



The Use of Behavioral Biomarkers for Monitoring Sublethal Toxicity Induced by the Heavy Metals Lead and Cadmium in Zebrafish (*Danio rerio*)

Mohammad Mohiseni¹ , and Danial Heydarzadeh² 

1. Department of Fisheries and Environmental Engineering, Faculty of Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad, Iran. Corresponding author: E-mail: Mohiseni.m@lu.ac.ir
2. Department of Fisheries Science, Faculty of Natural Resources, Khatam Alanbia, University of Technology, Behbahan, Iran. Email: abcdef@um.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received 20 February 2026

Received in revised form 05

June 2026

Accepted 22 May 2026

Available online 22 June 2026

Keywords:

Zebrafish, heavy metals, behavioral toxicology, locomotor behavior, sublethal effects, lead, cadmium

ABSTRACT

Heavy metal pollution poses significant threats to aquatic ecosystems, known to impair fish behavior. This study investigated the effects of 96-hour exposure to sublethal concentrations of lead (Pb) and cadmium (Cd) on the swimming behavior of zebrafish (*Danio rerio*), using both quantitative kinematic analysis and qualitative trajectory assessment. Behavioral parameters including bout distance, speed, angular velocity, tail beat frequency and swimming pattern were quantified using ZebraZoom software. Results showed that both metals significantly altered locomotor activity, but with distinct patterns. Pb exposure reduced bout distance and speed (compared to the control), while increasing angular velocity, suggesting disrupted spatial navigation. Cd exposure caused more severe reductions in movement metrics and tail beat frequency, indicating neuromuscular impairment. Trajectory analysis revealed Pb-exposed fish exhibited circular swimming patterns, while Cd-exposed fish showed fragmented movements with frequent pauses. These findings demonstrate that sublethal Pb and Cd exposures induce metal-specific behavioral syndromes in zebrafish, likely through different neurotoxic mechanisms. The study highlights the value of combining quantitative and qualitative behavioral analyses in ecotoxicological assessments and suggests distinct biomarkers may be needed for different heavy metal contaminants. The results have important implications for understanding sublethal toxicity mechanisms and developing behavioral monitoring tools for aquatic pollution.

Cite this article: Mohiseni, M., & Heydarzadeh, D. (2026). The Use of Behavioral Biomarkers for Monitoring Sublethal Toxicity Induced by the Heavy Metals Lead and Cadmium in Zebrafish (*Danio rerio*). *Applied Research in Natural Resources Engineering*, 1 (1), <https://doi.org/10.22034/arne.2026.1.1.1>



© Author(s) retain the copyright.

Publisher: University of Lorestan.

DOI: <https://doi.org/10.22034/arne.2026.1.1.1>

Introduction

Heavy metal contamination in aquatic ecosystems represents one of the most pressing environmental challenges of the modern era, primarily due to the persistent nature, bioaccumulative potential, and high toxicity of these pollutants. Among the myriad of heavy metals contaminating water bodies worldwide, lead (Pb) and cadmium (Cd) have emerged as major concerns owing to their widespread release through industrial effluents, agricultural runoff, and urban discharge. These metals, even at sublethal concentrations, can profoundly disrupt physiological and behavioral functions in aquatic organisms, serving as valuable indicators of environmental stress. The zebrafish (*Danio rerio*) has been established as a premier model organism for ecotoxicological research, offering unparalleled advantages including genetic tractability, sensitivity to environmental contaminants, and well-characterized behavioral repertoires. Recent advancements in automated behavioral tracking technologies, particularly software platforms such as ZebraZoom, have revolutionized the quantitative assessment of fish locomotion, enabling precise measurement of kinematic parameters including bout distance, swimming speed, angular velocity, and tail beat frequency. Despite extensive research on acute heavy metal toxicity, investigations examining the subtle behavioral effects of sublethal concentrations remain surprisingly limited. This knowledge gap is particularly critical because sublethal exposure, while not immediately lethal, can impair essential behaviors including foraging efficiency, predator avoidance, and social interactions, ultimately affecting population-level fitness. Furthermore, the distinct neurotoxic mechanisms of different heavy metals may produce metal-specific behavioral syndromes, yet comparative studies examining these differential effects are scarce. The present study addresses these gaps by comprehensively evaluating the behavioral responses of zebrafish following 96-hour exposure to sublethal concentrations of lead and cadmium, utilizing both quantitative kinematic analysis and qualitative trajectory assessment to elucidate metal-specific behavioral signatures.

Methodology

A total of 90 adult zebrafish were acclimated to laboratory conditions for three weeks in 30-liter aquaria, with each tank containing 10 fish and maintained under controlled environmental parameters. The experimental design followed a completely randomized approach comprising three treatment groups, each with three replicates: a control group receiving no metal exposure, a cadmium-exposed group receiving 0.4 mg/L Cd, and a lead-exposed group receiving 1.0 mg/L Pb, all administered through waterborne exposure for a duration of 96 hours. Following the exposure period, fish from each treatment were carefully transferred to recording arenas specifically prepared for video documentation. Prior to behavioral recording, fish were allowed a 15-minute acclimation period within the novel environment to minimize handling-induced artifacts. Behavioral filming was conducted under quiet conditions, with each fish recorded for five minutes, capturing at least three fish per replicate (nine behavioral assessments per treatment). The recorded videos were subsequently analyzed using ZebraZoom software, which underwent meticulous calibration to ensure accurate tracking of multiple behavioral parameters. The software extracted a comprehensive suite of kinematic measurements including bout distance, bout speed, angular velocity, mean tail beat frequency, median instantaneous tail beat frequency, mean tail beat frequency based on the first six tail bends, mean absolute tail bend angle, absolute yaw (maneuverability), timing of first tail beat response, and tail angle symmetry. All statistical analyses were performed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Duncan's multiple range test for post-hoc comparisons, with results presented as mean $\pm$ standard deviation and statistical significance set at $P < 0.05$.

Results and Discussion

The findings revealed that both lead and cadmium exposure significantly altered zebrafish locomotor behavior, albeit through distinctly different patterns, as evidenced by significant reductions in bout distance and swimming speed across both metal-exposed groups compared to controls. Lead-exposed fish exhibited a moderate decrease in movement metrics (bout distance: 5799.36 ± 586.53 mm; speed: 13.77 ± 0.81 mm/s) alongside a paradoxical increase in angular velocity (139.74 ± 8.82 °/s), suggesting selective disruption of spatial navigation circuits while maintaining some degree of motor function. In striking contrast, cadmium exposure produced more severe impairments across multiple parameters, with the lowest recorded values for bout distance (5405.62 ± 870.43 mm), speed (12.01 ± 1.66 mm/s), and mean tail beat frequency (6.93 ± 0.17 Hz), indicating profound neuromuscular dysfunction. Qualitative trajectory analysis corroborated these quantitative findings, revealing that Pb-exposed fish displayed circular swimming patterns characterized by frequent directional changes and reduced linear progression, while Cd-exposed fish exhibited highly fragmented movements punctuated by frequent pauses and restricted environmental exploration. These distinct behavioral syndromes likely reflect differential neurotoxic mechanisms, with lead preferentially affecting dopaminergic circuits involved in spatial orientation, whereas cadmium appears to disrupt calcium homeostasis in muscle cells, impairing contraction dynamics and tail beat generation. The preservation of certain parameters including tail symmetry and maneuverability despite overall reduced activity suggests compensatory mechanisms that warrant further investigation. From an ecological perspective, these metal-induced behavioral alterations could substantially impact survival through reduced foraging efficiency and impaired predator evasion, with cadmium exhibiting more pronounced ecological consequences. The study's limitations include the acute exposure duration and the absence of neurochemical validation, suggesting that future investigations should integrate behavioral assessments with molecular and histopathological analyses to fully elucidate the underlying mechanisms.

Conclusion

This study conclusively demonstrates that sublethal lead and cadmium exposures produce distinct, metal-specific behavioral syndromes in zebrafish, with lead primarily affecting spatial navigation and cadmium exerting more profound neuromuscular effects. The integration of quantitative kinematic analysis with qualitative trajectory assessment proved invaluable for capturing the full spectrum of behavioral alterations, revealing patterns that would remain undetected using either approach alone. These findings underscore the critical importance of behavioral biomarkers in ecotoxicological monitoring, suggesting that different heavy metal contaminants may require specific behavioral endpoints for accurate environmental risk assessment. The observed behavioral impairments, particularly the severe effects of cadmium on fundamental locomotor parameters, highlight the potential ecological consequences of sublethal metal contamination in natural aquatic systems. Future research should extend these findings to chronic exposure scenarios and incorporate molecular analyses to elucidate the mechanistic pathways underlying these behavioral disruptions. Ultimately, this study contributes to the development of sensitive, non-invasive behavioral monitoring tools for assessing water quality and establishes zebrafish as a powerful model for investigating metal-induced neurobehavioral toxicity.



کاربرد نشانگرهای رفتاری در پایش سمیت زیرکشنده فلزات سنگین سرب و کادمیوم در ماهی زبرا (*Danio rerio*)

محمد محیسنی^۱ و دانیال حیدرزاده^۲

۱. گروه علوم و مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران، نویسنده مسئول. رایانامه: mohiseni.m@lu.ac.ir

۲. گروه مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه خاتم الانبیاء بهبهان، ایران. رایانامه: abcdef@um.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی تاریخچه مقاله: تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۲/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۳/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۱۵ تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۴/۰۱ کلیدواژه‌ها: ماهی زبرا، فلزات سنگین، سم‌شناسی رفتاری، رفتار حرکتی، اثرات زیرکشنده، سرب، کادمیوم	آلودگی فلزات سنگین تهدیدی جدی برای اکوسیستم‌های آبی محسوب می‌شود که منجر به اختلال در رفتار ماهیان می‌گردد. این پژوهش به بررسی تأثیر مواجهه ۹۶ ساعته با غلظت‌های زیرکشنده سرب (Pb) و کادمیوم (Cd) بر رفتار شنای ماهی زبرا (<i>Danio rerio</i>) با استفاده از ارزیابی‌های کمی سینماتیکی و کیفی الگوی حرکتی پرداخته است. پارامترهای رفتاری شامل مسافت حرکت، سرعت، سرعت زاویه‌ای، فرکانس ضربه‌های دم و الگوی شنای ماهیان با استفاده از نرم‌افزار ZebraZoom مورد سنجش قرار گرفتند. یافته‌ها نشان داد که هر دو فلز سنگین موجب تغییرات معنادار با الگوهای متمایزی در رفتار حرکتی ماهیان شدند. مواجهه با سرب منجر به کاهش مسافت حرکت و سرعت (نسبت به گروه کنترل) همراه با افزایش سرعت زاویه‌ای گردید که نشان‌دهنده اختلال در جهت یابی فضایی بود. در مقابل، مواجهه با کادمیوم کاهش شدیدتری در معیارهای حرکتی و فرکانس ضربه‌های دم ایجاد نمود که حاکی از اختلال در عملکرد عصبی-عضلانی می‌باشد. تحلیل مسیرهای حرکتی، الگوهای شنای حلقوی در ماهیان مواجهه یافته با سرب و حرکات منقطع با توقف‌های مکرر در گروه کادمیوم را آشکار ساخت. این نتایج نشان می‌دهد که مواجهه با غلظت زیرکشنده سرب و کادمیوم موجب بروز تغییرات رفتاری خاص هر فلز در ماهی زبرا می‌شود که احتمالاً از طریق مکانیسم‌های مسمومیت عصبی متفاوتی عمل می‌کنند. این مطالعه بر ارزش ترکیب تحلیل‌های کمی و کیفی رفتاری در ارزیابی‌های اکوتوکسیکولوژیک تأکید داشته و پیشنهاد می‌کند که از تغییرات الگوهای رفتاری نیز در تشخیص اختلالات ناشی از مسمومیت با مواد سمی نیز استفاده گردد.

استناد: محیسنی، محمد و حیدرزاده، دانیال (۱۴۰۵). کاربرد نشانگرهای رفتاری در پایش سمیت زیرکشنده فلزات سنگین سرب و کادمیوم در ماهی زبرا (*Danio rerio*).

پژوهش‌های کاربردی مهندسی منابع طبیعی، ۱ (۱)، ۸-۱. <https://doi.org/10.22034/arne.2026.1.1.1>



© نویسندگان.

ناشر: انتشارات دانشگاه لرستان.

مقدمه

آلودگی فلزات سنگین در اکوسیستم های آبی به دلیل پایداری، تجمع زیستی و سمیت بالا، تهدید قابل توجهی برای موجودات آبی از جمله ماهیان محسوب می شود (Jaishankar et., 2014). در میان این فلزات، سرب (Pb) و کادمیوم (Cd) به دلیل انتشار گسترده ناشی از فعالیت های صنعتی، کشاورزی و شهری، از نگرانی های عمده به شمار می روند (Tchounwou et al., 2012). این فلزات حتی در غلظت های زیرکشنده، می توانند عملکردهای فیزیولوژیک و رفتاری ماهیان را مختل کنند و به عنوان شاخص های ارزشمند استرس محیطی مورد استفاده قرار گیرند (Atli و Canli, 2010; Mohiseni و همکاران, ۲۰۱۶). ماهی زبرا (Danio rerio) به دلیل ویژگی هایی مانند قابلیت دستکاری ژنتیکی، حساسیت به آلاینده ها و انعطاف پذیری رفتاری، به عنوان یک مدل استاندارد در مطالعات سم شناسی محیطی شناخته می شود (Lawrence, 2007). پارامترهای رفتاری مانند تحرک، فرکانس چرخش و الگوی ضربه های دمی به عنوان نشانگرهای حساس برای سمیت با آلاینده ها مورد توجه قرار گرفته اند که می توانند دیدگاه های مفیدی را در مورد اثرات مسمومیت عصبی و اختلالات عضلانی ارائه دهند (Faria و همکاران, ۲۰۲۲). توسعه نرم افزارهایی همانند ZebraZoom امکان اندازه گیری دقیق این پارامترهای رفتاری را فراهم کرده و تحلیل سریع حرکات ماهی در پاسخ به مواجهه با مواد سمی را ممکن ساخته اند (Mirat و همکاران, ۲۰۱۳). اگرچه سمیت حاد سرب و کادمیوم در ماهی زبرا به طور گسترده ای مطالعه شده است (Bouraoui و همکاران, ۲۰۰۸)، مطالعاتی که به بررسی غلظت های زیرکشنده و اثرات ظریف رفتاری آنها بپردازند، همچنان محدود هستند. مواجهه زیرکشنده ممکن است منجر به مرگ و میر فوری نشود، اما می تواند رفتارهای حیاتی مانند عملکرد شنا، رفتارهای اکتشافی و پاسخ های فرار را مختل کند. اختلال در چنین رفتارهایی می تواند در کاهش شانس بقا و تعاملات درون و خارج گونه ای موثر باشد (Jutfelt و Green, ۲۰۱۴). به عنوان مثال، سرب با اختلال در عملکرد انتقال دهنده های عصبی می تواند فعالیت حرکتی را تغییر دهد (Sall و همکاران, ۲۰۲۰)، در حالی که کادمیوم با تأثیر بر تنظیمات کلسیمی، انقباض عضلانی و دینامیک ضربه های دمی را تحت تأثیر قرار می دهد (McGeer و همکاران, ۲۰۰۲). مطالعه حاضر به بررسی پاسخ های رفتاری ماهی زبرا در مواجهه ۹۶ ساعته با غلظت های زیرکشنده سرب و کادمیوم پرداخته و از نرم افزار ZebraZoom برای تحلیل پارامترهایی مانند مسافت حرکت، سرعت، سرعت زاویه ای و فرکانس ضربه های دمی (TBF) استفاده کرده است. همچنین تغییرات متفاوت رفتاری در نتیجه مواجهه با فلزات سنگین مختلف نیز از دیگر اهداف این مطالعه می باشد. یافته های این پژوهش می تواند به گسترش اطلاعات موجود در مورد سمیت زیرکشنده فلزات سنگین کمک کرده و کاربرد آزمون های رفتاری در ارزیابی های سم شناسی محیطی را برجسته سازد.

مواد و روش ها

تعداد ۹۰ قطعه ماهی زبرا به کارگاه پرورش آبزیان انتقال داده شده و به ۹ عدد آکواریوم مجزا (هر آکواریوم ۱۰ قطعه ماهی) با ظرفیت ۳۰ لیتر انتقال داده شدند. ماهی ها جهت تطبیق پذیری با محیط جدید به مدت سه هفته نگهداری شده و طی این مدت به میزان ۳ درصد وزن بدن توسط خوراک مناسب تغذیه شدند. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با سه تیمار آزمایشی (همراه با سه تکرار) شامل ماهی های گروه کنترل، گروه دوم در معرض غلظت ۰/۴ میلی گرم در لیتر کادمیوم محلول در آب و گروه سوم نیز در معرض غلظت ۱ میلی گرم در لیتر سرب محلول در آب به مدت ۹۶ ساعت قرار گرفتند. پس از پایان آزمایش، ماهی ها در تیمارهای مختلف جهت بررسی رفتاری به آکواریومهای آماده سازی شده برای فیلمبرداری منتقل شدند. پیش از شروع فیلمبرداری به ماهی ها اجازه داده دست کم ۱۵ دقیقه در محیط جدید قرار داشته باشند. شایان ذکر است که آکواریومهای مورد استفاده دقیقاً از نظر شکل و ابعاد مشابه آکواریومهایی بودند که در طول آزمایش در تیمارهای آزمایشی مورد استفاده قرار گرفته بودند. رفتارهای حرکتی از هر تکرار حداقل در ۳ ماهی (هر تیمار ۹ بررسی) و هر ماهی به مدت ۵ دقیقه فیلمبرداری در یک محیط کاملاً آرام انجام شد. پس از اتمام کار، فیلمهای ضبط شده به نرم افزار ZebraZoom انتقال داده شده و پس از کالیبره کردن نرم افزار، آنالیز ویدئوها انجام شد. در هر مرحله پس از تایید صحت آنالیز، داده های خام به دست آمده در بخش نهایی نرم افزار ارزیابی و تحلیل شده و خروجی در فرمت اکسل ایجاد شد. پارامترهای متعددی

نظیر مسافت^۱ و سرعت حرکت^۲، سرعت زاویه ای^۳، میانگین فرکانس ضربه های دم^۴، میانگین فرکانس لحظه‌ای ضربه دم^۵، میانگین فرکانس ضربه دم^۶ (۶ خمش اول)، میانگین زاویه مطلق خمش دم^۷، قدرت مانورپذیری ماهی^۸، زمانبندی شروع پاسخ حرکتی^۹ و تقارن زنش دم^{۱۰} پارامترهایی بودند که از تحلیل نرم افزار مورد استخراج قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل داده ها به روش تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد و با استفاده از نرم افزار SPSS (IBM) (نسخه ۲۷) انجام پذیرفت. جهت مقایسه میانگین ها از آزمون چند دامنه ای دانکن استفاده شده و نتایج بر اساس (انحراف معیار $\pm$ میانگین) نشان داده شدند.

نتایج

بر اساس تحلیل نتایج مستخرج از نرم افزار ZebraZoom، مواجهه ۹۶ ساعته ماهی زبرا با غلظت‌های زیرکشنده سرب و کادمیوم منجر به تغییرات معنی‌داری در چندین پارامتر رفتاری در مقایسه با گروه شاهد گردید (جدول ۱). بارزترین اثرات در فعالیت حرکتی مشاهده شد، به‌طوری که هر دو گروه مواجهه یافته با سرب و کادمیوم کاهش قابل توجهی در مسافت حرکت و سرعت حرکت در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند که از نظر آماری معنی‌دار بودند. این کاهش‌ها حاکی از اختلال کلی در عملکرد شنا و پاسخهای حرکتی پس از مواجهه با فلزات سنگین می‌باشد. در حالی که معیارهای حرکت خطی کاهش یافت، سرعت زاویه‌ای در گروه‌های در معرض قرار گرفته در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد، که می‌تواند نشان‌دهنده تغییر در استراتژی شنا یا ظهور الگوهای حرکتی نامنظم باشد. این امر با اثرات ویژه فلزات بر پویایی ضربان دم همراه بود. به بیان دیگر، میانگین فرکانس ضربان دم^۴ (TBF) در ماهیان در معرض کادمیوم به‌طور معنی داری کاهش یافت، در حالی که قرار گرفتن در معرض سرب کاهش کمتری را نشان داد. تجزیه و تحلیل شش خمیدگی ابتدایی دم، روندی غیرمعنادار به سمت فرکانس‌های بالاتر در گروه‌های در معرض قرار گرفته را نشان داد که احتمالاً نشان‌دهنده مکانیسم‌های جبرانی موقتی در مراحل اولیه قرار گرفتن در معرض آلاینده های آزمایشی است. از نظر سایر پارامترهای رفتاری اندازه گیری شده، علیرغم تغییر نسبت به گروه کنترل، تفاوت معنی دار از نظر آماری دیده نشد ($P>0.05$).

جدول ۱. شاخص‌های رفتاری ماهی زبرا (Danio rerio) پس از ۹۶ ساعت مواجهه با غلظت‌های تحت‌کشنده فلزات سنگین سرب و کادمیوم.

پارامتر	شاهد	سرب	کادمیوم	p
مسافت حرکت (میلی‌متر)	190.193 ± 9591.95	586.53 ± 5799.36	87.43 ± 5405.62	*0.045
سرعت حرکت (میلی‌متر/ثانیه)	3.93 ± 21.98	0.81 ± 13.77	1.66 ± 12.01	*0.018
سرعت زاویه‌ای (درجه/ثانیه)	18.33 ± 83.34	8.82 ± 139.74	23.39 ± 168.41	*0.018
میانگین فرکانس ضربه های دم (هرتز)	0.05 ± 7.43	0.05 ± 7.30	0.17 ± 6.93	*0.021
میانگین فرکانس لحظه‌ای ضربان دم (هرتز)	0.06 ± 50.06	0.50 ± 60.04	0.61 ± 60.50	0.196
میانگین فرکانس ضربه دم (۶ خمش اول) (هرتز)	0.46 ± 50.00	0.54 ± 60.65	0.31 ± 60.29	0.083
میانگین زاویه مطلق خمش دم (درجه)	15.81 ± 62.10	5.28 ± 48.95	4.63 ± 45.14	0.407
قدرت مانورپذیری ماهی (درجه)	18.63 ± 128.85	21.30 ± 53.79	28.07 ± 67.86	0.118
زمانبندی شروع پاسخ حرکتی (ثانیه)	0.04 ± 0.12	0.02 ± 0.13	0.03 ± 0.21	0.095
تقارن زنش دم	0.002 ± 0.981	0.002 ± 0.984	0.004 ± 0.978	0.375

¹ Bout distance

² Bout speed

³ Angular velocity

⁴ Tail beat frequency

⁵ Median Of Instantaneous TBF

⁶ Mean TBF (Hz) (based on first 6 bends)

⁷ Mean absolute TBA (deg.)

⁸ Absolute Yaw (deg)

⁹ TBA#1 timing (s)

¹⁰ Tail Angle Symmetry

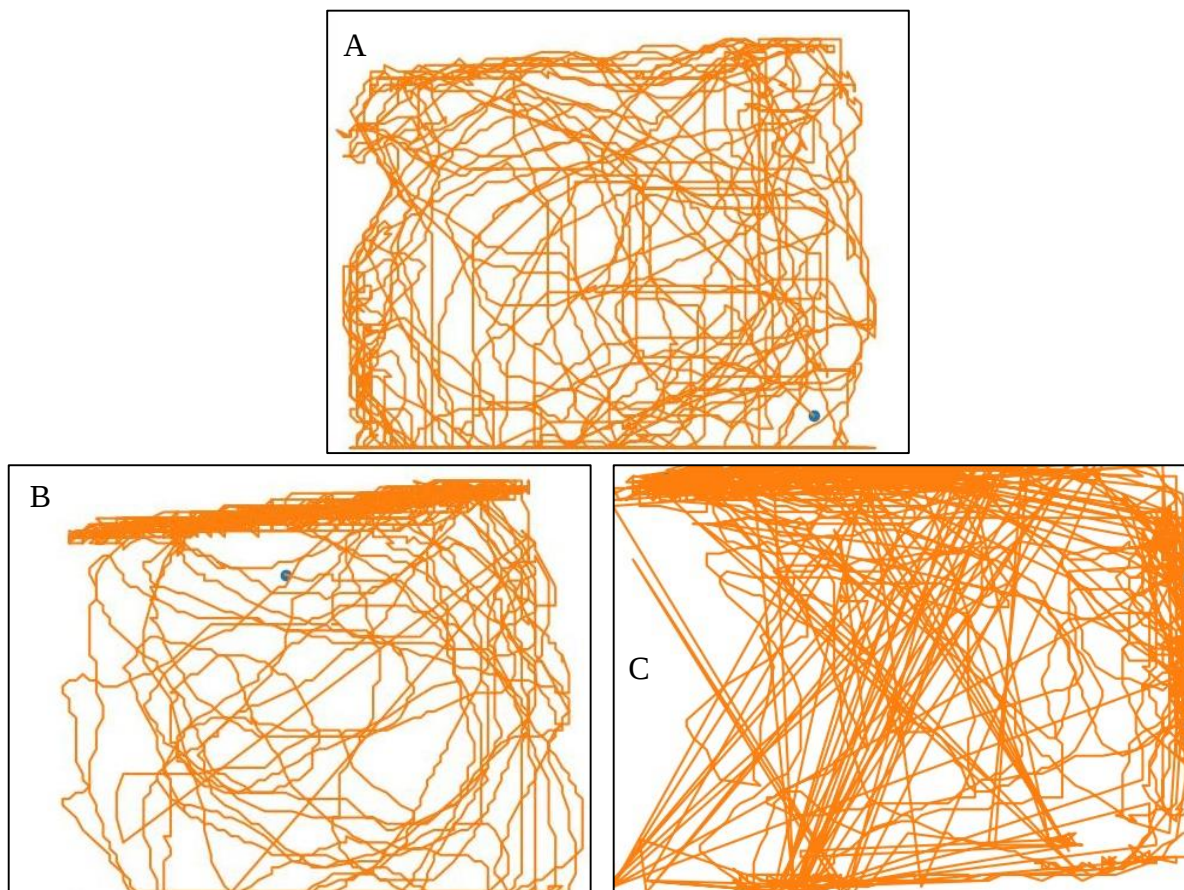
* حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین تیمارهاست.

الگوی شنای ماهی زبرا پس از ۹۶ ساعت مواجهه با غلظت های زیرکشنده فلزات سنگین آزمایشی، در مقایسه با گروه کنترل تغییرات محسوسی نشان داد. تحلیل کیفی مسیرهای شنا الگوهای متمایزی را برای هر گروه تیمار آشکار ساخت که به خوبی با پارامترهای کمی رفتاری اندازه گیری شده همخوانی داشت (شکل ۱). ماهیان گروه کنترل الگوی شنای طبیعی و جستجویی از خود نشان دادند که با مسیرهای روان، پیوسته و توزیع یکنواخت در سرتاسر محفظه شناخته به چشم می خورد. این گروه ترکیبی متعادل از شناهای خطی و چرخش های کنترل شده داشتند که نشان دهنده عملکرد حرکتی سالم و آگاهی فضایی بود. به نظر می رسد که این رفتار طبیعی می تواند با بالاترین مقادیر ثبت شده برای مسافت حرکت (۹۵۹۱،۹۵ میلی متر) و سرعت حرکت (۲۱،۹۸ میلی متر بر ثانیه) و همچنین سرعت زاویه ای متوسط (۸۳،۳۴ درجه بر ثانیه) همخوانی داشته باشد. در مقابل، ماهیان مواجهه یافته با سرب الگوهای شنایی بی نظم تری نشان دادند. مسیرهای حرکتی این گروه افزایش قابل توجهی در حرکات چرخشی تنگ و تغییرات ناگهانی جهت داشت، در حالی که حرکات خطی در محیط به میزان محسوسی کاهش یافته بود. این مشاهدات با افزایش معنادار سرعت زاویه ای (۱۳۹،۷۴ درجه بر ثانیه) و کاهش مسافت حرکت (۵۷۹۹،۳۶ میلی متر) در این گروه مطابقت داشت. این الگو نشان می دهد که مواجهه با سرب ممکن است به طور ترجیحی مدارهای عصبی دخیل در جهت یابی فضایی و هماهنگی حرکتی را تحت تأثیر قرار دهد که منجر به رفتار شناگری بیش فعال اما با هدفمندی کمتر می شود. شدیدترین تغییرات رفتاری در ماهیان مواجهه یافته با کادمیوم مشاهده شد که الگوهای حرکتی بسیار ناپیوسته ای را از خود نشان دادند. الگوی شنا در این گروه با توقف های مکرر، جستجویی محدود محیط و حرکات نامنظم متناوب مشخص شد. این یافته های کیفی با داده های کمی که بیشترین کاهش را در سرعت حرکت (۱۲،۰۱ میلی متر بر ثانیه) و میانگین فرکانس ضربات دمی (۶،۹۳ هرتز) در بین تمام گروه ها نشان می داد، مطابقت نشان می دهد. این الگوی رفتاری حاکی از آن است که کادمیوم ممکن است اثرات عصبی-عضلانی قوی تری داشته و به جای تأثیر صرف بر سطوح بالای جهت یابی، توانایی حرکتی پایه را مختل کند.

بحث

مطالعه حاضر نشان می دهد که مواجهه با غلظت زیرکشنده سرب و کادمیوم موجب تغییرات رفتاری متمایزی در ماهی زبرا می شود. یافته های این مطالعه با تحقیقات پیشین در مورد اثرات مسمومیت عصبی فلزات سنگین در موجودات آبی همخوانی داشته و در عین حال دیدگاه های جدیدی در مورد سندرم های رفتاری خاص مواجهه با هر فلز ارائه می کند. کاهش مسافت و سرعت حرکت در ماهیان مواجهه یافته با فلزات در گروه های آزمایشی، با گزارش های متعددی از اختلال در فعالیت حرکتی ناشی از فلزات سنگین همسو است (Bailey و همکاران، ۲۰۱۳؛ Balali-Mood و همکاران، ۲۰۲۱). نکته مهم در این خصوص اثرات مشهودتر کادمیوم بود که ممکن است ناشی از اختلال شناخته شده این فلز در هموستازی کلسیم در سلول های عضلانی باشد (McGeer و همکاران، ۲۰۰۲). کاهش معنادار فرکانس متوسط ضربان دمی به ویژه در ماهیان مواجهه یافته با کادمیوم می تواند توجیه کننده این مسئله باشد، زیرا لقاء به موقع آزادسازی کلسیم برای پویایی انقباض عضلانی امری ضروری است (Tao و همکاران، ۲۰۱۹). افزایش متناقص سرعت زاویه ای در گروه های مواجهه یافته با فلزات یک پارادوکس جالب توجه در این مطالعه بود. در حالی که معیارهای کلی حرکت کاهش یافته بود، افزایش رفتار چرخشی انعکاس دهنده اختلال خاص در مدارهای عصبی است. این یافته با کار اخیر Tu و همکاران (۲۰۱۸) که نشان داد سرب به طور ترجیحی نورون های دوپامینرژیک مغز ماهی زبرا را تحت تأثیر قرار می دهد، همخوانی دارد. این نورون ها در تعدیل رفتار چرخشی نقش دارند (Jay و همکاران، ۲۰۱۵). سرعت زاویه ای بیشتر در ماهیان مواجهه یافته با کادمیوم ممکن است نشان دهنده اثرات اضافی بر سیستم دهلیزی باشد، زیرا مطالعات نشان داده اند که کادمیوم تمایل زیادی به تجمع در اتولیت ها از خود نشان می دهد (Green و همکاران، ۲۰۲۳). تحلیل الگوی شنا، شواهد تصویری قانع کننده ای از اختلالات رفتاری خاص هر فلز سمی ارائه می دهد. الگوهای شنای حلقوی در ماهیان مواجهه یافته با سرب مشابه رفتارهای مرتبط با حالت های شبه اضطرابی گزارش شده در ماهی زبرا است، در حالی که حرکات غیر پیوسته در ماهیان مواجهه یافته

با کادمیوم ممکن است نشان‌دهنده اختلال در اتصالات عصبی-عضلانی باشد (Hen Chow و همکاران، ۲۰۰۳). این الگوها با داده‌های کمی این مطالعه همخوانی داشته و نشان می‌دهد که برای ارزیابی کامل اثرات فلزات سنگین ممکن است به روش‌های مختلفی نیاز باشد. نکته قابل توجه این است که چندین پارامتر (مانند تقارن زنش دمی و قدرت مانورپذیری ماهی) علیرغم مواجهه با فلزات تغییر نکردند. این آسیب‌پذیری انتخابی برخی رفتارها، این مفهوم را تقویت می‌کند که فلزات سنگین اهداف مولکولی خاصی دارند و صرفاً باعث سمیت عمومی نمی‌شوند (Tchounwou و همکاران، ۲۰۱۲). حفظ برخی پارامترهای حرکتی علیرغم کاهش کلی فعالیت حرکتی، احتمالاً نشان‌دهنده مکانیسم‌های جبرانی است که نیاز به بررسی بیشتری دارد.



شکل ۱. الگوی شنای ماهی زبرا در مواجهه ۹۶ ساعته با غلظت‌های زیرکشنده کادمیوم و سرب. A: کنترل، B: سرب و C: کادمیوم.

از دیدگاه بوم‌شناختی، تغییرات رفتاری مشاهده‌شده می‌تواند پیامدهای مهمی برای بقا داشته باشد. کاهش حرکت خطی و افزایش چرخش‌های نامنظم احتمالاً کارایی تغذیه و اجتناب از شکارچیان را در محیط‌های طبیعی کاهش می‌دهد (Green و Jutfelt، ۲۰۱۴). اثرات شدیدتر کادمیوم ممکن است توضیح‌دهنده تأثیر اکولوژیک بیشتر آن در مطالعات میدانی باشد (Elumalai، ۲۰۲۳). بایستی توجه داشت که نتایج این بررسی، قطعاً نمی‌تواند به طور کامل بیانگر اثرات رفتاری فلزات سنگین مورد آزمایش باشد، چراکه اولاً این مطالعه اثرات مواجهه حاد را بررسی کرده است و مواجهه مزمن ممکن است منجر به سازگاری‌های رفتاری متفاوتی شود (Sokolova و همکاران، ۲۰۱۲). ثانیاً مکانیسم‌های زمینه‌ای این تغییرات رفتاری نیاز به بررسی‌های بیشتر نوروشیمیایی و بافت‌شناسی دارد. مطالعات آینده می‌توانند این آزمون‌های رفتاری را با تحلیل‌های مولکولی ترکیب کرده تا درک بهتری از مسیرهای درگیر به دست آید.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که مواجهه زیرکشنده با سرب و کادمیوم از طریق مکانیسم‌های احتمالاً متفاوت، تغییرات رفتاری متمایزی در ماهی زبرا ایجاد می‌کند. به نظر می‌رسد سرب عمدتاً بر مدارهای عصبی کنترل‌کننده رفتارهای فضایی تأثیر می‌گذارد، در حالی که کادمیوم اثرات قوی‌تری بر سیستم عصبی-عضلانی نشان می‌دهد. این نتایج بر ارزش تحلیل جامع رفتاری در سم شناسی محیطی تأکید داشته و نشان می‌دهد که ممکن است برای پایش محیطی فلزات سنگین مختلف، نیاز به نشانگرهای زیستی رفتاری خاص هر فلز باشد. یافته‌های مطالعه حاضر و تحقیقات مشابه رفتارشناسی آبزیان، می‌تواند مسیرهای تحقیقاتی جدیدی را برای درک بهتر مکانیسم‌های سمیت عصبی فلزات سنگین و توسعه روش‌های پایش محیطی فراهم نماید.

References

- Atli, G., & Canli, M. (2010). Response of antioxidant system of freshwater fish *Oreochromis niloticus* to acute and chronic metal exposures. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(8), 1884-1889.
- Bailey, J., Oliveri, A., & Levin, E. D. (2013). Zebrafish model systems for developmental neurobehavioral toxicology. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, 99(1), 14-23.
- Balali-Mood, M., Naseri, K., Tahergorabi, Z., Khazdair, M. R., & Sadeghi, M. (2021). Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. *Frontiers in pharmacology*, 12, 643-672.
- Bouraoui, Z., Banni, M., Ghedira, J., Clerandau, C., Guerbej, H., Narbonne, J., & Boussetta, H. (2008). Acute effects of cadmium on liver phase I and phase II enzymes and metallothionein accumulation on sea bream *Sparus aurata*. *Fish physiology and biochemistry*, 34(3), 201-207.
- Elumalai, S., Prabhu, K., Selvan, G. P., & Ramasamy, P. (2023). Review on heavy metal contaminants in freshwater fish in South India: current situation and future perspective. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(57), 119594-119611.
- Faria, M., Barata, C., & Raldúa, D. (2022). Behavioral impairment in aquatic organisms exposed to neurotoxic pollutants. *MDPI*, Vol. 10, 243pp.
- Green, A. J., & Jutfelt, F. (2014). Elevated carbon dioxide alters the plasma composition and behaviour of a shark. *Biology Letters*, 10(9), 20140538.
- Green, A. J., Wall, A. R., Weeks, R. D., Mattingly, C. J., Marsden, K. C., & Planchart, A. (2023). Developmental cadmium exposure disrupts zebrafish vestibular calcium channels interfering with otolith formation and inner ear function. *Neurotoxicology*, 96, 129-139.
- Hen Chow, E. S., & Cheng, S. H. (2003). Cadmium affects muscle type development and axon growth in zebrafish embryonic somitogenesis. *Toxicological Sciences*, 73(1), 149-159.
- Jaishankar, M., et al. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7(2), 60-72.
- Jay, M., De Faveri, F., & McDermid, J. R. (2015). Firing dynamics and modulatory actions of supraspinal dopaminergic neurons during zebrafish locomotor behavior. *Current Biology*, 25(4), 435-444.
- Lawrence, C. (2007). The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquaculture*, 269(1-4), 1-20.
- McGeer, J. C., Szebedinszky, C., McDonald, D. G., & Wood, C. M. (2002). The role of dissolved organic carbon in moderating the bioavailability and toxicity of Cu to rainbow trout during chronic waterborne exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 133(1-2), 147-160.
- Mirat, O., et al. (2013). ZebraZoom: An automated program for high-throughput behavioral analysis. *Journal of Neuroscience Methods*, 213(1), 111-119.
- Mohiseni M, Asayesh S, Shafiee Bazarnoie S, Mohseni F, Moradi N, Matouri M. (2016) Biochemical Alteration Induced by Cadmium and Lead in Common Carp via an Experimental Food Chain. *Iranian Journal of Toxicology*; 10 (4), 25-32
- Sall, M. L., Fall, B., Diédhiou, I., Dièye, E. H., Lo, M., Diaw, A. K. D., Fall, M. (2020). Toxicity and electrochemical detection of lead, cadmium and nitrite ions by organic conducting polymers: a review. *Chemistry Africa*, 3(3), 499-512.
- Sokolova, I. M., Frederich, M., Bagwe, R., Lannig, G., & Sukhotin, A. A. (2012). Energy homeostasis as an integrative tool for assessing limits of environmental stress tolerance in aquatic invertebrates. *Marine environmental research*, 79, 1-15.
- Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. *Molecular, clinical and environmental toxicology: volume 3: environmental toxicology*, 133-164.