتنسيق مع السلطات المسؤولة. لاحظ أنه يتم طلب تصريح CITES إذا كان يجب إرسال أو استلام عينة أو جزء منها.

ملاحظة: يجب اتخاذ الاحتياطات الصحية للتعامل مع الحيوانات الميتة أو الحية لتقليل مخاطر الأمراض المعدية مثل الأمراض الحيوانية المنشأ. يجب أن يتم تمييز منطقة التدخل وحمايتها من المارة، ويستلزم ارتداء بدلة واقية مع نظارات وقفازات وأحذية مطاطية، ثم يتم فصلها وتطهيرها بعناية أو رميها. من الناحية المثالية، يمكن وضع زوج من القفازات المقاومة للقطع أسفل زوجين من القفازات، يتم تغيير أحدهما للكتابة أو في حالة القطع.

أ. معلومات عامة على العينات الحية والميتة

1 أ

الملاحظات الأولى على موقع الاكتشاف



ملاحظة: التقاط صور للحيوان قبل نقله مهم جداً للتحقق من حالة الاستعادة. يمكن استخدام متر قصد إعطاء بعد تقريبي للحجم في الصور.
في حالة أخذ صور يرجى تحديد ذلك في العمود المناسب لملف Excel.

2 أ

وصف حالة جسم الحيوان

1. حالة الحفظ أو مستوى التحلل

لاحظ الحالة وفقاً لهذه المستويات الخمسة:



المستوى 3: تحلل جزئي
الأعضاء الداخلية لا تزال في
حالة جيدة. تحلل ذاتي (تورم).
رائحة كريهة. تغيرات في لون
الجلد.



المستوى 4: تحلل متقدم
القشور الجلدية مرفوعة أو
مفقودة. بالإمكان قياس الطول
و التثبيت من وجود البلاستيك
المبتلع (فقط FO %) والتشابه
مع معدات صيد.



المستوى الخامس: محنط
جزء من الهيكل العظمي أو جزء
من الجسم مفقود. الأعضاء
الداخلية معروضة أو فقدت.



المستوى 2: طري
نضج حديث، سلخانة في
ظروف جيدة.



المستوى 1: على قيد الحياة

- بالنسبة للمستوى 1 ، يمكن إستخراج القمامة عبر تحليل البراز في مركز الإنقاذ.
- المستويات 2 و 3 كافية لتحليل ابتلاع القمامة عبر التشريح.
- المستوى 4 يسمح بقياس البيانات البيومترية وتقييم وجود / غياب البلاستيك المبتلع (لتقييم تواتر حدوث ابتلاع القمامة (أو الانتشار ، FO %)) والتشابه.
- المستوى 5 ، يتسم عادة بفقدان المواد المعدية و المعوية ، و من غير الممكن تحليل ابتلاع القمامة²

2. ظروف الاكتشاف

لاحظ الظروف بين الفئات 4:

- جنوح: وجد الحيوان جانحاً على الشاطئ أو في الخط الساحلي ،
- الصيد العرضي / مصائد الأسماك: الحيوانات التي يتم التقاطها من قبل الصيادين (مثل ابتلاع صنار ، محصور في شبكة ، يعيدها الصيادون ، وما إلى ذلك) ،
- وجدت في البحر: اكتشف الحيوان على سطح البحر ،
- مينة في مركز الإنعاش: وصل الحيوان حياً ، لكنه مات أثناء معالجته.

2 يمكن جمع بعض الأنسجة (العضلات ، وما إلى ذلك) وتخزينها في الكحول 95 درجة أو تجميد عند -20 درجة مئوية لمزيد من التحليل الجيني.

3. الأسباب المحتملة للوفاة / الجنوح

إذا كان ذلك ممكنا ، استنتج سبب الوفاة المحتمل أو سبب جنوح السلاحف الحية عن طريق الملاحظات الخارجية ، وإذا أمكن ، عن طريق مراقبة الأعضاء أثناء تشريح السلاحف الميتة. أيضا فحص تجويف الفم و تقصي وجود مواد دخيلة. ثم اختر من بين 10 فئات:

- **الصيد العرضي / ذات الصلة بصيد الاسماك :** وجود صنار مبتلع ، مرض انخفاض الضغط ، فرد محجوز في شبكة صيد (في هذه الحالة، يملأ العمود «نوع التشابك» و «النفائات المسببة للتشابك») ، غرق السلحفاة في معدات الصيد ... ،
- **التشابك في الحطام:** التشابك في حطام بخلاف نشاط الصيد. يرجى تعبئة العمود «نوع التشابك» و «الحطام المسبب للتشابك» ،
- **ابتلاع النفائات:** انسداد الجهاز الهضمي أو انتقابه أو أعراض أخرى ،
- **تصادم مع البشر:** تصادم مع زورق أو مروحة ، ضرب الحيوان بالسكين أو العصا أو الحربة ...
- **تصادم طبيعي:** على سبيل المثال ، هجوم سمك القرش ،
- **المرض الطبيعي:** متعلق بسوء التغذية ، مشكلة الطفو ، دنف ، التهاب الجلد ، التهاب الملتحمة ، التهاب الأنف ... ،
- **الزيوت:** الابتلاع أو التثريب الخارجي بالزيوت ،
- **صحي:** لا توجد أضرار أو إصابات أو أمراض ملحوظة ،
- **غير معروف:** من المستحيل معرفة سبب الوفاة / الجنوح ،
- **غير ذلك:** يرجى تحديد ذلك في عمود «الملاحظات».

4. الوضع الصحي

لاحظ الحالة الصحية وفقا لمستوى حالة الجسم (الشكل 2).



الشكل 2. الحالة الصحية من الملاحظة البصرية لشكل درع الصدر (طومسون وآخرون ، 2009)

5. وسائل الصيد المتسببة في الصيد العرضي

إذا تم العثور على الحيوان وقد وقع اصطياده بطريقة عرضية ، حدد من بين الفئات الست المقترحة، طريقة الصيد المتسببة :

- الصنار
- الصيد بالجر
- الصيد بالشباك العائمة
- الصيد بالقصبة
- غير محددة
- غير ذلك: يرجى التحديد في عمود "ملاحظات".

يرجى أيضا تحديد إذا أمكن في العمود "ملاحظات" المسافة من الساحل ومدة نشر الشبكة قبل أن يتم رفعها على متن القارب.

6. الإصابات الرئيسية

في حالة الإصابات ، يتم الإبلاغ عن النوع الرئيسي للإصابة (كسر أو بتر أو قطع أو كشط أو غير ذلك) حسب ماهو مبين في الشكل 3. أما بالنسبة للنوع الآخر ، فيرجى تحديده في العمود "ملاحظات".



كسر
على الدرع أو الرأس أو الفك
أو الصدر أو العظام، عادةً ما
يحدث بسبب الاصطدامات مع
القوارب.



بتر
جزئياً (واحد أو أكثر من الزعانف
يحتاج للبتر) أو كلي (واحد أو أكثر
من الزعانف مفقودة)



قطع
القطع أو القص الذي ينتج
عن طريق أنواع مختلفة من
الحطام عادة على الزعانف أو
الرقبة.



تآكل
فقدان أو ظهور نطاقات ناتجة عن
احتكاك المواد المتصقة بالحيوان أو
المسببة للتشابك.

الشكل 3. تصنيف الإصابات الرئيسية التي لوحظت في السلاحف البحرية

7. الجزء المتضرر من الجسم

إذا تعرض الحيوان لإصابة ، فأبلغ عن الجزء المصاب من الجسم :

- RFF: للزعنفة الأمامية اليمنى
- LFF: للزعنفة الأمامية اليسرى.
- RRF: للزعنفة الخلفية اليمنى ؛
- LRF: للزعنفة الخلفية اليسرى. **العنق؛ الدرع؛ الصدر؛ الرأس؛ أجزاء متعددة (إذا تأثرت عدة أجزاء من الجسم) أو غيرها (يرجى التحديد في العمود "ملاحظات").**

8. نوع التشابك

إذا وجدت السلحفاة متشابكة في الحطام البحري ، حدد نوع التشابك وفقاً لثلاث فئات:

- **نشط:** متعلق بمعدات الصيد النشطة ، على سبيل المثال ، تم إطلاق سراح السلحفاة من قبل الصياد ، أو تم قطع جزء من الشبكة لإطلاق سراح الحيوان أو أن الالحيوان قد قطعها بنفسه بعد التشابك. يعتبر وجود الصنار بمثابة تشابك نشط ،
- **السلبي:** السلحفاة متشابكة في حطام لا يتعلق بنشاط الصيد أو له علاقة بنشاط الصيد ولكن تم التخلي عنه في البحر لفترة طويلة (علامات القدم ؛ يرجى التحديد في العمود "ملاحظات") ،
- **غير محددة.**

9. النفائات التي تسببت في التشابك

إذا وجدت السلحفاة متشابكة في الحطام البحري ، حدد نوع النفائات التي تم العثور فيها على سلاحف بحرية متشابكة وفقا للفئات التالية (الشكل 4):

- قطع من شبكة صيد (N) ،
- خيط صيد وحيد (نايلون) (L) ،
- حبل أو كومة من الحبال (R) ،
- كيس من البلاستيك (Pb) ،
- الرافيا (Rf) ،
- اللدائن الأخرى (Ot) ،
- مواد متعددة (Mu) ،
- غير معروف (Unk) .

لكل فئة ، يرجى تحديد أو وصف عنصر الحطام المتشابك في العمود "ملاحظات". على وجه الخصوص ، تحديد النقاط المتعلقة بنشاط الصيد وإذا كانت معدات الصيد تحتوي ، على سبيل المثال. على الطحالب أو الأصداف ، وتبدو قديمة (مهجورة).



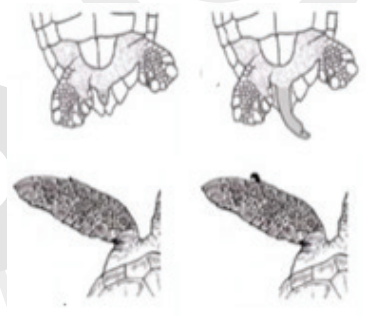
الشكل. 4. تصنيف القمامة المتسببة في تشابك السلاحف البحرية والكائنات الحية

10. بيانات أخرى

القيام بفحص بصري لاحتياطي الدهون الحيوانية في الرقبة. بالنسبة للحيوانات الميتة ، يمكن التحقق من ذلك عند فتح الدرع الصدري حسب كمية الدهون التي تغطي عضلات البطن (انظر أدناه ، الشكل 7 ج). اختر من بين 3 فئات:

- رقيقة (الرقبة غارقة)
- سمين
- عادي.

إذا كان ذلك ممكنا ، حدد جنس (ذكر أو أنثى) السلحفاة (الشكل 5) وفقا لطول الذيل والمخالب في الزعنفة الأمامية، وربما التأكد من ذلك مع الملاحظة البصرية للجهاز التناسلي خلال تشريح الحيوانات الميتة. خلاف ذلك ، حدد بواسطة NI (لعدم تحديد) إذا كان من غير الممكن تحديد الجنس.



الشكل 5. تحديد الجنس (Wyneken , 2001)

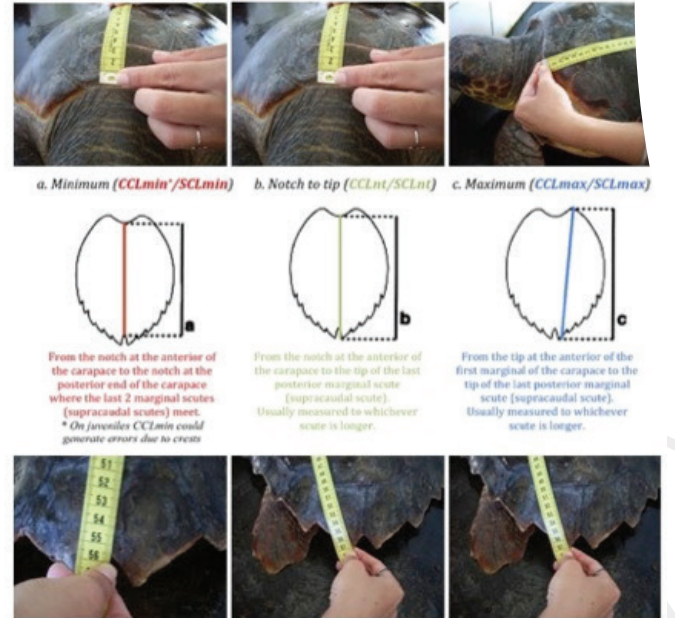
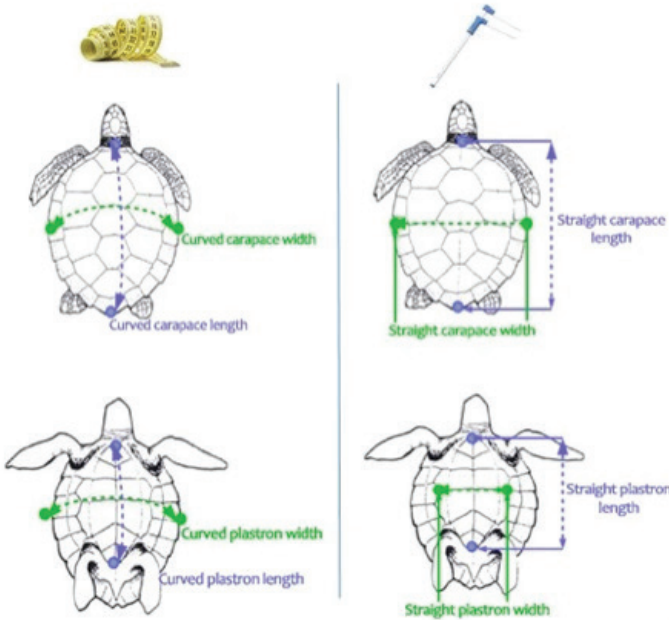
3أ

القياسات البيومترية

استنادا على الشكل 6 ، يمكن قياس العديد من أطوال الجسم الأساسية والاختيارية (بالسنتيمتر والدقة 0.01 سم) ، وكذلك الوزن (بالكيلوغرامات والدقة 0.01 غرام):

- **الطول الأقصى للدرع مقوسا (CCLmax)**
- **الطول الأدنى للدرع مقوسا (CCLmin)**
- **الطول الموحد للدرع مقوسا (CCL أو CCLnt)**
- **الطول الأقصى للدرع مستقيما (SCLmax)**
- **الطول الأدنى للدرع مستقيما (SCLmin)**
- **الطول الموحد للدرع مستقيما (SCLnt)**
- **طول الصدر مقوسا**
- **طول الصدر مستقيما**
- **عرض الصدر مقوسا**
- **عرض الصدر مستقيما**

استخدم شريط قياس لقياس الأبعاد المقوسة و مسماك للأبعاد المستقيمة.



الشكل 6. المعطيات البيومترية (أبعاد الدرع و الصدر).

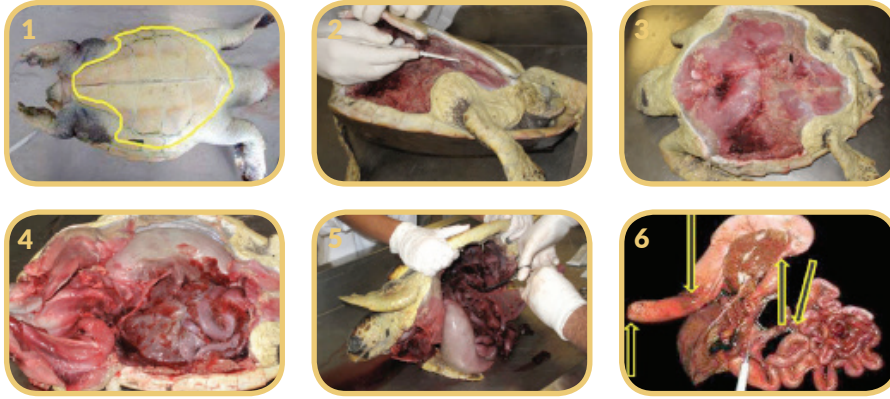
ب. أخذ عينات النفايات البحرية من الجثث البروتوكول الخاص بالحيوانات الميتة

في حالة وجود الحيوان متفلا (حالة المستويين 3 و 4) ، تتحقق من سلامة الجهاز الهضمي قبل نقل السلائف إلى المختبر. في أي حالة كانت (باستثناء حالة المستوى 5) ، إذا لم يكن بالإمكان القيام بالتشريح مباشرة، يجب تجميد الجثة في درجة مئوية 20-.

ب 1 تشريح جثة السلحفاة

اتبع الخطوات الموضحة في الشكل 7:

- إزالة وفصل الصدر عن الدرع من خلال قص الحافة الخارجية (الخط الأصفر) (الشكل 7 أ).
- الانتباه، وذلك باستخدام شفرة قصيرة أو القص مع إمالة الشفرة أفقياً حتى لا تؤثر على سلامة الأعضاء الداخلية (الشكل 7 ب).
- بمجرد الوصول إلى داخل الصدر ، قطع الرباط الموصل إلى حزام الصدر والحوض.
- تقييم احتياطات الدهون في الحيوان (الشكل 7 ج) وفقاً ل:
- ضمور العضلات الصدرية (لا شيء ، معتدل ، شديد) ،
- سماكة الدهون في التجاويف المفصليّة وفي الغشاء المغزلي (وفيرة ، طبيعية ، منخفضة أو لا شيء) ،
- ثم أكمل بتقدير الاحتياطات الدهنية التي تخبر الحالة الغذائية للحيوان (هزيل ، عادي الدهون).



الشكل 7. تسلسل تشريح السلحفاة: أ) منظر بطني لسلحفاة ميتة. يشير الخط الأصفر إلى طريقة فصل الصدر عن بقية السلحفاة. ب) القطع الأفقي لعدم الإضرار بالأعضاء الداخلية ؛ ج) نظرة بطنية للسلحفاة المفتوحة (يمكن ملاحظة احتياطات الدهون (البني) على العضلات) ؛ د) إزالة العضلة الصدرية والقلب ؛ هـ) استخراج الجهاز الهضمي ؛ و) صورة للجهاز الهضمي بأكمله. السهم باللون الأصفر يشير إلى حيث يجب وضع المشابك من أجل فصل أقسام الجهاز الهضمي المختلفة الثلاثة.

- إظهار الجهاز الهضمي عن طريق إزالة العضلات الصدرية وقلب الحيوان (الشكل 7 د و الشكل 7 و). يمكن إفراغ الدم من التجويف البطني عن طريق قلب السلحفاة بحرص على أحد جوانبها.
- شبك المري بالقرب من الفم وشبك الأمعاء، أقرب ما يكون إلى فتحة الشرج. أزل الجهاز الهضمي بالكامل وضعه على سطح الفحص. هذه العملية أسهل إذا قام بها ما لا يقل عن شخصين: الأول يبقي الحيوان متكناً على جانب واحد ، بينما يقوم الآخر بفصل الأربطة عن مختلف الأعضاء و نزع الأغشية من الدرع ومن ثم استخراج الجهاز الهضمي من الحيوان.
- عزل الأجزاء المختلفة من الجهاز الهضمي (المريء والمعدة والأمعاء) عن طريق القطع بين 2 من المشابك (الأسهم الصفراء ، الشكل 7 و) العضلة العاصرة المريئية والمثانة البوابية.

ملاحظة: إذا أمكن ، قم بتسجيل جنس الحيوان.

ب 2

استخراج محتوى القناة الهضمية

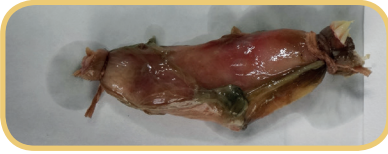
افصل الأجزاء الثلاثة من الجهاز الهضمي (المريء والمعدة والأمعاء) بإضافة مشبك ثانٍ عند حافة القطع لمنع انسكاب المحتويات (الشكل 18)³. فتح كل قسم من الجهاز الهضمي طولياً باستخدام مقص ووضع ما بداخله مباشرة في غريال 1 ملم⁴.

ملحوظة: كل عينة لا يمكن تحليلها مباشرة يجب أن توضع في زجاجة مناسبة أو كيس يغلق بإحكام، يتم تحديدها باستعمال قلم دائم غير قابل للفسخ وذلك بكتابة رمز تعريف الحيوان بالإضافة إلى الجزء المعني من الجهاز الهضمي. يقترح استخدام حرفين للبلد — حرفان للمنطقة / المؤسسة — السنة — الشهر — اليوم — رقم السلحفاة — نوع العينة (البراز / المريء / المعدة/ الأمعاء) (على سبيل المثال: **Oeso_9_12_03_2017_FR_GR** يتوافق مع المريء الشخص التاسع الذي تم العثور عليه من قبل مركز إنقاذ لو غراو دو روا في فرنسا ، في 12 مارس 2017). ثم يتم تخزين العينة عند -20 درجة مئوية ، في انتظار التحاليل المخبرية.

لاستخراج محتوى قسم من الجهاز الهضمي ، قم بتنظيف المحتوى بمياه الحنفية بغزارة (ب) لإزالة الجزء السائل ، والمخاط ، والمواد المهضمة والتي لا يمكن التعرف عليها⁵.

فحص محتوى وجود أي قطران أو نפט أو ، بشكل خاص ، أي مادة هشة ، من الواجب إزالتها ومعالجتها بشكل منفصل، تسجيل ذلك في العمود "ملاحظات" ملف Excel INDICIT.

شطف جميع المواد التي تم جمعها في الغريال 1 مم. الشكل 8 ب ، ج) وتخزينها في أوعية مع إضافة الكحول 70 ٪ أو في أكياس محكمة الغلق، وتسجيل رمز العينة (الرمز الخاص بالحيوان ورمز قسم الجهاز الهضمي المرادف له).



الشكل. 8. تحليل محتوى القناة الهضمية: أ) فصل أقسام الجهاز الهضمي: المريء (أعلى) ، المعدة (الوسط) والأمعاء (أسفل) ؛ ب) فتح القسم وغسل محتوى القناة الهضمية ؛ ج) محتوى القناة الهضمية المستخرجة.

ب 3

استخراج الحطام البحري

يتم جمع عناصر الحطام يدوياً عن طريق الملاحظة المرئية مباشرة من الغريال 1 ملم (الشكل 8 ج)⁶. سجل وجود أي انسداد في الجهاز الهضمي أو أي ثقب تسبب فيه الحطام في العمود "ملاحظات".

3 يتم تحليل الأجزاء 3 من الجهاز الهضمي (المريء والمعدة والأمعاء) منفصلة من أجل تقييم الاختلافات المحتملة في محتوى الحطام لكل قسم وتقييم العبور الهضمي للسمات البحرية بصفة أفضل.

4 لفصل الميكرو- مكونات (1 - 5 مم) عن الماكرو-مكونات (البيانات الاختيارية) ، يمكن تركيب غريال 5 مم فوق غريال 1 مم (انظر القسم 1 من هذه الوثيقة).

5 في هذه المرحلة ، يمكن جمع عينات لتحديد النظام الغذائي بفضل تحليلات الحمض النووي eDNA. يمكن طلب البروتوكول بواسطة البريد الإلكتروني coordination@indicit-europa.eu.

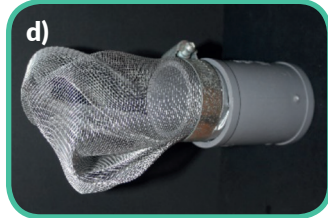
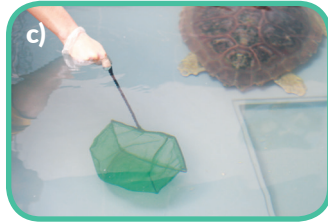
6 يمكن تخزين المحتوى البيولوجي من أجل تحليل النظام الغذائي وتحديد الفرائس الرئيسية المبتلة فيما يتعلق بالحطام البحري.

ج - أخذ العينات البحرية من البراز البروتوكول الخاص بالحيوانات الحية

ج 1 جمع البراز

ملاحظة: بالنسبة لتجانس المناهج التي تسمح بمقارنة السلاحف والمناطق مع مرور الوقت ، سيتم تحليل البراز الذي تم جمعه فقط للأفراد المتواجدين على الأقل لمدة شهر واحد في مركز الإنقاذ. يتم جمع البراز إلى غاية شهرين من وصول السلحفاة.

- شطف السلاحف بعناية بالماء لتجنب التلوث ووضع الحيوان في حوض فردي (الشكل 9 أ).
- وضع فلتر 1 ملم في جميع أنابيب التفريغ للخران (الشكل 9 ب).
- راقب المياه في الخزان يوميًا عن طريق الترشيح من خلال فلتر 1 مم وفقًا للأساليب التالية:
 - قم بجمع البراز يدويًا باستخدام شبكة 1 مم (الشكل 9 ج) ،
 - ضع جامعًا مرئيًا شبكيًا 1 مم في أنبوب التصريف (الشكل 9 د) ،
 - ضع غربالًا صلبًا 1 مم تحت المجرى (الشكل 9 هـ).



الشكل 9. تسلسل عملية جمع البراز. (أ) يتم وضع السلاحف في حوض فردي. (ب) وضع شبكة 1 مم على مستوى أنابيب التصريف (ج) شبكة 1 ملم لجمع البراز (د) شبكة لينة 1 مم يتم وضعها في أنبوب التصريف لتصفية خزان المياه (هـ) غربال صلب 1 مم لتصفية خزان المياه (ف) عينة مجمعة في غربال صلب.

ملاحظة: كل عينة لا يمكن تحليلها مباشرة يمكن أن تحفظ في أنبوب أو كيس محكم الغلق، يتم تحديده باستخدام علامة دائمة مع رمز الحيوان ورمز تعريف العينة. على سبيل المثال ، مع وجود حرفين للبلد - حرفان للمنطقة / المؤسسة - السنة - الشهر - اليوم - رقم السلحفاة - نوع العينة (على سبيل المثال: FR_GR_2017_03_12_9_ Faeces يتوافق مع البراز الذي يفرزه الحيوان التاسع الذي تم العثور عليه من قبل مركز إنقاذ لو غراو دو روي في فرنسا ، 12 مارس 2017). ثم يتم تخزين العينة في درجة -20 مئوية أو في الكحول 70° في درجة حرارة الغرفة. في انتظار التحليلات المخبرية.

ج 2 جمع الحطام من البراز

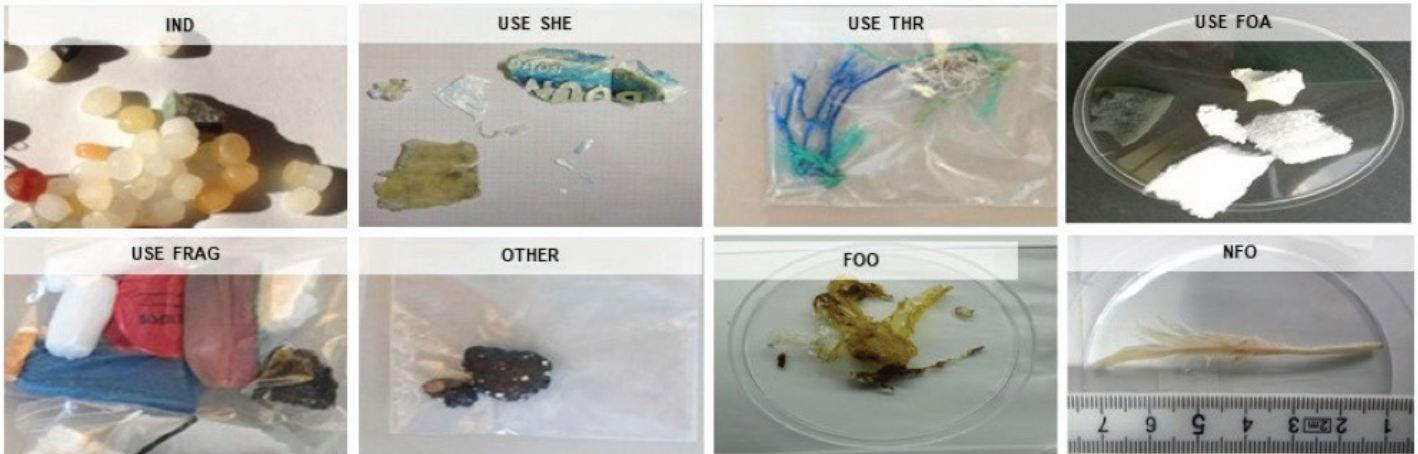
اغسل الغربال المجمع بمياه وفيرة فوق غربال صلب (شبكة 1 مم) (شكل 9و).
تتم عملية جمع الحطام يدويًا عن طريق الملاحظة المرئية مباشرة من الغربال 1 ملم.

د 1 تصنيف النفايات

حدد البروتوكول الذي تستخدمه ، بين "التشريح" أو "البراز". لكل قسم من الجهاز الهضمي للحيوانات المشرحة (القسم "ب" من هذه الوثيقة) أو للبراز (القسم "ج" من هذا المستند)، قم بتصنيف عناصر الحطام وفقاً للفئات التالية (الجدول 1، الشكل 10).

نوع	الشفرة	وصف
البلاستيك الصناعي	IND PLA	حبيبات بلاستيكية صناعية ، وعادة ما تكون أسطوانية ولكن يمكن أن تكون أيضا كروية، بيضاوية أو مكعبة أحيانا، أو عنصر صناعي مشتبه به، يستخدم في الأجزاء الكروية الدقيقة (زجاجي ، حليبي ...)
ورقة	USE SHE	بقايا ورقة ، على سبيل المثال من كيس ورقي، ورق غذائي، حاويات زراعية، أكياس قمامة ...
مشابهات الخيوط	USE THR	مواد تشبه الخيط ، على سبيل المثال قطع من أسلاك النايلون ، قطع من شبكات الصيد ، الملابس المنسوجة ...
الرغوة	USE FOA	جميع المواد البلاستيكية الرغوية على سبيل المثال رغوة البوليسترين ، المطاط اللين الرغوي (كما في تعبئة الحشايا) ...
شظايا	USE FRAG	الشظايا، القطع المكسورة من أنواع البلاستيك السميكة ، يمكن أن تكون مرنة بعض الشيء ، ولكنها ليست بمرونة المواد الشبيهة بالورق.
استخدامات أخرى من البلاستيك	USE POTH	أي نوع بلاستيكي آخر من البلاستيك ، بما في ذلك المطاط المرن ، والمطاط الكثيف ، ومرشحات السجائر ، وقطع البالون ، وطلقات الجو المرنّة ... سجل ذلك في العمود "ملاحظات".
قمامة أخرى غير البلاستيك	OTHER	جميع القمامة غير البلاستيكية والملوثات
غذاء طبيعي	FOO	الغذاء الطبيعي للسلاحف البحرية (على سبيل المثال ، قطع من سرطان البحر ، قنديل البحر ، والطحالب ...)
طبيعي غير الغذاء	NFO	أي شيء طبيعي ، ولكن لا يمكن اعتباره غذاء عاديًا للسلاحف البحرية (الحجر ، الخشب، الخفاف ، إلخ)

الجدول 1. تصنيف بنود الحطام للسلاحف البحرية.



الشكل 10. أمثلة من فئات القمامة المبتلعة من قبل السلاحف البحرية.

تم تعديل تصنيف بنود الحطام من قبل كونسورتيوم INDICIT ، بالاعتماد على توجيهات MSFD (Galgani et al. ، 2013) و على ملاحظات الشركاء والمتعاونين مع INDICIT (على سبيل المثال ، مراكز الإنقاذ وشبكات جنوب السلاحف). ويمكن التعرف على فئات الحطام بصريا وربما تأكيدها بواسطة الميكروسكوب المجسمي.

د 2

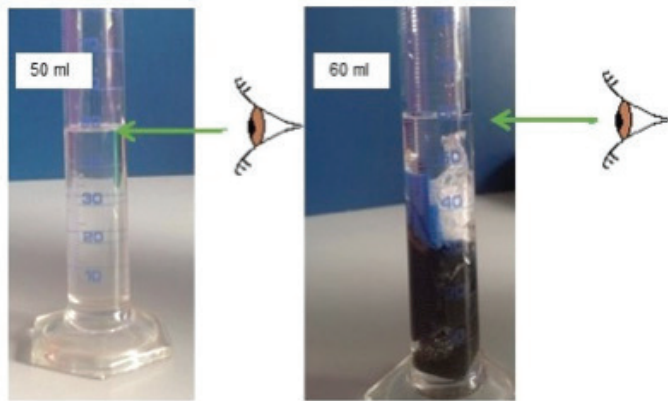
جمع البيانات

لكل قسم من أقسام الجهاز الهضمي أو من عينات البراز الكاملة للحيوانات الحية منذ شهر إلى شهرين من وصولها إلى مركز الإنقاذ ، قم بتسجيل **الكتلة الجافة من بقايا الطعام (FOO) وبقايا العينات الطبيعية التي لا تشكل غذاء (NFO)**، و سجل لكل فئة من القمامة المؤشرات التالية:

- **الكتلة الجافة (غرام ، دقة 0.01 جم):** تجفيف العينة في درجة حرارة الغرفة خلال 24 ساعة على الأقل أو في حاوية مراقبة الحرارة على درجة 35 مئوية خلال 12 ساعة ، وتسجيل الكتلة الجافة لكل فئة من فئات النفايات بالجرام ،
- **عدد العناصر:** تسجيل جميع العناصر التي تم عدها ،

بالنسبة لكل سلحفاة على حدة (عينات كاملة ، أي قسم الجهاز الهضمي الإجمالي للفرد الذي وقع تشريحه أو البراز كله الذي تم جمعه مدة شهر إلى شهرين من تاريخ وصوله إلى مركز الإنقاذ) ، سجل:

- **التواجد:** وجود أو عدم وجود نفايات مبتلعة ، 1 إذا تم العثور على حطام واحد على الأقل ، 0 إذا لم يتم العثور على أي حطام ،
- **كمية القمامة المبتلعة من حيث:**
 - **إجمالي الكتلة الجافة للنفايات (جرام ، دقة 0.01 جم):** مجموع الكتل الجافة المسجلة للمواد غير الطبيعية ، تجفيف العينة في درجة حرارة الغرفة خلال 24 ساعة على الأقل أو في حاوية مراقبة الحرارة على درجة 35 مئوية خلال 12 ساعة.
 - **إجمالي عدد المواد البلاستيكية:** حساب جميع المواد البلاستيكية الملاحظة (بالنسبة للفئات، USE THR ، USE SHE ، USE PLA ، IND PLA ، USE POT ، USE FRAG ، FOA) ، بغض النظر عن حجمها ،
 - **إجمالي حجم المواد البلاستيكية (المليلتر ، الدقة 0.01 مل):** قيس حجم جميع فئات البلاستيك (USE THR ، USE SHE ، IND PLA ، USE POT ، USE FRAG ، FOA) في اسطوانة مدرجة وتسجيل اختلاف مستوى الماء (الشكل 11). دفع الحطام العائم فوق الماء بواسطة قضيب أو مسطرة ،
 - **إجمالي عدد العناصر لكل فئة حجم:**
 - إجمالي عدد الميكروبيلاستيك (1 - 5 مم): حساب جميع المواد البلاستيكية التي يتراوح حجمها الأكبر بين 1 و 5 مم⁷ ،
 - إجمالي عدد الميزوبلاستيك (5 - 25 مم): حساب جميع المواد البلاستيكية التي يتراوح حجمها الأكبر بين 6 و 25 ملم ،
 - إجمالي عدد الماكروبيلاستيك (> 25 مم): حساب جميع المواد البلاستيكية التي يزيد حجمها الأكبر عن 25 ملم ،
 - **إجمالي عدد العناصر لكل فئة لون:**
 - إجمالي عدد المواد البلاستيكية الشفافة البيضاء: حساب جميع المواد البلاستيكية التي تكون بيضاء معتمة أو شفافة ،
 - إجمالي عدد المواد البلاستيكية ذات الألوان الداكنة: حساب جميع المواد البلاستيكية ذات اللون الغامق (الأسود والأزرق والبني والأخضر الداكن ...) ،
 - إجمالي عدد المواد البلاستيكية ذات الألوان الفاتحة: حساب جميع المواد البلاستيكية ذات الألوان الفاتحة (كريم ، أصفر ، وردي ، أخضر فاتح ...)⁸ ،



الشكل 11. يتطابق حجم عناصر الحطام مع الفرق بين الحجم مع الحطام (على اليمين) والحجم بدون الحطام (اليسار). تتم قراءة الحجم من خلال النظر في الجزء السفلي من الغضروف الذي يتكون على سطح المياه.

⁷ إذا تم استخدام غرايل (من 1 و 5 مم) عند غسل محتويات الجهاز الهضمي أو البراز ، فهذا يتوافق مع جميع المواد البلاستيكية الموجودة في غريال 1 مم. يمكن الاستدلال بالملحقات لبروتوكول تقييم الحطام الصغير في السلاحف البحرية.

⁸ يمكن تفصيل اللون في العمود "ملاحظات".

Bjorndal KA, Bolten AB, Chaloupka MY. (2000) Green turtle somatic growth model: evidence for density dependence. *Ecol Appl* 10:269–282

Camedda A., Marra S., Matiddi M., Massaro G., Coppa S., Perilli A., Rui A., Briguglio P. and de Lucia G.A. (2014) Interaction between loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) and marine litter in Sardinia (Western Mediterranean Sea). *Marine Environmental Research*. 100, 25-32.

Matiddi M., Hochscheid S., Camedda A., Baini M., Cocumelli C., Serena F., Tomassetti P., Travaglini A., Marra S., Campani T., Scholl F., Mancusi C., Amato E., Briguglio P., Maffucci F., Fossi MC., Bentivegna F., de Lucia G.A. (2017) Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta*): a Target Species for Monitoring Litter Ingested by Marine Organisms in the Mediterranean Sea. *Environmental Pollution*. 230, 199-209.

Matiddi M., van Franeker J.A., Sammarini V., Travaglini A., Alcaro L. (2011) Monitoring litter by sea turtles: an experimental protocol in the Mediterranean. *Proceedings of the 4th Mediterranean Conference on Sea Turtles*. 7-10 November, Naples.

MSFD TG Marine Litter: Hanke G, Galgani F, Werner S, Oosterbaan L, Nilsson P, Fleet D, Kinsey S, Thompson R, Palatinus A, Van Franeker J, Vlachogianni T, Scoullou M, Veiga J, Matiddi M, Alcaro L, Maes T, Korpinen S, Budziak A, Leslie H, Gago J, Liebezeit G. (2013) Guidance on Monitoring of Marine Litter in European Seas. EUR 26113. Luxembourg (Luxembourg): Publications Office of the European Union; 2013. JRC83985

Thomson J.A., Burkholder D., Heithaus M.R. and Dill L.M. (2009) Validation of a Rapid Visual-Assessment Technique for Categorizing the Body Condition of Green Turtles (*Chelonia mydas*) in the Field. *Copeia* 2009, No. 2: 251–255.

Wyneken J. (2001) The anatomy of sea turtles. US Department of Commerce NOAA technical memorandum NMFS-SEFSC-470, 172 p.

الملحق 1 - ورقة الملاحظات 2/1

ورقة الملاحظة - ابتلاع النفايات من السلاحف البحرية			
مجمع البيانات:		الرمز المحلي:	
المؤسسة:			
الاتصال:			
ظروف الاكتشاف:			
النوع	<input type="checkbox"/> <i>Caretta caretta</i>	<input type="checkbox"/> <i>Dermochelys coriacea</i>	<input type="checkbox"/> <i>Chelonia mydas</i> <input type="checkbox"/> أخرى
علامة فردية	رقم البطاقة: الرقاقة الإلكترونية رقم °		
الرمز الفردي: - - - - -	°CC	RR (Region)	YY MM DD n
تاريخ الاكتشاف (يوم/شهر/ سنة):			
الموقع	الإحداثيات X : الإحداثيات Y :		
الملاحظات	<input type="checkbox"/> المصيد العرضي / مصائد الأسماك <input type="checkbox"/> جنوح <input type="checkbox"/> ميتة في مركز الإنعاش <input type="checkbox"/> وجدت في البحر <input type="checkbox"/> غير محددة		
وسائل الصيد المتسببة في الصيد العرضي	<input type="checkbox"/> الصنار <input type="checkbox"/> الصيد بالجر <input type="checkbox"/> الصيد بالشباك العائمة <input type="checkbox"/> الصيد بالقصبة <input type="checkbox"/> أخرى <input type="checkbox"/> غير محددة		
الأسباب المحتملة للوفاة / الجنوح	<input type="checkbox"/> الصيد العرضي / ذات الصلة بصيد الأسماك <input type="checkbox"/> التشابك في الحطام <input type="checkbox"/> ابتلاع النفايات <input type="checkbox"/> تصادم مع البشر <input type="checkbox"/> تصادم طبيعي <input type="checkbox"/> المرض الطبيعي <input type="checkbox"/> الزيوت <input type="checkbox"/> صحي <input type="checkbox"/> غير معروف <input type="checkbox"/> غير محددة		
نوع التشابك	<input type="checkbox"/> نشط <input type="checkbox"/> سلبي <input type="checkbox"/> غير محددة		
النفايات التي تسببت في التشابك	<input type="checkbox"/> قطع من شبكة صيد <input type="checkbox"/> خيط صيد وحيد <input type="checkbox"/> حبل أو كومة من الحبال <input type="checkbox"/> كيس من البلاستيك <input type="checkbox"/> الرافيا <input type="checkbox"/> أخرى <input type="checkbox"/> غير محددة		
صور	أسماء الصور :		
حالة جسم الحيوان			
حالة الحفظ	<input type="checkbox"/> 1 - على قيد الحياة <input type="checkbox"/> 2 - طري <input type="checkbox"/> 3 - تحليل جزئي <input type="checkbox"/> 4 - تحليل متقدم <input type="checkbox"/> 5 - منحل		
الحالة الصحية (شكل درع الصدر)	<input type="checkbox"/> حالة سيئة درع الصدر مقعر <input type="checkbox"/> حالة مقبولة درع الصدر منبسط <input type="checkbox"/> حالة جيدة درع الصدر محدب <input type="checkbox"/> غير محددة		
الاصابات الرئيسية	<input type="checkbox"/> لا وجود لإصابات <input type="checkbox"/> كسر <input type="checkbox"/> بتر <input type="checkbox"/> قطع <input type="checkbox"/> تآكل <input type="checkbox"/> أخرى		
الجزء المتضرر من الجسم	<input type="checkbox"/> زعنفة (<input type="checkbox"/>) <input type="checkbox"/> الدرع <input type="checkbox"/> العنق <input type="checkbox"/> الرأس <input type="checkbox"/> الصدر <input type="checkbox"/> أخرى		
احتياطات الدهون	<input type="checkbox"/> ضعيف <input type="checkbox"/> سمين <input type="checkbox"/> عادي <input type="checkbox"/> غير محددة		
القياسات البيومترية			
الأبعاد المقوسة (صم 0,01)		الأبعاد المستقيمة (صم 0,01)	
CCLst	cm	SCLst	cm
CCLmax	cm	SCLmax	cm
CCLmin	cm	SCLmin	cm
CCW	cm	SCW	cm
CPL	cm	SPL	cm
CPW	cm	SPW	cm
الوزن (0,01 كغ)			
ملاحظات و تعاليق (الإكتشاف وظروف السلخانة)			

الملحق 1 - ورقة الملاحظات 2/2

الرمز الفردي: n°							
CC		RR (Region)		YY		MM DD	
استخراج القمامة المبتلعة							
بروتوكول <input type="checkbox"/> التشريح <input type="checkbox"/> ملاحظة من البراز <input type="checkbox"/>							
تاريخ الوصول / تاريخ المغادرة / تاريخ النفوق							
احتياطيات الدهون <input type="checkbox"/> قليلة <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> لدهون عادية							
يرجى الوصف							
حالة الأمعاء (لاحظ وجود أي مرض ، لون مشبوه ، انصباب مائع ، انتقاب ، وجود نطف ، إلخ):							
الجهاز الهضمي (لاحظ وجود أي مرض ، لون مشبوه ، انصباب مائع ، انتقاب ، وجود نطف ، إلخ):							
سلوك السلحفاة والعلاج:							
أحجام أقسام الجهاز الهضمي ومحتوى الأمعاء							
فارغة				ممتلئ			
V1-V0	vol (V0)	Vol (V1)	الوزن	V1-V0	vol (V0)	Vol (V1)	الوزن
المرئ							
معدة							
أمعاء							
قياسات الحطام البحري							
أمعاء		معدة		المرئ			
رقم	كتلة جافة	رقم	كتلة جافة	رقم	كتلة جافة		
						Ind. Plastic	
						USE SHE	
						USE THR	
						USE FOA	
						USE FRAG	
						Other (USE poth)	
						Non plastic	
						FOO (nat. Food)	
						NFO (nat. no food)	
						المجموع	
عدد العناصر		عدد العناصر		مجموع الحطام			
	أبيض شفاف		ميكرو (1 - 5 مم)		كتلة جافة		
	داكنة اللون		ميزو (5 - 25 مم)		عدد العناصر		
	ضوء ملون		ماكرو (أكبر من 25 مم)		الحجم		

الملحق 2 – قائمة المعدات

لاستعادة الحيوان وجمع العينات في موقع الاكتشاف

حبل (لوضع علامة على المنطقة)	قفازات	
قلم جاف	أقلام حبر دائم	
بدلة واقية متكاملة	الأحذية	
ورقة الملاحظات	صناديق النقل أو حاويات للسلحفاة	
النظارات والقناع الواقي	آلة تصوير	
وعاء / أكياس محكمة الغلق	كيس قمامة	
قفازات مقاومة للقطع	شريط قياس	
المبرد		

لجمع العينات الخاصة بالأفراد الميتة في المخبر واستخراج النفايات المتبلة من الجهاز الهضمي

في غرفة المختبر	للتشريح وجمع العينات
غرفة باردة أو مجمدات (-20 درجة مئوية) مع سعة تخزين كبيرة	المشابك (ما لا يقل عن 6) و / أو خيط قوي أو مشابك الكابل البلاستيكية
Proofer (غير إلزامي)	مشرط (ممكن مع شفرة قابلة للتغيير)
أكياس القمامة	مقص
للعاملين	ملقط مع مخالب
بدلة واقية متكاملة	حاويات معدنية
النظارات والقناع الواقي	حاويات للعينات (أوعية زجاجية / أكياس محكمة الغلق)
قفازات مقاومة للقطع	لتحليل النفايات المتبلة
قفازات	غريبال 1 مم
أحذية	غريبال 5 مم (اختياري - لدراسة الميكروبيلاستيك المتبلة (1 - 5 مم))
للملاحظات والتقرير	اسطوانات مدرجة (10 مل ، 25 مل ، 50 مل)
آلة تصوير	مسطرة
قلم جاف	ميزان الدقة (0.01 غرام)
ورقة الملاحظات	مجهر (اختياري)
أقلام حبر دائم	
للقياسات البيومترية	
شريط قياس	
مسمك	

لجمع العينات من السلاحف الحية في مراكز الإنقاذ واستخراج النفايات من البراز

في غرفة المختبر	لجمع العينات وتحليل النفايات المتبلة
مجمدات (-20 درجة مئوية)	أقلام حبر دائم
Proofer (غير إلزامي)	ورقة الملاحظات
أكياس القمامة	حاويات للعينات (أنابيب / أكياس محكمة الغلق)
للعاملين	غريبال 1 مم
نظارات وقناع الواقي (اختياري)	غريبال 5 مم (اختياري - لدراسة الميكروبيلاستيك المتبلة (1 - 5 مم))
قفازات	اسطوانات مدرجة (10 مل ، 25 مل ، 50 مل) (اختياري)
للملاحظات والتقرير	مسطرة (اختياري)
آلة تصوير	ميزان الدقة (0.01 غرام)
قلم جاف	مجهر (اختياري)
ورقة الملاحظات	شبكات الترشيح 1 مم (عند مستويات وصول المياه وتصريفها)
أقلام حبر دائم	شبكة أخذ عينات 1 مم
للقياسات البيومترية	كرات صغيرة ملونة قطر > 1 مم (اختياري)
شريط قياس	
مسمك	

دليل استخراج الميكرو بلاستيك (اختياري)

1. الاعمال التحضيرية لضمان عدم التلوث

1. بالنسبة للحيوانات الميتة

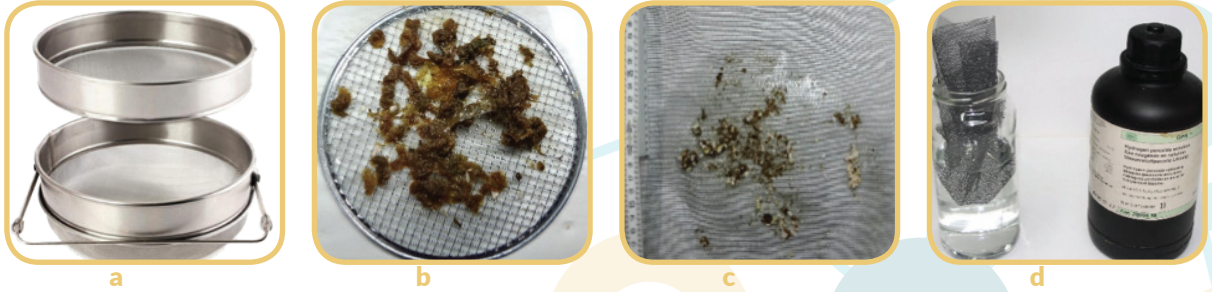
- قم بعمل غسيل شامل لأقسام الجهاز الهضمي قبل فتحه باستخدام ماء مفلتر عبر منخل شبكي 1 مم (مياه مفلترة).
 - قم بعمل غسيل شامل لجميع الأدوات المستخدمة أثناء تحليل محتوى القناة الهضمية و التعرف على الحطام.
2. بالنسبة للحيوانات على قيد الحياة

- قم بعمل غسيل شامل للسلاحف قبل وضعها في حوض أخذ العينات باستخدام المياه الجارية.
- وضع فلتر 1 مم في أنبوب نقل المياه لحوض أخذ العينات.
- نزع أحشاء المواد الغذائية المقدمة للسلاحف (السماك ، الحبار ، سرطان البحر ، الخ) من أجل تجنب التلوث الناجم عن إمكانية وجود الميكرو البلاستيك على مستوى هذا الغذاء.
- وضع حوض فارغ ("عينة تحكم") بالقرب من حوض أخذ العينات من أجل مراقبة تلوث الهواء.

2. استخراج الحطام البالغ الصغر المبتلع

من أجل تقييم الكتلة الجافة للحطام الصغير على وجه التحديد ، استخدم غربالين متراكبين صنف 1 و 5 ملم واجمع العينات التي يتراوح حجمها بين 1 و 5 ملم في الغربال صنف 1 مم. منهجيات جمع الحطام البالغ الصغر من القناة الهضمية ومن البراز متشابهة مع تلك المذكورة في النص (القسم دال من الوثيقة).

لفصل أفضل بين الحطام الصغير ، الذي قد يكون مموها في المحتوى البيولوجي ، يمكن اللجوء الى عملية الهضم الكيميائي للمواد العضوية وذلك بغمس كامل الفلتر 1 مم في محلول متكون من الماء الاكسيجيني H_2O_2 و من البوتاس / KOH ، والذي يتطلب من 12 إلى 24 ساعة اعتمادا على كمية العينة (الشكل 11).



الشكل 11. منهجية استخراج الحطام بالغ الصغر. (أ) طريقة الغربالين المتراكبين : (ب) العينة التي تم جمعها في الغربال الصلب 5 مم : (ج) عينة مجمعة في الغربال المرن 1مم : (د) هضم المواد العضوية لعينة 1مم في الماء الاكسيجيني H_2O_2 .