فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۴، شماره ۱، پیاپی ۶۷، بهار ۱۴۰۰، ص ۱۱۰-۱۲۸
نوع مقاله: مقاله پژوهشی

The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology
Vol.34, No.1, Sering.67, Spring2021, p. 110-128
Article type: Research paper

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۸/۶

وب سایت نشریه: https://jab.alzahra.ac.ir
10.22051/JAB.2021.34309.1398

# ارزیابی رفتار شناگری و ترجیحات رنگی در ماهی زبرا بالغ (*Danio rerio*) با استفاده از مدل T-maze

**سعید شفیعی ثابت*[۱]، شقایق جامی[۲]، فاطمه علیزاده لادمخی[۲]**

## چکیده

*جهت بررسی رفتار شناگری و ترجیحات رنگی ماهی زبرا تعداد ۱۶ قطعه ماهی بالغ به‌صورت انفرادی به روش T-maze استفاده شدند. شاخص‌های رفتاری شامل زمان خوگیری در منطقه آغازین، زمان رسیدن به منطقه تصمیم‌گیری، تعداد دفعات گزینش رنگ و مدت‌زمان سپری‌شده در ترکیبات بازوهای رنگی (سبز-قرمز و آبی-زرد) اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که مدت‌زمان خوگیری در منطقه آغازین و رسیدن به منطقه تصمیم‌گیری به‌طور میانگین به ترتیب ۳۰۰ و ۱۲۰ ثانیه بود. در مورد تعداد دفعات گزینش، ماهی زبرا رنگ قرمز را نسبت به رنگ سبز ترجیح داد ($P<0.05$). اما تعداد دفعات گزینش رنگ آبی- زرد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P>0.05$). هم‌چنین، مدت‌زمان سپری‌شده در هر دو گروه بازوهای رنگی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P>0.05$). با توجه به نتایج این مطالعه ماهی زبرا توانایی تشخیص رنگ‌ها را دارد و T-maze یک ابزار معتبر برای ارزیابی ترجیحات رنگی می‌باشد.*

***واژه‌های کلیدی: بینایی، خوگیری، رفتار، زیست‌شناسی، فعالیت شناگری***

۱- استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا
*( نویسنده مسئول: s.shafiei.sabet@guilan.ac.ir)
۲- کارشناسی، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا

## مقدمه

رنگ‌ها در زیستگاه‌های خشکی و آبی با استفاده از قدرت بینایی توسط گونه‌های جانوری قابل‌درک می‌باشند و امکان شناسایی و تشخیص دقیق‌تر محیط پیرامون این‌گونه ها را فراهم می‌سازد. بینایی یکی از حواسی است که ماهی‌ها در کنار سایر حواس از آن استفاده می‌کنند. برخی از مزایای استفاده از قدرت بینایی در شناخت محیط اطراف و زیستگاه گونه‌های جانوری شامل انجام فعالیت‌های تغذیه‌ای روزانه، دفاع از قلمرو، زندگی در اجتماعات گروهی، مهاجرت و جفت‌یابی می‌باشد (Blackiston *et al.*, 2011; Hughes & Blight, 2000).

قدرت بینایی رنگ‌ها یکی از مهم‌ترین روش‌ها در شناخت محرک های مهم زیست‌شناسی است و نقش مهمی در ادراک بینایی دارد (Park *et al.*, 2016). ماهی‌ها توانایی تشخیص رنگ‌ها در طیف وسیعی از آبی تا مادون‌قرمز (Levine & MacNichol, 1982) و هم‌چنین تشخیص ابعاد و اندازه اجسام را دارند (Miletto Petrazzini *et al.*, 2012). ادراک رنگ‌ها و ترجیحات رنگی به‌طور مستقیم بر یادگیری (Spence & Smith, 2008)، شکل‌گیری حافظه (Colwill *et al.*, 2005) و تصمیم‌گیری (Avdesh *et al.*, 2010) ماهی‌ها اثرگذار است. در مطالعه‌ای Avdesh و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند یکی از متداول‌ترین ابزارهای ارزیابی حافظه و یادگیری در مدل‌های جانوری، استفاده از محرک‌های بینایی نظیر اولویت‌های رنگیست (Avdesh *et al.*, 2012). مطالعات قبلی نشان داده است که رنگ زمینه و معرفی منابع رنگی جدید در محیط بر مسیریابی و جهت‌گیری (Hughes & Blight, 2000)، پراکنش مکانی (Parker *et al.*, 2012) و رفاه ماهی‌ها (Serra *et al.*, 1999) تأثیر می گذارد. اگرچه مطالعات کمی در خصوص قابلیت‌ها و توانایی ماهی‌ها در تشخیص و تمایز رنگ‌ها و اجسام محیط اطرافشان انجام‌شده است (Gerlai, 2010).

ماهی زبرا یک ماهی کوچک استخوانی آب شیرین از خانواده Cyprinidae و با نام علمی *Danio rerio* است (شکل ۱) (Spence *et al.*, 2008). این ماهی بومی منطقه هیمالیا و دامنه پراکنش آن‌ها از شمال هند، بنگلادش تا بخش‌هایی از نپال جنوبی است (Spence *et al.*, 2008). ماهی زبرا به‌طور عمده در ستون آب تغذیه می‌کند (Spence *et al.*, 2008) و رژیم غذایی ماهی زبرا از زئوپلانکتون ها و حشرات تشکیل‌شده (Engeszer *et al.*, 2007) و به‌عنوان یک‌گونه همه‌چیزخوار شناخته‌شده است (Spence *et al.*, 2008). در این ماهیان جنس‌های نر و ماده از هم جدا بوده و به‌راحتی قابل‌تشخیص هستند. بدن جنس ماده چاق‌تر، دارای برجستگی مشخصی در ناحیه شکم درحالی‌که نرها دارای بدنی دوکی‌شکل کشیده می‌باشند. این‌گونه در محدوده دمایی بین ۲۲ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد و در بازه pH بین ۶/۸ تا ۷/۵ در محیط طبیعی‌شان زندگی می‌کنند. هم‌چنین طول بدن آن‌ها در مرحله بلوغ به ۵ سانتی‌متر می‌رسد (Spence *et al.*, 2008). ماهی زبرا، عمدتاً از حس بینایی برای شناخت محیط اطراف، شکار مواد غذایی و جلوگیری از شکارچیان استفاده می‌کند و به همین دلیل داشتن سیستم بینایی تکامل‌یافته‌تر و

پیشرفته برای حفظ بقاء این‌گونه بسیار ضروری می‌باشد (Fleisch & Neuhauss, 2006; Siregar *et al.*, 2020). سیستم بینایی ماهی زبرا در مرحله رسیدن لارو به پنج‌روزگی توسعه می‌یابد که این تکامل زودهنگام سیستم بینایی ماهی زبرا را می‌توان به‌عنوان سازگاری با تنش های اکولوژیکی لاروهای جوان آزاد شناگر برای شکار مواد غذایی، دانست (Fleisch & Neuhauss, 2006). در همین راستا، مطالعات قبلی نشان داده است که ماهی زبرا، بینایی رنگی با جذب بیشینه رنگ‌ها در طول‌موج‌های ماوراءبنفش(۳۶۲ نانومتر)، آبی(۴۱۵ نانومتر)، سبز(۴۸۰ نانومتر)و قرمز(۵۷۰ نانومتر) را دارد (Spence & Smith, 2008; Avdesh *et al.*, 2010; Siregar *et al.*, 2020).

استفاده از ماهی زبرا به‌عنوان یک‌گونه آزمایشگاهی برای اولین بار در دهه ۱۹۷۰ توسط استرای سینگر و همکارانش به‌عنوان یک مدل ژنتیکی به اثبات رسید و پس‌ازآن از این ماهی به‌صورت گسترده جهت ارزیابی‌های ژنتیکی در آزمایشگاه‌های مختلف استفاده شد (Haffter *et al.*, 1996). از ویژگی‌های گونه‌ای ماهی زبرا می‌توان به نگهداری آسان، شفافیت جنین و لارو، رشد سریع، دوره تولیدمثلی کوتاه و هزینه کم در مراحل مختلف تخم، لاروی و بلوغ این‌گونه اشاره داشت. هم‌چنین این‌گونه به‌عنوان گونه مدل در علوم شناختی، عصبی، یادگیری و حافظه نیز استفاده می‌گردد (Spence *et al.*, 2008; Spence & Smith, 2008). تاکنون مطالعه‌ای در خصوص بررسی ویژگی‌های رفتاری ماهی زبرا و ترجیحات رنگی در ایران صورت نگرفته است. با توجه به اهمیت موضوع، هدف از انجام این پژوهش، بررسی رفتار شناگری و ارزیابی ترجیحات رنگی ماهی زبرا با استفاده از تانک آکواریومی ویژه T-maze می‌باشد. شاخص‌های موردانداز‌ه‌گیری شامل: ۱) مدت‌زمان خوگیری در منطقه آغازین، ۲) مدت‌زمان رسیدن به ساقه T در منطقه تصمیم‌گیری، ۳) تعداد دفعات گزینش تیمار بازوهای رنگی (قرمز-سبز) و (آبی-زرد) و ۴) مدت‌زمان سپری‌شده در هر تیمار بازوهای رنگی (قرمز-سبز) و (آبی-زرد) می‌باشد.

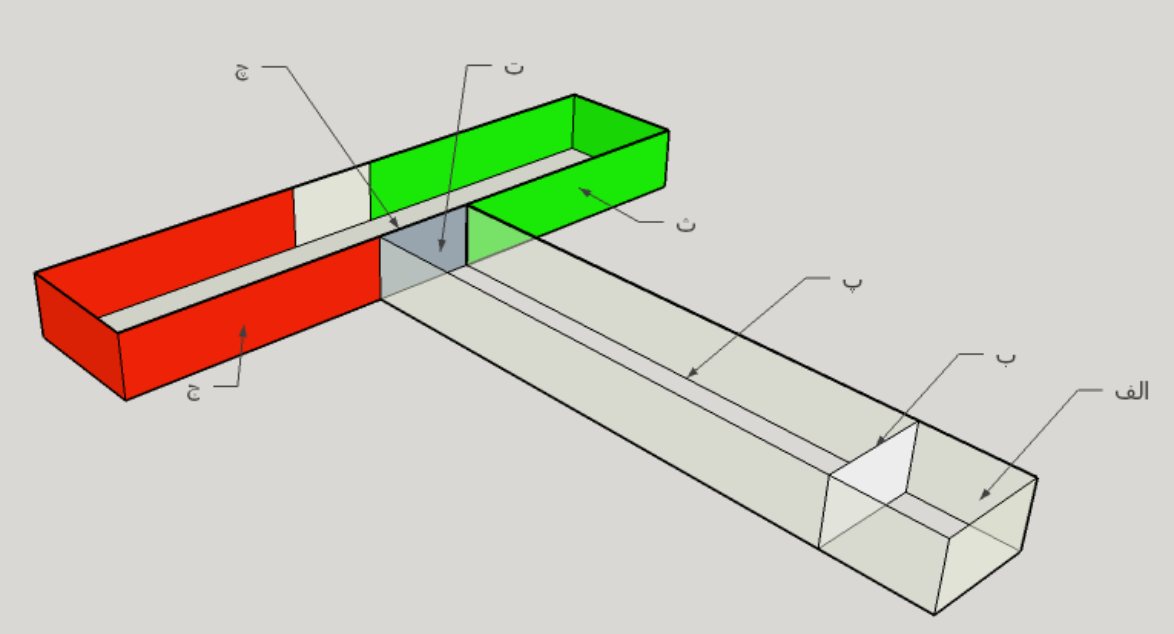
## مواد و روش‌ها

### تهیه ماهی و مشخصات آکواریوم مدل T-maze

این مطالعه در آزمایشگاه ماهی‌شناسی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان واقع در شهرستان صومعه‌سرا به مدت ۱۴ روز در ساعات ۸:۳۰ الی ۱۳:۳۰ از روز انجام شد. تعداد ۱۶ قطعه ماهی زبرا *Danio rerio* (شکل۱) بالغ بی‌رنگ با میانگین طول ۱± ۴ سانتی‌متر و با نسبت تقریبی جنسی ۱به ۱ (۸ قطعه ماهی ماده و ۸ قطعه ماهی نر) از یکی از مراکز فروش ماهیان زینتی در شهر رشت در شهریورماه سال ۱۳۹۸ تهیه شد. آکواریوم‌های ذخیره ماهی به تعداد ۲ عدد و ابعاد ۳۰×۱۰×۲۰ سانتی‌متر مجهز به هواده جهت نگهداری ماهیان قبل و بعد از انجام آزمایش، استفاده گردیده است. درجه حرارت آب در آکواریوم‌ها به‌طور میانگین ۱±۲۲درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری محیط آزمایشگاه (دوره روشنایی- تاریکی) ۱۲:۱۲بود (Colwill *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2015).

غذادهی ماهی‌ها (غذای تجاری بیومار آسیاب شده) در دو نوبت صبح و عصر انجام گرفت. جهت انجام آزمایش رفتارشناسی و ارزیابی ترجیحات رنگی، ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش غذادهی متوقف گردید. تانک آزمایشی مورداستفاده، یک آکواریوم به‌صورت T شکل، به نام مدل T-maze (شکل ۲) بود که به ارتفاع ۱±۸ سانتی‌متر از آب با درجه حرارت ۱±۲۲ درجه سانتی‌گراد پر گردید. این تانک دارای مناطقی به نام‌های ۱) منطقه آغازین (Start box): در ابتدای ساقه دمی به ابعاد ۱۰×۱۰×۱۰ سانتی‌متر، ۲) منطقه تصمیم‌گیری (Decision area): از انتهای ساقه دمی به سمت فضای بین دو بازوی چپ و راست به ابعاد ۱۰×۱۰×۱۰ سانتی‌متر و ۳) بازوها (تعداد ۲ بازو) دارای ابعاد ۲۰×۱۰×۱۰سانتی‌متر بود. جهت بررسی فرایند خوگیری ماهی زبرا در منطقه آغازین، محوطه منطقه آغازین با استفاده از یک درپوش شیشه‌ای (که توسط گاز استریل و دستمال‌کاغذی با لایه‌ای از چسب جهت جلوگیری از فرار احتمالی ماهی زبرا از محل اتصال دیواره‌های درپوش پوشیده شده بود) از سایر قسمت‌های آکواریوم مدل T-maze جدا گردید (Avdesh *et al.*, 2012). از کاغذهای رنگی به رنگ‌های سبز، قرمز، آبی و زرد برای آماده‌سازی گزینش رنگ توسط ماهی با پوشاندن دیواره‌های خارجی بازوها انجام گردید. جهت بررسی ترجیحات رنگی ماهی زبرا در این آزمایش از دو گروه بازوهای رنگی (سبز- قرمز) و (آبی- زرد) استفاده گردید. در ادامه برای گروه رنگی اول، به‌صورت تصادفی دیواره‌های بازوی سمت چپ قرمز و دیواره‌های بازوی سمت راست سبز انتخاب شد. هم‌چنین برای گروه رنگی دوم به‌صورت تصادفی دیواره‌های بازوی سمت چپ زرد و دیواره‌های بازوی سمت راست آبی انتخاب شد (Oliveira *et al.*, 2015).

**شکل۱: ماهی زبرا *Danio rerio*. .مورداستفاده در این آزمایش. نوارهای طولی آبی و طلایی را که در طول بدن ماهی تا باله دمی کشیده شده است مشاهده می‌گردد.**




**شکل ۲. تصویر شماتیک از محیط آزمایش بررسی رفتار شناگری و ترجیحات رنگی با استفاده از آکواریوم مدل T-maze. الف) منطقه خوگیری ب) درپوش جداکننده بین منطقه‌ی خوگیری و ساقه‌ی T پ) ساقه‌ی T ت) درپوش جداکننده بین منطقه تصمیم‌گیری و ساقه‌ی T چ) منطقه تصمیم‌گیری ث و ج) بازوهای رنگی که در هر سری آزمایش شامل قرمز و سبز) و (آبی و زرد) می‌باشد.**

### مراحل انجام آزمایش، معرفی تیمارها و پارامترهای اندازه‌گیری شده

برای انجام آزمایش، ابتدا انتقال ماهی زبرا از آکواریوم ذخیره توسط یک تور ساچوک چشمه ریز به داخل یک بشر به‌صورت انفرادی قرار گرفت. پس از گذشت ۴ دقیقه بدون انجام تورکشی مجدد، ماهی زبرا به منطقه آغازین معرفی گردید. هدف از قرارگیری اولیه ماهی در بشر، شروع اولین مرحله آماده‌سازی ماهی به شرایط اسارت برای انجام آزمایش به‌صورت انفرادی، کاهش اضطراب ناشی از صید شدن و کمبود کوتاه‌مدت اکسیژن ناشی از آن بوده است (Oliveira *et al.*, 2015). در ادامه با معرفی به منطقه آغازین آکواریوم مدل T-maze آزمایش آغاز می‌گردید. در ابتدای معرفی ماهی به منطقه آغازین، به علت قرارگیری در محیط جدید دو رفتار مشاهده شد؛ ۱) شنای کند و آهسته در قسمت‌های زیرین (کف) منطقه آغازین و ۲) حرکت انفجاری شدید (Startle) و در ادامه عدم تحرک و سکون (Freezing) که به‌صورت ساکن و ثابت ماندن در یک نقطه تعریف می‌گردد. در مطالعات قبلی سایر محققین نشان داده‌شده است که این رفتارها در پاسخ به اضطراب و تنش‌های بسیار شدید می‌باشد (Shafiei Sabet *et al.*, 2015; 2016; Haghani *et al.*, 2019). "این رفتارهای مرتبط با اضطراب و تنش در مدت زمانی که در آزمایش پایلوت بررسی گردید با گذشت زمان مشاهده نگردید و ماهی به محیط آکواریوم آزمایش با اصطلاح خو گرفت." در این مطالعه نشانه خوگیری، شنای آزاد و همه‌جانبه در ستون آبی منطقه آغازین تعریف گردید. از ابتدای زمان رهاسازی ماهی

زبرا به داخل منطقه آغازین تا شنای آزاد و همه‌جانبه در ستون آبی منطقه آغازین و مشاهده علائم خوگیری به‌عنوان مدت‌زمان سپری‌شده جهت خوگیری و اولین شاخص رفتار شناگری ثبت گردید. سپس درپوش موجود در بخش جلویی منطقه آغازین (شکل ۲) برداشته شد تا ماهی به‌صورت انفرادی بتواند از منطقه آغازین به سمت منطقه تصمیم‌گیری و انتخاب رنگ‌ها وارد شود. در این مرحله، دومین شاخص رفتار شناگری یعنی مدت‌زمان سپری‌شده از زمان برداشته شدن درپوش مانع در بخش جلویی منطقه آغازین و عبور از طول ساقه T و رسیدن به منطقه تصمیم‌گیری با استفاده از یک‌زمان سنج اندازه‌گیری و ثبت گردید.

جهت ارزیابی ترجیحات رنگی ماهی زبرا، از دو گروه تیمارهای رنگی (سبز- قرمز) و (آبی و زرد) در قسمت دو بازوی آکواریوم آزمایش مدل T-maze استفاده گردید. پارامترهای اندازه‌گیری شده در این بخش شامل ۱) تعداد دفعات انتخاب رنگ توسط ماهی زبرا در هر گروه از تیمارهای رنگی و ۲) مدت‌زمان سپری‌شده در هر یک از بازوهای رنگی گروه‌های رنگی بود. پس از گزینش یکرنگ، ماهی در بازوی رنگی مدت‌زمانی را شنا می‌کرد که این مدت‌زمان توسط زمان‌سنج اندازه‌گیری شد. طول کل دوره زمانی آزمایش در این بخش برای بررسی ترجیحات رنگی ماهی زبرا ۶۰ دقیقه بوده است (Peeters *et al.*, 2016).

## تجزیه‌وتحلیل آماری

در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد. پارامترهای رفتاری مدت‌زمان خوگیری در منطقه‌ی آغازین، مدت‌زمان رسیدن به منطقه‌ی تصمیم‌گیری، گزینش بازوهای رنگی و مدت‌زمان ماندن در هر بازوی رنگی با استفاده از آزمون Paired Samples T- test انجام گرفت. معنی‌داری داده‌ها در سطح ۰/۰۵ تعیین گردید. آنالیز آماری داده‌ها در نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel صورت پذیرفت.

## نتایج و بحث

بررسی و مقایسه داده‌های این پژوهش در دو بخش کلی ارزیابی رفتار شناگری و ترجیحات رنگی ماهی زبرا با استفاده از آکواریوم مدل T-maze می‌باشد. در بخش اول، ارزیابی رفتار شناگری پارامترهای زمان خوگیری در منطقه آغازین، زمان رسیدن به منطقه تصمیم‌گیری بررسی گردید و در بخش دوم، ارزیابی ترجیحات رنگی پارامترهای تعداد دفعات گزینش رنگ‌ها و مدت‌زمان سپری‌شده در ترکیبات بازوهای رنگی (سبز-قرمز و آبی-زرد) اندازه‌گیری شد.

### رفتار شناگری ماهی زبرا

میانگین مدت‌زمان خوگیری در منطقه آغازین برای تمامی ماهی‌های زبرا (n=۱۶) برابر با ۳/۶± ۵ دقیقه محاسبه گردید (نمودار ۱ الف). کمترین مدت‌زمان لازم برای خوگیری ۳۶ ثانیه و بیشترین مدت‌زمان لازم برای انجام خوگیری ۱۷ دقیقه

اندازه‌گیری شد. این مدت‌زمان خوگیری به منطقه آغازین در مشاهدات (Peeters *et al.*, 2016) در ماهی زبرا ۱۰ دقیقه گزارش شد که با این بخش از مشاهدات و نتایج این تحقیق متفاوت است. این تفاوت مشاهده‌شده در مدت‌زمان خوگیری در منطقه آغازین می‌تواند با شاخص‌هایی چون سن ماهی، شرایط نگهداری ماهی و سازگاری‌های ژنتیکی ماهی در ارتباط باشد (Spence Haghani *et al.*, 2006; Haghani *et al.*, 2019) و همکاران (۲۰۱۹) بیان داشتند که ماهی‌های مسن‌تر نسبت به ماهی‌های جوان‌تر سرعت خوگیری بالاتری به تانک آزمایش در شرایط یکسان می‌باشند. همین‌طور اندازه تانک و شدت تابش نور هم می‌تواند بر مدت‌زمان خوگیری ماهی‌ها تأثیرگذار باشد (Haghani *et al.*, 2019).

در خصوص شاخص دوم رفتار شناگری اندازه‌گیری شده، به‌طور میانگین ۱/۳±۲ دقیقه طول کشید تا ماهی‌های زبرا به منطقه تصمیم‌گیری برسند (نمودار ۱ ب). کمترین زمان لازم برای رسیدن به منطقه تصمیم‌گیری۲ ثانیه و بیشترین مدت‌زمان لازم ۶ دقیقه ثبت شد. دامنه گسترده مشاهده‌شده تفاوت پاسخ‌های رفتار شناگری ماهی زبرا ازنظر علمی قابل‌تأمل و بررسی می‌باشد. علاوه بر تنوع ژنتیکی، یکی از دلایل تفاوت مشاهده‌شده در مدت‌زمان خوگیری و سرعت شناگری رسیدن به منطقه آغازین، تنوع شرایط زیستگاهی و محیطی ماهی زبرا می‌باشد (Suriyampola *et al.*, 2016). در این پژوهش ماهی زبرا همانند روش کار در مطالعه (Peeters *et al.*, 2016) بعد از قرارگیری در آکواریوم و خوگیری در منطقه آغازین جهت رسیدن به منطقه تصمیم‌گیری و انجام ترجیحات رنگی رهاسازی گردید و مراحل خوگیری در ۵ دقیقه اول آزمایش صورت پذیرفت. درحالی‌که در مطالعه برخی دیگر از پژوهشگران قبل از انجام آزمایش ترجیحات رنگی، ماهی‌ها به محیط آکواریوم موردنظر رهاسازی شدند تا خوگیری اولیه‌ای را داشته باشند (Avdesh *et al.*, 2012; Bault *et al.*, 2015). همین موضوع تفاوت درروش کار و انجام آزمایش ترجیحات رنگی نیز می‌تواند بیانگر دلیل وجود تفاوت‌ها در نتایج تحقیقات مدت‌زمان خوگیری و ترجیحات رنگی باشد.

با توجه به نتایج شاخص‌ها رفتار شناگری بررسی‌شده در این مطالعه (مدت‌زمان خوگیری در منطقه آغازین و مدت‌زمان رسیدن به منطقه تصمیم‌گیری)، به نظر می‌رسد که استراتژی پاسخ‌های رفتاری مشاهده‌شده در ماهی زبرا به‌صورت انفرادی نسبت به تغییرات محیطی و قرار گرفتن در شرایط مختلف دارای همبستگی و ارتباط مستقیم بوده و به‌صورت یک الگو تا حدود زیادی برای هرماهی زبرا قابل پیش‌بینی می‌باشد. قابل پیش‌بینی بودن پاسخ‌های رفتاری انفرادی ماهی زبرا در این پژوهش نیز مشاهده گردید به‌گونه‌ای که ماهی با مدت‌زمان خوگیری کم در منطقه آغازین، مدت‌زمان کمی هم صرف جستجو در طول ساقه T و رسیدن به منطقه تصمیم‌گیری کرده است (نمودار ۱).

**سندروم‌های رفتاری در ماهی زبرا**

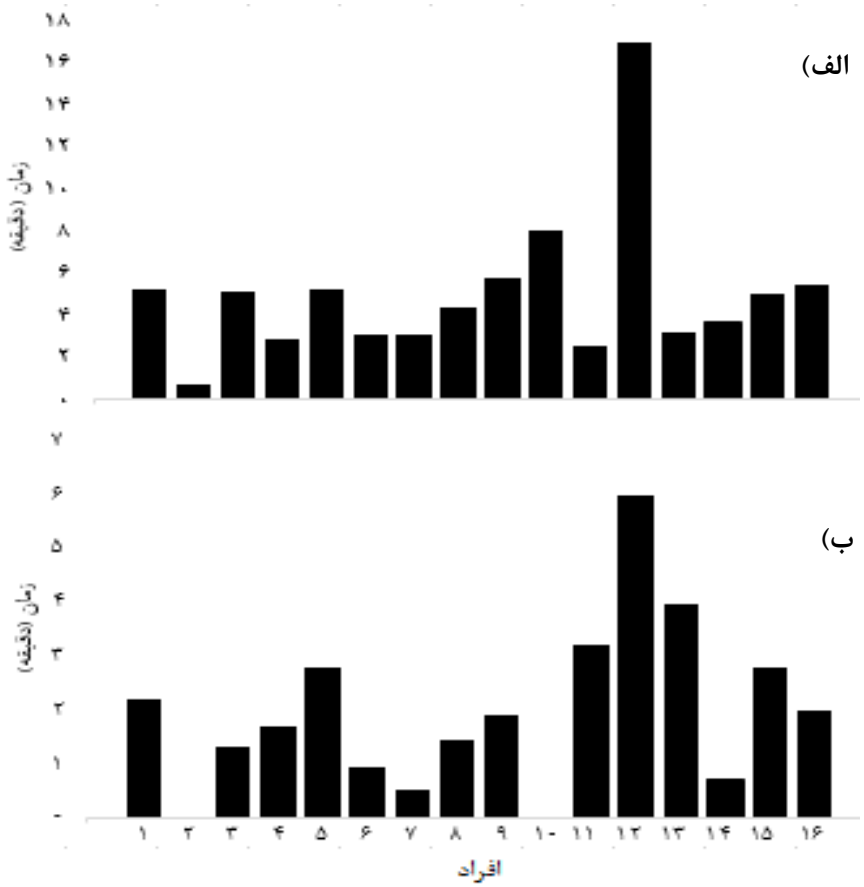
تفاوت‌های بین فردی ویژگی‌ها و صفات رفتاری که باگذشت زمان و زمینه فعالیتی در یک‌گونه جانور ثابت و پایدار باقی می‌مانند به‌عنوان سندروم‌های رفتاری شناخته می‌شوند که پژوهش‌های قبلی در بسیاری از گونه‌های جانوری نشان داده‌شده

است (Sih *et al.*, 2004; Sih & Bell, 2008; Sih *et al.*, 2004). در این مطالعه برای اولین بار در ایران، سندروم رفتاری ماهی زبرا با اندازه‌گیری دو پارامتر مدت‌زمان خوگیری در منطقه آغازین و مدت‌زمان رسیدن به منطقه تصمیم‌گیری بررسی گردید. مطالعات قبلی نشان داده است که گونه‌های جانوری در پاسخ به محرک‌های زیستی و تغییرات محیطی در سطح انفرادی یکی از استراتژی‌های فنوتیپی رفتاری پیش فعال (Proactive) و یا انفعالی (Reactive) را انتخاب می‌کنند. از ویژگی‌های افراد با فنوتیپ پیش فعال می‌توان گستاخی، پرخاشگری و پذیرش ریسک خطر بیشتر را ذکر نمود درحالی‌که ویژگی‌های افراد یک‌گونه با فنوتیپ انفعالی معمولاً خجالتی، آرام و عدم ریسک‌پذیری می‌باشد.

افراد یک‌گونه با فنوتیپ های رفتاری متفاوت الگوهای فعالیتی متفاوتی را در محیط‌های طبیعی زیست (Montiglio *et al.*, 2010) و هم‌چنین شرایط آزمایشگاهی (Tran & Gerlai, 2013) انتخاب می‌کنند. در پژوهش حاضر پاسخ‌های رفتار شناگری ماهی زبرا در پارامترهای اندازه‌گیری شده مدت‌زمان خوگیری در منطقه آغازین و مدت‌زمان لازم برای رسیدن به منطقه تصمیم‌گیری نشان‌دهنده این فنوتیپ های رفتاری پیش فعال (Proactive) و یا انفعالی (reactive) می‌باشند. به‌طوری‌که اکثر ماهی‌هایی که به‌عنوان پیش فعال زمان کمتری صرف خوگیری در منطقه آغازین داشته‌اند، به همان نسبت زمان کمتری را هم‌جهت رسیدن به منطقه تصمیم‌گیری صرف کردند. درحالی‌که ماهی‌هایی که مدت‌زمان بیشتری صرف خوگیری در منطقه آغازین داشتند زمان بیشتری هم طول کشید تا به منطقه تصمیم‌گیری برسند (نمودار ۱). البته در مواردی هم مغایرت‌هایی در بیان این الگو و ارتباط رفتاری مشاهده‌شده است. به‌عنوان‌مثال در نمونه شماره ۱۰، مدت‌زمان عادت به محیط در منطقه آغازین ۸ دقیقه بوده است و ازلحاظ مدت‌زمان، زمان زیادی را صرف عادت به محیط کرده است؛ لذا پیش‌بینی می‌شد که این نمونه مدت‌زمان زیادی را نیز صرف جستجوی ساقه T کرده باشد. اما با توجه به داده ثبت‌شده این نمونه در مدت‌زمان کمتر از ۱ دقیقه (۲ ثانیه) خود را به منطقه تصمیم‌گیری رسانده است که عدد بسیار کمی ازلحاظ مقدار در بین سایر ماهی‌ها بوده است. این تفاوت و عدم پایایی پاسخ‌های رفتاری می‌تواند به ژنتیک والدین، شرایط محیطی، بیماری‌ها و قدرت متفاوت سازگاری با محیط جدید آزمایشی مرتبط باشد (Spence *et al.*, 2006) که ازنظر رفتارشناسی و تکامل دارای اهمیت می‌باشد.

به نظر می‌رسد پاسخ‌های رفتاری ماهی زبرا به دو پارامتر ذکرشده بیان‌کننده ویژگی‌های سندروم رفتاری در این‌گونه بوده است به‌طوری‌که شواهد موجود در این پژوهش به‌نوعی نشان می‌دهد ماهی‌هایی که زمان زیادی را صرف خوگیری در منطقه آغازین نمودند و رفتارهای شناگری طبیعی خود را نشان دادند هم‌چنین زمان زیادی نیز طول کشید تا خود را به منطقه تصمیم‌گیری برسانند. درحالی‌که آن دسته از ماهی‌های زبرا که در مدت کوتاهی در منطقه آغازین خوگیری آن‌ها انجام شد مدت‌زمان کمی هم طول کشید تا خود را به منطقه تصمیم‌گیری برسانند که این الگوهای مشاهده‌شده رفتاری می‌تواند به سندروم‌های رفتاری ماهی‌ها مرتبط و وابسته باشد (Conrad *et al.*, 2011; Sih *et al.*, 2004; Sih & Bell, 2008; Sih *et al.*,

(2004; Sih *et al.*, 2012; Sih *et al.*, 2011; Sih & Del Giudice, 2012. البته برای قطعی شدن وجود این ارتباط رفتاری بین مدت‌زمان خوگیری در منطقه آغازین و مدت‌زمان رسیدن به منطقه تصمیم‌گیری، انجام آزمایش‌های تکمیلی در این خصوص و هم‌چنین بررسی‌های آماری تکمیلی جهت بررسی میزان همبستگی‌های بین دو متغیر رفتاری پیشنهاد می‌گردد.




**نمودار ۱. مشاهدات رفتار شناگری ماهی زبرا در آکواریوم آزمایش مدل T-maze. الف) مدت‌زمان (دقیقه) خوگیری ماهی زبرا در منطقه آغازین و ب) مدت‌زمان (دقیقه) رسیدن ماهی زبرا به منطقه تصمیم‌گیری. (تعداد کل ماهی زبرا :۱۶ قطعه).**

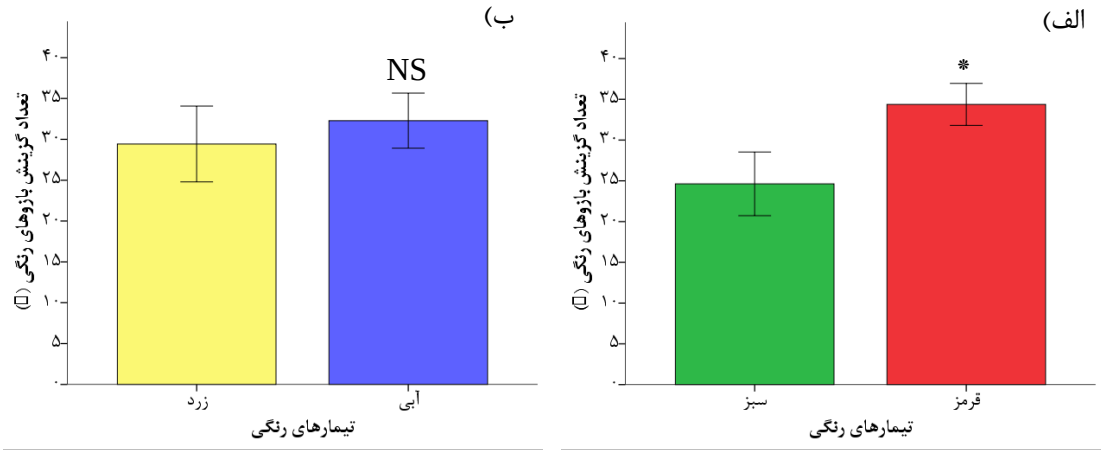
## ترجیحات رنگی ماهی زبرا

### تعداد دفعات گزینش رنگ‌ها توسط ماهی زبرا

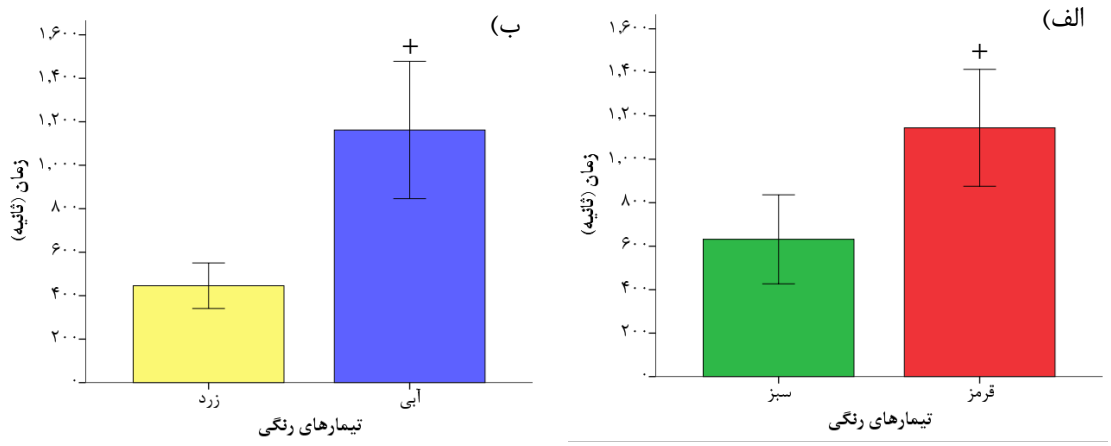
آکواریوم مدل T-maze یک ابزار استاندارد و پذیرفته‌شده برای ارزیابی ترجیحات (Serra *et al.*, 1999)، یادگیری (Colwill *et al.*, 2005) و حافظه (Blaser *et al.*, 2010) و (Ninkovic & Bally-Cuif, 2006) در مدل‌های جانوری متداول می‌باشد که اخیراً برای استفاده گونه مدل ماهی زبرا نیز معتبر شناخته‌شده است (Colwill *et al.*, 2005). نتایج در بررسی پارامتر تعداد دفعات گزینش رنگ در تیمار بازوهای رنگی، ماهی زبرا رنگ قرمز را نسبت به رنگ سبز ترجیح داد ($P<0.05$) (نمودار ۲

الف). مشاهدات این بخش از نتایج ما با پژوهش (Avdesh *et al.*, 2012) همخوانی دارد که نشان دادند ماهی زبرا در انتخاب ترکیبات رنگی متنوع‌تر، بیشترین میزان تعداد گزینش را به رنگ قرمز نشان داده است (Avdesh *et al.*, 2012). اما تعداد دفعات گزینش رنگ آبی- زرد تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد (P>0.05) اگرچه تعداد گزینش رنگ آبی بیشتر از زرد بود. (نمودار ۲ ب). جذابیت رنگ قرمز و تمایل ماهی زبرا به رنگ قرمز می‌تواند به دلیل بوم‌شناسی و خصوصیات زیستگاهی درزمینه ارتباط این رنگ با فعالیت‌های جفت‌یابی مرتبط با الگوهای رنگی قرمز و هم‌چنین دلایل تغذیه‌ای باشد (Spence *et al.*, 2007). به‌طوری‌که جیره غذایی طبیعی ماهی زبرا از سخت‌پوستان ریزی می‌باشد که در ساختار بدنی‌شان رنگ‌دانه‌های متمایل به رنگ قرمز فراوان‌تر هستند (Spence & Smith, 2008). با توجه به نتایج ارزیابی ترجیحات رنگی پژوهش‌های قبلی می‌توان نتیجه گرفت که روش و ابزارهای بکار گرفته‌شده برای بررسی ترجیحات رنگی در این پژوهش در دامنه بینایی و قابل‌رؤیت توسط ماهی زبرا بوده است.

شاخص تعداد گزینش بازوهای رنگی در گروه رنگی قرمز- سبز بیشتر به سمت رنگ قرمز بوده و تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (P<0.05). در گروه رنگی زرد-آبی گرایش بیشتر به سمت رنگ آبی بوده است ولی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>0.05). هم‌چنین شاخص مدت‌زمان ماندن تکرارها در بازوهای رنگی در گروه رنگی قرمز- سبز گرایش بیشتر به سمت رنگ قرمز بوده و تفاوت آن‌ها به سطح معنی‌داری نزدیک بوده است (P=0.06 ). در گروه زرد-آبی گرایش بیشتر به سمت رنگ آبی بوده و تفاوت آن‌ها به سطح معنی‌داری نزدیک بوده است (P=0.09 ).




**نمودار ۲. تعداد دفعات گزینش رنگ گروه‌های تیماری الف) بازوهای رنگی (قرمز و سبز) و ب) (آبی و زرد) در ماهی زبرا. تعداد ماهی در هر یک از گروه‌های رنگی ۸ قطعه بوده است (N:8) . علامت * معنی‌داری آماری در سطح P<0.05 و NS عدم معنی‌داری آماری می‌باشد.**




**نمودار ۳. مدت‌زمان (ثانیه) سپری‌شده در گروه‌های تیماری الف) بازوهای رنگی (قرمز و سبز) و ب) (آبی و زرد) در ماهی زبرا. تعداد ماهی در هر یک از گروه‌های رنگی ۸ قطعه بوده است (N:8) .علامت + به معنی میل به معنی‌داری (trend) می‌باشد P>0.05 و P<0.1.**

**جدول ۱: مقدار داده‌های اندازه‌گیری شده برای شاخص‌های رفتارشناسی (n=۸) شامل مدت‌زمان خوگیری در منطقه آغازین (دقیقه، ثانیه) و مدت‌زمان رسیدن به منطقه تصمیم‌گیری (دقیقه، ثانیه) و شاخص‌های ترجیحات رنگی(n=۸) شامل تعداد دفعات گزینش بازوهای رنگی قرمز-سبز (ثانیه) و مدت‌زمان سپری‌شده در هر بازوی رنگی قرمز-سبز (ثانیه).**

| افراد | شاخص اول | شاخص دوم | شاخص سوم | | شاخص چهارم | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | مدت زمان خوگیری | مدت زمان رسیدن به منطقه ی تصمیم گیری | تعداد دفعات گزینش بازوهای رنگی | | مدت زمان ماندن در هر بازوی رنگی | |
| | | | قرمز | سبز | قرمز | سبز |
| ۱ | ۵′: ۱۲″ | ۲′ : ۱۳″ | ۴۴ | ۱۹ | ۱۹۸۲″ | ۲۳۶″ |
| ۲ | ۰′ : ۳۶″ | ۰′ : ۲″ | ۴۰ | ۳۵ | ۱۱۲۴″ | ۱۰۰۲″ |
| ۳ | ۵′ : ۰۴″ | ۱′ : ۲۰″ | ۴۱ | ۴۶ | ۱۸۵۲″ | ۱۸۶۰″ |
| ۴ | ۲′ : ۵۰″ | ۱′ : ۴۲″ | ۳۵ | ۲۳ | ۷۵۳″ | ۴۰۹″ |
| ۵ | ۵′ : ۱۳″ | ۲′ : ۴۷″ | ۳۱ | ۲۳ | ۲۱۵۳″ | ۸۰۸″ |
| ۶ | ۳′ : ۰۰″ | ۰′ : ۵۶″ | ۲۶ | ۱۵ | ۴۹۳″ | ۲۷۳″ |
| ۷ | ۳′ : ۰۰″ | ۰′ : ۳۱″ | ۳۰ | ۲۴ | ۶۶۷″ | ۳۲۲″ |
| ۸ | ۴′ : ۱۸″ | ۱′ : ۲۷″ | ۱۶ | ۱۲ | ۱۳۲″ | ۱۳۹″ |

**جدول ۲: مقدار داده‌های اندازه‌گیری شده برای شاخص‌های رفتارشناسی (n=۸) شامل مدت‌زمان خوگیری در منطقه آغازین (دقیقه، ثانیه) و مدت‌زمان رسیدن به منطقه تصمیم‌گیری (دقیقه، ثانیه) و شاخص‌های ترجیحات رنگی(n=۸) شامل تعداد دفعات گزینش بازوهای رنگی آبی-زرد (ثانیه) و مدت‌زمان سپری‌شده در هر بازوی رنگی آبی-زرد (ثانیه).**

| افراد | شاخص اول | شاخص دوم | شاخص سوم | | شاخص چهارم | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | مدت زمان خوگیری | مدت زمان رسیدن به منطقه ی تصمیم گیری | تعداد دفعات گزینش بازوهای رنگی | | مدت زمان ماندن در هر بازوی رنگی | |
| | | | آبی | زرد | آبی | زرد |
| ۱ | ۵′ : ۴۳″ | ۱′ : ۵۹″ | ۴۴ | ۳۲ | ۷۵۸″ | ۸۷۳″ |
| ۲ | ۸′ : ۰۰″ | ۰′ : ۲″ | ۱۹ | ۲۵ | ۱۳۴″ | ۱۵۹″ |
| ۳ | ۲′ : ۳۰″ | ۳′ : ۱۳″ | ۴۳ | ۳۶ | ۲۶۶۱″ | ۲۶۸″ |
| ۴ | ۱۷′ : ۰۰″ | ۵′ : ۰۰″ | ۲۸ | ۵۴ | ۱۰۰۴″ | ۸۲۲″ |
| ۵ | ۳′ : ۰۵″ | ۳′ : ۵۹″ | ۴۰ | ۲۶ | ۶۱۹″ | ۳۱۹″ |
| ۶ | ۳′ : ۳۵″ | ۰′ : ۴۴″ | ۳۱ | ۲۷ | ۵۸۳″ | ۵۹۹″ |
| ۷ | ۵′ : ۰۰″ | ۲′ : ۴۸″ | ۲۱ | ۷ | ۲۳۷۳″ | ۷۶″ |
| ۸ | ۵′ : ۲۲″ | ۱′ : ۵۹″ | ۳۲ | ۳۰ | ۱۱۶۱″ | ۴۴۵″ |

(Park *et al.*, 2016) هم در مطالعه خود بر ترجیحات رنگی ماهی زبرا در مراحل لاروی نتایجی مشابه با این پژوهش را گزارش نمودند. در نتایج آن‌ها نشان داده‌شده است که ترجیحات رنگی در بروز رفتارهای گله‌ای و تغذیه‌ای نقش بااهمیتی را ایفا می‌کند (Engeszer *et al.*, 2004; Peichel, 2004). با توجه به اینکه ساختار بدن ماهی‌ها در گونه‌های مختلف و حتی جمعیت‌های متفاوت، الگوهای رنگی متنوعی دارد بنابراین ماهی‌ها می‌توانند بر اساس همین الگوهای رنگی گله‌های تولیدمثلی خود را شناسایی کنند (Peichel, 2004). هم‌چنین مطالعات نشان داده است که دلیل تفاوت‌ها و تنوع در پاسخ‌های رفتاری گونه‌های جانوران می‌تواند وابسته به نژاد و به‌نوعی ویژگی‌ها و اختصاصات ژنتیکی نیز باشد(Avdesh *et al.*, 2011).

### مدت‌زمان سپری‌شده توسط ماهی زبرا در بازوهای رنگی

در خصوص مدت‌زمان سپری‌شده در بازوهای رنگی، نتایج این پژوهش نشان داد که ماهی زبرا مدت‌زمان بیشتری را در بازوی قرمز (تیمار بازوهای قرمز و سبز) سپری کرده است. اگرچه این بخش از ارجحیت‌های مشخص‌شده ازنظر آماری معنی‌دار نبوده است (شکل ۵) ولی با نتایج و مشاهدات (Avdesh *et al.*, 2012 Roy *et al.*, 2019) همخوانی دارد. (Peeters *et al.*, 2016) همین‌طور نشان دادند که ماهی زبرا در مرحله لاروی رنگ قرمز را نسبت به رنگ سبز ترجیح می‌دهد.(Peeters *et al.*, 2016) هم‌چنین ماهی زبرا مدت‌زمان بیشتری را در بازوی آبی (تیمار بازوهای آبی و زرد) سپری کرده است که این بخش از نتایج با مشاهدات (de Abreu *et al.*, 2010) همخوانی دارد. اگرچه این بخش از ارجحیت‌های مشخص‌شده ازنظر آماری معنی‌دار نبوده است (شکل۵) (نشان‌دهنده تمایل آماری ماهی زبرای بالغ به انتخاب رنگ آبی نسبت به رنگ زرد می‌باشد ($P>0.05$ و $P<0.1$) که البته با مشاهدات ترجیحات رنگ آبی در تیمار (آبی - زرد) در مرحله لاروی و بلوغ ماهی زبرا (Peeters *et al.*, 2016) همخوانی دارد. ترجیح رنگ آبی در تیمار بازوهای رنگی آبی-زرد الزاماً فقط به دلیل ترجیح دادن ماهی زبرا به رنگ آبی ایجاد

نمی‌شود، بلکه می‌تواند به دلیل عدم تمایل یا پاسخ اضطراب برای حضور در منطقه رنگ زرد باشد (Peeters *et al.*, 2016). عوامل استرس و ترس می‌تواند بر قدرت تصمیم‌گیری و تشخیص ماهی‌ها تأثیرگذار باشد. برخی از محققین ترجیح به رنگ آبی در ماهی زبرا را ناشی از ویژگی‌ها و شرایط نگهداری این‌گونه می‌دانند به‌طوری‌که رنگ محل نگهداری ماهی می‌تواند یادآور شرایط امن و مطلوب گونه موردنظر باشد (Blaser & Peñalosa, 2011). de Abreu و همکاران (۲۰۲۰) بیان نمودند که نگهداری ماهی زبرا در آکواریوم‌های بارنگ زمینه آبی منجر به کاهش رفتارهای مرتبط با تشویش و اضطراب (Anxiety-like behaviour) شده و هم‌چنین در این شرایط نگهداری سطوح هورمون کورتیزول کل بدن نیز کاهش پیدا کرد.

در مطالعه‌ای دیگر (Bault *et al.*, 2015) نشان دادند که جنس نر و ماده ماهی زبرا رنگ‌های با طول‌موج کوتاه‌تر (آبی) را ترجیح دادند که با نتایج این پژوهش متفاوت می‌باشد. Oliveira و همکاران (2015) بیان داشتند که ماهی زبرا به رنگ‌های آبی و سبز تمایل بیشتری دارد (Oliveira *et al.*, 2015) که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی ندارد. (Risner *et al.*, 2006) هم‌چنین نشان دادند که ماهی زبرا تمایل بیشتری به طیف‌های نوری با طول‌موج‌های کوتاه‌تر دارد. دلایل تفاوت مشاهدات و نتایج ترجیحات رنگی این پژوهش با مطالعات ذکرشده می‌تواند مربوط به تغییر موقعیت هر رنگ در بازوهای راست و چپ برای هرماهی آزمون شده، تفاوت در ابعاد و تعداد بازوها، تفاوت‌های نژادی ماهی زبرا (تفاوت‌های ژنتیکی)، شرایط نگهداری متفاوت در مراکز تکثیر و پرورش ماهی، تغذیه از منابع غذایی متفاوت و عامل جنسیت باشد. هم‌چنین بیان‌شده است که محتوا و ترکیبات معدنی آب نیز می‌تواند بر رفتار و فعالیت‌های یادگیری ماهی زبرا اثرگذار باشد (Pilehvar *et al.*, 2020).

این فرضیه وجود دارد که با توجه به اینکه ماهی زبرا همانند چندگونه دیگر از ماهیان آب شیرین دارای دید چهار رنگی (Tetrachromatic vision) با چهار نوع از سلول‌های مخروطی حساس به ماوراءبنفش، آبی-سبز، بنفش و زرد می‌باشند، دامنه پاسخ‌های طیفی آن‌ها می‌تواند نشان‌دهنده ظرفیت بالقوه تبعیض رنگ در طول‌موج‌های کوتاه باشد (Connaughton & Nelson, 2010; Risner *et al.*, 2006; Robinson *et al.*, 1993). هم‌چنین نتایج بخش ترجیحات رنگی ماهی زبرا در این پژوهش با نتایج (Avdesh *et al.*, 2012) همخوانی داشت. ماهی زبرای جوان و بالغ، عمدتاً رنگ‌های زرد و سبز را کمتر ترجیح می‌دهند(Taylor *et al.*, 2013). پیشنهاد می‌گردد که خصوصیات طیفی رنگ‌های مورداستفاده در آزمون ترجیحات رنگی اندازه‌گیری شود تا دقیقاً در دامنه قابل‌مشاهده طیف نوری توسط ماهی زبرا (۷۵۰-۴۰۰ نانومتر) قرار داشته باشد. هم‌چنین اثرات احتمالی سن نیز بر ترجیحات رنگی این‌گونه بررسی گردد. با توجه به نتایج مطالعات محققین قبلی در بررسی ارزیابی ارجحیت رنگی در ماهی زبرا تناقضاتی دیده می‌شود که قابل‌تأمل می‌باشد. برای ارزیابی ارجحیت رنگی و بررسی رفتارهای شناگری در این‌گونه نیاز به مراقبت و دقت در انتخاب ماهی‌های مورد آزمایش، یکسان‌سازی شرایط نگهداری ماهی‌ها قبل از آزمایش، گزارش نسبت‌های جنسی و برخی از ویژگی‌های زیستی شامل مرحله زندگی (لاروی، جوانی و بالغ) می‌باشد تا بتوان

پتانسیل اثرگذاری سایر عوامل که به‌عنوان عامل مخدوش‌کننده (confounding factor) شناخته می‌شوند تا حد امکان حذف و یا کمتر گردد (Siregar *et al.*, 2020).

## نتیجه‌گیری کلی

نتایج پارامترهای رفتاری اندازه‌گیری شده نشان داد که ماهی زبرا توانایی خوگیری به محیط آکواریوم مدلT-maze را داشته و با ورود به منطقه تصمیم‌گیری ترجیحات رنگی خود را نشان داد. هم‌چنین در بخش دیگر نتایج این پژوهش نشان داد که ارزیابی ترجیحات رنگی ماهی زبرا با استفاده از این نوع مدل آکواریوم T-maze قابل‌اندازه‌گیری می‌باشد. البته پیشنهاد می‌گردد که برای درک بهتر پاسخ‌های رفتاری و ترجیحات رنگی ماهی، سنجش شدت و طول‌موج‌های ساطع‌شده از رنگ‌های مورداستفاده و تطابق آن با دامنه طول‌موج‌های قابل دریافت و دامنه بینایی ماهی زبرا اندازه‌گیری شود. مطالعات بیشتر رفتارشناسی نیاز می‌باشد تا در مرحله اول شواهد بیشتری از جزئیات سندروم‌های رفتاری گونه‌های ماهی‌ها مطالعه گردد و در مرحله بعدی در این زمینه بتوان به بررسی توانایی تصمیم‌گیری و حافظه در ماهی‌ها پرداخته و اهمیت و نقش رنگ‌ها در زیستگاه‌های طبیعی و آزمایشگاهی این‌گونه و هم‌چنین سایر گونه‌ها پی برده شود.

## تشکر و قدردانی

احتراماً از ریاست محترم دانشکده منابع طبیعی، مدیر محترم گروه شیلات به جهت فراهم نمودن شرایط، صدور مجوزها و مقدمات اداری و جناب مهندس محمدی مسئول محترم آزمایشگاه ماهی‌شناسی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، به جهت همکاری برای استفاده از امکانات آزمایشگاهی دانشکده نهایت قدردانی راداریم. هم‌چنین از جناب آقای دکتر ترکمن عضو محترم هیئت‌علمی گروه جنگلداری دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان به‌واسطه مساعدت‌های ایشان در راهنمایی محاسبات آماری قدرانی می‌گردد. در پایان از داوران محترم که با پیشنهادها و ارائه نظرات علمی‌شان موجب افزایش کیفیت و ساختار این مقاله شدند تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع

Avdesh, A., Chen, M., Martin-iverson, M. T., Verdile, G., Mondal, A., & Martins, R. N. (2010). Natural Colour Preference in the Zebrafish (*Danio rerio*). In *Proceedings of Measuring Behaviour* (Vol. 2010, pp. 155–157).

Avdesh, A., Martin-Iverson, M. T., Mondal, A., Chen, M., Askraba, S., Morgan, N., Martins, R. N. (2012). Evaluation of color preference in zebrafish for learning and memory. *Journal of Alzheimer's Disease*. https://doi.org/10.3233/JAD-2011-110704

Avdesh, A., Wong, P., Martins, R. N., & Martin-Iverson, M. T. (2011). Memory function in a mouse genetic model

of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, *25*(3), 433–444. https://doi.org/10.3233/JAD-2011-101944

Bault, Z. A., Peterson, S. M., & Freeman, J. L. (2015). Directional and color preference in adult zebrafish: Implications in behavioral and learning assays in neurotoxicology studies. *Journal of Applied Toxicology*, *35*(12), 1502–1510. https://doi.org/10.1002/jat.3169

Blackiston, D., Briscoe, A. D., & Weiss, M. R. (2011). Color vision and learning in the monarch butterfly, Danaus plexippus (Nymphalidae). *Journal of Experimental Biology*. https://doi.org/10.1242/jeb.048728

Blaser, R. E., Chadwick, L., & McGinnis, G. C. (2010). Behavioral measures of anxiety in zebrafish (Danio rerio). *Behavioural Brain Research*. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.11.009

Blaser, R. E., & Peñalosa, Y. M. (2011). Stimuli affecting zebrafish (Danio rerio) behavior in the light/dark preference test. *Physiology and Behavior*, *104*(5), 831–837. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.07.029

Colwill, R. M., Raymond, M. P., Ferreira, L., & Escudero, H. (2005). Visual discrimination learning in zebrafish (Danio rerio). *Behavioural Processes*. https://doi.org/10.1016/j.beproc.2005.03.001

Connaughton, V. P., & Nelson, R. (2010). Spectral responses in zebrafish horizontal cells include a tetraphasic response and a novel UV-dominated triphasic response. *Journal of Neurophysiology*. https://doi.org/10.1152/jn.00644.2009

Conrad, J. L., Weinersmith, K. L., Brodin, T., Saltz, J. B., & Sih, A. (2011). Behavioural syndromes in fishes: A review with implications for ecology and fisheries management. *Journal of Fish Biology*, *78*(2), 395–435. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2010.02874.x

De Abreu, M. S., Giacomini, A. C., Genario, R., dos Santos, B. E., Marcon, L., Demin, K. A., & Kalueff, A. V. (2020). The impact of housing environment color on zebrafish anxiety-like behavioral and physiological (cortisol) responses. *General and Comparative Endocrinology*, 113499.

Engeszer, R. E., Patterson, L. B., Rao, A. A., & Parichy, D. M. (2007). Zebrafish in the wild: a review of natural history and new notes from the field. *Zebrafish*, *4*, 21–40. https://doi.org/10.1089/zeb.2006.9997

Engeszer, Raymond E., Ryan, M. J., & Parichy, D. M. (2004). Learned social preference in zebrafish. *Current Biology*. https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.04.042

Fleisch, V. C., & Neuhauss, S. C. F. (2006). Visual behaviour in zebrafish. Zebrafish 3 (2), 191–201.

Gerlai, R. (2010). High-throughput behavioral screens: The first step towards finding genes involved in vertebrate brain function using zebrafish. *Molecules*. https://doi.org/10.3390/molecules15042609

Haffter, P., Granato, M., Brand, M., Mullins, M. C., Hammerschmidt, M., Kane, D. A., … Nüsslein-Volhard, C. (1996). The identification of genes with unique and essential functions in the development of the zebrafish, Danio rerio. *Development*, *123*, 1–36.

Haghani, S., Karia, M., Cheng, R. K., & Mathuru, A. S. (2019). An automated assay system to study novel tank

induced anxiety. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 13, 180.

Hughes, R. N., & Blight, C. M. (2000). Two intertidal fish species use visual association learning to track the status of food patches in a radial maze. *Animal Behaviour*. https://doi.org/10.1006/anbe.1999.1351

Levine, J. S., & MacNichol, E. F. (1982). Color vision in fishes. *Scientific American*. https://doi.org/10.1038/scientificamerican0282-140

Miletto Petrazzini, M. E., Agrillo, C., Piffer, L., Dadda, M., & Bisazza, A. (2012). Development and application of a new method to investigate cognition in newborn guppies. *Behavioural Brain Research*. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.05.044

Montiglio, P. O., Garant, D., Thomas, D., & Réale, D. (2010). Individual variation in temporal activity patterns in open-field tests. *Animal Behaviour*. https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2010.08.014

Ninkovic, J., & Bally-Cuif, L. (2006). The zebrafish as a model system for assessing the reinforcing properties of drugs of abuse. *Methods*. https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2005.12.007

Oliveira, J., Silveira, M., Chacon, D., & Luchiari, A. (2015). The Zebrafish World of Colors and Shapes□: Preference and Discrimination, *12*(2), 166–173. https://doi.org/10.1089/zeb.2014.1019

Park, J., Ryu, J., Choi, T., Bae, Y., Lee, S., & Kang, H. J. (2016). Innate Color Preference of Zebrafish and Its Use in Behavioral Analyses, *39*(10), 750–755.

Parker, M. O., Gaviria, J., Haigh, A., Millington, M. E., Brown, V. J., Combe, F. J., & Brennan, C. H. (2012). Discrimination reversal and attentional sets in zebrafish (Danio rerio). *Behavioural Brain Research*. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.04.035

Peeters, B. W. M. M., Moeskops, M., & Veenvliet, A. R. J. (2016). Color Preference in Danio rerio: Effects of Age and Anxiolytic Treatments. *Zebrafish*, *13*(4), 330–334. https://doi.org/10.1089/zeb.2015.1150

Peichel, C. L. (2004). Social behavior: How do fish find their shoal mate? *Current Biology*. https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.06.037

Pilehvar, A., Town, R. M., & Blust, R. (2020). The effect of copper on behaviour, memory, and associative learning ability of zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 188, 109900.

Risner, M. L., Lemerise, E., Vukmanic, E. V., & Moore, A. (2006). Behavioral spectral sensitivity of the zebrafish (Danio rerio). *Vision Research*. https://doi.org/10.1016/j.visres.2005.12.014

Robinson, J., Schmitt, E. A., Hárosi, F. I., Reece, R. J., & Dowling, J. E. (1993). Zebrafish ultraviolet visual pigment: Absorption spectrum, sequence, and localization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. https://doi.org/10.1073/pnas.90.13.6009

Roy, T., Suriyampola, P. S., Flores, J., López, M., Hickey, C., Bhat, A., & Martins, E. P. (2019). Color preferences affect learning in zebrafish, *Danio rerio*. *Scientific reports*, 9.

Serra, E. L., Medalha, C. C., & Mattioli, R. (1999). Natural preference of zebrafish (Danio rerio) for a dark environment. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. https://doi.org/10.1590/S0100-879X1999001200016

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

Sih, A., Bell, A., & Johnson, J. C. (2004). Behavioral syndromes: An ecological and evolutionary overview. *Trends in Ecology and Evolution*, *19*(7), 372–378. https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.04.009

Sih, A., & Bell, A. M. (2008). Insight for behavioral ecology from behavioral syndromes. *Advances in the Study of Behavior*, *38*(08), 227–281. https://doi.org/10.1016/S0065-3454(08)00005-3.Insights

Sih, A., Bell, A. M., Johnson, J. C., & Ziemba, R. E. (2004). Behavioral syndromes: An integrative overview. *Quarterly Review of Biology*, *79*(3), 241–277. https://doi.org/10.1086/422893

Sih, A., Cote, J., Evans, M., Fogarty, S., & Pruitt, J. (2012). Ecological implications of behavioural syndromes. *Ecology Letters*, *15*(3), 278–289. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01731.x

Sih, A., & Del Giudice, M. (2012). Linking behavioural syndromes and cognition: A behavioural ecology perspective. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *367*(1603), 2762–2772. https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0216

Sih, A., Ferrari, M. C. O., & Harris, D. J. (2011). Evolution and behavioural responses to human-induced rapid environmental change. *Evolutionary Applications*, *4*(FEBRUARY 2011), 367–387. https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2010.00166.x

Siregar, P., Juniardi, S., Audira, G., Lai, Y. H., Huang, J. C., Chen, K. H. C., Chen, J.R. & Hsiao, C. D. (2020). Method Standardization for Conducting Innate Color Preference Studies in Different Zebrafish Strains. *Biomedicines*, 8(8), 271.

Spence, R., Fatema, M. K., Ellis, S., Ahmed, Z. F., & Smith, C. (2007). Diet, growth and recruitment of wild zebrafish in Bangladesh. *Journal of Fish Biology*. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01492.x

Spence, Rowena, Gerlach, G., Lawrence, C., & Smith, C. (2006). The behaviour and ecology of the zebrafish , Danio rerio.

Spence, Rowena, Gerlach, G., Lawrence, C., & Smith, C. (2008). The behaviour and ecology of the zebrafish, Danio rerio. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, *83*(1), 13–34. https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2007.00030.x

Spence, Rowena, & Smith, C. (2008). Innate and learned colour preference in the zebrafish, Danio rerio. *Ethology*, *114*, 582–588. https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2008.01515.x

Suriyampola, P. S., Shelton, D. S., Shukla, R., Roy, T., Bhat, A., & Martins, E. P. (2016). Zebrafish Social Behavior in the Wild. *Zebrafish*. https://doi.org/10.1089/zeb.2015.1159

Taylor, C., Schloss, K., Palmer, S. E., & Franklin, A. (2013). Color preferences in infants and adults are different. *Psychonomic Bulletin and Review*. https://doi.org/10.3758/s13423-013-0411-6

Tran, S., & Gerlai, R. (2013). Individual differences in activity levels in zebrafish (Danio rerio). *Behavioural Brain Research*. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.09.040

# Assessment of swimming behaviour and colour preferences in adult zebrafish (*Danio rerio*) using the T-maze model

**S. Shafiei Sabet[1*], Sh. Jami[2], F. Alizadeh Ladehmakhi[2]**

**Received:2020.3.5**
**Accepted:2020.10.27**

## Abstract

In order to assess zebrafish swimming behaviour and colour preferences, 16 adult zebrafish were used individually using a T-maze model. Behavioural indices such as habituation time in the start box, approaching time to the decision area, the number of crossings and the time spent in each combination of coloured arms (green-red and blue-yellow) were calculated. Habituation time in the start box and approaching time to the decision area were 300 and 120 s, respectively. The results indicated that zebrafish have more crossings to the red arm and preferred red colour rather than green colour. ($P<0.05$). But, there was no significant difference for the number of crossings in the blue- yellow combination ($P>0.05$). Also, the time spent in each combination of coloured arms was not significant ($P>0.05$). Based on the current results, zebrafish have the ability to discriminate between colours and the T-maze is a valid tool for assessing colour preferences in zebrafish.

***Keywords:*** *Behaviour, Biology, Habituation, Swimming activity, Vision*

1- Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara
*(Corresponding author: s.shafiei.sabet@guilan.ac.ir)
2- Bachelor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara