

## اثر افزایش سطوح صوت با الگوهای زمانی متفاوت بر رفتار شناگری

### ماهی زبرا (*Danio rerio*)

سیدرضا محسن پور<sup>۱</sup>، سعید شفیعی ثابت<sup>۱\*</sup>

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران

(تاریخ دریافت ۹۹/۰۳/۱۴-تاریخ پذیرش ۹۹/۰۳/۳۰)

#### چکیده:

افزایش سطوح صوت ناشی از فعالیت‌های انسانی در زیستگاه‌های آبی می‌تواند اثرات منفی گسترده‌ای بر ماهیان و سایر گونه‌های آبی داشته باشد. در یک مطالعه آزمایشگاهی، تأثیر پنج تیمار صوتی (در دامنه صوت یکسان ۲۰۰-۴۰۰ هرتز و شدت صوت  $1 \mu\text{Pa}$  ref dB) با ساختار زمانی متفاوت بر رفتارهای شناگری ماهی زبرا (*Danio rerio*) بررسی گردید. تعداد حرکت انفجاری، سرعت شنای کوتاه‌مدت و سرعت شنای بلندمدت برای تمامی ۳۰ قطعه ماهی زبرا به‌صورت انفرادی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. برای انجام این مطالعه و بررسی رفتارهای ماهی از یک آکواریوم به ابعاد  $20 \times 15 \times 50$  سانتی‌متر استفاده شد. نتایج حاصل از این آزمایش اثرات برجسته و واضح مرتبط با تأثیر صوت بر رفتار ماهی زبرا را نشان داد. تمامی تیمارهای صوتی باعث افزایش معنی‌داری در تعداد حرکت انفجاری، سرعت شنای کوتاه‌مدت و سرعت شنای بلندمدت در ماهی زبرا در شرایط اسارت شد ( $P > 0.05$ ). نتایج این مطالعه بیانگر تأثیر بالقوه اصوات ناشی از فعالیت‌های انسانی بر رفتار ماهی زبرا در شرایط کنترل‌شده می‌باشد. مطالعات بیشتر در این زمینه موردنیاز است تا بررسی شود که آیا اصوات ناشی از فعالیت‌های انسانی می‌تواند باعث ایجاد الگوهای مشابه در سایر گونه‌های ماهی در شرایط اسارت و یا محیط طبیعی گردد.

**کلید واژگان:** رفتارشناسی آبیان، رفتار شناگری، صوت پیوسته، صوت ناپیوسته، *Danio rerio*

## ۱. مقدمه

پیوسته می‌باشند که در فرکانس‌های پایین در زیر آب پخش می‌شوند و با آستانه شنوایی بسیاری از گونه‌های آبزبان همپوشانی دارند (Ross, 1976; Dyndo *et al.*, 2016; Solan *et al.*, 2015; *al.*). همچنین سرعت بالای صوت در محیط آبی که حدوداً پنج برابر سریع‌تر از سرعت صوت در محیط خشکی است، اهمیت این موضوع را نشان می‌دهد که می‌بایست نقش و کاربردهای اصوات و پتانسیل تأثیرات آن‌ها بر موجودات آبی مورد بررسی قرار گیرد (Shafiei Sabet, 2017b; Slabbekoorn *et al.*, 2010; Popper and Hastings, 2009).

با توجه به فاصله موجودات آبی از منبع صوت تأثیرات متفاوتی دیده می‌شود. این منابع، در روابط صوتی درون‌گونه‌ای و بین‌گونه‌ای اختلال ایجاد کرده و تأثیرات گسترده‌ای بر گونه‌های آبی دارند (Wysocki *et al.*, 2006; Popper and Hastings, 2009). اصوات تولیدشده ناشی از فعالیت‌های انسانی می‌توانند باعث اختلالات فیزیکی، فیزیولوژیک و رفتاری در اغلب گونه‌های آبزبان شوند. در فواصل نزدیک به منبع صوت منجر به مرگ ناگهانی آبزبان، آسیب‌های حاد و شدید فیزیکی، آسیب و پاره شدن کیسه شنا، کلیه‌ها، آبشش‌ها و قسمت‌هایی از دستگاه گوارش شده (Budermann, 2011) و با فاصله گرفتن از منبع صوت می‌توانند باعث از دست دادن دائمی یا موقت قدرت شنوایی (Smith *et al.*, 2004) و همین‌طور عدم کارایی در برقراری ارتباطات صوتی در یک گونه و افزایش سطح استرس در آبزبان شده (Wysocki *et al.*, 2006; Nichols *et al.*, 2015) و در نهایت موجب تغییرات در فعالیت‌های تغذیه‌ای و رفتاری شوند (Purser and Radford, 2011; Shafiei Sabet *et al.*, 2015; Shafiei

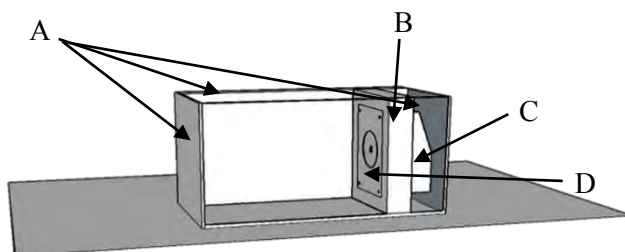
در سال‌های اخیر، با توجه به رشد جمعیت، پیشرفت فناوری و تغییر کاربری زمین، محیط‌زیست دست‌خوش تغییرات وسیع قرار گرفته است. این تغییرات زیست‌محیطی به‌طور کلی علاوه بر اثرات مخرب بر کره زمین، می‌تواند تهدیدی جدی برای تنوع زیستی موجودات ساکن بر کره زمین و روابط گونه‌های جانوری شناخته شود (Kunc *et al.*, 2016). از آلاینده‌های انسانی می‌توان به آلودگی‌های شیمیایی، نوری و صوتی اشاره نمود که در دامنه‌های زمانی و مکانی مختلف و با شدت‌های متناوب باعث بروز تغییرات زیست‌محیطی می‌شوند (Shafiei Sabet, 2017a). در این بین یکی از بزرگ‌ترین منابع آلودگی و محرک استرس محیطی، اصوات ناشی از فعالیت‌های انسانی می‌باشند که علاوه بر جانداران خشکی‌زی بر جانوران آبی نیز تأثیرگذارند (Slabbekoorn and Ripmeester, 2008; Slabbekoorn *et al.*, 2010). اصوات ناشی از فعالیت‌های انسانی در شش دهه گذشته با گسترش تحولات شهری، افزایش شبکه‌های حمل‌ونقل دریایی، استخراج منابع زیر آب و دستگاه‌های اکتشاف لرزه‌ای و غیره رو به افزایش است (Hildebrand, 2009; Frisk, 2012; Solan *et al.*, 2017; Vazzana *et al.*, 2016; *al.*). بیشتر مطالعات آبزبان بر منابع تولید صوت حاد از جمله سونار و سکوه‌های حفاری رایج در زیستگاه‌های دریایی به دلیل صدمات مستقیمی که بر آن‌ها وارد می‌کنند و دارای الگوی صوتی ناپیوسته می‌باشند متمرکز شده است (Popper and Hastings, 2009)؛ با این حال، کشتی‌رانی و اصوات ناشی از سیستم‌های پمپ و انتقال آب از مهم‌ترین منابع تولید اصوات ناشی از فعالیت‌های انسانی در زیستگاه‌های آب شیرین با الگوی صوتی

زمینه رعایت موازین اخلاقی در مطالعات به‌ویژه آزمایشگاهی می‌باشد، ماهی‌های نر و ماده درون یک تانک ذخیره به ابعاد  $40 \times 30 \times 50$  سانتی‌متر به مدت دو هفته نگهداری و با شرایط محیط سازگار شدند تا از تغییرات استرسی و هورمونی احتمالی ناشی از شرایط اسارت کاسته شود (Deakin et al., 2019; Sneddon et al., 2016). رفاه ماهی عبارت است از فراهم کردن تا حد امکان تمامی شرایط زیستگاه طبیعی ماهی در شرایط اسارت و کنترل‌شده آزمایشگاهی (Sneddon et al., 2016). پارامترهای کیفی آب، دما، اکسیژن و pH در شرایط یکسان و پایدار قرار گرفتند. جهت افزایش تباین (Contrast) دید ماهی در فایل ویدئویی ضبط‌شده، تانک آزمایش با ابعاد مذکور با پس‌زمینه مشکی رنگ احاطه شده بود. حین پخش تیمارهای صوتی از تانک آزمایش توسط دوربین، فیلم‌برداری شد. تیمارهای صوتی پس از تولید، با پخش‌کننده‌ای که به بلندگوی زیرآبی دست-ساز ( $8\Omega, 30\text{ W}, 10\text{ Hz}-10\text{ KHz}$ ) متصل بود پخش شد. در این آزمایش، در تانک مورد آزمایش یک صفحه جداکننده به‌صورت عرضی قرار گرفت و طول تانک به‌منظور احاطه بیشتر بر روی محیط شنای ماهی زبرا و همین‌طور قابل‌رؤیت بودن تمامی فضای شنای ماهی توسط دوربین فیلم‌برداری، نصف شد ( $25 \times 15 \times 20$  سانتی‌متر). همین‌طور بلندگو زیرآبی به‌صورت افقی در سمت دیگر صفحه جداکننده قرار گرفت (شکل ۱).

(Sabet et al., 2019). ماهی زبرا از راسته Cypriniformes و خانواده Cyprinidae می‌باشد. این ماهی به‌صورت طبیعی در آب‌های شیرین مناطق گرمسیری زندگی می‌کند (Spence et al., 2008). در سال‌های اخیر ماهی زبرا به‌عنوان مدل زیستی در مطالعات ژنتیکی، فیزیولوژیک، سم‌شناسی، رفتارشناسی، اکولوژیک و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرد (Gerlai et al., 2000; Kalueff and Gerlai et al., 2019; Cachat, 2010). هدف ما بررسی رفتار شناگری ماهی زبرا شامل تعداد حرکت انفجاری (Startle response)، سرعت شنای کوتاه‌مدت و سرعت شنای بلندمدت در پاسخ به تیمارهای صوتی پیوسته و ناپیوسته با استفاده از یک بلندگو در زیر آب می‌باشد. تیمارهای صوتی استفاده‌شده در این مطالعه از اصوات موجود در محیط طبیعی الگوبرداری شده و در محدوده فرکانسی برابر با آستانه شنوایی ماهی زبرا می‌باشد.

## ۲. مواد و روش‌ها

این مطالعه در کارگاه ماهیان زینتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان واقع در شهرستان صومعه‌سرا استان گیلان و با استفاده از یک تانک آزمایش به ابعاد  $20 \times 15 \times 50$  سانتی‌متر در بازه زمانی ۱۰ صبح الی ۱۴ بعدازظهر هرروز انجام شد. پس از تهیه ماهی زبرا به‌منظور رفاه ماهی که یکی از موضوعات به‌روز دنیا در



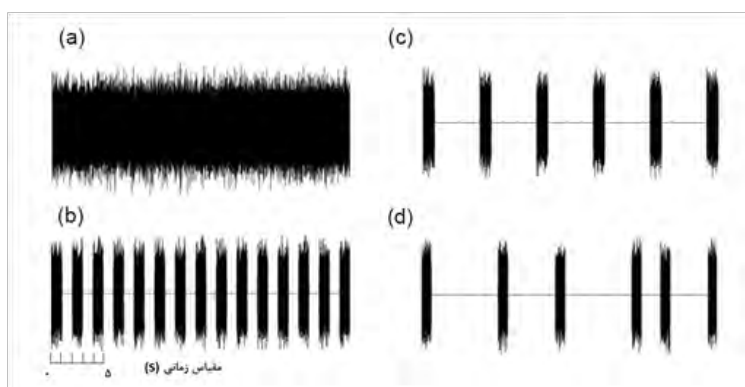
شکل ۱- نمای شماتیک تانک آزمایش. A: صفحات تیره شده تانک آزمایش به‌منظور افزایش تباین دید ماهی در فیلم. B: صفحه جداکننده فضای بلندگوی زیرآبی با فضای شنای ماهی. C: جعبه نگه‌دارنده بلندگوی زیرآبی. D: بلندگوی زیرآبی (تصویر ترسیمی از نگارندگان).

## ۱-۲. تیمارهای صوتی

منشأ انسانی دارند می‌توان به صدای قایق‌های موتوری تفریحی و تجاری و در محیط‌های کنترل شده و آزمایشگاهی به اصوات پمپ هوای آکواریومی، صدای هوا (اسپلش) و غیره اشاره نمود. همین‌طور از مثال‌های اصوات ناپیوسته منظم (سرعت تناوب کند و تند) (Intermittent) در محیط طبیعی، به اصوات ناشی از سکوه‌های حفاری، توربین‌های بادی و غیره و در محیط‌های کنترل شده و آزمایشگاهی، به صدای گام‌های افراد در سالن‌های تکتیر و پرورش و آکواریومی، پالس‌های الکتریکی موجود در فضا ناشی از برق شهر و غیره نام برد؛ و در مورد الگوهای صوتی ناپیوسته نامنظم به انفجارهای اکتشافاتی، صدای بازوبسته کردن درب و غیره که غیرقابل پیش‌بینی هستند اشاره نمود (Popper, 2003; Slabbekoorn, 2010; Popper & Hawkins, 2019). همچنین دامنه فرکانس‌های بیشتر منابع صوتی ذکر شده ناشی از فعالیت‌های انسانی در دامنه شنوایی بسیاری از گونه‌های ماهی‌ها و پستانداران دریایی می‌باشد (Slabbekoorn *et al.*, 2010).

در آزمایش حاضر از چهار تیمار صوتی با الگوهای زمانی مختلف به همراه تیمار شاهد مورد استفاده قرار گرفت. تیمار صوت پیوسته (CS) (Continuous sound) (شکل ۲ (a)). تیمار صوت ناپیوسته منظم با سرعت تناوب تند (۱:۱) شامل یک ثانیه صوت و بافاصله یک ثانیه سکوت می‌باشد (شکل ۲ (b)). تیمار صوت ناپیوسته منظم با سرعت تناوب کند (۱:۴) شامل یک ثانیه صوت و بافاصله چهار ثانیه سکوت می‌باشد (شکل ۲ (c)) و تیمار صوتی ناپیوسته نامنظم (۱:۷-۱:۱) شامل یک ثانیه صوت و بافاصله ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ ثانیه سکوت به صورت تصادفی می‌باشد (شکل ۲ (d)) و تیمار شاهد که ماهی در معرض پخش اصوات محیط (AN) (Ambient noise) قرار گرفت.

الگوهای صوتی مورد استفاده در این آزمایش بر اساس الگوهای موجود در طبیعت و زیستگاه اصلی این گونه از ماهی استخراج و ضبط و تولید شد. به‌طور مثال از الگوهای صوتی پیوسته (Continuous) در طبیعت که

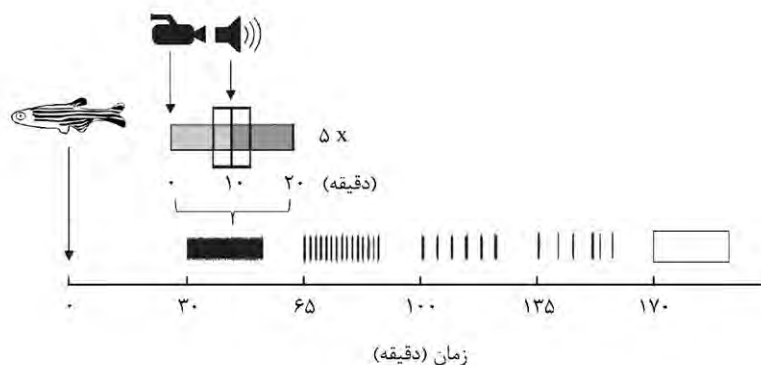


شکل ۲- الگوهای صوتی پیوسته و ناپیوسته مورد استفاده در آزمایش. (a) الگوی صوتی پیوسته، (b) تیمار صوت ناپیوسته منظم با سرعت تناوب تند (۱:۱)، (c) تیمار صوت ناپیوسته منظم با سرعت تناوب کند (۱:۴)، (d) تیمار صوتی ناپیوسته نامنظم (۱:۷-۱:۱) (اقتباس شده از Shafiei Sabet *et al.*, 2015).

(Higgs *et al.*, 2002) و همین‌طور با پهنای باند اصوات با منشأ انسانی شامل وسایل نقلیه، سیستم‌های پمپ و سکوه‌های حفاری مشابه نیز همپوشانی دارد

تیمارهای صوتی با استفاده از نرم‌افزار (2.3.1) Audacity که در دامنه فرکانس‌های صوتی قابل شنوایی ماهی زبرا می‌باشد (۱۵۰۰-۳۰۰ هرتز)

صوت و حداکثر ۱۰ دقیقه قبل از در معرض صوت) شکل ۳ و تعداد حرکت انفجاری که عبارت است از اوج شنای ماهی بیش از ۱۰ سانتی متر بر ثانیه که بلافاصله پس از پخش صوت اتفاق می افتد به مدت یک دقیقه و سرعت شنای کوتاه مدت (۵ ثانیه قبل و ۵ ثانیه در معرض صوت) و سرعت شنای بلندمدت (یک دقیقه قبل و یک دقیقه در معرض صوت) پس از در معرض تیمارهای صوتی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. این فرایند برای سایر تیمارهای صوتی با فاصله ۱۵ دقیقه ای بین تیمارها انجام شد. پارامترهای ذکر شده که می توان از آنها به عنوان تغییرات اولیه رفتار شناگری در مواجهه با صوت نام برد، دارای اهمیت و معنای زیستی (نشان دهنده استرس، ترس، اضطراب و یا کنجکاوی گونه های ماهی) می باشند (Neo et al., 2015; Shafiei Sabet et al., 2015).



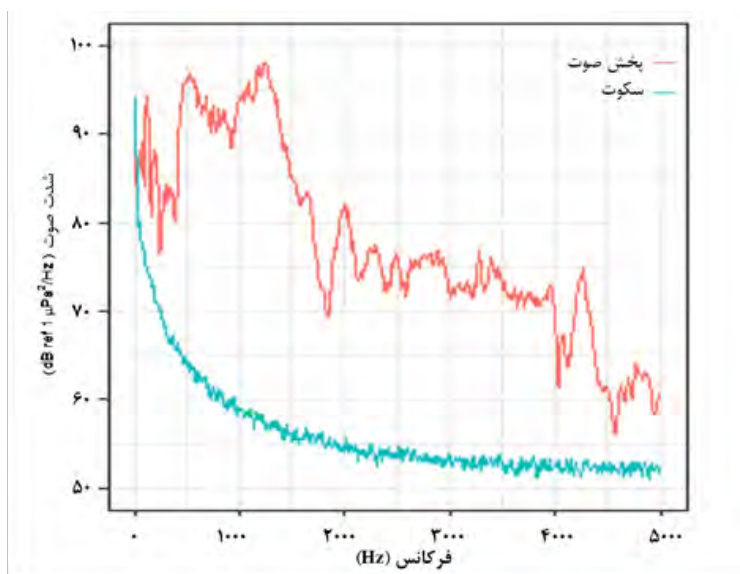
شکل ۳- تصویر شماتیک مقیاس زمانی در معرض صوت قرارگیری هر یک از ماهی های زبرا. هر یک از ماهیان در طول آزمایش در معرض پنج تیمار صوتی قرار گرفتند: صوت پیوسته (CS)، ۱:۱، ۱:۴، ۱:۷ و ۱:۱۰ و صوت پس زمینه (AN) به عنوان تیمار شاهد. هر تیمار صوتی به مدت ۱۰ دقیقه از بلندگو زیرآبی پخش شد و همچنین ۱۰ دقیقه قبل از پخش تیمار صوتی نیز توسط دوربین، فیلم برداری شد. در این آزمایش تغییرات رفتاری با مقایسه دو دوره زمانی حداکثر ۱۰ دقیقه قبل و حین در معرض تیمار صوتی جهت بررسی اثر صوت بر رفتار شناگری ماهی مورد بررسی قرار گرفت.

صوت تیمارهای صوتی در زمان پخش، به صورت میانگین برای مدت ۵ ثانیه  $1 \mu\text{Pa}$  ref ۱۲۱ dB و شدت صوت زمینه در زمان سکوت، به صورت میانگین برای مدت ۵ ثانیه  $1 \mu\text{Pa}$  ref ۹۶ dB بوده است.

(Slabbekoorn et al., 2010) ساخته شد. جهت بررسی اثر صوت بر رفتار ماهی زبرا، ۳۰ قطعه ماهی (۱۵ قطعه نر و ۱۵ قطعه ماده) به صورت انفرادی پس از انجام زیست سنجی از روز قبل به مدت تقریباً ۲۰ ساعت به تانک آزمایش معرفی شد و به ماهی فرصت تطابق با محیط داده شد تا بتواند از تمامی فضای تانک برای شنای خود استفاده نموده (Shafiei Sabet et al., 2015) و شرایط عادی و نرمال داشته باشد (Neo et al., 2015). همچنین در روز آزمایش نیز به مدت ۳۰ دقیقه به ماهیان جهت آرامش و خوگیری در شرایط آزمایشی فرصت داده شد.

پس از گذشت ده دقیقه از اتمام زمان خوگیری، تیمار صوتی توسط بلندگو و دستگاه پخش صوت، پخش گردید. پاسخ رفتاری ماهی زبرا به صورت انفرادی به پنج تیمار صوتی به مدت حداکثر ۲۰ دقیقه برای هر تیمار فیلم برداری شد (حداکثر ۱۰ دقیقه در معرض

با توجه به شکل ۴، در هنگام پخش صوت، شدت صوت و فرکانس پخش شده از بلندگوی زیرآبی کاملاً در محدوده شنوایی ماهی زبرا در دامنه شنوایی بین ۱۵۰۰-۳۰۰ هرتز (Higgs et al., 2002)، بود. شدت



شکل ۴- توزیع طیفی سطح شدت صوت پیوسته در مقایسه با تیمار سکوت (dB ref 1  $\mu$ Pa). شرایط سکوت (رنگ آبی) و پخش صوت پیوسته (رنگ قرمز). نمودار نشان می‌دهد که سطح شدت صوت به‌طور قابل توجهی در محدوده فرکانس یکسان افزایش یافته است.

درون تیمار از Post Hoc استفاده گردید. سطح معنی‌دار بودن در این بررسی  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

### ۳. نتایج

نتایج نشان‌دهنده اثر صوت بر رفتار شناگری ماهی زبرا بوده است. طوری که با پخش تیمارهای صوتی، تعداد حرکت انفجاری ماهی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد (شکل ۵). در ادامه با پخش تیمارهای صوتی، اختلاف سرعت شنای کوتاه‌مدت ماهی در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است (شکل ۶). همچنین تیمارهای صوتی در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار سرعت شنای بلندمدت در ماهی زبرا را نشان داده است (شکل ۷).

با توجه به شکل ۵، تعداد حرکت انفجاری در تیمارهای صوتی مختلف، سطح معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد نشان می‌دهند. با این تفاوت که تیمارهای صوت پیوسته سطح معنی‌داری  $P \geq 0.01$  نسبت به تیمار شاهد داشته و تیمارهای صوت ناپیوسته با سرعت

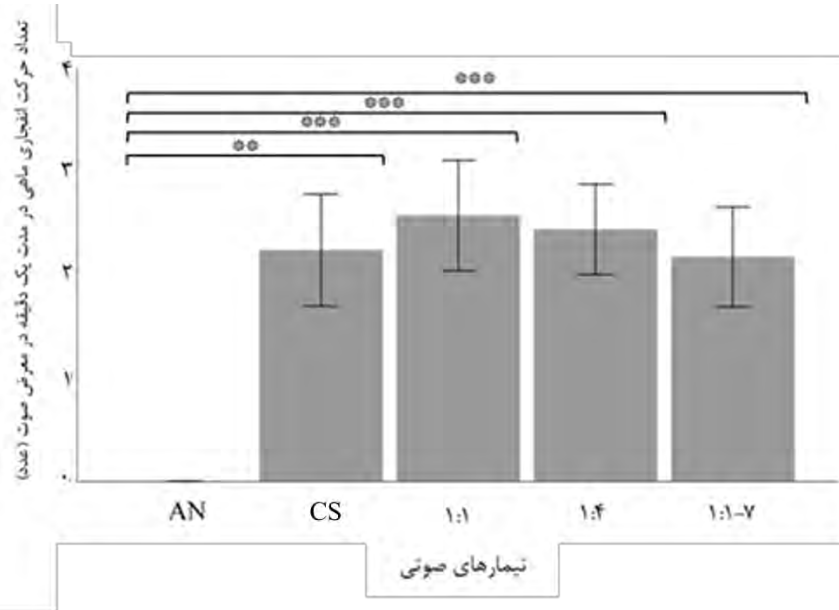
### ۲-۲. پردازش اطلاعات رفتاری و آنالیزهای

#### آماري

فیلم‌های ضبط‌شده از رفتار شناگری ماهی زبرا به‌منظور افزایش دقت بررسی شنای ماهی و همچنین کاهش سرعت ماهی جهت بررسی مکانی در ثانیه با کاهش بزرگنمایی زمانی به ۱۰ فریم بر ثانیه تبدیل شد. از نرم‌افزار (Logger Pro Vernier Software & Technology, Beaverton, OR, U.S.A., version 3.6.0) جهت بررسی پاسخ‌های رفتاری شامل تعداد حرکت انفجاری و سرعت شنای ماهی استفاده شد. ورود اطلاعات و داده‌ها در نرم‌افزار M.S. Excel 2016 و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 25 انجام گردید. 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 آنالیز واریانس اندازه‌گیری تکرارشونده (Measure Repeated ANOVA) و با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای Tukey ارزیابی شد. جهت بررسی و مقایسه

می‌دهند (برای مشاهده مقادیر تعداد حرکت انفجاری در تیمارها به جدول ۱ رجوع شود).

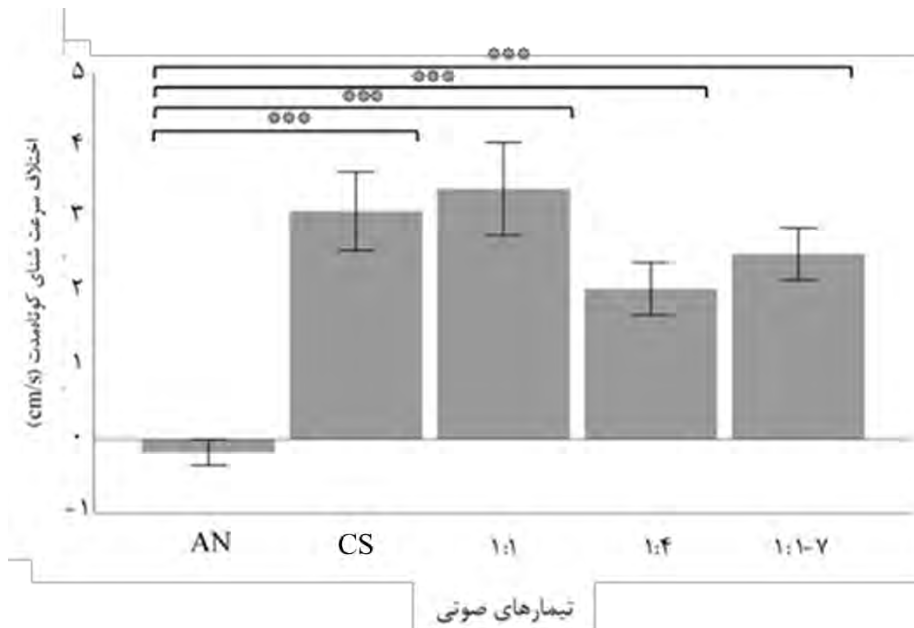
تناوب کند (۱:۴) و صوت ناپیوسته نامنظم و همچنین صوت ناپیوسته با سرعت تناوب تند (۱:۱) سطح معنی‌داری  $P \geq 0.001$  را به تیمار شاهد از خود نشان



شکل ۵- تعداد حرکت انفجاری ماهی (n=30) یک دقیقه در معرض صوت ( $P \geq 0.001 = ***$ ,  $P \geq 0.01 = **$ ) (درجه آزادی=۴) تغییرات خطای استاندارد ( $\pm 1$ ).

کوتاه‌مدت در بازه زمانی پنج ثانیه در تیمارهای صوتی باهم سطح معنی‌داری را نشان نمی‌دهند ( $P < 0.05$ ) (برای مشاهده مقادیر اختلاف سرعت شنای کوتاه‌مدت در تیمارها به جدول ۱ رجوع شود).

با توجه به شکل ۶، اختلاف سرعت شنای کوتاه‌مدت در بازه زمانی پنج ثانیه در تیمارهای صوتی سطح معنی‌داری  $P \geq 0.001$  را نسبت به تیمار شاهد نشان می‌دهند؛ اما در مقایسه اختلاف سرعت شنای

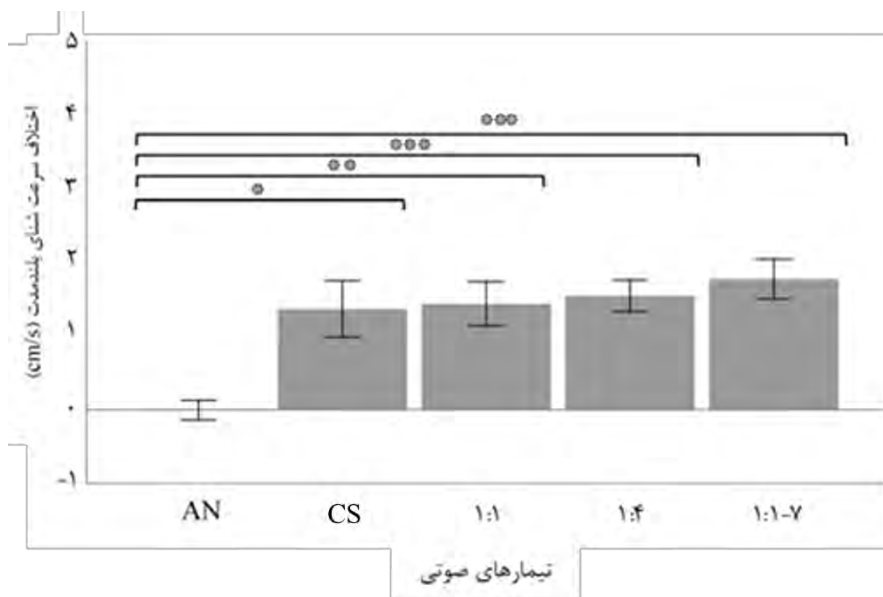


شکل ۶- میزان اختلاف سرعت شنای ماهی (n=30) در بازه زمانی ۵ ثانیه ( $P \geq 0.001 = ***$ ) (درجه آزادی=۴) تغییرات خطای استاندارد ( $\pm 1$ ).



ناپیوسته منظم با سرعت تناوب کند (۱:۴) و ناپیوسته نامنظم (۱:۱-۷) با تیمار شاهد اختلاف معنی داری  $P \geq 0.001$  مشاهده شد. باین حال نتایج عدم معنی داری در مقایسه تیمارهای صوتی مختلف با یکدیگر را نشان می دهد ( $P < 0.05$ ) (برای مشاهده مقادیر سرعت شنای بلندمدت در تیمارها به جدول ۱ رجوع شود).

با توجه به شکل ۷، اختلاف سرعت شنای بلندمدت ماهی در تیمار صوتی پیوسته (CS) در مقایسه با تیمار شاهد، سطح معنی داری را نشان می دهد ( $P \geq 0.05$ ). ولی تیمار صوتی ناپیوسته منظم با سرعت تناوب تند (۱:۱) در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی داری دیگری را نشان می دهد ( $P \geq 0.01$ ). همین طور در مقایسه در معرض صوت قرارگیری تیمارهای صوتی



شکل ۷- میزان اختلاف سرعت شنای بلندمدت ماهی (n=۳۰) در بازه زمانی یک دقیقه ( $P \geq 0.001 = ***$ ,  $P \geq 0.01 = **$ ,  $P \geq 0.05 = *$ ) (درجه آزادی= ۴) تغییرات خطای استاندارد ( $\pm$ ).

جدول ۱- مقادیر بررسی رفتاری شناگری ماهی زبرا شامل تعداد حرکت انفجاری، سرعت شنای کوتاه مدت و سرعت شنای بلندمدت (انحراف معیار  $\pm$  میانگین). تغییرات تعداد حرکت انفجاری، سرعت شنای کوتاه مدت و سرعت شنای بلندمدت در مواجهه با پنج تیمار صوتی به طور کامل در این جدول قابل ملاحظه می باشد.

شاخص های رفتاری	AN	CS	۱:۱	۱:۴	۱:۱-۷
تعداد حرکت انفجاری ماهی	۰/۰۰ $\pm$ ۰/۰۰	۲/۲۳ $\pm$ ۲/۹۶	۲/۵۷ $\pm$ ۲/۹۱	۲/۴۳ $\pm$ ۲/۳۹	۲/۱۷ $\pm$ ۲/۶۴
سرعت شنای کوتاه مدت (cm/s)	۲/۰۶ $\pm$ ۰/۹۵	۵/۶۱ $\pm$ ۳/۱۰	۶/۰۳ $\pm$ ۳/۷۲	۴/۴۴ $\pm$ ۱/۹۷	۴/۷۶ $\pm$ ۲/۲۶
سرعت شنای بلندمدت (cm/s)	۲/۱۷ $\pm$ ۰/۸۴	۳/۷۹ $\pm$ ۲/۲۳	۳/۹۱ $\pm$ ۱/۷۸	۳/۸۹ $\pm$ ۱/۴۶	۳/۹۲ $\pm$ ۱/۸۹



## ۴. بحث و نتیجه گیری

سرعت شنای کوتاهمدت ماهی با شروع پخش صوت در تیمارهای صوتی مختلف، موجب پاسخهای رفتاری مرتبط با ترس و اضطراب در این گونه می‌شود. مطالعات قبلی نشان داده است که پخش صوت باعث افزایش شتاب حرکتی و پاسخهای حرکت انفجاری در ماهی زبرا شد (Neo et al., 2015; Shafiei Sabet et al., 2015). البته شفيعی ثابت و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که تفاوت اختلاف تعداد حرکت انفجاری بین تیمارهای صوت پیوسته و صوت متناوب تند (۱-۱) با تیمار شاهد معنی‌دار نبوده است که با نتایج این مطالعه همخوانی ندارد. علت این تفاوت در بروز رفتارهای شناگری مرتبط با استرس می‌تواند به دلیل تفاوت در میزان شدت صوت زمینه قبل از آزمایش، شرایط نگهداری مختلف ماهیان و همچنین تفاوت‌های ژنتیکی و خصوصیات فردی در ماهی زبرا باشد (Shafiei Sabet, 2017a, 2017b).

مطالعات سایر محققین نشان داده است که سایر گونه‌های ماهیان نیز پاسخی مشابه رفتار حرکت ناگهانی به پخش صوت نشان داده‌اند. ماهی قنات اروپایی (*Phoxinus phoxinus*) و ماهی سه‌خاره (*Gasterosteus aculeatus*) همچنین افزایش معنی‌داری در تعداد حرکت انفجاری در مواجهه با صوت از خود نشان دادند که با نتایج این تحقیق مشابهت دارد (Purser & Radford, 2011; Voellmy et al., 2014). پاسخ رفتاری حرکت انفجاری در آغاز پخش ناگهانی صوت یک ویژگی مشترک رفتاری در گونه‌های ماهیانی که در شرایط اسارت و آزمایشگاهی نگهداری می‌شوند می‌باشد. البته ماهیان در محیط باز و شرایط طبیعی نیز می‌توانند پاسخهای رفتاری مرتبط با ترس و اضطراب را از خود نشان دهند (Staaterman et al., 2020; Neo et al., 2015).

در این آزمایش شاخص‌های رفتار شناگری ماهی زبرا از قبیل تعداد حرکت انفجاری ماهی، اختلاف سرعت شنای کوتاهمدت (در بازه زمانی ۵ ثانیه) و اختلاف سرعت شنای بلندمدت (یک دقیقه) در مواجهه با اصوات با الگوهای زمانی پیوسته و ناپیوسته مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از آن نشان داد که تعداد حرکت انفجاری که بیانگر اضطراب (anxiety) در ماهی زبرا و سایر گونه‌های آبزیان می‌باشد، در تیمارهای صوتی مختلف، اختلاف معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد نشان می‌دهد (شکل ۵). البته این تغییرات در بین تیمارهای صوتی تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. همچنین در بخش دیگری از نتایج، اختلاف سرعت شنای کوتاهمدت شکل ۶ و بلندمدت شکل ۷ در تمامی تیمارهای صوتی نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار بود. البته این تغییرات در بین تیمارهای صوتی تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. در این بخش، ابتدا در خصوص تعداد حرکت انفجاری و سپس سرعت شنای ماهی اقدام به مقایسه نتایج آزمایش حاضر با مطالعات مشابه بر این گونه و سپس با سایر گونه‌های ماهی نموده و علت تفاوت‌های احتمالی در این زمینه را مورد بحث قرار می‌دهیم.

پاسخ رفتاری حرکت انفجاری یک عمل غیرارادی است که توسط یک جفت از نرون‌های مغزی سلول‌های ماوتنر (the Mauthner (M-) cells) در بخش میانی مغز کنترل می‌شود و در فرایند تصمیم‌گیری نقش عمده‌ای دارند (Eaton et al., 1977; Eaton et al., 1977; Zottoli, 1977). افزایش شدت صوت موجب بروز پاسخ توسط سلول‌های غیرارادی ماوتنر در مغز میانی شده و منجر به بروز نوعی پاسخ فرار غیرارادی در ماهی می‌گردد. افزایش تعداد حرکت انفجاری و

تهویه آبششی ماهی باس اروپایی *Dicentrarchus labrax* نسبت به تیمار شاهد تأثیر معنی داری داشته‌اند. این میزان افزایش اکسیژن‌خواهی توسط ماهی باس اروپایی که با افزایش میزان تهویه آبششی و باز و بسته شدن سرپوش‌های آبششی همراه است بیانگر افزایش میزان سطوح استرس می‌باشد. Santulli و همکاران ۱۹۹۹، نشان دادند که پارامترهای بیوشیمیایی خونی شامل کورتیزول و گلوکز در ماهی باس اروپایی *Dicentrarchus labrax* در تیمارهای صوتی نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داده است. Staaterman و همکاران ۲۰۲۰ بیان نمودند که تیمارهای صوتی ناشی از فعالیت‌های انسانی در محیط طبیعی نیز پتانسیل اثرگذاری بر فیزیولوژی مرتبط با استرس در ماهیان صخره‌های مرجانی را دارند طوری که میزان هورمون کورتیزول در تیمارهای صوتی نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی داری داشته است.

در آزمایش انجام‌شده بر ماهی زبرا، الگوهای صوتی مختلف، تأثیر معنی داری بر سرعت شنای ماهی در مقایسه با تیمار شاهد داشته که با مشاهدات مطالعه حاضر مطابقت دارد (Shafiei Sabet *et al.*, 2015; Shafiei Sabet *et al.*, 2016a; Neo *et al.*, 2015). در آزمایش Neo و همکاران ۲۰۱۵ در مقایسه افزایش سرعت شنای ماهی با تیمار شاهد همانند نتایج این مطالعه، تیمار ناپیوسته با سرعت تناوب تند (۱:۱) میانگین سرعت و اختلاف معنی داری بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشته است. همین‌طور با پخش صوت، اختلاف سطح معنی داری از سرعت شنا در گونه ماهی کاد *Gadus morhua* مشاهده شد که با نتایج این مطالعه مطابقت داشته است (Hangard *et al.*, 2003). همچنین در زمینه سرعت شنای ماهی باس

Spiga *et al.*, 2016 و همکاران ۲۰۱۷ بیان نمودند که ماهی باس اروپایی *Dicentrarchus labrax* نیز تعداد حرکت انفجاری بیشتری در تیمار صوتی پیوسته و ناپیوسته نسبت به تیمار کنترل (شاهد) نشان داده است.

حرکت انفجاری توسط ماهیان طعمه یک پاسخ رفتاری جهت افزایش بقا در روابط شکار-شکارگری می‌باشد (Webb, 1986; Shafiei Sabet, 2017a). اصوات می‌توانند از طریق اثرگذاری بر قدرت تصمیم‌گیری و چگونگی ارزیابی خطر توسط گونه طعمه (Ducas, 2004) و همچنین به دلیل از بین رفتن تمرکز، موجب عدم پاسخ متناسب با خطر شوند (Chan *et al.*, 2010; Simpson *et al.*, 2015). بیان شده است که افزایش سطوح صوت می‌تواند به‌طور بالقوه درک خطر توسط ماهی گونه شکار را مختل نماید (Slabbekoorn *et al.*, 2010). رفتارهای مرتبط با ترس و اضطراب پاسخ‌های غیرارادی و اکتسابی به امکان حضور خطر بالقوه مرتبط می‌باشد (Maximino *et al.*, 2010; Blaser *et al.*, 2010). کیفیت و کمیت پاسخ‌های رفتاری ماهیان در شرایط اسارت و آزمایشگاهی به محرک‌های کوتاه‌مدت و شدید استرس‌زا نسبت به ماهیانی که در محیط باز و طبیعی زندگی می‌کنند متفاوت می‌باشد به‌طوری که کاهش پاسخ‌های رفتاری را در محیط باز و شرایط طبیعی موجب می‌شود (Malavasi *et al.*, 2004).

علاوه بر پاسخ‌های رفتاری، افزایش سطوح صوت می‌تواند در بروز پاسخ‌های فیزیولوژیک در شرایط آزمایشگاهی و زیستگاه طبیعی ماهیان نیز تأثیرگذار باشد. مطالعه Spiga و همکاران ۲۰۱۷ و Radford و همکاران ۲۰۱۶ نشان داده که پخش صوت بر تعداد دفعات باز و بسته شدن آبشش‌ها و در نتیجه بر میزان

مطالعه در شرایط کنترل شده و آزمایشگاهی بوده و تفسیر نتایج با شرایط محیطی طبیعی باید با احتیاط و توجه به محدودیت‌های مختلف زیستگاهی و رفتاری هر گونه صورت گیرد. الگوهای مشاهده شده رفتاری در واکنش به تیمارهای صوتی به‌عنوان عامل استرس‌زا به‌ویژه در دوره‌های کوتاه‌مدت زمانی این پژوهش در محیط‌های طبیعی و در سایر گونه‌های ماهیان هم مشاهده شده است. آلودگی‌های صوتی به‌عنوان عامل استرس‌زا در دوره‌های زمانی کوتاه‌مدت و بلندمدت می‌توانند باعث بروز تغییرات و اختلال رفتاری در سطوح انفرادی گونه‌های آبیان شده و اثرات گسترده‌تری بر جوامع یک اکوسیستم داشته باشند. مطالعات بیشتری در زمینه بررسی اثرات کوتاه‌مدت و بلندمدت آلودگی صوتی بر ماهیان و سایر آبیان پیشنهاد می‌شود تا بتوان درک درست و کامل‌تری از اثرات بالقوه این دسته از آلاینده‌ها در زیستگاه‌های آبی داشت.

اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) نیز اختلاف معنی‌داری نسبت به شرایط سکوت مشاهده شد (Neo et al., 2018). Shafiei Sabet و همکاران ۲۰۱۶ با بررسی مقایسه‌ای اثر صوت بر رفتار شناگری دو گونه ماهی سیچلاید دریاچه ویکتوریا (*Haplochromis piceatus*) و ماهی زبرا (*Danio rerio*) نشان دادند که پخش تیمارهای صوتی، منجر به کاهش سرعت شنای ماهی سیچلاید ویکتوریا و افزایش سرعت شنای ماهی زبرا می‌شود (Shafiei Sabet et al., 2016b). علت تفاوت در سرعت شناگری ماهی سیچلاید ویکتوریا می‌تواند مربوط به خصوصیات گونه‌ای، ویژگی‌های ژنتیکی و شرایط زیستگاهی باشد. افزایش سطوح صوت زمینه در نتیجه فعالیت‌های انسانی می‌تواند به‌عنوان یک عامل استرس‌زا شناخته شده و منجر به بروز یکسری تغییرهایی در فعالیت‌ها و الگوهای شناگری گونه‌های آبیان گردد (Mendl, 1999). لازم به یادآوری است که نتایج حاصل از این

## References

- Blaser, R.E., Chadwick, L. and McGinnis, G.C., 2010. Behavioral measures of anxiety in zebrafish (*Danio rerio*). Behavioural brain research, 208(1), pp.56-62.
- Budelmann, B.U., 1988. Morphological diversity of equilibrium receptor systems in aquatic invertebrates. In Sensory biology of aquatic animals (pp. 757-782). Springer, New York, NY.
- Chan, A.A.Y.H., Giraldo-Perez, P., Smith, S. and Blumstein, D.T., 2010. Anthropogenic noise affects risk assessment and attention: the distracted prey hypothesis. Biology letters, 6(4), pp.458-461.
- Codarin, A., Wysocki, L.E., Ladich, F. and Picciulin, M., 2009. Effects of ambient and boat noise on hearing and communication in three fish species living in a marine protected area (Miramare, Italy). Marine pollution bulletin, 58(12), pp.1880-1887.
- Cortemeglia, C. and Beitinger, T.L., 2005. Temperature tolerances of wild-type and red transgenic zebra danios. Transactions of the American Fisheries Society, 134(6), pp.1431-1437.
- Deakin, A.G., Spencer, J.W., Cossins, A.R., Young, I.S. and Sneddon, L.U., 2019. Welfare challenges influence the complexity of movement: Fractal analysis of behaviour in zebrafish. Fishes, 4(1), p.8.
- Dukas, R., 2004. Causes and consequences of limited attention. Brain, Behavior and Evolution, 63(4), pp.197-210.
- Dyndo, M., Wiśniewska, D.M., Rojano-Doñate, L. and Madsen, P.T., 2015. Harbour porpoises react to low levels of high frequency vessel noise. Scientific reports, 5, p.11083.

- Eaton, R.C., Bombardieri, R.A. and Meyer, D.L., 1977. The Mauthner-initiated startle response in teleost fish. *Journal of Experimental Biology*, 66(1), pp.65-81.
- Eaton, R.C., DiDomenico, R. and Nissanov, J., 1991. Role of the Mauthner cell in sensorimotor integration by the brain stem escape network. *Brain, Behavior and Evolution*, 37(5), pp.272-285.
- Frisk, G.V., 2012. Noiseconomics: The relationship between ambient noise levels in the sea and global economic trends. *Scientific reports*, 2, p.437.
- 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), pp.773-782.
- Gerlai, R., 2019. Reproducibility and replicability in zebrafish behavioral neuroscience research. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 178, pp.30-38.
- Handegard, N.O., Michalsen, K. and Tjøstheim, D., 2003. Avoidance behaviour in cod (*Gadus morhua*) to a bottom-trawling vessel. *Aquatic Living Resources*, 16(3), pp.265-270.
- Higgs, D.M., Souza, M.J., Wilkins, H.R., Presson, J.C., Popper, A.N., 2002. Age- and size-related changes in the inner ear and hearing ability of the adult zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of the Association for Research in Otolaryngology*. 3, 174-184.
- Hildebrand, J.A., 2009. Anthropogenic and natural sources of ambient noise in the ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 395, pp.5-20.
- Kalueff, A. V., Cachat, J.M., 2010. *Zebrafish Neurobehavioral Protocols*. Springer: Humana Press. 223p.
- Kunc, H.P., McLaughlin, K.E., Schmidt, R., 2016. Aquatic noise pollution: Implications for individuals, populations, and ecosystems. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 283, 1-8.
- Lengagne, T., 2008. Traffic noise affects communication behaviour in a breeding anuran, *Hyla arborea*. *Biological conservation*, 141(8), pp.2023-2031.
- Malavasi, S., Georgalas, V., Lugli, M., Torricelli, P. and Mainardi, D., 2004. Differences in the pattern of antipredator behaviour between hatchery-reared and wild European sea bass juveniles. *Journal of fish Biology*, 65, pp.143-155.
- Maximino, C., de Brito, T.M., da Silva Batista, A.W., Herculano, A.M., Morato, S. and Gouveia Jr, A., 2010. Measuring anxiety in zebrafish: a critical review. *Behavioural brain research*, 214(2), pp.157-171.
- Mendl, M., 1999. Performing under pressure: stress and cognitive function. *Applied Animal Behaviour Science*, 65(3), pp.221-244.
- 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, pp.1-11.
- Neo, Y.Y., Hubert, J., Bolle, L., Winter, H.V., Ten Cate, C. and Slabbekoorn, H., 2016. Sound exposure changes European seabass behaviour in a large outdoor floating pen: Effects of temporal structure and a ramp-up procedure. *Environmental pollution*, 214, pp.26-34.
- Neo, Y.Y., Hubert, J., Bolle, L.J., Winter, H.V. and Slabbekoorn, H., 2018. European seabass respond more strongly to noise exposure at night and habituate over repeated trials of sound exposure. *Environmental pollution*, 239, pp.367-374.
- Nichols, T.A., Anderson, T.W. and Širović, A., 2015. Intermittent noise induces physiological stress in a coastal marine fish. *PLoS One*, 10(9), pp.1-13.
- Popper, A.N., 2003. Effects of anthropogenic sounds on fishes. *Fisheries*, 28(10), 24-31.
- Popper, A.N. and Hastings, M.C., 2009. The effects of anthropogenic sources of sound on fishes. *Journal of fish biology*, 75(3), pp.455-489.
- Popper, A.N., & Hawkins, A.D., 2019. An overview

of fish bioacoustics and the impacts of anthropogenic sounds on fishes. *Journal of Fish Biology*, 94(5), 692-713.

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).

Radford, A.N., Lèbre, L., Lecaillon, G., Nedelec, S.L. and Simpson, S.D., 2016. Repeated exposure reduces the response to impulsive noise in European seabass. *Global Change Biology*, 22(10), pp.3349-3360.

Ross, D. 1976. *Mechanics of underwater noise*. Pergamon Press, New York.

Santulli, A., Modica, A., Messina, C., Ceffa, L., Curatolo, A., Rivas, G., Fabi, G. and D'amelio, V., 1999. Biochemical responses of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) to the stress induced by off shore experimental seismic prospecting. *Marine Pollution Bulletin*, 38(12), pp.1105-1114.

Shafiei Sabet, S., 2017a. Effects of sound pollution on predatory behaviour strategies in aquatic animals. *Veterinary Researches and Biological Products*, 25-33. (In Persian)

Shafiei Sabet, S., 2017b. A review of the biological effects of anthropogenic noise on fish. *Veterinary Researches and Biological Products*, 213-223. (In Persian)

Shafiei Sabet, S., Karnagh, S.A. and Azbari, F.Z., 2019. Experimental test of sound and light exposure on water flea swimming behaviour. In *Proceedings of Meetings on Acoustics 5ENAL* (Vol. 37, No. 1, p. 010015). Acoustical Society of America.

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, pp.49-60.

Shafiei Sabet, S., Van Dooren, D. and Slabbekoorn, H., 2016a. Son et lumière: Sound and light effects on spatial distribution and swimming behavior in captive zebrafish. *Environmental pollution*, 212, pp.480-488.

Shafiei Sabet, S., Wesdorp, K., Campbell, J., Snelderwaard, P. and Slabbekoorn, H., 2016b. Behavioural responses to sound exposure in captivity by two fish species with different hearing ability. *Animal Behaviour*, 116, pp.1-11.

Shannon, G., McKenna, M.F., Angeloni, L.M., Crooks, K.R., Fristrup, K.M., Brown, E., Warner, K.A., Nelson, M.D., White, C., Briggs, J. and McFarland, S., 2016. A synthesis of two decades of research documenting the effects of noise on wildlife. *Biological Reviews*, 91(4), pp.982-1005.

Simpson, S.D., Purser, J. and Radford, A.N., 2015. Anthropogenic noise compromises antipredator behaviour in European eels. *Global change biology*, 21(2), pp.586-593.

Slabbekoorn, H. and RIPMEESTER, E.A.P., 2008. Birdsong and anthropogenic noise: implications and applications for conservation. *Molecular ecology*, 17(1), pp.72-83.

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 & evolution*, 25(7), pp.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), pp.427-435.

Sneddon, L.U., Wolfenden, D.C., and Thomson, J.S., 2016. Stress management and welfare. In *Fish Physiology* (Vol. 35, pp. 463-539). Academic Press.

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, p.20540.

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

Spiga, I., Aldred, N. and Caldwell, G.S., 2017. Anthropogenic noise compromises the anti-predator

behaviour of the European seabass, *Dicentrarchus labrax* (L.). Marine pollution bulletin, 122(1-2), pp.297-305.

Staaterman, E., Gallagher, A.J., Holder, P.E., Reid, C.H., Altieri, A.H., Ogburn, M.B., Rummer, J.L. and Cooke, S.J., 2020. Exposure to boat noise in the field yields minimal stress response in wild reef fish. Aquatic Biology, 29, pp.93-103.

Sundin, J., Berglund, A. and Rosenqvist, G., 2010. Turbidity hampers mate choice in a pipefish. Ethology, 116(8), pp.713-721.

Tuomainen, U. and Candolin, U., 2011. Behavioural responses to human-induced environmental change. Biological Reviews, 86(3), pp.640-657.

Vazzana, M., Celi, M., Arizza, V., Calandra, G., Buscaino, G., Ferrantelli, V., Bracciali, C. and Sarà, G., 2017. Noise elicits hematological stress parameters in Mediterranean damselfish (*Chromis chromis*, perciformes): a mesocosm study. Fish & shellfish immunology, 62, pp.147-152.

54.

Voellmy, I.K., Purser, J., Flynn, D., Kennedy, P., Simpson, S.D. and Radford, A.N., 2014. Acoustic noise reduces foraging success in two sympatric fish species via different mechanisms. Animal Behaviour, 89, pp.191-198.

Webb, P.W., 1986. Effect of body form and response threshold on the vulnerability of four species of teleost prey attacked by largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 43(4), pp.763-771.

Whitfield, T.T., 2002. Zebrafish as a model for hearing and deafness. Journal of neurobiology, 53(2), pp.157-171.

Wysocki, L.E., Dittami, J.P. and Ladich, F., 2006. Ship noise and cortisol secretion in European freshwater fishes. Biological conservation, 128(4), pp.501-508.

Zottoli, S.J., 1977. Correlation of the startle reflex and Mauthner cell auditory responses in unrestrained goldfish. Journal of Experimental Biology, 66(1), pp.243-2