دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان زیست

پایان نامه کارشناسی ارشد

پاسخ‌های رفتاری ماهی قزل‌آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مواجهه با برخی از تغییرات محیطی (دما و آمونیاک محلول)

پژوهش و نگارش

احمد محمدی یلسوئی

استاد راهنما

دکتر عبدالمجید حاجی مرادلو

استاد مشاور

دکتر رسول قربانی

دکتر ولی الله جعفری

تابستان ۱۳۹۳

چکیده

رفتار حاصل برهم کنش عوامل خارجی و داخلی است. لحظه بروز رفتار بعنوان یک شاخصه زیستی می‌تواند اطلاعات ارزشمندی از چگونگی شرایط فیزیولوژیکی و محیطی ماهیان در اختیار ما قرار دهد. هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی پاسخ‌های رفتاری ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مواجهه با برخی از عوامل محیطی (دما و آمونیاک محلول) بود. برای همین منظور ۱۶ ماهی در یگ گروه شاهد و سه تیمار آمونیاک (تیمار۱)، تیمار دما (تیمار۲) و دما و آمونیاک (تیمار۳) با چهار تکرار، در مخازن استوانه‌ای به حجم ۵ لیتر (ارتفاع ۱۰ سانتیمتر و قطر مقطع ۲۹ سانتیمتر) که دارای یک ورودی و خروجی آب بود، قرار گرفتند. زمان آزمایش در تمام تیمارها دارای دو بازه (رفت و بازگشت) ۴۲ دقیقه‌ای و یک بازه ۱۰ دقیقه‌ای (ثابت) بود. بازه زمانی رفت، زمانی است که دما و آمونیاک به ترتیت در تیمار دما و آمونیاک از ۱۷ درجه سانتیگراد برای تیمار دما و ۰.۰۲۵ برای تیمار آمونیاک به میزان ۳۲ درجه سانتیگراد در تیمار دما و ۱۰ میلیگرم در لیتر در تیمار آمونیاک رسید؛ بازه رفت برای تیمار دما و آمونیاک (تیمار۳) شامل افزایش همزمان دما و آمونیاک از میزان ۱۷ درجه سانتیگراد و ۰.۰۲۵ میلیگرم آمونیاک تا میزان ۳۲ درجه سانتیگراد و ۱۰ میلیگرم در لیتر آمونیاک بود. بازه زمانی بازگشت، زمانی است که دما و آمونیاک به ترتیب از ۳۲ درجه سانتیگراد برای تیمار دما و ۱۰ میلیگرم در لیتر برای آمونیاک به میزان ۱۷ درجه سانتیگراد در تیمار دما و ۰.۰۲۵ میلیگرم در لیتر در تیمار آمونیاک رسید. بازه بازگشت برای تیمار دما و آمونیاک (تیمار۳) شامل کاهش همزمان دما و آمونیاک به ترتیب از مقدار ۳۲ درجه سانتیگراد و ۱۰ میلیگرم در لیتر به ۱۷ درجه سانتیگراد و ۰.۰۲۵ میلیگرم در لیتر رسید. تمام مدت آزمایش الگوی حرکت شنای ماهیان به طور همزمان توسط دوربین فیلمبرداری دیجیتال(Canon, SX۲۳۰ Hs, ۵.۰–۷۰mm) ثبت گشت. الگو شنا شامل شش شاخصه‌ی میانگین سرعت شنا، کل مسافت طی شده، میزان حرکت شتابدار، درصد حرکت، میانگین تغییر جهت جابه-جایی و میانگین فاصله از مرکز بود. بین الگوی شنا در تیمار آمونیاک (تیمار ۱) در مقایسه با شاهد تفاوت معنادار وجود داشت ($P<0/05$). بین الگوی شنا در تیمار دما در مقایسه با شاهد تفاوت معنادار وجود داشت ($P<0/05$). بین تیمار دما و آمونیاک در مقایسه با شاهد تفاوت معناداری وجود داشت ($P<0/05$). بین الگوهای شنا بازه رفت در مقایسه بازگشت در تیمارهی مختلف اختلاف معنادار وجود داشت ($P<0/05$). بین الگوی شنا تیمارهای مختلف در مقایسه با یکدیگر اختلاف معنادار وجود داشت ($P<0/05$). کمترین میزان تحرک مربوط به بازه بازگشت تیمار آمونیاک بود و در مقابل آن بیشترین میزان تحرک مربوط به دما ۳۲ درجه سانتیگراد و غلظت ۱۰ میلیگرم در لیتر در تیمار دما و آمونیاک بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشاندهنده این موضوع بود که می‌توان از پاسخ‌های رفتاری بعنوان نشانه‌های اولیه تغییرات محیطی استفاده کرد.

کلمات کلیدی: پاسخ‌های رفتاری، الگوی شنا، قزل‌آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، تغییرات محیطی (دما و آمونیاک)

عنوان **صفحه**

فصل اول

مقدمه ۱

۱-۱ کلیات ۱

۱-۲ فرضیه ۲

۱-۳ هدف ۲

فصل دوم

بررسی منابع ۳

۲-۱ تحقیقات خارج کشور ٤

فصل سوم

مواد و روش ٦

۳-۱ ماهی ۷

۳-۲ آمونیاک ۷

۳-۳ دما ۷

۳-٤ طراحی سیستم ۷

۳-۵-۱ آزمایش سمیت آمونیاک ۸

۳-۵-۲ آزمایش اصلی ۸

۳-٦ تحلیل داده‌ها ۱۰

فصل چهارم

نتایج ۱۱

٤-۱ الگوی شنا ۱۲

٤-۱-۱ بازه زمانی۱-رفت ۱۲

٤-۱-۲ بازه زمانی۲-رفت ۱۲

٤-۱-۳ بازه زمانی۳-رفت ۱۳

٤-۱-٤ بازه زمانی٤-رفت ۱٤

٤-۱-۵ بازه زمانی۵-رفت ۱٤

٤-۱-۱ بازه زمانی۱-بازگشت ۱۵

٤-۱-۲ بازه زمانی۲-بازگشت ۱۵

٤-۱-۳ بازه زمانی۳-بازگشت ۱٦

٤-۱-٤ بازه زمانی٤-بازگشت ۱۷

٤-۱-۵ بازه زمانی۵-بازگشت ۱۷

٤-۲ آمونیاک ۱۸

٤-۲-۱ میانگین سرعت شنا ۲۱

٤-۲-۲ کل مسافت طی شده ۲۱

٤-۲-۳ حرکت شتابدار ۲۳

٤-۲-٤ درصد حرکت ۲٤

٤-۲-۵ تغییر جهت جابه‌جایی ۲۵

٤-۲-٦ فاصله از مرکز ۲٦

٤-٣ دما..... ٢٨

٤-٣-١ میانگین سرعت شنا..... ٣١

٤-٣-٢ کل مسافت طی شده..... ٣٢

٤-٣-٣ حرکت شتابدار..... ٣٣

٤-٣-٤ درصد حرکت..... ٣٤

٤-٣-٥ تغییر جهت جابه‌جایی..... ٣٥

٤-٣-٦ فاصله از مرکز..... ٣٦

٤-٤ دما و آمونیاک..... ٣٧

٤-٤-١ میانگین سرعت شنا..... ٣٩

٤-٤-٢ کل مسافت طی شده..... ٤٠

٤-٤-٣ حرکت شتابدار..... ٤١

٤-٤-٤ درصد حرکت..... ٤٢

٤-٤-٥ تغییر جهت جابه‌جایی..... ٤٣

٤-٢-٦ فاصله از مرکز..... ٤٤

فصل پنجم

بحث و نتیجه‌گیری..... ٤٥

٥-١ بحث و نتیجه‌گیری..... ٤٦

٥-٣ پیشنهادات پروهشی..... ٥١

٥-٤ پیشنهادات اجرایی..... ٥١

منابع ۵۲

فصل اول

مقدمه

۱–۱ کلیات

ماهیان نیز مانند سایر موجودات زنده جهت تامین بقا و گسترش نسل باید با محیط زیست خود سازش یابند (ایمانپور و زاد مجید، ۱۳۸۸). آبزی پروری علاوه براینکه یک صنعت رو به رشد در سالهای اخیر است، یک راهکار مطمئن برای تامین ذخایر اکوسیستم‌های طبیعی نیز می‌باشد (ساوتر[۱]، ۲۰۰٤). پرورش متراکم ماهی به خودی خود با موانعی همچون حمل ونقل، تراکم، تغذیه، کیفیت آب و بیماری همراه است (بینسون[۲]،۲۰۰٤)، این مشکلات منجر به کاهش کیفیت محیط آبی می‌شوند که کاهش سودآوری را به همراه دارند (کونته[۳]، ۲۰۰٤). شوری، دما، آمونیاک، کاهش اکسیژن محلول در آب و بیماری، از عوامل محدود کننده و تاثیرگذار در کیفیت محیط پرورش هستند (تیمونس و همکاران[٤]، ۲۰۰۲).

ماهی قزل‌آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به عنوان یک‌گونه طبیعی شناخته شده، در بسیاری از کشورهای جهان بعنوان یک‌گونه پرورشی معرفی و پذیرفته شده است. امروزه این‌گونه در بسیاری از کشورها از شمال قاره اروپا تا کشور ژاپن و از جمهوری فدرال روسیه تا جمهوری آفریقای جنوبی به بعنوان یک‌گونه پرورشی نگهداری و بهره‌برداری میشود (FAO)؛ دلیل این امر، سرعت رشد و کیفیت بالای پروتئین حاصل از آن است (تیکه اوغلو[۵]، ۲۰۰۰)؛ تولید ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به علت سازگاری ماهی با محیط متراکم پرورشی، داشتن رشد سریع و ضریب تبدیل غذایی و همچنین دوره‌ی نسبتا کوتاه تخم گشایی، امکان بارورسازی و تخم‌ریزی ماهی قزل‌آلا رنگین کمان در هر زمان از سال با ایجاد شرایط دمای بهینه به منظور رسیدگی جنسی، سودآور و بهینه است (مونرو و همکاران[٦]، ۱۹۸۷). بهترین بازه دمایی برای رشد و نگهداری آنها ١٤–٨ درجه سانتیگراد می‌باشد، البته در بازه ۲۰–٤ درجه سانتیگراد نیز دارای رشد و تغذیه می‌باشند (متشاک و همکاران[۷]،۱۹۹۸). میزان اکسیژن ($O_۲$) محلول در آب در شرایط بهینه برای ماهی قزل‌آلا رنگین کمان، باید بالاتر ۹ میلیگرم در لیتر (mg/L) باشد، همچنین کاهش میزان اکسیژن به سطح ۲.۵ میلیگرم در لیتر برای ماهی کشنده است. قزل‌آلا رنگین کمان توانایی تحمل افزایش اکسیژن را سطح۵۰ میلیگرم در لیتر را دارد (مونرو و همکاران، ۱۹۸۷). مقدار pH آب برای ماهی قزل‌آلا رنگین کمان بین ۸–۷ باشد و از میزان حداقل ٦.۵ و حداکثر ۸.۵ فراتر نرود (ضوابط صنعتی[۸]، ۱۹۸۸). میزان کشندگی (سمیت) آمونیاک با توجه به میزان pH و دما متغیر است، به گونه‌ای که با افزایش pH از ۷ به ۷.۳ حتی در دمای ثابت میزان سمیت آمونیاک دو برابر می‌شود. به همین دلیل میزان آمونیاک محلول در آب باید زیر ۰.۰۵ میلیگرم در لیتر (mg/L) باشد هرچند ماهی میزان آمونیاک محلول را تا مرز ۰.۱ در لیتر تحمل می‌کند (مدینور[۹]، ۱۹۹۵).

ماهیان موجودات خونسرد (poikilothermic) هستند. دمای بدن ماهیان برابر با دمای محیط آبی است. میزان متابولیسم ماهی قزل‌آلا رنگین کمان در دمای پایین نسبت به ۲۰ درجه سانتیگراد بیشتر و کارایی بالاتری دارد و در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد

---

۱ Soutar
۲ Bennison
۳ Conte
٤ Timmons et al.
۵ Tikeogly
٦ Munro et al.
۷ Matshak et al.
۸ Industry standard
۹ Medinor

بهترین عملکرد را دارد (اشمیت نیلسن[1]، ۱۹۹۱). بسیاری از ماهیان در محیط‌های طبیعی می‌توانند بازه وسیعی از تغییرات دمایی را را تحمل کنند؛ با این وجود افزایش دما نباید به شکل یکباره افزایش یابد و بعبارت دیگر شوک دمایی رخ دهد (اسودوبا و همکاران[2]، ۱۹۹۳؛ فینیستد و همکاران[3]، ۱۹۸۸).

آمونیاک موجود در محیط آبی به دو شکل یون آمونیاک (NH_4^+) و شکل مولکولی آمونیاک (NH_3) در محیط‌های آبی و مایعات زیستی یافت می‌گردد (ترستون و همکاران[4]، ۱۹۸۱) که شکل مولکولی آن برای آبزیان خطرناک است. آمونیاک با تاثیر بر عملکرد نورون‌ها بر فعالیت مغز اثر می‌گذارد (اسودوبا، ۱۹۹۳). مسمومیت با آمونیاک دارای نشانه‌های مختلفی مانند اضطراب، افزایش تنفس و زنش نامنظم سرپوش آبششی، شنای نزدیک به سطح، افزایش موکوس و رنگ پریدگی پوست، شنای شدید و از دست دادن تعادل می‌باشد؛ در موارد آلودگی شدید ما شاهد بیرون پریدن ماهی از آب، شنای نا متعادل و مرگ با دهان باز هستیم (ترستون و همکاران، ۱۹۸۱).

البته مطالعات مربوط به رفتارشناسی به آهستگی در حال گسترش است، زیرا تغییرات در رفتار ممکن است مربوط به عوامل زیست محیطی مانند شکار، صید طعمه، مقاومت در برابر استرس، طول عمر و تولید مثل باشد (کین و همکاران[5]، ۲۰۰۵). بنابراین آشنایی با رفتارهای خاص (طبیعی و غیر طبیعی) برای مدیریت عوامل استرس زا امری حیاتی است (کونته،۲۰۰٤؛ اشرک و همکاران[6]، ۱۹۹۷). توجه به ویژگی‌های رفتاری ماهیان در شرایط گوناگون برای مدیریت منابع آبی و کارگاه‌های تکثیر و پرورش آبزیان امری مهم است. نکته مبهم در مورد تغییرات رفتاری آن است که آیا تغییرات رفتاری در ماهیان دارای الگوهای یکسانی است یا ماهیان در مواجه با تغییرات محیطی الگوی یکسانی را بروز می دهند، شناخت همین امر برای مدیریت منابع آبی امری حیاتی است. شناخت هرچه بهتر و گسترده‌تر از ویژگی‌های رفتاری در کنار خصوصیات فیزیولوژیکی آبزیان و شناخت رابطه‌ی موجود بین این دو منجر به مدیریت کارآمدتر و موثرتری خواهد بود.

۱–۲ فرضیه

ماهی قزل‌آلا رنگین کمان در مواجهه با غلظت‌های مختلف آمونیاک و تغییرات دمایی الگوی رفتاری معناداری را نشان نمی‌دهد.

۱–۳ هدف

۱- تعیین الگوی رفتاری ماهی قزل‌آلا رنگین کمان در مواجهه با غلظت‌های مختلف آمونیاک
۲- تعیین الگوی رفتاری ماهی قزل آلا رنگین کمان در مواجهه با تغییرات دمایی
۳- تعیین الگوی رفتاری ماهی قزل آلا رنگین کمان در مواجهه با تغییرات همزمان غلظت آمونیاک محلول و دما

---

[1] Schmidt-Nielsen
[2] Svobodova et al.
[3] Finstad et al.
[4] Thruston et al.
[5] Kane et al.
[6] Schreck et al.

فصل دوم

مرور منابع

تغییرات رفتاری موجودات زنده در مواجهه با تنش‌های محیطی و غلظت‌های مختلف سموم، اطلاعات نو و بدیعی را در مقایسه با روش‌های سنتی سم‌شناسی (مثل مواجهه کوتاه مدت و بلند ماهیان در معرض غلظت کشنده سم و همچنین آزمون میزان کشندگی سموم) در اختیار ما قرار می‌دهد که دستیابی به این اطلاعات از مسیر قبلی امکان‌پذیر نمی‌باشد (هنری و اتکینسون[۱]، ۱۹۸٦؛ لیتل و فینگر[۲]، ۱۹۹۰؛ بریجس[۳]، ۱۹۹۷؛ ساگلو و ترئجس[٤]، ۱۹۹۸)؛ مطالعات گذشته نشان دهنده این واقعیت است که دستکاری و تغییرات فیزیولوژیکی می‌تواند ماهی را وادار به تغییر رفتار نماید (ایسرائیل و کیمل[٥]، ۱۹۹٦).

تحقیقات خارج از کشور

اسمیت و بیلی[٦] (۱۹۸۸) رفتار ماهیان را در ارتباط با تغییرات محیطی بررسی کردند. آزمایش آنها نشاندهنده ارتباط معنادار میان تغییرات محیطی و الگوی شنای ماهیان بود.

لیتل و فینگر (۱۹۹۰) اثر مقادیر زیر کشنده سموم را بر روی رفتار شنای ماهیان بررسی کردند. نتایج آزمایش آنها نشان داد الگوهای شنای ماهیان در مواجه با مقادیر مختلف آلاینده ها دچار اختلال می‌شود.

ووگل و همکاران[۷] (۱۹۹۹) بر روی شناسایی رفتارهای ویژه ماهیان در غلظت‌های زیر کشنده‌ی سموم مطالعه کردند. مطالعات آنان نشان داد میان برخی از رفتارهای خاص مانند سرعت شنا و غلظت‌های مختلف سموم ارتباط معناداری وجود دارد.

برور و همکاران[۸] (۲۰۰۱) اختلالات رفتاری و فیزیولوژی ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان را در مواجهه با مواد شیمیایی مهارکننده کولین استراز (Cholinesterase-inhibiting) را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج حاصل از مطالعه‌ی آنان نشان داد سرعت شنا و کل مسافت طی شده در ماهیانی که در مواجهه با مقادیر مختلف این مواد قرار گرفته‌اند افزایش یافته است.

راندال و تسویی[۹] (۲۰۰۲) اثر سمیت آمونیاک را بر روی ماهیان بررسی کردند. نتایج حاصل از آزمایش آنان نشان داد ماهیان در مواجهه با مقادیر مختلف آمونیاک دارای مجموعه‌ای از علایم بالینی از تشنج تا مرگ هستند.

کین و همکاران (۲۰۰٤) طراحی سیستم‌های تحلیل الگوهای حرکتی، مبتنی بر تصاویر ویدئویی را برای بررسی کردند و الگوهای پاسخ‌های رفتاری ماهی کیلی (*Fundulus heteroclitus*) در مواجهه با مقادیر مختلف سم M۲۲۲ مورد بررسی

---

[۱] Henry and atchinison
[۲] Little and Finger
[۳] Bridges
[٤] Saglio and Trijasse
[٥] Israeli and kimmel
[٦] Smith and Baily
[۷] Vogel et al.
[۸] Brewer et al.
[۹] Randall and Tsui

قراردادند. الگوی شنا ماهیان در مواجهه با مقادیر مختلف این سم دارای تغییراتی بود که هرکدام از این تغییرات براساس معیارهای تعریف شده توسط محقیق دارای الگوهای منحصر بفردی بود.

اورتگا و همکاران[۱] (۲۰۰۵) اثر آمونیاک بر روی ماهی قزل‌آلا را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج بیانگر افزایش سطح کورتیزول کورتیزول پلاسما، سرکوب اشتها و تغییرات رفتاری مثل تحرک بیش از حد در سطوح زیر کشنده آمونیاک بود.

کازنووا و همکاران[۲] (۲۰۰۸) تغییرات الگوی شنا و فعالیت ترانسفراز گلوتاتیون-اس (glutathione *S* transferase) در ماهیان ***Jenynsia multidentata*** که با میکروسیستین (microcystin-RR) مواجه شده بودند را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد سرعت شنای ماهیان با افزایش غلظت میکروسیستین افزایش می‌یابد و این افزایش سرعت در غلظت های بالاتر همچنان افزایش می‌یابد.

کانگ و همکاران[۳] (۲۰۰۹) در مطالعه بیولوژیکی، اثر سموم بر روی رفتارشنای ماهیان کوچک آب شیرین؛ را مطالعه کردند. کردند. آنان بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعه خویش، بیان کردند که سرعت شنای ماهی مداکا (***Oryzias latipes***) در مواجهه با مقادیر مختلف KCN و NACN با گروه شاهد تفاوت معناداری دارد ($P<0.05$)؛ همچنین سرعت شنا ماهی در غلظت‌های بالاتر این دو ماده افزایش معناداری می‌یابد.

در ارتباط با موضوع مطالعه اثر تغییرات محیطی بر روی پاسخ‌های رفتاری و الگوهای شنا در منابع فارسی و داخل کشور تحقیقی یافت نشد.

---

[۱] Ortega et al.
[۲] Cazenave et al.
[۳] Kang et al.

فصل سوم

مواد و روش

۳-۱ ماهی

۲۰۰ عدد ماهی قزل‌آلا رنگین کمان با میانگین وزنی ۲±۵ گرم از کارگاه تکثیر و پرورش دشت سبز (ایران، تهران، فیروز کوه، کیلومتر ۲ جاده کلفور) تهیه شد و به سالن آبزی پروری دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال یافت. این ماهیان در شرایط محیطی مشابه در تانک‌های فایبرگلاس مدور ۲۷۰ لیتری به مدت دو هفته جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. حجم آبگیری هر مخزن ۲۵۰ لیتر و تعداد ماهیان هر تانک ۵۰ عدد بود. در طول این مدت ماهیان به وسیله جیره غذایی بیومار (FFT۱) به شکل دو وعده در روز و معادل ۳ درصد وزن ماهیان تغذیه شدند.

۳-۲ آمونیاک

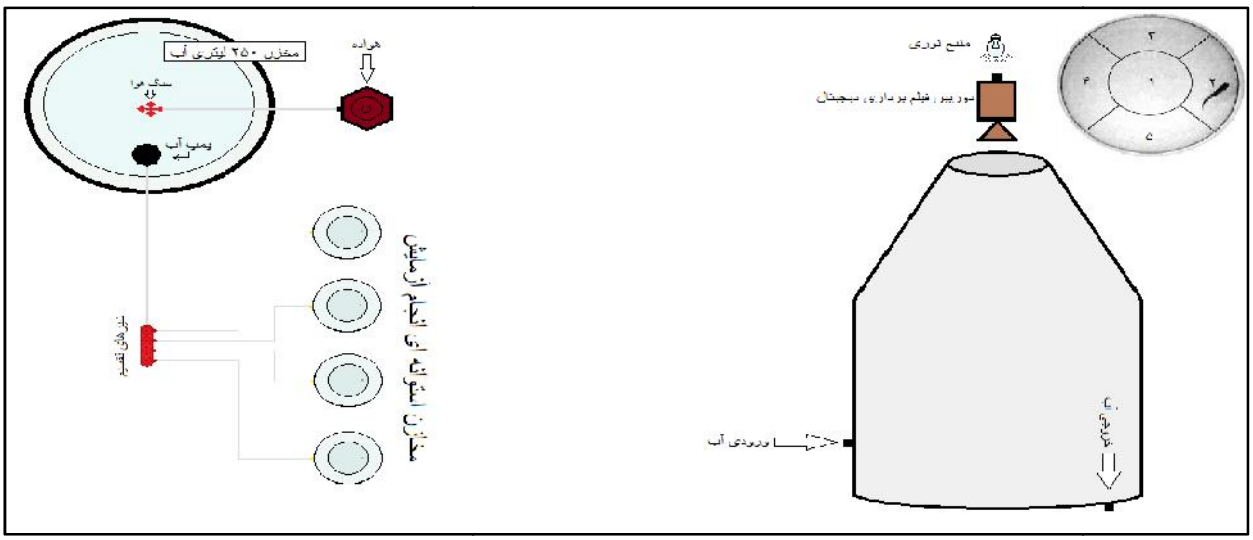
آمونیاک مورد استفاده در این آزمایش محصول لابراتور دکتر مجللی (ایران، تهران، سهروردی شمالی ، پائین‌تر از عباس‌آباد ، کوچه شاهرخ ، پلاک ۱۵) با خلوص ۲۵٪ بود.

۳-۳ دما

برای گرم کردن آب از شش عدد بخاری آبی (المنت برقی ضد آب)، ۲۰۰ ولت ساخت شرکت Atman استفاده شد.

۳-۴ طراحی سیستم

۱۶ عدد مخزن استوانه‌ای به حجم ۵ لیتر (ارتفاع ۱۰ سانتیمتر و قطر مقطع ۲۹ سانتیمتر) از جنس پلاستیک و رنگ سفید برای محیط آزمایش در نظر گرفته شد. هریک از مخازن دارای یک مجرای ورودی و خروجی آب بودند که این دو مجرا در دورترین فاصله ممکن از یکدیگر قرار داشتند. مجرای ورودی آب بر روی دیواره و مجرای خروجی آب در کف مخزن طراحی شد. سرعت ورود و خروج آب یکسان و معادل ۲ سی‌سی در ثانیه (cc/Sec) بود. داده‌های تصویری به وسیله چهار دوربین فیلمبرداری دیجیتال (Canon, SX۲۳۰ Hs, ۵.۰-۷۰mm) ثبت گردید. برای ثبت بهتر تصاویر در بالای هریک از مخازن یک منبع‌نوری ۶۰ آمپر طراحی شد (تصویر۳-۱).



تصویر۳-۱ تصویر شماتیک، نشاندهنده محیط آزمایش به همراه اجزای تشکیل دهنده آن و سیستم‌های فیلمبرداری و جمع‌آوری اطلاعات

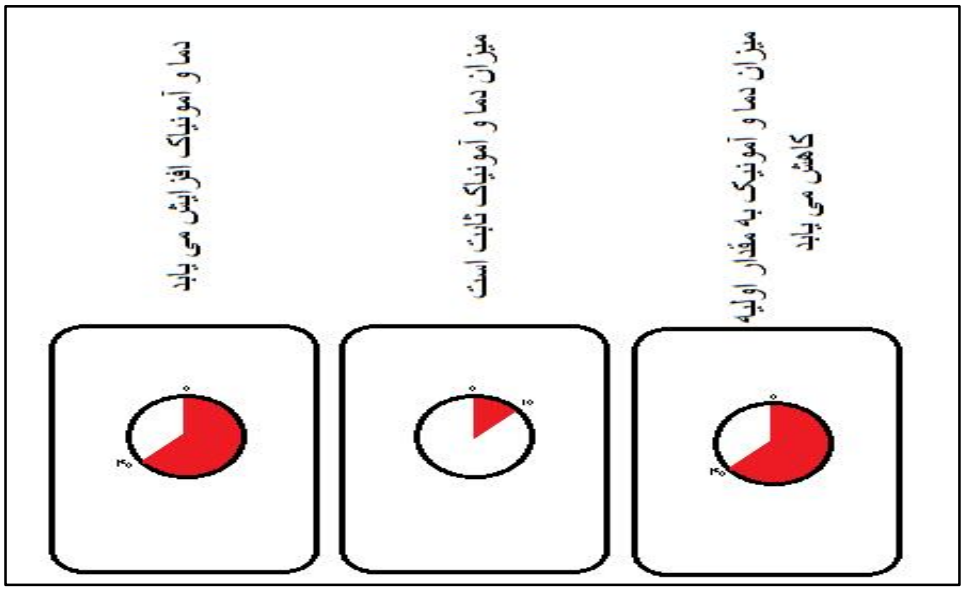
۳-۵-۱ آزمایش سمیت آمونیاک

در این مرحله از آزمایش برای ثبت الگوهای شنای ماهی در زمان مواجهه ماهی با مقادیر بسیار پایین آمونیاک تا مقادیر بسیار بالای آمونیاک که منجر به مرگ ماهی شود، چهار ماهی را ۲٤ ساعت قبل از شروع آزمایش به شکل تصادفی ساده از مخازن اصلی انتخاب کرده و در مخازن پنج لیتری آزمایش حاوی آب کاملا تمیز (دما ۱۷ سانتیگراد، اکسیژن ۷۹٪ حد اشباع، آمونیاک محلول ۰.۰۲۵ mg/L، pH ۷.٤) و جریان دار (۲ سی‌سی بر ثانیه) برای سازگاری با محیط آزمایش قرار دادادیم؛ ماهیان در این زمان تا شروع آزمایش تغذیه نگردیدند. پس از زمان سازگاری (۲٤ ساعت) با حفظ تمام پارامترهای قبلی میزان آمونیاک آب در زمان ٤۲ دقیقه از ۰.۰۲۵ میلیگرم در لیتر به ٦۷ میلیگرم در لیتر (مرگ ماهیان) رسید و در تمام این مدت الگوی شنای ماهی ثبت گردید.

۳-۵-۲ آزمایش اصلی

پس از زمان سازگاری (۲ هفته) ماهیان در مخازن نگهداری، ۱٦ عدد ماهی (شاهد، تیمار دما، تیمار آمونیاک و تیمار دما و آمونیاک) به شکل تصادفی انتخاب شدند، هر یک از ماهیان به یکی از مخازن پنج‌لیتری آزمایش انتقال یافتند(هر مخزن ۵ لیتری آزمایش حاوی یک عدد ماهی بود). برای سازگاری با محیط، این انتقال ۲٤ ساعت قبل از شروع آزمایش دما، آمونیاک و دما و آمونیاک صورت پذیرفت؛ همچنین در این مدت (۲٤ ساعت) غذادهی صورت نپذیرفت. شرایط فیزیکو شیمیایی آب (دما ۱٦.٤ سانتیگراد، آمونیاک ۰.۰۲۵ میلیگرم در لیتر، اکسیژن ۸۰٪ درصد حد اشباع و pH معادل ۷.٦ بود) در هر ۱٦ مخزن یکسان و

سرعت جریان آب در همه مخازن برابر (۲ سی‌سی در ثانیه) بود. زمان آزمایش مربوط به آمونیاک (تیمار۱)، دما (تیمار۲)و تیمار دما و آمونیاک (تیمار۳) به دو بازه‌ی زمانی ٤۲ دقیقه‌ای و یک بازه زمانی ۱۰ دقیقه تقسیم شد. بازه‌ی زمانی ٤۲ دقیقه‌ای اول زمانی است که در آن آمونیاک از ۰.۰۵ میلیگرم در لیتر به ۱۰ میلیگرم در لیتر افزایش می‌یابد؛ برای آزمایش اثر دما این بازه ٤۲ دقیقه‌ای ابتدایی، زمانی است که دمای آب از ۱۷ درجه سانتیگراد به ۳۲ درجه سانتیگراد افزایش می‌یابد. بازه ۱۰ دقیقه‌ای که در میان دو بازه دیگر قرار داشت زمانی بود که ماهی در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد، در آزمایش مربوط به دما و غلظت ۱۰ میلیگرم در لیتر آمونیاک، در آزمایش مربوط به آمونیاک قرار می‌گرفت. ٤۲ دقیقه‌ی انتهایی مربوط به بازه‌ای است که در آن میزان آمونیاک و دما به مقدار اولیه خود (آمونیاک ۰.۰۵ میلیگرم در لیتر و دما ۱۷ درجه سانتیگراد) در ابتدای آزمایش‌های دما و آمونیاک باز می‌گردد. میزان افزایش دما و آمونیاک برای آزمایش تیمار دما و آمونیاک (تیمار۳)، مشابه دو آزمایش تیمار دما و تیمار آمونیاک بود، با همان ترتیب دو آزمایش قبل انجام پذیرفت. بازه‌های زمانی و میزان افزایش مقادیر دما و آمونیاک مشابه دو آزمایش قبل بود، با این تفاوت که در این آزمایش، میزان دما و آمونیاک برخلاف قبل به شکل همزمان و توام برای ماهیان افزایش و کاهش یافت تا اثر افزایش و کاهش همزمان این دو شاخصه بر روی الگوی شنای ماهیان مورد مطالعه قرار گیرد (تصویر۳-۲).



تصویر۳-۲ طرح شماتیک نشان دهنده‌ی میزان زمان هر بازه آزمایش به همراه ترتیب انجام مراحل آزمایش

۳-۶ تحلیل داده‌ها

تصاویر بدست آمده توسط نرم‌افزار تحلیل تصاویر و عکس Adobe after effects (AAE CS٦) انجام گرفت. حرکت ماهیان مطابق جدول (۳-۱) در سه باره زمانی مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌های بدست آمده با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) توسط نرم‌افزار SPSS مورد ارزیابی قرار گرفت. تفاوت معنی‌داری در سطح ۰.۰۵ بین میانگین‌ها از طریق آزمون LSD انجام گرفت. مجموع زمان مورد مطالعه در هر آزمایش به ۱۰ بازه زمانی برابر (یازده دقیقه‌ای) تقسیم شد که در آن پنج بازه‌ی ابتدایی(رفت) مربوط به زمان افزایش دما و آمونیاک بوده است و پنج بازه‌ی انتهایی (بازگشت) مربوط زمان کاهش دما و آمونیاک است.

شاخصه	توضیحات
میانگین سرعت شنا	میانگین سرعت ماهیان در زمان ۲۰ ثانیه، هنگامی که ماهی X سانتیمتر جابه جا می شود
کل مسافت طی شده	مجموع جا به جایی ماهی در زمان ۲۰ ثانیه
حرکت شتابدار (جهشی)	مجموع مسافتی که در آن ماهی در بازه زمانی X (معادل یک ثانیه)، سرعت‌اش بیش از دو برابر میانگین سرعت در مجموع بیست ثانیه باشد.
درصد حرکت	هنگامی که ماهی معادل دو سوم طول بدن خود جا به جا شود، حرکت کرده است. که تعداد این نقاط ضربدر صد بیانگر درصد حرکت است.
میانگین تغییر جهت جابه جایی	اختلاف زاویه نقطه X_2 به X_1 زمانی که از نقطه .X شروع به حرکت کرده است
میانگین فاصله از مرکز	میانگین فاصله ماهی از مرکز مخزن

جدول ۳-۱ شاخصه‌های اندازه گرفته شده در رابطه با الگوی شنا، شاخصه‌ها از جدول کین و همکاران (۲۰۰٤) ا اقتباس شده‌اند

فصل چهارم

نتایج

۴-۱ الگوی شنای ماهی

مقایسه الگوی شنا بین تیمارها با شاهد و با یکدیگر به صورت جداگانه به تفکیک هر بازه زمانی آمده است.

۴-۱-۱ بازه زمانی ۱-رفت

بین تیمارها در میزان سرعت، مسافت طی شده، درصد حرکت و فاصله از مرکز اختلاف معناداری وجود نداشت($P> ۰/۰۵$). در مقایسه تیمارها با شاهد در تمام شاخص‌های الگوهای شنا تفاوت معناداری وجود داشت ($P< ۰/۰۵$).

جدول ٤-۱ بررسی الگوهای شنا در تیمار مختلف

بازه ۱- رفت	سرعت	کل مسافت طی شده	حرکت شتابدار	درصد حرکت	تغییر جهت	فاصله از مرکز
شاهد	۲/۵۰۵±۰/۳۲^{b}	۵۰/۰٦±٦/٤٨^{b}	۱۵/۵٦±۳/۷^{a}	۸۰/۰۰±۹/۱۳^{b}	۲۷/٦۸±۲/۱۷^{c}	۹/٤۰±۰/٦۰^{a}
آمونیاک	۳/۵۲±۰/۱۰^{a}	۷۰/٤۰±۱/۹۸^{a}	۰/۰۰±۰/۰۰^{d}	۹۸/۰۰±۰/۰۰^{a}	۳۲/۷۸±۳/۱۷^{b}	۸/۰۲±۰/٤۲^{b}
دما	۳/۹±۰/۳۲^{a}	۷۸/۰۰±٦/۳۲^{a}	۷/۱۵±۱/٤۲^{c}	۹۸/۰۰±۰/۰۰^{a}	۳۲/۱±۰/٦۲^{b}	۹/۳۷±۰/٦۹^{a}
دما و آمونیاک	۳/۹۱±۰/۲۰^{a}	۷۸/۲۰±٤/۱٤^{a}	۱۲/۰۸±۰/۲٤^{b}	۹۸/۰۰±۰/۰۰^{a}	۵٤/۰۰±۳/۳۲۱٦^{a}	۹/۲۰±۰/۳۹^{a}

مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند. حروف مشابه نشاندهنده عدم اختلاف معناداری در میان مقادیر همان ستون است

کمترین میزان میانگین سرعت، کل مسافت طی شده و درصد حرکت مربوط به شاهد بود؛ همچنین بیشترین میزان شاخصه‌های گفته شده مربوط به تیمارها بود. کمترین میزان حرکت شتابدار مربوط به تیمار دما و بیشترین میزان حرکت شتابدار مربوط به شاهد بود. کمترین مقدار میانگین فاصله از مرکز در این بازه‌ی زمانی مربوط به تیمار آمونیاک بود و بیشترین مقدار آن به شاهد و دو تیمار دیگر بود.

۴-۱-۲ بازه زمانی ۲-رفت

بین تیمار اثر همزمان دما و آمونیاک با تیمارهای دیگر و شاهد در تمام شاخصه‌ها بغیر از فاصله از مرکز، اختلاف معنادار وجود داشت ($P< ۰/۰۵$). بین سرعت شنا، کل مسافت طی شده و فاصله از مرکز در مقایسه تیمار دما و آمونیاک با شاهد اختلاف معناداری وجود نداشت؛ همچنین در میزان حرکت شتابدار در مقایسه تیمار آمونیاک و شاهد تفاوت معناداری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$).

کمترین میانگین سرعت، کل مسافت طی شده مربوط به تیمار آمونیاک است و بیشترین مقدار این سه شاخصه در این بازه زمانی مربوط به تیمار دما و آمونیاک است. کمترین میزان حرکت شتابدار مربوط به شاهد و تیمار آمونیاک است درحالی که بیشترین مقدار آن مربوط به تیمار دما است. کمترین میزان درصد حرکت مربوط به تیمار دما است و بیشترین مقدار آن مربوط به

شاهد است؛ از طرفی کمترین میزان تغییر جهت جابه جایی مربوط به تیمار آمونیاک است در حالی که بیشترین میزان این شاخصه مربوط به تیمار دما است. کمترین و بیشترین میزان فاصله از مرکز به ترتیب مربوط به شاهد و تیمار آمونیاک است.

جدول ٤-٢ بررسی الگوی شنا در تیمار مختلف

بازه۲-رفت	سرعت	مسافت	حرکت شتابدار	درصد حرکت	تغییر جهت	فاصله از مرکز
شاهد	۳/۳۱±۰/۲۰^{b}	٦٦/۲۸±٤/۰۸^{b}	۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۹۹/۲۵±۰/۵۰^{a}	۳٤/۱۱±۱/۷٦^{b}	۹/۰۹±۰/٦٦^{b}
آمونیاک	۳/۱٤±۰/۹۲^{b}	٦۲/۹۱±۱۸/۲۲^{b}	۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۹۸/۰۰±۰/۸۲^{b}	۲٦/۲۲±۱/۳۸^{c}	۱۰/۵۰±۱/۳۱^{a}
دما	٤/۰٤±۰/۲۱^{b}	۸۰/۷٦±٤/۳٤^{b}	۱۸/۲۳±۰/٦۲^{a}	۸۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	٤۳/۱٦±۰/٦۳^{a}	۱۰/۳۲±۰/٦۰^{a}
دما و آمونیاک	۵/۱۹±۰/۹۸^{a}	۱۰۳/۸±۱۲/۹۳^{a}	۱۲/۱±۰/۳۲^{b}	۹۸/۰۰±۰/۰۰^{b}	۳٤/٤۷±۲/۳۹^{b}	۹/۸۳±۰/۵۱^{ab}

مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف مشابه نشاندهنده عدم اختلاف معناداری در میان مقادیر همان ستون است

۴-۱-۳ بازه زمانی ۳-رفت

بین سرعت شنا و کل مسافت طی شده در مقایسه تیمارهای آمونیاک و تیمار دما و آمونیاک با شاهد تفاوت معناداری وجود نداشت (P> ۰/۰۵)؛ بین تغییر جهت جابه جایی در مقایسه تیمار دما و تیمار دما و آمونیاک تفاوت معناداری وجود نداشت (P> ۰/۰۵).

جدول ٤-٣ بررسی الگوی شنا در تیمار مختلف

بازه۳-رفت	سرعت	مسافت	حرکت شتابدار	درصد حرکت	تغییر جهت	فاصله از مرکز
شاهد	۲/۹٤±۰/۲۳^{b}	۵۸/۹۵±٤/٦۲^{b}	۰/۰۰±۰/۰۰^{d}	۹۸/۰۰±۰/۰۰^{a}	۲۹/٦۸±۱/۵۷^{b}	۸/۷۹±۰/۷۵^{b}
آمونیاک	۳/۵۹±۰/٦۵^{b}	۷۱/۹۰±۱۳/۱۰^{b}	۵/۷۰±۰/۳۸^{c}	۷۵/۰۰±۵/۷۷^{bc}	۲۷/۲±۱/٦۱^{b}	۱۲/۲۰±۰/۷۲^{a}
دما	٤/۹۵±۱/۲۷^{a}	۹۹/۰۰±.۲۵/٤۳^{a}	٦۰/۸۷±۱/۸۳^{a}	۸۰/۰۰±٤/۰۸^{b}	٤۷/۹±۹/٤۳^{a}	۱۱/۲۰±۰/۷۲^{a}
دما و آمونیاک	۲/۹۹±۰/٤۱^{b}	۵۹/۸۰±۸/۲۳^{b}	۱٤/٤۱±۰/٤۳^{b}	٦۷/۵۰±۸/٦٦^{c}	٤۹/٤۷±۹/٤۳^{a}	۷/٤۰±۰/۹۹^{c}

مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف مشابه نشاندهنده عدم اختلاف معناداری در میان مقادیر همان ستون است

کمترین میزان میانگین سرعت، کل مسافت طی شده و تغییر جهت جابه جایی مربوط به شاهد است؛ در مقابل بیشترین میزان این شاخصه‌ها در این بازه زمانی مربوط به تیمار دما است. بیشترین و کمترین میزان حرکت شتابدار به ترتیب مربوط به تیمار دما و تیمار آمونیاک است. بیشترین میزان فاصله از مرکز مربوط به تیمار دما است و کمترین میزان مربوط به تیمار دما و آمونیاک است. کمترین و بیشترین مقدار درصد حرکت به ترتیب مربوط به تیمار دما و آمونیاک و شاهد است.