

ارزیابی تجمع میکروپلاستیک‌ها در وزغ سبز (*Bufotes sitibudus*) به عنوان شاخص زیستی در چشمه بلاغ استان مرکزی با استفاده از AFM و FTIR

معصومه نجیب زاده^{۱*}، امیر انصاری^{۲*}

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، m-najibzadeh@araku.ac.ir

۲- گروه علوم و مهندسی محیط زیست، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، a-ansari@araku.ac.ir

خلاصه

میکروپلاستیک‌ها به عنوان آلاینده‌های پایدار محیطی، تهدیدی جدی برای اکوسیستم‌های آبی و موجودات زنده محسوب می‌شوند. هدف این مطالعه، بررسی تجمع میکروپلاستیک‌ها در وزغ سبز (*Bufotes sitibudus*) در چشمه بلاغ، شازند، استان مرکزی ایران و ارزیابی نقش دوزیستان به عنوان شاخص زیستی بود. نمونه‌برداری از دو ایستگاه با کاربری متفاوت شامل ایستگاه گردشگری با فعالیت انسانی بالا (ایستگاه ۱) و ایستگاه مرجع با حداقل اثر انسانی (ایستگاه ۲) انجام شد. از هر ایستگاه ۱۰ وزغ بالغ به صورت تصادفی انتخاب گردید و محتویات دستگاه گوارش با استفاده از فلوشینگ در محل جمع‌آوری شد. ذرات میکروپلاستیکی پس از هضم با اسید نیتریک، با میکروسکوپ نوری مشاهده و بر اساس شکل، رنگ و اندازه دسته‌بندی شدند، سپس تعدادی ذره به صورت تصادفی برای بررسی سطح با AFM و شناسایی نوع پلیمر با دستگاه FTIR آنالیز شدند. نتایج نشان داد که میانگین تعداد میکروپلاستیک‌ها در ایستگاه ۱ $(0.8 \pm 0.3/6)$ (ذره) به طور معناداری بیشتر از ایستگاه ۲ $(0.5 \pm 0.1/7)$ (ذره) بود ($p < 0.05$). ذرات غالباً به صورت الیاف و قطعات با اندازه کمتر از ۱ میلی‌متر با رنگ‌های تیره بودند و تحلیل AFM نشان داد که ذرات ایستگاه ۱ سطحی ناهموار و تخریب جزئی بیشتری داشتند. شناسایی پلیمرها با دستگاه FTIR نشان داد که ذرات عمدتاً از PET و PES تشکیل شده‌اند. یافته‌ها نشان می‌دهد که دوزیستان می‌توانند شاخص زیستی حساس و عملی برای پایش آلودگی میکروپلاستیک در اکوسیستم‌های آبی باشند و فعالیت انسانی و گردشگری تأثیر مستقیم بر تجمع میکروپلاستیک‌ها دارد. این مطالعه با بهره‌گیری از ترکیب روش‌های نوآورانه مانند AFM و FTIR، تصویری جامع از وضعیت آلودگی ارائه می‌دهد و می‌تواند راهنمایی برای مطالعات آینده و مدیریت محیط زیست باشد.

کلمات کلیدی: میکروپلاستیک، *Bufotes sitibudus*، شاخص زیستی، AFM، FTIR، چشمه بلاغ

۱. مقدمه

آلودگی میکروپلاستیک‌ها به عنوان یکی از چالش‌های زیست‌محیطی نوظهور، تهدیدی جدی برای اکوسیستم‌های آبی و موجودات ساکن آن‌ها محسوب می‌شود. این ذرات پلاستیکی با اندازه کمتر از ۵ میلی‌متر، می‌توانند از طریق منابع مختلف شامل تخریب پلاستیک‌های بزرگ، الیاف مصنوعی، و محصولات مصرفی وارد محیط زیست شوند و در محیط‌های آبی تجمع یابند (Razeghi et al., 2021). دوزیستان، به‌ویژه وزغ‌ها، به دلیل داشتن پوست نفوذپذیر و چرخه زندگی آبی-زمینی، حساسیت بالایی نسبت به آلاینده‌ها دارند و به عنوان شاخص‌های زیستی (شاخص زیستی) برای ارزیابی کیفیت آب و آلودگی میکروپلاستیکی به کار می‌روند (Najibzadeh et al., 2024). مطالعات نشان داده‌اند که میکروپلاستیک‌ها می‌توانند در دستگاه گوارش دوزیستان تجمع یابند و اثرات زیستی متعددی شامل التهاب، آسیب بافتی، اختلال در هورمون‌ها و تغییرات رفتاری ایجاد کنند (Soltani et al., 2023). چشمه بلاغ در شازند، استان مرکزی، به دلیل تنوع کاربری زمین شامل گردشگری، فعالیت‌های کشاورزی و سکونت‌های روستایی، محیطی مناسب برای بررسی اثرات انسانی بر آلودگی میکروپلاستیکی است. ایستگاه‌های با کاربری مختلف می‌توانند توزیع و نوع میکروپلاستیک‌ها را تحت تأثیر قرار دهند و نقش مهمی در مدیریت محیط زیست دارند (Jahedi et al., 2025). استفاده از تکنیک‌های نوآورانه برای شناسایی و بررسی سطح و ساختار میکروپلاستیک‌ها، مانند Atomic Force Microscopy (AFM)، امکان تحلیل دقیق‌تر ریزساختار ذرات، توزیع سطح و میزان تخریب آن‌ها را فراهم می‌کند (Tatlı et al., 2025). این روش برای ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی میکروپلاستیک‌ها در محیط‌های طبیعی کمتر به کار رفته است و نوآوری مطالعه حاضر محسوب می‌شود. با توجه به اهمیت دوزیستان به عنوان شاخص زیستی و نقش آن‌ها در زنجیره غذایی، مطالعه حاضر با هدف بررسی حضور و توزیع میکروپلاستیک‌ها در وزغ سبز (*Bufotes sitibundus*) در دو ایستگاه با کاربری متفاوت در چشمه بلاغ انجام شد و برای اولین بار از AFM برای تحلیل سطح ذرات استفاده گردید. این مطالعه می‌تواند داده‌های مهمی برای مدیریت و کاهش آلودگی میکروپلاستیکی ارائه دهد.

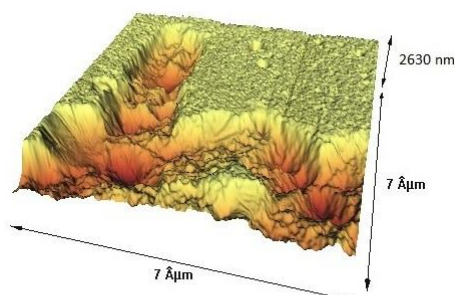
مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در چشمه بلاغ، واقع در شهرستان شازند، استان مرکزی ایران (مختصات جغرافیایی $55^{\circ}33'N$ و $55^{\circ}E$ ۱۸۰۴۹) انجام شد. دو ایستگاه با کاربری متفاوت انتخاب شدند تا تأثیر فعالیت انسانی بر آلودگی میکروپلاستیکی بررسی شود. ایستگاه شماره ۱ نزدیک چشمه با گردشگری بالا و فعالیت انسانی زیاد بود و ایستگاه شماره ۲ به عنوان ایستگاه مرجع با حداقل تأثیر انسانی در نظر گرفته شد. از هر ایستگاه، ۱۰ وزغ بالغ (*Bufotes sitibundus*) به صورت تصادفی انتخاب شدند. برای جمع‌آوری محتویات دستگاه گوارش، از تکنیک فلوشینگ (Flushing) در محل نمونه‌برداری استفاده شد. این روش به گونه‌ای انجام شد که با کمترین آسیب به جانور، محتوای گوارشی بیرون کشیده شده و وزغ‌ها پس از انجام فلوشینگ به همان محل طبیعی خود بازگردانده شدند (De Martini et al., 2006). این رویکرد امکان نمونه‌برداری غیرمخرب و حفظ جمعیت طبیعی را فراهم می‌کند و به عنوان یک استاندارد در مطالعات زیست‌محیطی و پایش میکروپلاستیک در دوزیستان توصیه شده است. محتویات جمع‌آوری شده پس از انتقال به آزمایشگاه، برای حذف مواد آلی با استفاده از اسید نیتریک (65% HNO_3) هضم شدند. این روش برای آنالیز میکروپلاستیک‌ها در نمونه‌های بافتی دوزیستان و ماهیان توصیه شده است و اثربخشی بالایی در حفظ ذرات پلاستیکی دارد (Razeghi et al., 2021). پس از هضم، محلول از فیلتر ۵۰ میکرون عبور داده شد و ذرات میکروپلاستیکی جمع‌آوری گردید.

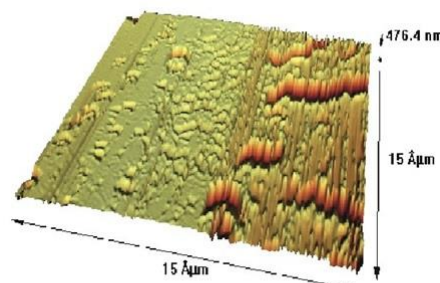
شناسایی و تحلیل ذرات شامل مراحل مختلف بود. ابتدا با میکروسکوپ نوری، ذرات شمارش و ویژگی‌های فیزیکی شامل شکل، رنگ و اندازه ثبت شد. سپس تعدادی از ذرات به صورت تصادفی برای بررسی سطح و ریزساختار با Atomic Force Microscopy (AFM) مشاهده شدند تا تخریب و زبری سطحی مشخص گردد (Tatlı et al., 2025). در مرحله بعد، با استفاده از FTIR، نوع پلیمرهای موجود در ذرات شناسایی شد و مشخص شد که ذرات غالباً از PET و PES تشکیل شده‌اند. داده‌های حاصل از شمارش و ویژگی‌های ذرات با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ تحلیل شدند. میانگین، انحراف معیار و پراکندگی ذرات در هر ایستگاه محاسبه شد و تفاوت میانگین تعداد ذرات بین دو ایستگاه با آزمون T مستقل بررسی شد. سطح معناداری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد تا نتایج از لحاظ آماری معتبر باشند. این روش‌ها امکان بررسی دقیق توزیع و ویژگی‌های میکروپلاستیک‌ها و تأثیر فعالیت انسانی بر آلودگی دوزیستان را فراهم ساخت.

نتایج

در مجموع، ۲۰ وزغ بالغ (*Bufotes sitibundus*) از دو ایستگاه مطالعه جمع‌آوری شدند. بررسی میکروپلاستیک‌ها نشان داد که تعداد ذرات میکروپلاستیکی در ایستگاه گردشگری با فعالیت انسانی بالا (ایستگاه ۱) به طور قابل توجهی بیشتر از ایستگاه مرجع (ایستگاه ۲) بود. میانگین تعداد میکروپلاستیک‌ها در هر وزغ در ایستگاه ۱ برابر با $0/8 \pm 3/6$ ذره و در ایستگاه ۲ برابر با $0/5 \pm 1/7$ ذره بود. دامنه توزیع در ایستگاه گردشگری ۲ تا ۵ ذره و در ایستگاه مرجع ۱ تا ۲ ذره بود، که تفاوت آماری بین دو ایستگاه با آزمون T مستقل معنادار بود ($p < 0/05$). این یافته‌ها نشان می‌دهد که فشار انسانی و گردشگری بالای ایستگاه ۱ باعث افزایش ورود میکروپلاستیک‌ها به محیط زیست و تجمع آن‌ها در دوزیستان می‌شود. در بررسی ویژگی‌های ذرات، شکل‌ها و رنگ‌های مختلفی مشاهده شد. بیشترین فراوانی مربوط به الیاف بود، در حالی که قطعات کوچک نیز دیده شد. رنگ غالب ذرات سیاه و بی رنگ بود، که احتمالاً ناشی از ورود پلاستیک‌های مصرفی انسانی و تخریب جزئی ذرات در محیط طبیعی است. طول ذرات عمدتاً کمتر از ۱ میلی‌متر بود، هرچند تعداد محدودی از ذرات کوچک‌تر نیز مشاهده شد. مشاهده AFM بر روی ذرات انتخاب‌شده به صورت تصادفی نشان داد که ذرات ایستگاه ۱ دارای سطح ناهموار و تخریب جزئی بیشتری بودند، در حالی که ذرات ایستگاه ۲ سطحی نسبتاً صاف و سالم داشتند (شکل ۱). تحلیل FTIR مشخص کرد که ذرات غالباً از پلی‌اتیلن ترفتالات (PET) و پلی‌استر (PES) تشکیل شده‌اند (شکل ۲).

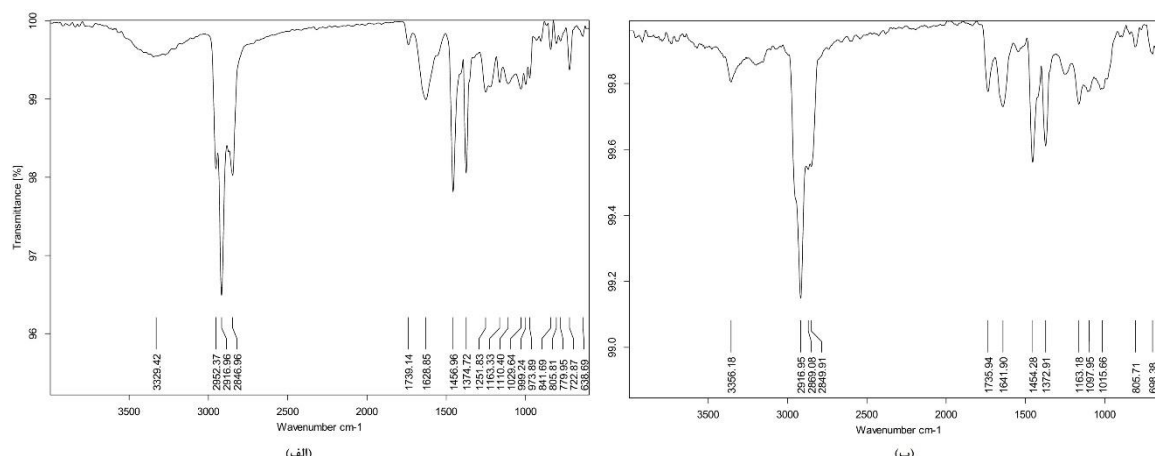


(الف)



(ب)

شکل ۱. تصاویر AFM از میکروپلاستیک‌های استخراج‌شده از دستگاه گوارش سبز از دو ایستگاه مختلف در چشمه بلاغ استان مرکزی. (الف) پلی‌اتیلن ترفتالات (PET) و (ب) پلی‌استر (PES).



شکل ۲. طیف‌های FTIR میکروپلاستیک‌های استخراج‌شده از دستگاه گوارش وزغ سبز: الف) پلی‌اتیلن ترفتالات (PET) و ب) پلی‌استر (PES).

بحث

مطالعه حاضر با هدف بررسی تجمع میکروپلاستیک‌ها در وزغ سبز (*Bufotes sitibundus*) در چشمه بلاغ، واقع در شازند استان مرکزی، انجام شد. یافته‌ها نشان داد که تعداد ذرات میکروپلاستیکی در ایستگاه گردشگری با فعالیت انسانی بالا (۱) به‌طور معناداری بیشتر از ایستگاه مرجع (۲) بود، که با مطالعات پیشین در ایران و جهان همخوانی دارد. به عنوان مثال، Razeghi و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که فعالیت‌های انسانی و گردشگری شدت ورود میکروپلاستیک‌ها به محیط‌های آبی را افزایش می‌دهد. همچنین، Soltani و همکاران (۲۰۲۳) در مطالعه خود بر روی گونه‌های آبی خلیج فارس، دریافتند که مناطق با فشار انسانی بیشتر، تعداد ذرات میکروپلاستیکی بالاتری دارند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که فعالیت انسانی، گردشگری و تخریب محیطی از مهم‌ترین عوامل افزایش تجمع میکروپلاستیک‌ها در اکوسیستم‌های آبی هستند. بررسی شکل، رنگ و اندازه ذرات نشان داد که الیاف و قطعات کوچک بیشترین فراوانی را داشتند و رنگ غالب سیاه و بی رنگ بود. این نتایج با یافته‌های Tatlı و همکاران (۲۰۲۵) همخوانی دارد که نشان داده‌اند ذرات الیافی و تیره بیشتر در محیط‌های تحت فشار انسانی تجمع می‌یابند. رنگ و شکل ذرات نه تنها بیانگر منابع انسانی هستند، بلکه اطلاعاتی درباره فرآیندهای تخریب محیطی و فرسایش ذرات نیز ارائه می‌دهند. ذرات ایستگاه ۱ سطحی ناهموار و تخریب جزئی بیشتری داشتند، در حالی که ذرات ایستگاه ۲ نسبتاً صاف و سالم بودند. مشاهدات AFM نشان داد که مواجهه ذرات با شرایط محیطی مانند نور خورشید، دما و حرکت آب، موجب زبری و تخریب سطحی می‌شود که می‌تواند اثرات زیستی و توان جذب مواد شیمیایی دیگر را افزایش دهد (Tatlı et al., 2025). تحلیل FTIR نشان داد که ذرات غالباً از PET و PES تشکیل شده‌اند. این یافته اهمیت بررسی منابع انسانی و مدیریت زباله‌های پلاستیکی را برجسته می‌کند و با مطالعات Razeghi و همکاران (۲۰۲۱) در ایران همخوانی دارد. حضور این پلیمرها در دستگاه گوارش وزغ‌ها نشان‌دهنده ورود مستقیم میکروپلاستیک‌ها به شبکه غذایی و احتمال اثرات زیستی است. وزغ سبز با پوست نفوذپذیر و حساسیت بالا به تغییرات محیطی، نشان داد که می‌تواند شاخص زیستی مناسبی برای پایش آلودگی میکروپلاستیک در اکوسیستم‌های آبی باشد. تفاوت میان دو ایستگاه مطالعه، تأثیر مستقیم فعالیت انسانی و گردشگری بر تجمع ذرات را برجسته می‌کند. یافته‌ها همچنین اهمیت استفاده از روش‌های غیرمخرب مانند فلوشینگ در محل نمونه‌برداری را نشان داد، که با حداقل آسیب به جمعیت طبیعی امکان نمونه‌برداری دقیق و تکرارپذیر را فراهم می‌کند (De Martini et al., 2006). این مطالعه با

ترکیب میکروسکوپ نوری، AFM و FTIR رویکردی نوآورانه ارائه کرد که امکان بررسی همزمان ویژگی‌های کمی، سطحی و شیمیایی ذرات را فراهم می‌سازد. این رویکرد می‌تواند به عنوان استاندارد برای مطالعات آینده و پایش محیط زیست مورد استفاده قرار گیرد و امکان تحلیل ریسک زیست‌محیطی میکروپلاستیک‌ها را بهبود دهد (Najibzadeh et al., 2024). با توجه به افزایش ورود میکروپلاستیک‌ها در مناطق تحت فشار انسانی، پیشنهاد می‌شود مطالعات آینده اثرات زیستی ذرات بر سلامت دوزیستان و دیگر موجودات آبی را بررسی کنند. همچنین، ارزیابی ترکیب ذرات با آلاینده‌های شیمیایی، فلزات سنگین و مواد مغذی می‌تواند تصویر جامع‌تری از ریسک اکولوژیک ارائه دهد. ارائه راهکارهای کاهش ورود پلاستیک‌ها به محیط طبیعی، آموزش جوامع محلی و مدیریت گردشگری در این مناطق ضروری است تا اثرات زیست‌محیطی میکروپلاستیک‌ها کاهش یابد. در نتیجه، این مطالعه نشان داد که دوزیستان می‌توانند شاخص زیست‌په‌ای حساس و عملی برای پایش آلودگی میکروپلاستیک باشند و ترکیب روش‌های نوآورانه، شامل AFM و FTIR، دید جامعی از وضعیت آلودگی ارائه می‌دهد. تفاوت میان ایستگاه‌ها اهمیت مدیریت انسانی و حفاظت از اکوسیستم‌های آبی را برجسته می‌کند و می‌تواند راهنمایی برای مطالعات آینده و سیاست‌گذاری محیط زیستی باشد.

قدردانی

بدینوسیله از سازمان محیط زیست استان مرکزی جهت کمک در انجام این مطالعه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

مراجع

- De Martini, L., Oneto, F., Pastorino, M.V., Salvidio, S., Buriola, E. and Bona, F., 2006. A non-lethal method to sample gastrointestinal parasites from terrestrial salamanders. *Amphibia-Reptilia*, 27(2), pp.278-280.
- Jahedi, F., Dehbandi, R., Talepour, N., Jaafarzadeh Haghighi Fard, N., Ravanbakhsh, M., Jorfi, S., Ahmadi, M. and Maleki, R., 2025. Abundance, distribution, and ecological risks of microplastics in urban and agricultural topsoil of Mian-Ab Plain, Iran. *Discover Applied Sciences*, 7(7), p.667.
- Najibzadeh, M., Kazemi, A., Hassan, H.U. and Esmaeilbeigi, M., 2024. Hazard assessment of microplastics and heavy metals contamination in Levant frogs (*Pelophylax bedriagae*): a bioindicator in Western Iran. *Environmental Research*, 262, p.119774.
- Razeghi, N., Hamidian, A.H., Wu, C., Zhang, Y. and Yang, M. (2021). Scientific studies on microplastics pollution in Iran: An in-depth review of the published articles. *Marine Pollution Bulletin*, 162, p.111901.
- Soltani, N., Amini-Birami, F., Keshavarzi, B., Moore, F., Busquets, R., Sorooshian, A., Javid, R. and Shahraki, A.R., 2023. Microplastic occurrence in selected aquatic species of the Persian Gulf: No evidence of trophic transfer or effect of diet. *Science of The Total Environment*, 892, p.164685.
- Tatlı, H. and Altunışık, A., 2025. Microplastic footprints in marsh frogs (*Pelophylax ridibundus*) from two Turkish lakes. *Environmental Sciences Europe*, 37(1), p.88.