اثر رنگ نور و موسیقی بر کورتیزول و گلوکز خون به عنوان شاخصهای استرس در ماهی قرمز (*Carassius auratus*)

مهدی ذوالفقاری* و محمدرضا ایمان‌پور

گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی، دانشکده شیلات ومحیط زیست، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۸۸/۳/۳۰ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۲۸

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثر موسیقی و رنگ نور بر شاخصهای استرس در *ماهی قرمز* صورت پذیرفت. آزمایش در غالب طرح کاملاً تصادفی با ۲ تیمار رنگ نور (نور سفید و قرمز) و ۳ تیمار موسیقی (M۰= بدون پخش موسیقی، M۳۰= ۳۰ دقیقه پخش موسیقی و M۶۰= ۶۰ دقیقه پخش موسیقی) طراحی گردید. طبق نتایج به دست آمده اثر متقابل رنگ نور و موسیقی و اثر موسیقی بر رشد ماهی، شاخصهای استرس یعنی میزان کورتیزول و گلوکز و یون کلسیم خون معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). طبق این نتایج نور قرمز سبب کاهش رشد *ماهی قرمز* گردید ($p<۰/۰۱$). همچنین نور قرمز باعث افزایش میزان کلسیم خون گردید ($p<۰/۰۱$) ولی تأثیری بر میزان کورتیزول و گلوکز خون نداشت ($p>۰/۰۵$). بنابراین نور قرمز باعث القاء استرس در *ماهی قرمز* می‌گردد، اما موسیقی سبب ایجاد استرس در این ماهی نشده که نشان می‌دهد این ماهی قادر به تشخیص موسیقی از صداهای مزاحم محیط می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: استرس، کورتیزول، رنگ نور *ماهی قرمز*، موسیقی، *Carassius auratus*

* نویسنده مسئول، تلفن : ۰۱۷۱۲۲۴۵۹۶۵ پست الکترونیکی: zolfaghari.mz@gmail.com

مقدمه

اینکه حس شنوایی و سیستم شنوایی در بین مهره داران چگونه تکامل یافته است سؤالی است که از مدتها قبل در بین محققین مطرح بوده است. بیشتر بخشهای پایه‌ای شنوایی در همان مراحل اولیه تکاملی مهره‌داران به وجود آمده‌اند. بر طبق این نظریه بخشها و عملکردهایی که در بیشتر مهره‌داران پیشرفته از قبیل پرندگان و پستانداران وجود دارند، حاصل اصلاح و بهبود همان مکانیسمهایی است که در ماهیان پیشرفته و شاید ماهیان ابتدایی‌تر نظیر ماهیان *خاویاری*، *بیچر*، *گار*، *کوسه* و *لانگ‌فیش* وجود دارد (۸). علاقه به کشف اثر صدا بر ارگانیسم‌های آبزی در دهه اخیر رشد قابل توجهی داشته است (۱۸). همزمان با این گزارشها که در ابتدا بر پستانداران دریایی متمرکز شده بود، برخی پژوهشگران عنوان کردند که با توجه به اینکه صدا بر پستانداران دریایی اثر می‌گذارد، ممکن است بر دیگر ارگانیسم‌های آبزی همچون ماهیها و بی‌مهرگان نیز تأثیرگذار باشد (۱۷). اساس توجه به قابلیت تأثیرگذاری صدا بر ماهی، بر اثرگذاری صدا بر رفتار، شنوایی و فیزیولوژی بدن انسان و حیوانات خشکی‌زی استوار است. بیشتر مطالعات انجام شده در مورد اثر صدا بر ماهی بر تأثیرات مخرب صداهای حاصل از فعالیتهای انسانی متمرکز بوده است. در مورد حیوانات، بیشتر مطالعات در زمینه رابطه صداهای موجود در محیط به عنوان یک عامل استرس‌زا (۲۳ و ۲۷) و واکنشهای رفتاری و فیزیولوژیکی آنها صورت گرفته است و مطالعات کافی در مورد اثرات صوت به شکل موسیقی بر حیوانات انجام نشده است. صداهای ریتم‌دار و دارای نظم و قاعده موسیقی نامیده

Archive of SID
www.SID.ir

می شوند (۲۵). موسیقی شکلی از انرژی است که می‌تواند برای اهداف مختلف استفاده گردد. از جمله اینکه موسیقی دارای اثر درمانی نیز می باشد. اثر آرامش‌بخش موسیقی بر انسان و رفتارهای او شناخته شده است (۲۱). اما تحقیقات اندکی در مورد اثر موسیقی بر ماهی صورت گرفته است (۳، ۱۴ و ۱۵) در کنار حس شنوایی، ادراک ماهی از محیط اطراف از طریق حس بینایی نیز تأثیر به سزایی در ایجاد استرس یا آرامش در ماهی دارد. خصوصیات رفتاری ماهی و توانایی دیدن طیفهای نور، به گونه ماهی بستگی دارد. اثر طیف نور بر ماهی از جنبه‌های مختلف فیزیولوژیکی همچون رشد، سیستم نوروهورمونی، تولید مثل، رفتار و غیره، قابل بررسی است (۷، ۱۲، ۱۳ و ۱۹) به طور کلی مطالعات انجام شده بیشتر در رابطه با پاسخ فیزیولوژیکی ماهی به استرس حاد و مزمن ناشی از اختلال در ریتم نوری روزانه صورت گرفته است (۱۰). اما مطالعات نشان داده است طیفهای مختلف نور نیز می‌تواند اثر استرس‌زا (افزایش کورتیزول) و یا ممکن است اثر آرامش‌بخش در شرایطی که استرسی به ماهی تحمیل شده است، داشته باشد (۱۱).

با وجود تحقیقات کافی روی سیستم بینایی ماهی و اثبات این موضوع که ماهیان قادر به تشخیص طیفهای مختلف نور هستند (۵) تنها اخیراً مطالعاتی در خصوص اثر طیف نور روی پرورش ماهیان مورد توجه قرار گرفته است (۱۲). بنابراین هدف از این پژوهش بررسی اثر موسیقی و رنگ نور بر شاخصهای استرس در *ماهی قرمز* می‌باشد.

مواد و روشها

تهیه ماهی: این پژوهش در پاییز ۱۳۸۷ در مرکز تحقیقات آبزی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. *ماهی قرمز* مورد نظر در محل انجام آزمایش تکثیر شده و لاروهای به دست آمده تا شروع آزمایش تحت شرایط یکسان پرورش یافتند. پس از رسیدن ماهیها به میانگین وزنی ۰/۰۸ ±۴/۱۵ تعداد۵۴۰ عدد *ماهی قرمز*ا در ۱۸ تانک (۲ تیمار نور، ۳ تیمار موسیقی با ۳ تکرار برای هر تیمار) که ظرفیت هر کدام ۲۰۰ لیتر بود، توزیع گردید.

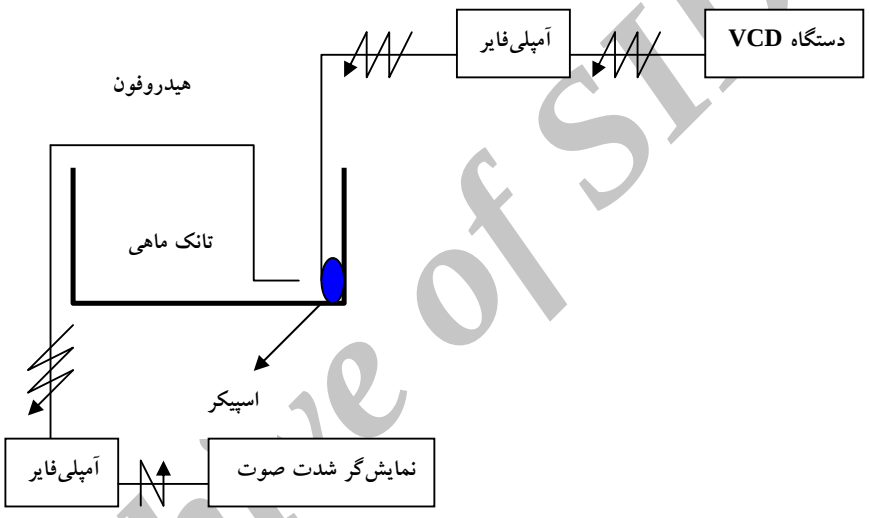
نور: برای ایجاد شرایط نوری مورد نظر از اتاقکهای چوبی با روکش سیاه استفاده شد تیمار رنگ نور شامل دو رنگ نور قرمز و سفید بود. به منظور ایجاد نور قرمز از لامپهای پشت جیوه‌ای ۴۰ وات قرمز و جهت ایجاد نور سفید از لامپهای پشت جیوه‌ای ۴۰ وات سفید استفاده شد. برای هر آکواریوم یک لامپ در نظر گرفته شد و ارتفاع لامپها به نحوی تنظیم گردید که شدت نور در سطح آب ۳۰۰ لوکس باشد. شدت نور توسط دستگاه لوکس‌متر (مدل Lutron Lx-101، تایوان) اندازه گیری می‌شد. طول دوره نوری برای هر دو گروه نور قرمز و سفید به صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی (از ساعت ۷ صبح تا ۷ شب) انتخاب گردید که توسط یک دستگاه تایمر (مدل ۰۲۶، شرکت نورفوروکسلستروم آلمان) کنترل می-شد.

موسیقی: طراحی و ساخت تجهیزات مربوط به پخش و انتقال صوت به زیر آب بر اساس روش شرح داده شده توسط پاپوت سوگلو و همکاران (۱۵)، صورت گرفت. انتخاب موسیقی از قطعات لایت (ویولون، Mon amour از Clude michel) بود. طول مدت موسیقی انتخاب شده ۶ دقیقه و ۳۰ ثانیه بود که با تکرار آن دو قطعه موسیقی با مدت ۳۰ دقیقه و ۶۰ دقیقه ایجاد گردید. موسیقی انتخابی سپس با استفاده از نرم افزار Jetaudio مجدداً اصلاح شد، به طوری که فرکانسهای کمتر از ۱۰۰ و بالاتر از۱۰۰۰ هرتز حذف گردید. جهت پخش و کنترل مدت زمان پخش موسیقی از دو دستگاه VCD متصل به سیستم کنترل کننده زمان (تایمر) (مدل ۰۲۶، شرکت نورفوروکسلستروم آلمان) استفاده گردید. هر دستگاه VCD حاوی CD مربوط به تیمار در نظر گرفته شده توسط سیم رابط به اسپیکر (قطر بلندگو ۱۰ سانتیمتر، ۱۰۰ وات) متصل شده و اسپیکر در زیر آب در یک گوشه از تانک پرورش قرار داده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

جهت تقویت و کنترل شدت صوت از سیستم آمپلی فایر (۸۰ وات، شرکت پارسا صوت، ایران) بعد از خروجی VCD استفاده گردید. شدت صوت ۳۰ دسی‌بل (۱۵) در نظر گرفته شد که توسط یک هیدروفون اندازه‌گیری می‌شد. دستگاههای اسپیکر و هیدروفون به سفارش، توسط شرکت آیفون سازان گرگان ساخته شد. تجهیزات به شکلی در هر تانک تعبیه گردید که برای شنای ماهی ایجاد مشکل نکند (شکل ۱). تجهیزات مربوط به صوت روزانه مورد کنترل قرار می گرفت. تیمارهای موسیقی شامل پخش موسیقی به مدت ۳۰ دقیقه با فاصله های ۹۰ دقیقه (M۳۰) ، پخش موسیقی به مدت ۶۰ دقیقه با فاصله های ۶۰ دقیقه (M۳۰) و تیمار بدون پخش موسیقی (M۰) انتخاب گردید. موسیقی روزانه ۴ بار در ساعت ۹/۰۰ ، ۱۱/۰۰ ، ۱۳/۰۰ و ۱۵/۰۰ پخش می گردید و تجهیزات انتقال صدا روزانه کنترل می‌شد.



شکل ۱- سیستم پخش موسیقی در تانکهای پرورش *ماهی قرمز*

پرورش: بچه ماهیان گلدفیش با میانگین وزنی یکسان پس از معرفی به مدت دو هفته با شرایط جدید سازگار شدند. پس از این مدت بیومتری اصلی جهت شروع آزمایش انجام گردید. ۲۴ ساعت قبل از بیومتری اولیه غذادهی قطع شد. دوره اصلی پرورش به مدت ۶۰ روز ادامه یافت. جهت غذادهی از غذای کنستانتره شرکت بیومار استفاده شد. ترکیب شیمیایی غذای مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است. غذادهی در دو نوبت ۸ صبح و ۴ بعد از ظهر در زمانی که موسیقی پخش نمی‌شد صورت می-گرفت. غذادهی بر اساس ۲ درصد وزن بدن بود. جهت حفظ کیفیت آب، روزانه دو سوم حجم آب آکواریوم تعویض و مدفوع ماهی از طریق سیفون کردن از محیط خارج می شد.

جهت نگه‌داشتن اکسیژن آب در حد مطلوب، از سیستم هوادهی استفاده گردید. دمای آب توسط بخاری آکواریومی در طول دوره تنظیم می‌گردید. کنترل خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب روزانه قبل از اولین غذادهی و نیم ساعت پس از آخرین نوبت غذادهی صورت می‌گرفت. دما ۲۶/۴±۰/۷ درجه سانتی‌گراد PH ۷/۷±۰/۱، شوری ۰/۱ گرم در لیتر و اکسیژن محلول ۷/۵ ±۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر بود. در پایان دوره پرورش بیومتری نهایی صورت گرفته و

Archive of SID
www.SID.ir

شاخصهای وزن نهایی، افزایش وزن (WG)، شاخص رشد روزانه (DGI) با استفاده از فرمولهای زیر محاسبه گردید.

رابطه۱ $WG=BWf-BWi$

رابطه۲ $DGI= (Wf^{1/3}-Wi^{1/3})100/days$

Wi= وزن اولیه Wf= وزن نهایی

جدول ۱- ترکیب شیمیایی غذای مورد استفاده

اجزاءترکیب	*مقدار*
پروتئین خام (٪)	۵۶
چربی کل (٪)	۱۸
خاکستر (٪)	۱۰/۵
فیبر (٪)	۰/۴
فسفر کل (٪)	۱/۶
ویتامین A (I.U./Kg)	۹۰۰۰
ویتامین D3 (I.U./Kg)	۳۰۰۰
ویتامین E (mg/kg)	۳۵۰
CU (mg/kg)	۳

آنالیز خون: در پایان آزمایش خونگیری از طریق قطع ساقه دمی ماهی صورت گرفت. خون جمع‌آوری شده در میکروتیوپ‌های اپندورف تا قبل از سانتریفیوژ در یخ نگه-داری گردید. این عمل در هر تکرار برای ۱۵ ماهی صورت گرفت که خون هر ۵ ماهی در یک میکروتیوپ جمع‌آوری گردید. نمونه های خون در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه به منظور جدا سازی پلاسما سانتریفیوژ شده و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری گردید (۲).

سنجش میزان کورتیزول خون: کورتیزول در پلاسمای جدا شده با استفاده از روش الایزا (ELISA) با استفاده از کیت استاندارد (Dia Plus, Inc, Iran) و برطبق روش بیسواس و همکاران (۲) مورد سنجش قرار گرفت. بدین منظور کورتیزول از ۱۰۰ میکرولیتر پلاسما توسط اتیل اتر استخراج شد. فاز آلی آن جدا شده و به یک لوله شیشه‌ای تمیز منتقل و در نهایت حلال آن تبخیر شد. آنچه که باقی ماند در ۱۰۰ میکرولیتر بافر رقیق‌کننده حل شده و متعاقباً با افزودن ۱۰ میکرولیتر از محلول به دست آمده با ۹۹۰ میکرولیتر بافر رقیق‌کننده، رقیق گردید. ۵۰ میکرولیتر از محلول نمونه و یا استاندارد در ۲ تکرار به میکروپلیت منتقل شده و در دمای اتاق برای مدت ۱ ساعت انکوباسیون گردید. در نهایت میزان جذب نمونه در طول موج ۶۵۰ نانومتر با یک میکروپلیت ریدر تعیین گردید.

سنجش میزان کلسیم و گلوکز خون: مقادیر یون کلسیم و میزان گلوکز توسط روش اسپکتروفتومتری (۲) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و کیتهای استاندارد موجود محاسبه گردید.

آنالیز آماری: این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی شامل ۲ تیمار نور و ۳ تیمار موسیقی به صورت ۳×۲ و هر تیمار با ۳ تکرار صورت پذیرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS انجام شد. جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف و برای بررسی همگنی واریانسها از آزمون Levene استفاده گردید. به منظور بررسی اثر تیمارهای موسیقی و رنگ نور و همچنین بررسی اثر متقابل رنگ نور و موسیقی از روش تجزیه واریانس دو طرفه استفاده شد. جهت مقایسه میانگینها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۹ و ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج

جدول آنالیز واریانس وزن اولیه (جدول ۲) گروههای مختلف ماهی در این آزمایش نشان می‌دهد تفاوت معنی-داری بین آنها وجود نداشته، در نتیجه تیمارها از نظر وزن اولیه با شرایط یکسانی توزیع شده‌اند. وزن اولیه ماهیها به طور میانگین۰/۰۸±۴/۱۵ گرم می‌باشد.

نتایج آنالیز واریانس نشان می‌دهد اثر متقابل رنگ نور و موسیقی تأثیری بر اضافه وزن ماهی نداشته است (جدول ۳). همچنین تیمار موسیقی تأثیری بر این صفت نداشته

Archive of SID
www.SID.ir

است. ولی رنگ نور تأثیر معنی داری (p <۰/۰۱) بر افزایش وزن ماهی داشته است. نتایج مقایسه میانگینها نشان داد که افزایش وزن ماهی *ماهی قرمز* در نور سفید بیشتر از نور قرمز می‌باشد (شکل ۲).

جدول ۴ نتایج آنالیز واریانس صفت (شاخص رشد روزانه) DGI را نشان می‌دهد. بر طبق این نتایج اثر متقابل رنگ نور و موسیقی و اثر مستقل موسیقی بر DGI معنی‌دار نمی‌باشد (P<۰/۰۵). اما اثر مستقل رنگ نور بر این صفت معنی‌دار است (P<۰/۰۱). بر طبق نتایج مقایسه میانگینها نور سفید در مقایسه با نور قرمز میزان این صفت را در *ماهی قرمز* افزایش می‌دهد (شکل ۳).

جدول ۲- آنالیز واریانس و مقایسه میانگینهای وزن اولیه *ماهی قرمز* در تیمارهای مختلف

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	محاسبه شده	سطح معنی داری
موسیقی	۲	۰/۰۰۷	۱/۱۰۴	NS
نور	۱	۰/۰۰۵	۰/۸۲۸	NS
موسیقی× نور	۲	۰/۰۰۴	۰/۵۸۵	NS
خطا	۱۲	۰/۰۰۶		
متغیر	M۰	M۳۰	M۶۰	
نور سفید	۴/۱۶±۰/۰۲[a]	۴/۲۰±۰/۰۵ [a]	۴/۱۴±۰/۰۴[a]	
نور قرمز	۴/۰۸±۰/۰۹[a]	۴/۱۷±۰/۱۴ [a]	۴/۱۵±۰/۰۵ [a]	

* معنی‌داری در سطح ۵ درصد ** معنی دار در سطح ۱ درصد NS عدم اختلاف معنی‌دار حروف انگلیسی متفاوت بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد (M۰(p<۰/۰۵ : بدون پخش موسیقی M۳۰: پخش موسیقی به مدت ۳۰ دقیقه M۶۰: پخش موسیقی به مدت ۶۰ دقیقه

جدول ۳- آنالیز واریانس و مقایسه میانگینهای اضافه وزن *ماهی قرمز* تحت تأثیر موسیقی، نور و اثرات متقابل آنها

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	محاسبه شده	سطح معنی‌داری
موسیقی	۲	۰/۱۶۱	۲/۶۹۱	NS
نور	۱	۱/۲۵۲	۲۰/۹۱۱	**
موسیقی× نور	۲	۰/۰۴۲	۰/۷۱	NS
خطا	۱۲	۰/۰۶۰		
متغیر	M۰	M۳۰	M۶۰	
نور سفید	۳/۷۶±۰/۱۰ a	۳/۵۷±۰/۱۹ a	۳/۹۸±۰/۱۸ a	
نور قرمز	۳/۰۹ ±۰/۵۱ b	۳/۲۳±۰/۰۴ b	۳/۴۱±۰/۱۰ b	

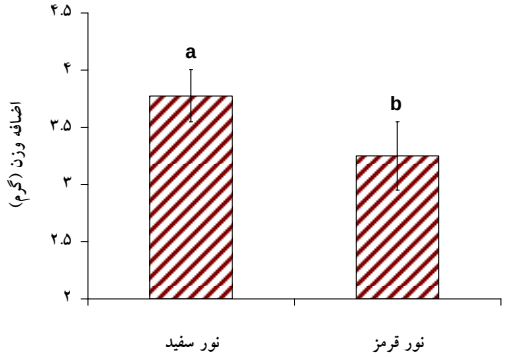
* معنی‌داری در سطح ۵ درصد ** معنی دار در سطح ۱ درصد NS عدم اختلاف معنی‌دار حروف انگلیسی متفاوت بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد (M۰(p<۰/۰۵ : بدون پخش موسیقی M۳۰: پخش موسیقی به مدت ۳۰ دقیقه M۶۰: پخش موسیقی به مدت ۶۰ دقیقه

Archive of SID
www.SID.ir

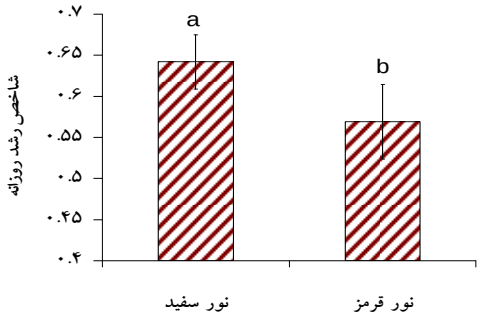
جدول ۴- آنالیز واریانس و مقایسه میانگینهای DGI قرمز تحت تأثیر موسیقی، نور و اثرات متقابل آنها

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	محاسبه شده	سطح معنی داری
موسیقی	۲	۰/۰۰۳	۲/۴۹۶	NS
نور	۱	۰/۰۲۴	۱۷/۳۸۲	**
موسیقی× نور	۲	۰/۰۰۱	۰/۵۸۵	NS
خطا	۱۲	۰/۰۰۱		
متغیر	M۰	M۳۰	M۶۰	
نور سفید	۰/۶۴±۰/۰۱ a	۰/۶۱±۰/۰۲ a	۰/۶۷±۰/۰۲ a	
نور قرمز	۰/۵۴±۰/۰۸ b	۰/۵۶±۰/۰۱ b	۰/۵۹±۰/۰۱ b	

* معنی‌داری در سطح ۵ درصد ** معنی دار در سطح ۱ درصد NS عدم اختلاف معنی‌دار حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد (p<۰/۰۵) M۰: بدون پخش موسیقی M۳۰: پخش موسیقی به مدت ۳۰ دقیقه M۶۰: پخش موسیقی به مدت ۶۰ دقیقه



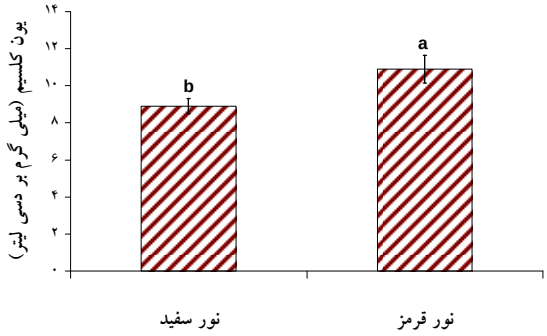
شکل۲- افزایش وزن *ماهی قرمز* در نور قرمز و سفید



شکل۳- شاخص رشد روزانه گلد فیش در نور قرمز و سفید

جدول ۵ نتایج آنالیز واریانس میزان کورتیزول خون *ماهی قرمز* را نشان می‌دهد. این نتایج بیان کننده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای اعمال شده می‌باشد (p>۰/۰۵). اثر متقابل رنگ نور و موسیقی نیز معنی‌دار نمی‌باشد.

جدول ۶ نتایج آنالیز واریانس میزان گلوکز را نشان می‌دهد. بر طبق این جدول اثر متقابل بین رنگ نور و موسیقی، اثر مستقل موسیقی و اثر مستقل رنگ نور اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها ایجاد نکرده است.



شکل ۴- میانگین کلسیم خون *ماهی قرمز* در نور قرمز و سفید

جدول ۷ نتایج آنالیز واریانس یون کلسیم خون را نشان می‌دهد. بر طبق این نتایج اثر متقابل رنگ نور و موسیقی بر میزان یون کلسیم خون اثر معنی داری ندارد (P<۰/۰۵). اما رنگ نور میزان یون کلسیم خون را به شکل معنی‌داری (P<۰/۰۱) تحت تأثیر قرار می‌دهد. نتایج مقایسه میانگینها نشان می‌دهد که میزان یون کلسیم خون در نور سفید کمتر از میزان این یون در نور قرمز می‌باشد (شکل ۴).

www.SID.ir

بحث

بررسی اثر متقابل رنگ نور و موسیقی نشان داد که این دو متغیر روی رشد و یا فاکتورهای خونی *ماهی قرمز* تأثیر متقابلی با یکدیگر ندارند. به عبارتی اثر منفی نور قرمز بر رشد *ماهی قرمز* توسط موسیقی قابل اصلاح نبوده است.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد موسیقی اثر معنی‌داری در عملکرد رشد ماهی ندارد و شاخصهای رشد WG و DGI در تیمارهای تحت موسیقی با تیمار کنترل یکسان بودند. نتایج به دست آمده در این تحقیق با نتایج ارائه شده توسط پاپوت سوگلوا و همکاران (۱۵)، در مورد اثر موسیقی بر عملکرد رشد ماهی کپور معمولی همخوانی داشت. اما در جدیدترین تحقیقاتی که توسط پاپوت سوگلو و همکاران (۱۴) صورت پذیرفت، نتایج شفاف‌تری اعلام گردید. طی این تحقیق که روی ماهی شانک (*Sparus aurata*) صورت گرفت اثر موسیقی در ترکیب با شدتهای نوری مختلف مورد بررسی قرار گرفت. آنها بیان کردند که موسیقی منتقل شده به زیر آب که در دو تیمار ۲ و ۴ ساعت اعمال گردید دارای اثر مثبتی بر عملکرد رشد این ماهی بوده است. با توجه به اینکه اطلاعات کافی و قاطعی در مورد اثر موسیقی بر ماهی وجود ندارد، مقایسه نتایج به دست آمده در این تحقیق آسان نیست.

جدول۵- آنالیز واریانس و مقایسه میانگینهای میزان کورتیزول (نانوگرم بر میلی‌لیتر) خون *ماهی قرمز* تحت تأثیر موسیقی، نور و اثرات متقابل آنها

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	محاسبه شده	سطح معنی داری
موسیقی	۲	۱۲/۲۶۸	۱/۷۷۳	(۰/۲۱۲) NS
نور	۱	۱/۴۹۶	۰/۲۱۶	(۰/۶۵۰) NS
موسیقی× نور	۲	۱/۶۴۰	۰/۲۳۷	(۰/۷۹۳) NS
خطا	۱۲	۶/۹۱۹		

متغیر	M۰	M۳۰	M۶۰
نور سفید	۳۷/۸۶±۳/۰۲ a	۳۵/۳۶±۲/۲۰ a	۳۶/۹۹±۲/۷۸ a
نور قرمز	۳۷/۳۴±۳/۴۱ a	۳۶/۰۷±۱/۴۰ a	۳۷/۵۷±۲/۴۷ a

* معنی‌داری در سطح ۵ درصد ** معنی دار در سطح ۱ درصد NS عدم اختلاف معنی‌دار حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد (p<۰/۰۵) M۰: بدون پخش موسیقی M۳۰: پخش موسیقی به مدت ۳۰ دقیقه M۶۰: پخش موسیقی به مدت ۶۰ دقیقه

جدول۶- آنالیز واریانس و مقایسه میانگینهای میزان گلوکز خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) *ماهی قرمز* تحت تأثیر موسیقی، نور و اثرات متقابل آنها

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	محاسبه شده	سطح معنی داری
موسیقی	۲	۳/۷۰۸	۱/۱۷۵	(۰/۳۴۲) NS
نور	۱	۰/۴۵۱	۰/۱۴۳	(۰/۷۱۲) NS
موسیقی× نور	۲	۱/۶۴۳	۰/۵۲۱	(۰/۶۰۷) NS
خطا	۱۲	۳/۱۵۵		

متغیر	M۰	M۳۰	M۶۰
نور سفید	۱۹/۶۳±۲/۱۴ a	۳۵/۳۶±۱/۰۱ a	۱۹/۶۰±۱/۵۴ a
نور قرمز	۱۸/۱۳±۲/۳۰ a	۲۰/۶۹±۲/۲۹ a	۱۹/۶۶±۰/۵۹ a

* معنی‌داری در سطح ۵ درصد ** معنی دار در سطح ۱ درصد NS عدم اختلاف معنی‌دار حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد (p<۰/۰۵) M۰: بدون پخش موسیقی M۳۰: پخش موسیقی به مدت ۳۰ دقیقه M۶۰: پخش موسیقی به مدت ۶۰ دقیقه

Archive of SID
www.SID.ir

جدول۷- آنالیز واریانس و مقایسه میانگینهای میزان کلسیم خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) *ماهی قرمز* تحت تأثیر موسیقی، نور و اثرات متقابل آنها

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	محاسبه شده	سطح معنی داری
موسیقی	۲	۰/۱۸۲	۰/۴۱۶	NS (۰/۶۶۹)
نور	۱	۱۸/۹۳۸	۴۳/۳۵۱	** (۰/۰۰۱)
موسیقی× نور	۲	۰/۱۲۵	۰/۲۸۵	NS (۰/۷۵۷)
خطا	۱۲	۰/۴۳۷		

متغیر	M۰	M۳۰	M۶۰
نور سفید	۹/۰۰±۰/۴۱ b	۸/۷۹±۰/۵۲ b	۸/۹۸±۰/۴۱ b
نور قرمز	۱۰/۷۵±۰/۹۶ a	۱۰/۸۶±۰/۷۲ a	۱۱/۳۱±۰/۷۴ a

* معنی‌داری در سطح ۵ درصد ** معنی دار در سطح ۱ درصد NS عدم اختلاف معنی‌دار حروف انگلیسی متفاوت بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد ($p<0/05$) M۰: بدون پخش موسیقی M۳۰: پخش موسیقی به مدت ۳۰ دقیقه M۶۰: پخش موسیقی به مدت ۶۰ دقیقه

تحقیقات انجام شده روی دیگر حیوانات همچون جوجه-های گوشتی نشان دهنده اثر مثبت موسیقی بر رشد آنها بوده است (۲۵). پرندگان و پستانداران در مقایسه با ماهی موجوداتی پیشرفته‌تر و متکامل‌ترند، بنابراین عکس العمل آنها در مقابل صداهای ریتمیک نسبت به ماهی به انسان نزدیک‌تر است. صداهای اضافی موجود در محیط ماهی باعث ایجاد استرس در ماهی (۲۰) و در نتیجه باعث کاهش رشد ماهی می‌گردد. در این تحقیق انتظار بر این بود که چنانچه ماهی قادر به تشخیص موسیقی از صداهای اضافی نبود و موسیقی را به عنوان صدای اضافی تشخیص می‌داد در طول دوره پرورش دچار استرس مزمن شده و رشد کمتری نسبت به گروه شاهد نشان می‌داد. اما با توجه به عدم وجود تفاوت معنی‌دار از نظر عملکرد در رشد ماهی بین تیمارهای M۰، M۳۰ و M۶۰، چنین استنباط می-شود که *ماهی قرمز* قادر به شناخت صداهای ریتمیک می باشد. این موضوع با نتیجه تحقیق داویس (۶) و ورهیجن و فلایت (۲۶) همخوانی دارد. آنها بیان کردند که سه نوروهورمون که از مرکز ساب کورتیکال مغز انسان ترشح می‌شود و مسئول کنترل احساسات می‌باشد، در مغز ماهی نیز وجود دارد، بنابراین انتظار عکس العمل متناسب نیز می‌رود که در مورد ماهی کپور (۳) و ماهی کوی (۴) نیز به اثبات رسیده است.

با توجه به نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای رشد تأکید بر اینکه ماهی قادر به تشخیص صداهای ریتمیک (موسیقی) از صداهای اضافی موجود در محیط است، نتایج بررسی پاسخ فیزیولوژیکی بدن ماهی به موسیقی می‌تواند در جهت تکمیل اثبات این موضوع به کار رود. دو فاکتور مهم که در آزمایشات تعیین پاسخ ماهی به استرس مورد سنجش قرار می‌گیرد کورتیزول و گلوکز می‌باشد.

نتایج بررسی میزان کورتیزول، گلوکز و یون کلسیم در این تحقیق نشان داد که بین تیمارهای موسیقی و کنترل تفاوتی از این نظر وجود نداشت. این نتایج با آنچه که پاپوت سوگلوا و همکاران (۱۵) در مورد ماهی کپور به دست آوردند همخوانی داشت. آنها گزارش کردند که بین تیمارهای موسیقی و گروه کنترل اختلاف معنی داری از نظر کورتیزول و گلوکز وجود نداشت. البته تحقیقات آنها روی ماهی شانک (۱۴) نیز نتایج به دست آمده در مورد هماتوکریت را مورد تأیید قرار داد. نتایج تحقیقات آنها در مورد کپور با آزمایشات تکمیلی روی نوروترانسمیترهای مغز ماهی فرضیه تشخیص موسیقی توسط ماهی را به اثبات رسانید. آنها بیان کردند که ترکیب نوروترانسمیترهای مغز ماهی در تیمارهای موسیقی با گروه کنترل متفاوت است به طوری که این تفاوت بیشتر در هوموانیلیک اسید مشاهده گردید و در بررسی اثر متقابل موسیقی و نور این

Archive of SID
www.SID.ir

تفاوت در ۵ هیدروکسی ایندول استیک اسید، سرتونین، نورآدرنالین و دوپامین نیز مشاهده گردید. البته چنین نتایجی توسط پاپوت سوگلو و همکاران (۱۴) در مورد شانک نیز تأیید گردید. آنها بیان کردند که در معرض قرار دادن ماهی به مدت روزانه ۲ و۴ ساعت بر میزان نوروترانسمیترهای مغز ماهی مؤثر است به نحوی که میزان متابولیتهای دوپامین (3,4dihydroxyphenylacetic acid) و هموانیلیک اسید تحت این تیمارها کاهش می‌یابد. نوروترانسمیترها، تنظیم کننده پاسخهای فیزیولوژیکی بدن ماهی به عوامل محیطی مختلف هستند که در این میان سرتونین به عنوان نوروترانسمیتر مهم که افزایش آن باعث کاهش مصرف غذا و همچنین کاهش رشد می‌گردد، مورد توجه است. لازم به ذکر است که در شرایط استرس‌زا میزان نوروترانسمیترها افزایش می‌یابد (۱۲، ۱۵، ۲۸). بنابراین در پژوهش حاضر نتایج حاصل از شاخصهای استرس، نتایج عملکرد رشد ماهی را تأیید می‌کند.

نتایج عملکرد رشد در تیمارهای رنگ نور در این آزمایش نشان داد که شاخصهای رشد (WG و DGI) *ماهی قرمز* در نور سفید نسبت به نور قرمز عملکرد بهتری دارد. تأثیر رنگ نور بر عملکرد رشد در گونه‌های مختلف ماهی به اثبات رسیده است که با توجه به نوع گونه و مرحله زندگی متفاوت است. روچین (۲۰۰۴) طی مطالعه ای در مورد اثر رنگ نور بر عملکرد رشد جونایل سه گونه ماهی *C. carassius*، *Perccottus glenii* و *Poecilia reticulat* بیان کرد که گوپی در نور آبی، روتان در نور آبی و سبز و کاراس در نور سبز بهترین رشد را داشته‌اند. اما هرسه این گونه ها در نور قرمز کمترین رشد را داشته اند که نتایج به دست آمده در این تحقیق مبنی بر اثر منفی نور قرمز بر رشد *ماهی قرمز* (*C. auratus*) با نتایج روچین روی ماهیان اشاره شده همخوانی دارد (۱۹).

نتایج بررسی کورتیزول به عنوان شاخص اولیه پاسخ به استرس در ماهی و گلوکز به عنوان شاخص ثانویه نشان داد که بین تیمار نور قرمز و سفید اختلاف معنی‌داری وجود ندارد که این نتایج با نتایج دیگر محققان در این مورد همخوانی دارد. کاراکاتسولی و همکاران (۱۵) طی مطالعه‌ای روی ماهی شانک (*Sparus aurata*) بیان کردند که علی رغم اثر منفی نور قرمز بر رشد این ماهی، تفاوتی در میزان کورتیزول و گلوکز پلاسمای خون مشاهده نگردید. اما میزان نوروترانسمیترهای مغز این ماهی در نور قرمز با دیگر طیف‌های نوری تفاوت معنی‌داری نشان داد، به نحوی که میزان دوپامین و ۴،۳ دی هیدروکسی فنیل استیک اسید در این طیف نوری بالاتر بود. که این امر باعث بروز اثر منفی بر رشد این ماهی شد. آنها همچنین در مورد ماهی قزل‌آلا که نور آبی اثر منفی بر رشد آن داشت بیان کردند که تفاوت معنی‌داری در میزان کورتیزول و گلوکز پلاسمای خون وجود نداشته است. نتایج به دست آمده از بررسی این دو شاخص با نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای رشد در تعارض است. طبق مطالعات انجام شده توسط پیرسون و همکاران پس از وارد آمدن شرایط استرس‌زا به ماهی و بعد از دریافت محرک استرس زا توسط دستگاه عصبی مرکزی، هورمون آزاد کننده کورتیکوتروفین مترشحه از هیپوتالاموس، غده هیپوفیز را برای آزاد کردن هورمون ACTH تحریک می‌کند و از راه گردش خون به سلولهای بین کلیوی در بخش قدامی کلیه می رسد و آنها را تحریک به ترشح کورتیزول می کند و در نهایت نتیجه آن افزایش هورمون کورتیزول و به دنبال آن افزایش گلوکز در خون می‌باشد و در صورتی که موجود توانایی سازگار شدن با شرایط ایجاد شده را داشته باشد و عامل استرس‌زا ضعیف باشد میزان این شاخصها به تدریج از چند ساعت تا چند روز کاهش می‌یابد (۱۶). باید توجه داشت که *ماهی قرمز* متعلق به خانواده کپور ماهیان است و این ماهیان قدرت بالایی در سازگار شدن با شرایط محیطی دارند. بنابراین با توجه به دوره طولانی پرورش، سطح این دو شاخص پایین آمده تا جایی که اختلاف معنی‌داری بین

Archive of SID
www.SID.ir

نور قرمز و سفید مشاهده نگردید. اما در نهایت اثر منفی نور قرمز در میزان رشد این ماهی آشکار گردید.

بررسی میزان یون کلسیم خون نتایجی متفاوت را نشان داد که نشان دهنده میزان بالاتر یون کلسیم در تیمارهای پرورش تحت نور قرمز نسبت به نور سفید بود. این نتایج با نتایج کاراکاتسولی و همکاران (۱۴) در مورد قزل‌آلای رنگین‌کمان همخوانی دارد. در آزمایشات آنها که نور آبی نتایج ضعیف‌تری را نسبت به نور قرمز در عملکرد رشد نشان داده بود با وجود عدم تفاوت در سطح کورتیزول خون در تیمارهای مختلف میزان یون کلسیم در ماهیان تحت تیمار نور آبی بالاتر از نور قرمز بود که با وضعیت و روابط موجود در تحقیق حاضر مطابقت دارد. این نتایج همچنین با نتایج واندرسالم و همکاران (۲۴) در مورد ماهی *Pagrus pagrus* پرورش داده شده در دو رنگ تانک قرمز و سفید همخوانی دارد. آنها بیان کردند که پرورش در تانکهای با رنگهای مختلف با افزایش شاخصهای اولیه استرس همچون کورتیزول شاخصهای ثانویه همچون الکترولیتهای خون نظیر یون سدیم، پتاسیم و کلسیم نیز تغییر کرده به نحوی که با افزایش کورتیزول یون کلسیم خون نیز افزایش می‌یابد. اندرسن (۱) بیان کرد که میزان یون کلسیم تحت شرایط فعالیت بالا و استرس‌زا افزایش می‌یابد. استرس باعث هایپرکلسمی در خون می‌گردد (۹). همچنین کورتیزول بر فعالیت پمپ سدیم- پتاسیم آت‌پ‌آز تأثیر گذاشته و در نتیجه باعث تغییر غلظت آنها در خون می گردد (۲۲). که البته ممکن است این کلسیم از استخوانها تأمین گردد و یا (مخصوصاً در ماهیان دریایی) این کلسیم از آب محیط اطراف از طریق پمپ کلسیم آت-پ‌آز و یا تبادل یون Na با یون Ca تأمین گردد (۱۶). بنابراین نتایج میزان کلسیم خون *ماهی قرمز* نتایج رشد کمتر این ماهی در نور قرمز را مورد تأیید قرار می‌دهد.

منابع

1. Andreasen, P. (1985). Free and total calcium concentrations of the blood of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during stress condition. J. exp. Biol. 118, 111- 120.
2. Biswas, A. K., Seoka, M., Tanaka, Y., Takii, K. and Kumai, H. (2006). Effect of photoperiod manipulation on the growth performance and stress response of juvenile red sea bream (*Pagrus major*). Aquaculture, 258, 350–356.
3. Biswas, A. K., Seoka, M., Ueno, K., Yong, A. S. K., Biswas, B. K., Kim, Y. S., Takii, K. and Kumai, H. (2008). Growth performance and physiological responses in striped knifejaw, Oplegnathus fasciatus, held under different photoperiods. Aquaculture, 279, 42–46.
4. Chase, A. R., and Hill, W. (1999). Reliable operant apparatus for fish: Audio stimulus generator, response button, and pellet-dispensing nipple. Behavior Research Methods, Instruments, & Computers. 31 (3), 470-478.
5. Cheng, C. L., Flamarique, I. N. (2004). Opsin expression-new mechanism for modulating colour vision.J. Nature. 428, 279.
6. Davis, M. (1992). The role of amygdala in fear and anxiety. Annu. Rev. Neurosci. 15, 353–375.
7. Downing, G. (2002). Impact of spectral composition on larval haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L., growth and survival. Aquacult. Res. 33, 251–259.
8. Fay, R. R. and Popper, A. N. (2000). Evolution of hearing in vertebrates: the inner ears and processing. Hear. Res. 149, 1-10.
9. Flik, G. and Perry, S. F. (1989). Cortisol stimulates whole body calcium uptake and the branchial calcium pump in freshwater rainbow trout. J. Endocrinol. 120 (1), 75-82.
10. Head, A. B., Malison, J. A. (2000). Effect of lighting spectrum and disturbance level on the growth and stress responses of yellow perch (*percha flavenscens*). J. World aquacult.Soc. 31, 73-80.
11. Karakatsouli, N., Papoutsoglou, S. E., Panopoulos, G., Papoutsoglou, E. S., Chadio, S. and Kalogiannis, S. (2008). Effects of light spectrum on growth and stress response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared under recirculating system conditions. Aquacultural Engineering, 38, 36-42.
12. Karakatsouli, N., Papoutsoglou, S.E., Pizzonia, G., Tsatsos, G., Tsopelakos, A., Chadio, S., Kalogiannis, D., Dalla, C., Polissidis, A. and

Archive of SID
www.SID.ir

Papadopoulou-Daifoti, Z. (2007). Effects of light spectrum on growth and physiological status of gilthead seabream *Sparus aurata* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* reared under recirculating system conditions. Aquacult. Eng. 36, 302-309.

13. Naor, A., Segev, N., Bressler, K., Peduel, A., Hadas, E. and Ron, B. (2003). The influence of the pineal organ and melatonin on the reproductive system and of light intensity and wavelength on melatonin in the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Isr. J. Aquacult, 55, 230.
14. Papoutsoglou, S. E., Karakatsouli, N., Batzina, A., Papoutsoglou, E. S. and Tsopelakos, A. (2008). Effect of music stimulus on gilthead seabream (*Sparus aurata*) physiology under different light intensity in a re-circulating water system Journal of Fish Biology. 73, 980–1004.
15. Papoutsoglou, S. E., Karakatsouli, N., Louizos E., Chadio, S., Kalogiannis D. Dalla, C., Polissidis, A., Papadopoulou-Daifoti, Z. (2007). Effect of Mozart's music (Romanze-Andante of ''Eine KleineNacht Musik'', sol major, K525) stimulus on common carp (*Cyprinus carpio* L.) physiology under different light conditions. J. Aquacultural Engineering, 36, 61-72.
16. Pierson, P.M., Lamers, A., Flik, G. and Mayer-Gostan, N. (2004). The stress axis, stanniocalcin, and ion balance in rainbow trout. General and Comparative Endocrinology, 137, 263-271.
17. Popper, A. N., Fewtrell, J., Smith, M. E. and McCauley, R. D. (2004). Anthropogenic sound: Effects on the behavior and physiology of fishes." MTS J. 37, 35-40.
18. Richardson, W. J., Greene, C. R. Jr., Malme, C. I. and Thomson, D. H. (1995). Marine Mammals and Noise. Academic Press, New York.
19. Ruchin, A. B. (2004). Influence of colored light on growth rate of juveniles of fish. Fish Physiol. Biochem, 30, 175-178.
20. Smith, M. E., Kane, A. S. and Popper, A. N. (2004). "Noise-induced stress response and hearing loss in goldfish (*Carassius auratus*)." J. Exp. Biol. 207, 427-435.
21. Snyder, M. and Chan, L. (1999). Music therapy. Annual Review of Nursing Research, 17, 3–25.
22. Sunny, F. and Oommen, O.V. (2001). Rapid action of glucocorticoids on branchial ATPase activity in oreocromis musambicus: an in vivo and in vitro study. Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol. 130 (3), 323–330.
23. Talling, J. C., Waran, N. K., Wathes, C. M. and Lines, J. A. (1996). Behavioural and physiological responses of pigs to sound. Appl. Anim. Behav. Sci. 48, 187–201.
24. Van der Salm, A. L., Pavlidis, M., Flik, G. and Wendelaar Bonga, S. E. (2006). The acute stress response of red porgy (*Pagrus pagrus*) kept on a red or white background. J. General and Comparative Endocrinology, 145, 247–253.
25. Vasantha, L., Jeyakumar, A., and Pitchai., M. A. (2003). Infl uence of music on the growth of Koi Carp, *Cyprinus carpio* (Pisces: Cyprindae). NAGA, WorldFish Center Quarterly, 26, 25
26. Verheijen, F. J. and Flight, W. F. G. (1997). Decapitation and brining: experimental tests show that after these commercial methods for slaughtering eel *Anguilla anguilla* (L.), death is not instantaneous. Aquacult. Res. 28, 361–366.
27. Waynert, D. F., Stookey, J. M., Schwartzkopf-Genswein, K. S.,Watts, J. M. and Waltz, C. S. (1999). The response of beef cattle to noise during handling. Appl. Anim. Behav. Sci. 62, 27–42.
28. Winberg, S. and Nilsson, G. E. (1993). Roles of brain monoamine neurotransmitters in agonistic behaviour and stress reactions, with particular reference to fish. Comparative Biochemistry and Physiology, 106, 597–614.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of light color and music on cortisol and glucose of blood as stress indices in goldfish (*Carassius auratus*)

Zolfaghari M. and Imanpour M.R.

Fisheries Dept., Faculty of Fisheries, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R. of IRAN

Abstract

The present study was aimed to investigate the effect of light color and music on stress indices in goldfish (*Carassius auratus*). The experiment was designed on random factorial test including 2 light color treatments (red and white) and 3 music treatment (M0= without music, M30= 30 min music and M60= 60 min music). According to obtained results polar effect of light and music and effect of music was not significant on fish growth, blood cortisol, glucose and calcium level ($p>0.05$). According to these results red color causes decrease growth at goldfish ($p<0.01$). red color also causes increasing blood calcium level ($p<0.01$). But it had not effect on blood cortisol and glucose level ($p>0.05$). Thus red color causes to induce stress on goldfish, but music does not induce stress on this fish and it shows that goldfish is able to recognize music from surround noise.

Keywords: stress, cortisol, goldfish, *Carassius auratus*, light color, music

Archive of SID

www.SID.ir