فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال نهم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۰

مقاله پژوهشی

پراکنش مکانی ماهی زبرا (*Danio rerio*) به عنوان یک شاخص رفتاری استرس در پاسخ به صوت

سید رضا محسن‌پور[۱]، سعید شفیعی ثابت[۲،۳]*

تاریخ دریافت: شهریور ۹۹ تاریخ پذیرش: دی ۹۹

چکیده

اصوات ناشی از فعالیت‌های انسانی در محیط‌های طبیعی در دامنه‌های زمانی و مکانی متنوع انتشار دارد. این اصوات می‌توانند به طور مستقیم و یا غیرمستقیم بر فیزیولوژی و رفتار جانوران تاثیرگذار باشند. تغییرات پراکنش مکانی وابسته به محرک‌های صوتی می‌تواند به عنوان شاخصی برای اندازه‌گیری رفتار وابسته به استرس در آبزیان استفاده شود. به همین منظور، آزمایشی طراحی شد تا تاثیر الگوهای مختلف صوتی بر پراکنش مکانی ماهی زبرا به عنوان شاخص رفتاری بیانگر استرس بررسی شود. نتایج بیانگر اثر صوت بر الگوی پراکنش مکانی ماهی زبرا بود. به طوری که، در بازه زمانی کوتاه مدت، در تیمارهای صوتی پیوسته (CS)، ناپیوسته منظم با سرعت تناوب تند (۱:۱) و ناپیوسته منظم با سرعت تناوب کند (۴:۱) ماهی تمایل بیشتری به حضور در لایه پایین مخزن آزمایش داشت. همچنین در بازه زمانی بلند مدت، در تمامی تیمارهای صوتی، ماهی تمایل بیشتری به حضور در لایه پایین مخزن آزمایش داشت. پراکنش افقی ماهی در مخزن آزمایش (دوری از منبع صوت) در هنگام پخش صوت، در بازه زمانی کوتاه مدت در تیمار ناپیوسته نامنظم (۱:۱-۷) اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۱$) و در بازه زمانی بلند مدت علاوه بر تیمار ناپیوسته نامنظم (۱:۱-۷) در تیمار پیوسته (CS) نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). در همین راستا، برای بررسی اثرات اصوات ناشی از فعالیت‌های انسانی بر گونه‌های شکار و شکارچی و اثرات متقابل بین آن‌ها، مطالعات بیشتری مورد نیاز است.

واژگان کلیدی: *رفاه ماهی، پاسخ رفتاری، بلند مدت، کوتاه مدت، استرس.*

۱- دانشجوی دکتری بوم‌شناسی آبزیان، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.
۲- استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران
۳- استادیار گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
* نویسنده مسئول: s.shafiei.sabet@guilan.ac.ir

مقدمه

آلودگی‌های صوتی ناشی از فعالیت‌های انسانی طی دهه‌های اخیر به عنوان یکی از منابع عمده و گسترده آلودگی در محیط‌های خشکی و آبی شناخته شده است (Slabbekoorn et al., 2010). این نوع از آلودگی‌ها در دامنه مکانی و زمانی بسیار متنوع و در طیف فرکانس‌های مختلف با دامنه شنوایی بسیاری از گونه‌های جانوری محیط‌های خشکی و آبی دارای همپوشانی است که خود این امر می‌تواند به شیوه‌های مختلف بر گونه‌های جانوری اثر بگذارد (شفیعی ثابت، ۱۳۹۶؛ Neo et al., 2015; Shafiei Sabet et al., 2015). مطالعات قبلی نشان داده است که آلودگی‌های صوتی ناشی از فعالیت‌های انسانی بر شاخص‌های سلامت فیزیکی و اندام‌های داخلی گونه‌های جانوری تاثیرگذار است (Kalueff and Cachat, 2010; Gerlai, 2019). علاوه بر آن، اثرگذاری آن‌ها بر تشخیص اصوات دارای اهمیت زیستی است و می‌تواند برقراری ارتباطات گونه‌ای را تحت تاثیر قرار دهد (Ladich, 2004; Radford et al., 2014). همچنین نشان داده شده است که اصوات به عنوان عامل استرس‌زا در محیط‌های آزمایشگاهی کنترل شده (Popper et al., 2003) و محیط طبیعی (De Jong et al., 2020) می‌توانند بر فیزیولوژی و هورمون‌های مرتبط با استرس در ماهی تاثیرگذار باشند. اما تاکنون مطالعات کمی درباره بررسی پتانسیل اثر صوت بر شاخص‌های رفتاری مرتبط با استرس در ماهی و آبزیان دیگر وجود دارد (Neo et al., 2015; Tudorache et al., 2015; Shafiei Sabet et al., 2016).

به طور کلی، محیط داخلی بدن ماهی‌ها به ایجاد یک فضای پایدار در درون بدن و محیط اطراف زیستگاه خود تمایل دارد (Galhardo and Oliveira, 2009). در سال ۱۸۵۹، کلود برنارد برای اولین بار مفهوم محیط داخلی (Milieu Interieur) را معرفی کرد، که در پاسخ به تغییرات و محرک‌های بیرونی باید هماهنگ نگه داشته شود (Johnson et al., 1992). در ادامه مطالعات در این زمینه، والتر کانن مفهوم هومئوستاز (Homeostasis) را بیان کرد که به معنی وضعیت نسبتا پایدار است که بدن با آن تعادل داخلی خود را حفظ می‌کند (Cooper and Dewe, 2008). با تهدید هر گونه محرک محیطی، بدن جانور از طریق فعال کردن سیستم عصبی سمپاتیک آماده عمل می‌شود (Levine, 2005). این آماده‌سازی برای

«پاسخ جنگ یا گریز» (Fight-or-Flight Response) موجب صرف بیشتر انرژی لازم برای ایجاد تعادل هومئوستاز می‌شود (Galhardo and Oliveira, 2009). مفهوم هومئوستاز در سال ۲۰۰۴ توسط Sapolsky به «آستوستازی» یا «هومئوستاز پلاس» تغییر داده شد. آستوستازی به معنای «ثبات حین تغییر»، نمایی پویاتر از تعادل داخلی را ارائه می‌دهد (McEwen, 1998). استرس به معنای مجموعه عواملی است که باعث بروز واکنش‌هایی در بدن شده، در موارد شدیدتر منجر به بیماری یا از بین رفتن آبزی می‌شود (Martinez-Porchas et al., 2009) و با تاثیر گذاشتن بر تعادل و شرایط رفاهی ماهی، طیف وسیعی از پاسخ‌های فیزیولوژیک و رفتاری را در ماهی ایجاد می‌کند. به همین سبب، استرس بر نرخ رشد و بقا (Conte, 2004)، موفقیت در تولیدمثل (Schreck et al., 2001)، کارایی سیستم ایمنی (Tort, 2011)، مقاومت ماهی در مقابل عوامل بیماری‌زا (Wendelaar Bonga, 1997)، رفتار شناگری (Strungaru et al., 2018)، عملکرد تغذیه‌ای (Neo et al., 2015; Shafiei Sabet et al., 2015) و پراکنش‌های مکانی (Craig, 2012) تاثیرات منفی دارد.

به طور کلی، انواع استرس‌ها بر اساس منشا تولید در ماهیان به چند دسته تقسیم می‌شود (Barton, 2002): ۱) استرس‌های زیستی که از حضور و مقدار تراکم ماهیان دیگر، میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، انگل‌های داخلی و خارجی ایجاد می‌شود. ۲) استرس‌های شیمیایی که در اثر افزایش مقدار و حجم شاخص‌های شیمیایی آب، مواد شیمیایی، مواد آلاینده، نیتروژن و مواد دفعی متابولیت‌ها به وجود می‌آیند. ۳) استرس‌های فیزیکی که نوسانات دما، pH، گازهای محلول، نور، فشار و صدا در بروز آن دخیل است. ۴- استرس‌های مدیریتی که در نتیجه فعالیت‌ها دستکاری در طول دوره پرورش به ماهیان وارد می‌شوند مانند صید، رقم‌بندی، بیهوشی، زیست‌سنجی، تغذیه نامناسب، اعمال جراحی، تزریق یا خون‌گیری و غیره. در این میان اصوات ناشی از فعالیت‌های انسانی یکی از بزرگ‌ترین منابع آلودگی محیط‌های خشکی و آبی است که به عنوان محرک‌های محیطی بر فیزیولوژی و رفتار جانداران اثر می‌گذارد (Slabbekoorn et al., 2010). این منابع آلودگی با توجه به دوری یا نزدیکی از آبزیان می‌توانند اثرات متفاوتی داشته باشند. به طور مثال، در فواصل نزدیک می‌توانند باعث مرگ و با فاصله گرفتن از منبع صوت باعث

تغییرات فیزیولوژیک و رفتاری شود (Smith et al., 2004; Wysocki et al., 2006; Purser and Radford, 2011; Nichols et al., 2015; Shafiei Sabet et al., 2015).

منابع آلوده‌کننده صوتی ناشی از فعالیت‌های انسانی که یکی از استرس‌های فیزیکی موجود در طبیعت است و منجر به تغییرات رفتاری می‌شود، شامل فعالیت‌های سونار، حمل و نقل دریایی از جمله قایق‌های تفریحی و کشتی‌های تجاری، فعالیت‌های برداشت و استحصال نفت و گاز است (Hildebrand, 2009; Frisk, 2012; Solan et al., 2016; Vazzana et al., 2017). محیط‌های آب شور شامل دریاها و اقیانوس‌ها و محیط‌های آب شیرین شامل رودخانه‌ها و دریاچه‌ها، همواره دارای اصواتی با منشا زیستی (Biotic Sounds) و اصواتی با منشا غیرزیستی (Abiotic Sounds) هستند که بسیاری از آن‌ها برای ادامه فعالیت‌های حیاتی، از جمله تولیدمثل و بقای موجودات ساکنین این محیط‌ها لازم و ضروری هستند (شفیعی ثابت، ۱۳۹۷). همپوشانی دامنه شنوایی موجودات در محیط آبی با اصوات تولید شده ناشی از فعالیت‌های انسانی و اثرات فیزیولوژیک و رفتاری مرتبط با اصوات می‌تواند بر اهمیت بررسی پتانسیل اثر اصوات انسانی بر رفتار آبزیان دلالت داشته باشد (شفیعی ثابت، ۱۳۹۷). ماهی زبرا (*Danio rerio*) یکی از گونه‌های ماهیان آکواریومی آب شیرین و از خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) است. این گونه آب شیرین بومی مناطق کشورهای نپال، هند، پاکستان، بنگلادش و بوتان است و در این مناطق پراکنش دارد (Spence et al., 2008). امروزه، با وجود مفهوم جدید و تعریف استرس که به طور کاملا مرتبط و وابسته با فرآیندهای ذهنی است، در دهه‌های اخیر نشان داده شده است که استرس ماهی از بعد روانشناسی نیز قابل بررسی است (Barton, 1997). همچنین اندازه‌گیری استرس در ماهی‌ها با استفاده از شاخص‌های فیزیولوژیک گزارش شده است (Wysocki et al., 2006) ولی اطلاعات کمی درباره بعد بیان استرس در رفتارشناسی ماهی‌ها در دسترس است. با توجه به در نظر گرفتن رفاه در آبزیان و حداقل نیاز دستکاری فیزیکی ماهی‌ها بویژه مولدین گونه‌های ارزشمند و دارای اهمیت بوم‌شناسی، شناسایی رفتارهای مرتبط با استرس در ماهی در کنار اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیکی و هورمونی نشان دهنده استرس، لازم و ضروری است. هدف از انجام این مطالعه معرفی شاخص‌های قابل اندازه‌گیری رفتاری به عنوان پتانسیل بیان کننده استرس در ماهی زبرا است. بنابراین، در مطالعه حاضر اثر الگوهای صوتی

متفاوت بر پراکنش مکانی و رفتار استرسی ماهی زبرا شامل دوری از منبع صوت و تغییر سطح عمق شنای ماهی در مواجه با صوت بررسی شد.

مواد و روش‌ها

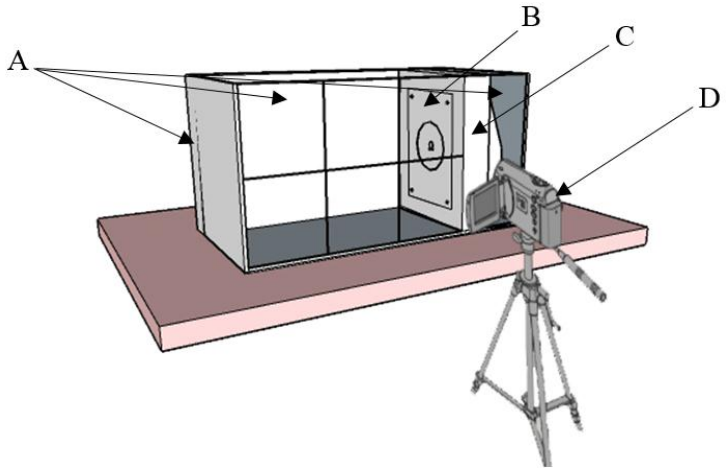
مطالعه حاضر در کارگاه ماهیان زینتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان واقع در شهرستان صومعه‌سرا در استان گیلان و با استفاده از یک آکواریوم به ابعاد ۲۰×۱۵×۵۰ سانتی‌متر با حجم آب‌گیری ۱۱/۲۵ لیتر در بازه زمانی ۱۰ صبح الی ۱۴ ظهر هر روز، انجام شد. برای کاهش استرس ناشی از حمل و نقل ماهی و تغییرات احتمالی هورمونی، پس از تهیه ماهی از مرکز تکثیر (سن تقریبی ۴۵ روزه، واریته باله کوتاه با میانگین وزنی ۰/۰۲±۱/۲۳ گرم) ماهی‌های نر و ماده در مخزن ذخیره‌ای به مدت دو هفته نگهداری شدند تا با شرایط محیط سازگار شوند (Neo et al., 2015; Shafiei Sabet et al., 2015). ماهی‌ها در این مدت تا روز قبل آزمایش با غذای تجاری (Biomar، فرانسه) به قطر ۰/۸ میلی‌متر تغذیه شدند.

جیره تجاری مورد استفاده حاوی ۶۸/۸ درصد ماده خشک بود که جزئیات این مقدار در جدول ۱ قابل مشاهده است.

جدول ۱: ترکیبات تشکیل دهنده جیره تجاری استفاده شده در آزمایش

ترکیبات	مقدار (٪)
پروتئین خام	۵۶
چربی خام	۱۵
خاکستر خام	۱۰/۴
فیبر خام	۰/۴
فسفر	۱/۸
کلسیم	۲/۶
سدیم	۰/۶

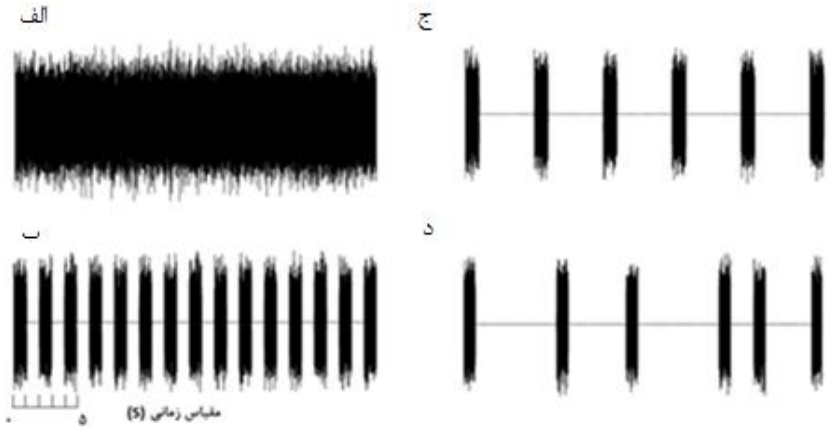
مخزن آزمایش با ابعاد یاد شده توسط یک صفحه جداکننده به صورت عرضی به منظور قرار گرفتن بلندگوی زیرآبی دست ساز (۸Ω، ۳۰W، ۱۰Hz-۱۰KHz) در سمت دیگر صفحه جدا کننده و همچنین احاطه بیشتر بر فضای شنای ماهی (محیط آزمایش) توسط دوربین فیلم‌برداری، جدا شد (۲۰×۱۵×۲۵ سانتی‌متر). در این آزمایش تیمارهای صوتی توسط بلندگوی زیرآبی که درون مخزن تعبیه شده بود پخش شد و همچنین توسط دوربین فیلم‌برداری از زاویه جلوی مخزن، فیلم‌برداری شد (شکل ۱).



شکل ۱: نمای شماتیک مخزن آزمایش. A: صفحات تیره شده مخزن آزمایش به منظور افزایش تباین (Contrast) ماهی با پس‌زمینه برای دیده شدن بهتر ماهی در فیلم. B: بلندگوی زیرآبی. C: صفحه جداکننده فضای بلندگوی زیرآبی با فضای شنای ماهی. D: دوربین فیلم‌برداری (تصویر ترسیمی از نگارندگان)

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب یکسان در نظر گرفته شد و هر روز به طور منظم بررسی می‌شد. دوره نوری مورد استفاده در آزمایش ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود (Villamizar et al., 2014; Neo et al., 2015, 2018; Shafiei Sabet et al., 2015). شدت نور اندازه‌گیری شده در این آزمایش توسط دستگاه لوکس‌متر (TES-1336A، TES Electrical Electronic Crop، تایوان) به طور میانگین ۶۲ لوکس بود. دمای آب در طول آزمایش ۱±۲۶ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد و همچنین میزان اکسیژن محلول در آب ۱±۸ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری شد.

تیمارهای صوتی به کار رفته در این پژوهش شامل تیمار شاهد یا اصوات محیط (Ambient Noise: AN)، تیمار پیوسته (Continuous Sound: CS) (شکل ۲- الف)، تیمار ناپیوسته منظم با سرعت تناوب تند (۱:۱) شامل یک ثانیه صوت و یک ثانیه سکوت (شکل ۲- ب)، تیمار ناپیوسته منظم با سرعت تناوب کند (۴:۱) شامل یک ثانیه صوت و چهار ثانیه سکوت (شکل ۲- ج) و تیمار ناپیوسته نامنظم (۱:۱-۷) شامل یک ثانیه صوت و یک تا هفت ثانیه سکوت به صورت تصادفی (شکل ۲- د) بود.



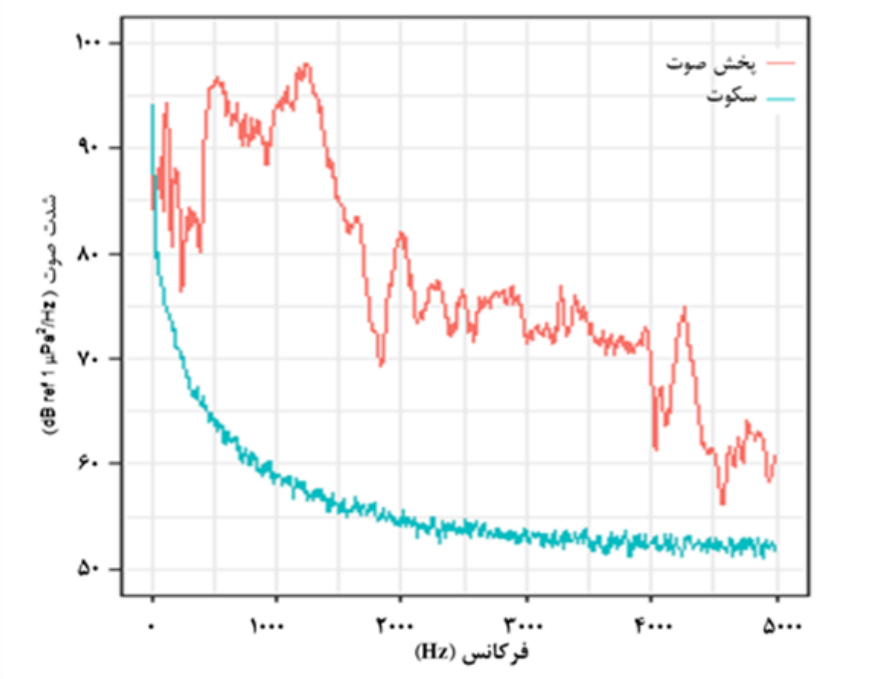
شکل ۲: تیمارهای صوتی مورد استفاده در آزمایش. الف) الگوی صوتی پیوسته. ب) تیمار صوتی ناپیوسته منظم با سرعت تناوب تند (۱:۱). ج) تیمار صوتی ناپیوسته منظم با سرعت تناوب کند (۴:۱). د) تیمار صوتی ناپیوسته نامنظم (۱:۱-۷) (اقتباس شده از Shafiei Sabet و همکاران (۲۰۱۵)).

تیمارهای صوتی که با دامنه فرکانسی قابل شنوایی ماهی زبرا (۱۵۰۰-۳۰۰ هرتز و پیک شنوایی ۷۵۰ هرتز) (شکل ۳) و همین طور با اصوات ناشی از فعالیت‌های انسانی مثل حرکت قایق‌های موتوری تفریحی و تجاری و سکوهای حفاری همپوشانی دارد، توسط نرم‌افزار Audacity (2.3.1) ساخته شد. میانگین شدت صوت تیمارهای صوتی در زمان پخش، برای مدت ۵ ثانیه ۱۲۱ دسی‌بل و میانگین شدت صوت زمینه در زمان سکوت، برای مدت ۵ ثانیه ۹۶ دسی‌بل بود.

به منظور بررسی شدت صوت قابل پخش توسط بلندگوی زیرآبی و درک این که آیا ماهی مورد آزمایش تیمارهای صوتی را می‌شنود یا خیر، در ابتدا فایل صوتی تیمار پیوسته با استفاده از دستگاه پخش کننده لپ‌تاپ (Vaio SVF1421A4E، Sony، ژاپن) که به بلندگوی زیرآبی متصل بود، پخش شد. سپس سطح شدت صوت پخش شده در محیط آبی با استفاده از دستگاه هیدروفن (AS-1، Aquarian Scientific، اسپانیا) متصل به آمپلی‌فایر (PA-4، Hydrophone Preamplifier، Aquarian Audio، آمریکا) و دستگاه ضبط صوت (DR-100MKII، Tascam linear PCM recorder، آمریکا) ضبط شد و فایل صوتی ضبط شده در نرم‌افزار Rstudio 1.1.456 مورد ارزیابی و بررسی قرار گرفت.

شکل ۳ به طور واضح نشان دهنده افزایش سطح شدت صوت در محدوده فرکانس یکسان است و تفاوت در سطح شدت صوت تیمارهای صوتی در فرکانس‌های قابل شنوایی ماهی نسبت به تیمار سکوت را نشان می‌دهد.

به منظور بررسی اثر صوت بر رفتار استرسی ماهی زبرا، به صورت انفرادی ۳۰ ماهی (۱۵ نر و ۱۵ ماده) پس از انجام زیست‌سنجی از روز قبل به مدت تقریبا ۲۰ ساعت به مخزن آزمایش معرفی شد و به ماهی فرصت داده شده تا بتواند از تمامی فضای مخزن برای شنای خود استفاده کند و با شرایط آزمایش تطابق پیدا کند. برای آرامش و سازگاری در شرایط آزمایشی نیز در روز آزمایش، به ماهی‌ها به مدت ۳۰ دقیقه فرصت تطابق داده شد.



شکل ۳: طیف سطوح شدت صوت پیوسته در مقایسه با تیمار سکوت (dB re 1 µPa²/Hz). سکوت یا شرایط محیط (رنگ آبی) و پخش صوت پیوسته (رنگ قرمز).

پس از سپری شدن زمان سازگاری، فیلم‌برداری آغاز شد و پس از گذشت ۱۰ دقیقه، تیمارهای صوتی توسط بلندگوی زیرآبی تعبیه شده درون مخزن آزمایش پخش شد. این روند برای تمامی تیمارهای صوتی با فاصله زمانی ۱۵ دقیقه‌ای بین تیمارها برای هر ماهی ادامه پیدا کرد (محسن‌پور و شفیعی ثابت، ۱۳۹۹) و پراکنش مکانی ماهی در محیط آزمایش، دوری از منبع صوت و عمق شنای ماهی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. ترتیب و توالی پخش تیمارهای صوتی در هر روز به صورت تصادفی موازنه شده (Counter Balance) بود. همچنین روزانه پس از انجام آزمایش روی هر ماهی، آب مخزن آزمایش تخلیه می‌شد تا محتوای هورمونی احیانا مرتبط با استرس ماهی قبلی حذف شود. سپس دوباره آب‌گیری صورت می‌گرفت و ماهی جدید جهت خوگیری برای آزمایش روز بعد به مخزن آزمایش معرفی می‌شد.

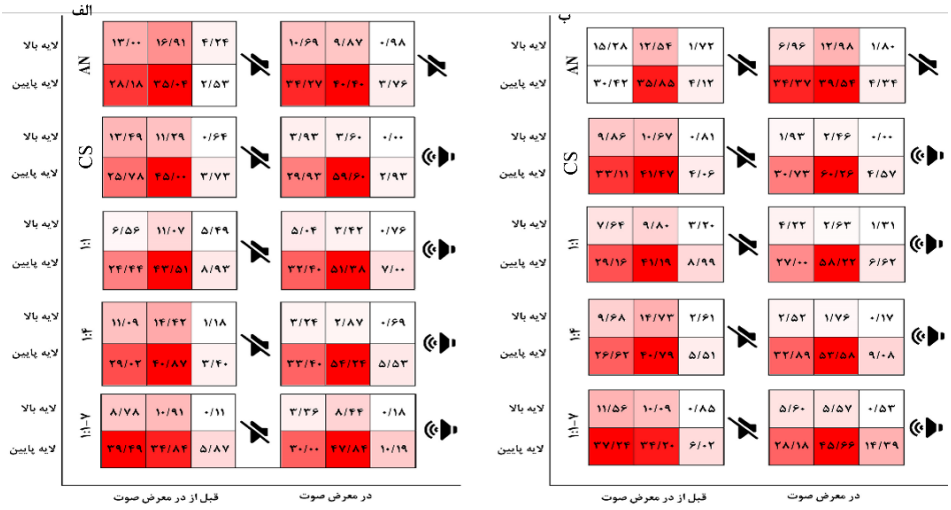
پردازش اطلاعات رفتاری و آماری

به منظور کاهش سرعت شنای ماهی و همچنین تمرکز بیشتر بر شنای ماهی، فیلم‌های گرفته شده از رفتار استرسی ماهی برای بررسی مکانی در واحد ثانیه، به بزرگنمایی زمانی ۱۰ فریم بر ثانیه کاهش داده شد. برای بررسی پاسخ‌های رفتاری شامل پراکنش مکانی ماهی، دوری از منبع صوت و عمق شنای ماهی از نرم‌افزار Logger Pro 3.6.0 استفاده شد. ورود اطلاعات و داده‌ها و همچنین تصاویر پراکنش مکانی در نرم‌افزار Microsoft Excel 2016 و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 25 انجام شد. نرمال بودن داده‌ها با آزمون Kolmogorov-Smirnov و همگنی داده‌ها با آزمون Levene مورد بررسی قرار گرفت. سپس وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها با آزمون تحلیل واریانس اندازه‌گیری تکرار شونده (Measure Repeated ANOVA) و با استفاده از پس‌آزمون چند دامنه‌ای Tukey در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<0/05$) ارزیابی شد.

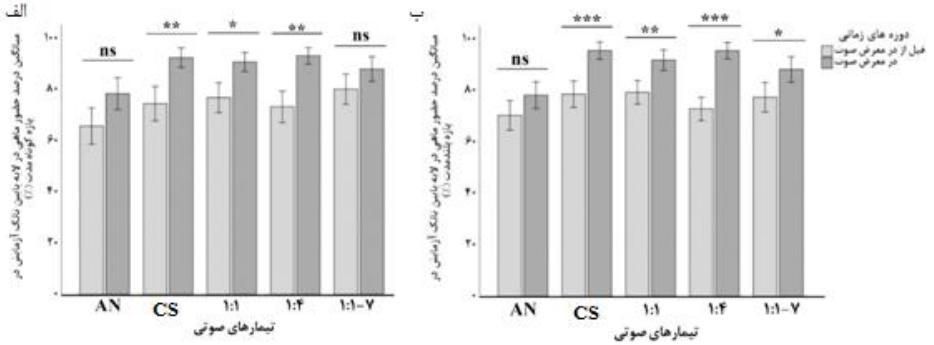
نتایج

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشانگر تغییرات رفتاری پراکنش مکانی مرتبط با استرس ناشی از مواجه با اصوات ناشی از فعالیت‌های انسانی در ماهی زبرا در شرایط آزمایشگاهی است. در بخش اول آزمایش با پخش تیمارهای صوتی، الگوی پراکنش مکانی عمودی (ستون آب) ماهی در بازه زمانی کوتاه

مدت و بلند مدت تغییر کرد. الگوهای رنگی پراکنش ماهی این تفاوت در درصد حضور ماهی را در لایه بالایی و پایینی به خوبی نشان می‌دهد. با پخش تیمارهای صوتی درصد حضور ماهی در لایه پایینی نسبت به زمان سکوت افزایش یافت (شکل ۴). همچنین با پخش تیمارهای صوتی میانگین درصد حضور ماهی در لایه پایینی مخزن آزمایش در بازه زمانی کوتاه مدت در مقایسه با قبل از قرارگیری در معرض صوت، اختلاف معنی‌داری را در برخی از تیمارهای صوتی از خود نشان داد ($P<۰/۰۱$). به طوری که در بازه زمانی کوتاه مدت ماهی زبرا مدت زمان بیشتری در طی پخش صوت در لایه پایینی سپری کردند (شکل ۵- الف). در بازه زمانی بلند مدت نیز در برخی از تیمارهای صوتی اختلاف معنی‌داری را از خود نشان دادند ($P<۰/۰۰۱$؛ شکل ۵- ب).

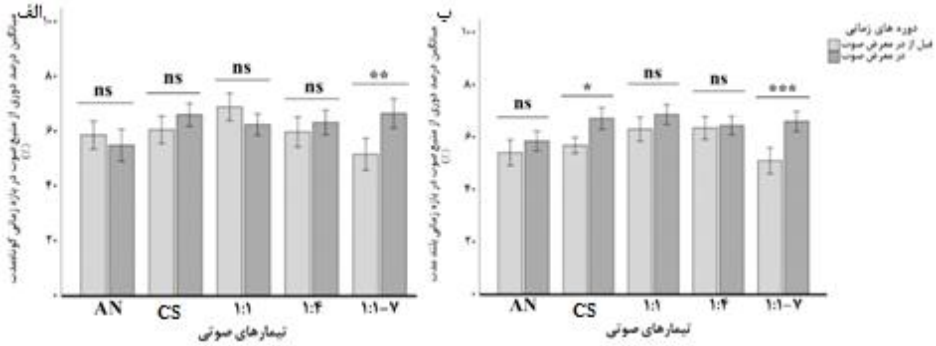


شکل ۴: الگوی پراکنش مکانی ماهی زبرا در تیمارهای صوتی مختلف. الف) در بازه زمانی کوتاه مدت (۱۵ ثانیه قبل از تیمار صوتی و ۱۵ ثانیه در معرض صوت). ب) در بازه زمانی بلند مدت (۱ دقیقه قبل از تیمار و ۱ دقیقه در معرض صوت). اعداد نوشته شده درون هر کادر درصد حضور ماهی در بازه زمانی مشخص شده است. همچنین الگوهای رنگی در هر کادر بر اساس شدت حضور ماهی در هر لایه با توجه به درصد تعیین شده است. تصویر بلندگو نشان دهنده قرارگیری موقعیت بلندگو در تانک آزمایش است. AN: سکوت؛ CS: صوت پیوسته.



شکل ۵: درصد حضور ماهی زبرا در لایه پایین مخزن آزمایش (میانگین ± خطای استاندارد؛ n=۳۰). الف) در بازه زمانی کوتاه مدت (۱۵ ثانیه قبل از تیمار صوتی و ۱۵ ثانیه در معرض صوت). ب) در بازه زمانی بلند مدت (۱ دقیقه قبل از تیمار و ۱ دقیقه در معرض صوت). NS: عدم معنی‌داری؛ *: P<۰/۰۵؛ **: P<۰/۰۱؛ ***: P<۰/۰۰۱.

در بخش دوم آزمایش پراکنش مکانی مرتبط با صوت (پراکنش افقی)، بررسی‌های صورت گرفته بر دوری از منبع صوت نشان داد که تیمارهای صوتی بر دوری از منبع صوت در بازه زمانی کوتاه مدت فقط در تیمار ۱:۷-۱ و در بلند مدت در تیمارهای ۱:۷-۱ و صوت پیوسته (CS) اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. به این معنی که ماهی زبرا در این تیمارها با پخش صوت از منبع صوت فاصله گرفتند و دور شدند (شکل ۶).



شکل ۵: درصد دوری ماهی زبرا از منبع صوت (بلندگوی زیرآبی) (میانگین ± خطای استاندارد؛ n=۳۰). الف) در بازه زمانی کوتاه مدت (۱۵ ثانیه قبل از تیمار صوتی و ۱۵ ثانیه در معرض صوت. ب) در بازه زمانی بلند

مدت (۱ دقیقه قبل از تیمار و ۱ دقیقه در معرض صوت). NS: عدم معنی‌داری؛ *: P<۰/۰۵؛ **: P<۰/۰۱؛ ***: P<۰/۰۰۱.

الگوی پراکنش مکانی حضور ماهی در پروفایل ستونی (عمودی)

با توجه به شکل ۴- الف، با پخش تیمارهای صوتی الگوی پراکنش مکانی ماهی زبرا در تقسیمات عمودی (ستونی) و افقی مخزن مورد آزمایش تغییر کرد. همچنین کاملا قابل ملاحظه است که با پخش تیمارهای صوتی الگوی شنای ماهی از لایه بالایی به سمت لایه پایینی تغییر کرد. همین طور در تیمارهای صوتی پیوسته (CS) و ناپیوسته منظم با سرعت تناوب تند (۱:۱) از سمت محل تعبیه بلندگوی زیرآبی (سمت راست، مشخص شده در شکل ۴) فاصله گرفته و به سمت مخالف حرکت کردند. اما این امر در تیمارهای صوتی ناپیوسته منظم با سرعت تناوب کند (۴:۱) و ناپیوسته نامنظم (۱:۱-۷) صدق نکرد و درصد حضور ماهی در لایه نزدیک بلندگوی زیرآبی بیشتر شد. همین طور با توجه به شکل ۴- ب، در بازه بلند مدت، الگوی پراکنش مکانی ماهی زبرا در تقسیمات عمودی (ستونی) لایه بالایی و پایینی با پخش تیمارهای صوتی تغییر کرد و به این صورت بود که این تغییرات از سمت لایه بالایی به سمت لایه پایینی افزاینده بود. در تیمار صوتی ناپیوسته منظم با سرعت تناوب تند (۱:۱) در تقسیمات افقی و دوری از منبع صوت با پخش صوت الگوی پراکنش مکانی ماهی به گونه‌ای بود که ماهی از منبع صوت فاصله گرفت ولی در تیمارهای صوتی دیگر این امر صدق نکرد.

درصد حضور ماهی در لایه پایین مخزن آزمایش

با توجه به شکل ۵- الف، میانگین درصد حضور ماهی در لایه پایین مخزن آزمایش در هنگام پخش تیمارهای صوتی در بازه زمانی کوتاه مدت در دو تیمار سکوت (AN) و صوت ناپیوسته نامنظم (۱:۱-۷) با قبل از پخش صوت اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵)، اما در دو تیمار صوتی پیوسته (CS) و ناپیوسته منظم با سرعت تناوب کند (۴:۱) در زمان پخش با قبل از قرارگیری در معرض صوت اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۱) و تیمار صوتی ناپیوسته منظم با سرعت تناوب تند (۱:۱) نیز با قبل از قرارگیری در معرض صوت اختلاف معنی‌داری از خود نشان داد (P<۰/۰۵). با توجه به شکل ۵- ب، میانگین درصد حضور ماهی در لایه پایین مخزن آزمایش در هنگام پخش

تیمارهای صوتی در بازه زمانی بلند مدت در تیمار سکوت (AN)، قبل و بعد از پخش صوت با هم اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵). با این تفاوت که در تیمارهای صوتی پیوسته (CS) و ناپیوسته منظم با سرعت تناوب کند (۴:۱) قبل و بعد از پخش صوت اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۰۱) از خود نشان داد و تیمار صوتی ناپیوسته منظم با سرعت تناوب تند (۱:۱) در زمان پخش صوت با زمان سکوت اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۱) و تیمار صوتی ناپیوسته نامنظم (۱:۱-۷) در هنگام پخش صوت با قبل از آن اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) را از خود نشان داد.

پراکنش مکانی حضور ماهی در پروفایل افقی (دوری از منبع صوت)

با توجه به شکل ۶- الف، با قرارگیری در معرض تیمارهای صوتی، میانگین درصد دوری از منبع صوت در بازه زمانی کوتاه مدت اختلاف معنی‌داری را از خود نشان نداد (P>۰/۰۵). ولی در تیمار ناپیوسته نامنظم (۱:۱-۷) این تغییرات در زمان قبل و بعد از قرارگیری در معرض صوت اختلاف معنی‌داری را از خود نشان داد (P<۰/۰۱). با توجه به شکل ۶- ب، با قرارگیری در معرض تیمارهای صوتی سکوت (AN)، ناپیوسته منظم با سرعت تناوب تند (۱:۱) و کند (۴:۱)، میانگین درصد دوری از منبع صوت در بازه زمانی بلند مدت اختلاف معنی‌داری را در زمان قبل و بعد از پخش صوت از خود نشان ندادند (P>۰/۰۵). اما در پخش تیمار صوتی پیوسته (CS) در مقایسه با سکوت اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). تیمار صوتی ناپیوسته نامنظم نیز در هنگام قبل و بعد از تیمار صوتی اختلاف معنی‌داری را از خود نشان داد (P<۰/۰۰۱).

بحث

در این آزمایش به بررسی اثر صوت بر استراتژی پراکنش مکانی به عنوان شاخصی برای بررسی شرایط استرسی مرتبط با صوت در ماهی زبرا پرداخته شده است. در این مطالعه، به طور موفقیت‌آمیزی برای اولین بار در ایران، پروفایل صوت پخش شده با استفاده از بلندگوی زیرآبی در محیط آکواریومی اندازه‌گیری شد و نتایج بیانگر تفاوت واضح سطوح فرکانس‌های مختلف صوت در آکواریوم مورد آزمایش (افزایش سطوح صوت در فرکانس‌های قابل شنوایی توسط ماهی زبرا) قبل و بعد از پخش فایل صوتی بود (شکل ۳). به طوری که میان شدت صوت در تیمار صوتی نسبت به تیمار سکوت در تمامی

فرکانس‌های مورد نظر و قابل شنیدن توسط ماهی زبرا اختلاف قابل ملاحظه‌ای داشت که بیانگر قابل تفکیک و متمایز بودن درک شنیداری تیمارها است (Shafiei Sabet et al., 2015).

بررسی‌های صورت گرفته بر شاخص‌های استرسی ماهی زبرا در مواجهه با الگوهای مختلف صوتی نشان داد که با پخش تیمارهای صوتی پراکنش مکانی ماهی تغییر کرد و ماهی تمایل بیشتری به شنا در لایه پایینی محیط آکواریوم از خود نشان داد (شکل ۴). همین طور بررسی انجام شده بر درصد حضور ماهی در لایه پایین مخزن آزمایش نشان داد در برخی از تیمارهای صوتی در بازه کوتاه مدت اختلاف معنی‌دار و در بازه بلند مدت در تمامی تیمارهای صوتی به جز تیمار سکوت اختلاف معنی‌دار داشت (شکل ۵)، به این معنی که در هنگام پخش صوت، ماهی تمایل بیشتری به حضور در لایه پایین داشت. در بخشی دیگر از نتایج این پژوهش، بررسی پراکنش مکانی حضور ماهی در پروفایل افقی (دوری از منبع صوت) نیز نشان داد در برخی از تیمارهای صوتی ماهیان به طور معنی‌داری تمایل به فاصله گرفتن از منبع صوت داشتند (شکل ۶).

Neo و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه اثر صوت بر پراکنش مکانی ماهی زبرا، دریافتند با آغاز پخش تیمارهای صوتی، ماهی‌ها حرکت انفجاری و افزایش سرعت شنای کوتاه مدت را نشان دادند و پراکنش مکانی آن‌ها تغییر پیدا کرد، به طوری که ماهی‌ها تمایل بیشتری برای شنا در لایه بالایی و سطحی مخزن آزمایش داشتند. همین طور در این مطالعه هیچ مشاهداتی از فریز شدن (بی حرکت شدن) و ایستادن ماهی در لایه پایینی مخزن وجود نداشت (Neo et al., 2015). این در حالی است که در نتایج آزمایش حاضر در زمینه پراکنش مکانی ماهی زبرا، میزان درصد حضور ماهی در لایه پایینی مخزن آزمایش بیشتر بود که برخلاف گزارش Neo و همکاران (۲۰۱۵) بود. یکی از دلایل این تفاوت در نتایج پراکنش مکانی عمودی در ستون مخزن آزمایش می‌تواند مقدار شدت صوت پخش شده در تیمارهای مورد استفاده این دو پژوهش باشد. میزان شدت صوت پخش شده در تیمارهای صوتی Neo و همکاران (۲۰۱۵) ۱۱۲ dB re 1µPa اندازه‌گیری شد که شدت صوت کمتری نسبت به میزان شدت صوت در این پژوهش (۱۲۱ dB re 1µPa) بود. در مطالعه دیگری Neo و همکاران (۲۰۱۸) برای بررسی اثر الگوهای مختلف صوتی بر رفتار ماهی

باس اروپایی *Dicentrarchus labrax* آزمایشی طراحی کردند و دریافتند که اصوات ناشی از فعالیت‌های انسانی با شدت صوت بالا (۱۸۰-۱۹۲ dB re 1µPa) منجر به افزایش عمق شنای ماهی باس اروپایی و دوری از منبع صوت شد.

شناگری ماهی زبرا به سمت سطوح فوقانی آب در زمان آغاز پخش صوت به رفتار کنجکاوی و جستجوگری این گونه تفسیر شده است (Shafiei Sabet, 2013). مشاهدات نشان داده است که با بازکردن درب سالن نگهداری ماهی و راه رفتن پرسنل برای انجام عمل غذادهی به ماهی‌ها معمولا منجر به تولید اصوات با شدت صوت پایین می‌شود که موجب جلب توجه و در نتیجه کنجکاوی ماهی زبرا شده و بیشترین پراکنش را در سطح ستون آبی برای انجام فعالیت‌های تغذیه‌ای نشان می‌دهد (Shafiei Sabet et al., 2015). اما پاسخ تغییر پراکنش مکانی ماهی به سمت عمق و بخش پایینی ستون آبی با آغاز پخش تیمارهای صوتی حاکی از بروز استرس و ترس در ماهی است که این موضوع در مطالعات انجام شده بر دیگر گونه‌های ماهی‌ها هم مشابه بود (Sara et al., 2007; Neo et al., 2018). بررسی رفتار ماهی‌ها به محرک‌های دیگر شامل مواد شیمیایی و عصاره ترس نیز نشان داده است که با آغاز آزادسازی مواد شیمیایی و عصاره ترس، ماهی‌ها به بخش‌های زیرین (عمقی) ستون آبی رفتند و این الگوی پراکنش مکانی، شاخص رفتاری نشان دهنده ترس در بسیاری از گونه‌های ماهی‌ها تفسیر شده است (Gerlai et al., 2000, 2006).

علاوه بر این، علت دیگر تفاوت در نتایج رفتاری پراکنش عمودی مشاهده شده در پژوهش حاضر و مطالعه Neo و همکاران (۲۰۱۵) می‌تواند، تفاوت در نحوه به کارگیری بلندگوهای پخش اصوات باشد، به طوری که استفاده از بلندگوی مستقر در بیرون از سطح آب در مطالعه Neo و همکاران (۲۰۱۵) و استفاده از بلندگوی مستقر زیرآبی در مطالعه حاضر نیز باشد. به این ترتیب که استفاده از بلندگو در بیرون از سطح آب برای پخش تیمارهای صوتی منجر به تولید شدت صوت بیشتر در قسمت‌های عمقی نسبت به بخش‌های میانی ستون آب و قسمت‌های سطحی آب در مخزن آکواریومی می‌شود که ممکن است موجب حرکت و فرار ماهی به سمت بخش‌های بالایی و سطحی ستون آب که شدت صوت کمتری احساس می‌شود، شود (Shafiei Sabet et al., 2015).

در مطالعه Shafiei Sabet و همکاران (۲۰۱۵) که به بررسی اثر تیمارهای صوتی با شدت صوت تقریبا مشابه با این پژوهش (۱۲۲ dB re 1µPa) بر پراکنش مکانی ماهی زبرا پرداختند، ماهی زبرا تمایل به سپری کردن ناگهانی کوتاه مدت به سمت سطوح بالایی آب را نشان داد که با مطالعه حاضر همخوانی ندارد. علت این تفاوت در پاسخ رفتاری پراکنش مکانی می‌تواند به استفاده از بلندگوی بیرون از آب در مطالعه Shafiei Sabet و همکاران (۲۰۱۵) و بلندگوی مستقر در زیر آب در این پژوهش و همچنین پیچیده بودن الگوهای پراکنش صوتی و شیب‌های صوتی در محیط‌های آکواریومی شرایط آزمایشگاهی مرتبط باشد (Campbell et al., 2019). عوامل دیگر همچون اندازه مخزن آزمایش، تاریخچه زندگی و محل نگهداری مخزن ذخیره ماهی‌ها و همچنین تفاوت در نژاد و ژنتیک گونه ماهی نیز می‌توان اشاره کرد.

منابع موجود درباره اندازه‌گیری‌های شدت اصوات و الگوهای پراکنشی در محیط‌های آکواریومی و مخازن آزمایشی که توسط Parvulescu (۱۹۶۷) و Akamatsu و همکاران (۲۰۰۲) طراحی شد، بیانگر پیچیدگی و متغیر بودن الگوهای پراکنش صوت و شیب صوتی در محیط‌های محصور مخزن آکواریومی است. این حقیقت بیانگر محدودیت‌های موجود برای بررسی پراکنش‌های مکانی آبزیان در محیط‌های محصور و کنترل شده است که حتما باید در نظر گرفته شود. بنابراین، برای بررسی دقیق‌تر الگوهای پراکنش ماهی و آبزیان دیگر انجام مطالعات میدانی در محیط‌های طبیعی گونه جانوری پیشنهاد می‌شود تا بتوان درک صحیح‌تر و تکمیلی از نحوه و الگوهای پراکنشی وابسته به صوت در آبزیان به دست آورد.

گونه‌های جانوری با توجه به درجه تکاملی و همچنین شرایط زیستگاهی، پاسخ‌های رفتاری متنوعی را در واکنش به گونه‌های شکارگر نشان می‌دهند و همچنین انعطاف‌پذیری بالایی در طی مراحل زندگی خود دارند (شفیعی ثابت، ۱۳۹۷). این پاسخ‌های رفتاری با توجه به ویژگی‌های گونه‌ای، شامل فرار از گونه شکارگر، پنهان شدن در مخفیگاه برای دوری از شکار شدن، تشکیل تجمعات و گروه‌های متراکم و حتی نزدیک شدن تهاجمی به سمت گونه شکارگر است (Ydenberg and Dill, 1986; Sih, 1987; Lima and Dill, 1990).

در مجموع، حرکت به سمت بخش پایینی ستون آب مشاهده شده در مخزن آزمایشی توسط ماهی زبرا می‌تواند به دلیل استرس ناشی

از پتانسیل حضور یک گونه شکارگر باشد که در محیط‌های زیست طبیعی آن‌ها که آب‌های شفاف با قابلیت نفوذ نور است به بخش‌های عمقی زیستگاه خود که دارای نور کمتری است و دارای پوشش‌های گیاهی‌ای که باعث کاهش قدرت دید گونه شکارگر می‌شود، باشد تا به این ترتیب بقا و ماندگاری خود را تضمین کند.

منابع

شفیعی ثابت س. ۱۳۹۶. مروری بر اثرات زیستی آلاینده‌های صوتی ناشی از فعالیت‌های انسانی بر ماهی. نشریه تحقیقات دامپزشکی و فرآورده های بیولوژیک، ۳۰(۲): ۲۲۳-۲۱۳.

شفیعی ثابت س. ۱۳۹۷. اثرات آلودگی صوتی بر استراتژی‌های رفتار شکارگری در آبزیان. تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک، ۳۱(۲): ۳۳-۲۵.

محسن‌پور س.ر. و شفیعی ثابت س. ۱۳۹۹. اثر افزایش سطوح صوت با الگوهای زمانی متفاوت بر رفتار شناگری ماهی زبرا (*Danio rerio*). نشریه محیط زیست طبیعی، ۷۳(۴): ۸۱۸-۸۰۵.

Akamatsu T., Okumura T., Novarini N. and Yan H.Y. 2002. Empirical refinements applicable to the recording of fish sounds in small tanks. The Journal of the Acoustical Society of America, 112(6): 3073–3082.

Barton B.A. 1997. Stress in finfish: Past, present and future- A historical perspective. In: Iwama G.K., Pickering A.D., Sumpter J.P. and Schreck C.B. (Eds.). Fish Stress and Health in Aquaculture. Cambridge University Press, UK.

Barton B.A. 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integrative and Comparative Biology, 42(3): 517–525.

Campbell J., Shafiei Sabet S. and Slabbekoorn H. 2019. Particle motion and sound pressure in fish tanks: a behavioural exploration of acoustic sensitivity in the zebrafish. Behavioural Processes, 164: 38–47.

Conte F.S. 2004. Stress and the welfare of cultured fish. Applied Animal Behaviour Science, 86(3-4): 205–223.

Cooper C. and Dewe P.J. 2008. Stress: A Brief History. John Wiley and Sons, UK. 137P.

Craig J.K. 2012. Aggregation on the edge: Effects of hypoxia avoidance on the spatial distribution of brown shrimp and demersal fishes in the Northern Gulf of Mexico. Marine Ecology Progress Series, 445: 75–95.

De Jong K., Forland T.N., Amorim M.C.P., Rieucau G., Slabbekoorn H. and Sivle L.D. 2020. Predicting the effects of anthropogenic noise on fish reproduction. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 30: 245–268.

Frisk G.V. 2012. Noiseonomics: The relationship between ambient noise levels in the sea and global economic trends. Scientific Reports, 2: 1–4 (437).

Galhardo L. and Oliveira R.F. 2009. Psychological stress and welfare in fish. Annual Review of Biomedical Sciences, 11: 120.

Gerlai R. 2019. Reproducibility and replicability in zebrafish behavioral neuroscience research. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 178: 30–38.

Gerlai R., Lahav M., Guo S. and Rosenthal A. 2000. Drinks like a fish: Zebra fish (*Danio rerio*) as a behavior genetic model to study alcohol effects. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 67(4): 773–782.

Gerlai R., Lee V. and Blaser R. 2006. Effects of acute and chronic ethanol exposure on the behavior of adult zebrafish (*Danio rerio*). Pharmacology Biochemistry and Behavior, 85(4): 752–761.

Hildebrand J.A. 2009. Anthropogenic and natural sources of ambient noise in the ocean. Marine Ecology Progress Series, 395: 5–20.

Johnson E.O., Kamilaris T.C., Chrousos G.P. and Gold P.W. 1992. Mechanisms of stress: A dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 16(2): 115–130.

Kalueff A.V. and Cachat J.M. 2010. Zebrafish Neurobehavioral Protocols. Springer: Humana Press, USA. 223P.

Ladich F. 2004. Sound production and acoustic communication. P: 210–230. In: Von Der Emde G., Mogdans J. and Kapoor B.G. (Eds.). The Senses of Fish Springer, Netherlands.

Levine S. 2005. Stress: An historical perspective. P: 3–23. In: Steckler T., Kalin N.H. and Reul J.M.H.M. (Eds.). Handbook of Stress and the Brain. Part 1: The Neurobiology of Stress. Elsevier, Netherlands.

Lima S.L. and Dill L.M. 1990. Behavioral decisions made under the risk of predation: A review and prospectus. Canadian Journal of Zoology, 68(4): 619–640.

Martinez-Porchas M., Martinez-Cordova L.R. and Ramos-Enriquez R. 2009. Cortisol and glucose: Reliable indicators of fish stress? Pan-American Journal of Aquatic Sciences, 4(2): 158-178.

McEwen B.S. 1998. Stress, adaptation, and disease: Allostasis and allostatic load. Annals of the New York Academy of Sciences, 840(1): 33–44.

Neo Y.Y., Hubert J., Bolle L.J., Winter H.V. and Slabbekoorn H. 2018. European seabass responds more strongly to noise exposure at

night and habituate over repeated trials of sound exposure. Environmental Pollution, 239: 367–374.

Neo Y.Y., Parie L., Bakker F., Snelderwaard P., Tudorache C., Schaaf M. and Slabbekoorn H. 2015. Behavioral changes in response to sound exposure and no spatial avoidance of noisy conditions in captive zebrafish. Frontiers in Behavioral Neuroscience, 9: 1–11 (28).

Nichols T.A., Anderson T.W. and Sirovic A. 2015. Intermittent noise induces physiological stress in a coastal marine fish. PLoS One, 10(9): 1–13 (e0139157).

Parvulescu A. 1967. The acoustics of small tanks. Marine Bio Acoustics, 2: 7–13.

Popper A.N., Fewtrell J., Smith M.E. and McCauley R.D. 2003. Anthropogenic sound: Effects on the behavior and physiology of fishes. Marine Technology Society Journal, 37(4): 35–40.

Purser J. and Radford A.N. 2011. Acoustic noise induces attention shifts and reduces foraging performance in three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). PLoS One, 6(2): 1–8 (e17478).

Radford A.N., Kerridge E. and Simpson S.D. 2014. Acoustic communication in a noisy world: Can fish compete with anthropogenic noise? Behavioral Ecology, 25(5): 1022–1030.

Sara G., Dean J.M., D'Amato D., Buscaino G., Oliveri A., Genovese S., Ferro S., Buffa G., Martire M.L. and Mazzola S. 2007. Effect of boat noise on the behaviour of bluefin tuna *Thunnus thynnus* in the Mediterranean Sea. Marine Ecology Progress Series, 331: 243–253.

Schreck C.B., Contreras-Sanchez W. and Fitzpatrick M.S. 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. Aquaculture, 197: 3–24.

Shafiei Sabet S. 2013. The noisy underwater world: The effect of sound on behaviour of captive zebrafish. Journal of the Acoustical Society of America, 112(6): 3073–3082.

Shafiei Sabet S., Neo Y.Y. and Slabbekoorn H. 2015. The effect of temporal variation in sound exposure on swimming and foraging behaviour of captive zebrafish. Animal Behaviour, 107: 49–60.

Shafiei Sabet S., Van Dooren D. and Slabbekoorn H. 2016. Son et lumiere: Sound and light effects on spatial distribution and swimming behavior in captive zebrafish. Environmental Pollution, 212: 480–488.

Sih A. 1987. Predator and prey lifestyles: An evolutionary and

ecological overview. P: 203–224. In: Kerfoot C.W. and Sih A. (Eds.). Predation: Direct and Indirect Impacts on Aquatic Communities. University Press of New England, USA.

Slabbekoorn H., Bouton N., Van Opzeeland I., Coers A., Ten Cate C. and Popper A.N. 2010. A noisy spring: The impact of globally rising underwater sound levels on fish. Trends in Ecology and Evolution, 25(7): 419–427.

Smith M.E., Kane A.S. and Popper A.N. 2004. Noise-induced stress response and hearing loss in goldfish (*Carassius auratus*). Journal of Experimental Biology, 207(3): 427–435.

Solan M., Hauton C., Godbold J.A., Wood C.L., Leighton T.G. and White P. 2016. Anthropogenic sources of underwater sound can modify how sediment-dwelling invertebrates mediate ecosystem properties. Scientific Reports, 6: 1–9 (20540).

Spence R., Gerlach G., Lawrence C. and Smith C. 2008. The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. Biological Reviews, 83(1): 13–34.

Strungaru S.A., Robea M.A., Plavan G., Todirascu-Ciornea E., Ciobica A. and Nicoara M. 2018. Acute exposure to methylmercury chloride induces fast changes in swimming performance, cognitive processes and oxidative stress of zebrafish (*Danio rerio*) as reference model for fish community. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 47: 115–123.

Tort L. 2011. Stress and immune modulation in fish. Developmental and Comparative Immunology, 35(12): 1366–1375.

Tudorache C., Ter Braake A., Tromp M., Slabbekoorn H. and Schaaf M.J. 2015. Behavioral and physiological indicators of stress coping styles in larval zebrafish. Stress, 18(1): 121–128.

Vazzana M., Celi M., Arizza V., Calandra G., Buscaino G., Ferrantelli V., Bracciali C. and Sara G. 2017. Noise elicits hematological stress parameters in Mediterranean damselfish (*Chromis chromis*, Perciformes): A mesocosm study. Fish and Shellfish Immunology, 62: 147–152.

Villamizar N., Vera L.M., Foulkes N.S. and Sanchez-Vazquez F.J. 2014. Effect of lighting conditions on zebrafish growth and development. Zebrafish, 11(2): 173–181.

Wendelaar Bonga S.E. 1997. The stress response in fish. Physiological Reviews, 77(3): 591–625.

Wysocki L.E., Dittami J.P. and Ladich F. 2006. Ship noise and

cortisol secretion in European freshwater fishes. Biological Conservation, 128(4): 501–508.

Ydenberg R.C. and Dill L.M. 1986. The economics of fleeing from predators. In Advances in the Study of Behavior, 16: 229–249.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 9, No. 3, Autumn 2021

Research Paper

Spatial distribution of zebrafish (*Danio rerio*) as a behavioral index of stress in response to sound

Seyed Reza Mohsenpour[1], Saeed Shafiei Sabet[2,3]*

Received: September 2020 Accepted: January 2021

Abstract

Anthropogenic sounds are emitted from different origins in the natural environments in various time and space domains. These sounds may directly or indirectly affect physiology and behaviour of animals. Sound related spatial distribution changes can be used as an indicator to assess stress related behaviour in aquatic animals. For this purpose, the experiment was designed to investigate the effect of temporal variation of sound exposed zebrafish (*Danio rerio*) spatial distribution as a behavioural indicator of stress expression. The results showed that sound affected the spatial distribution pattern of zebrafish in such a way that in the brief time span, the fish in continuous (CS), regular intermittent (1:1) and regular intermittent (1:4) tend to spend more time in the lower layer of the tank. Also, in the prolonged time span, fish in all sound treatments irrespective to the temporal pattern tend to spend more time in the lower layer of the tank. Moreover, in the brief time span, there was a significant difference in horizontal displacement in the tank (distance from the sound source) when fish exposed to irregular intermittent (1:1-7) treatment ($P<0.01$). Also, there were significant differences in horizontal displacement in the tank when fish exposed to irregular intermittent (1:1-7) and continuous (CS) treatments ($P<0.05$). Further studies are needed to investigate the effects of anthropogenic sounds on both predator and prey and their interactions.

Key words: *Fish Welfare, Behavioral Response, Prolonged, Brief, Stress*.

1- Ph.D. Student in Aquatic Ecology, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.
2- Assistant Professor in Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.
3- Assistant Professor in Department of Marine Sciences, Caspian Sea Basin Research Center, University of Guilan, Rasht, Iran.

*Corresponding Author: s.shafiei.sabet@guilan.ac.ir