

PERLAKUAN IKAN ZEBRA, *Danio rerio* DI BAWAH ARUHAN TEKANAN BUNYI, PEMANGSA DAN PERSEKITARAN BARU

SHAZRUL FAZRY^{1*}, AMIRULHAKIM AZIZAN¹, ZAH RATUL NABILA DAWA¹,
NUR FITRAH ABD GHANI¹, NOOR FARA FATEHAH ROSELAN¹,
MUHAMMAD AKRAM MOHD NOORDIN¹, MALINA KUMARAN¹,
HERRYAWAN RYADI EZIWAR DYARI¹, AZWAN MAT LAZIM²,
LUQMAN ABDUL AZIZ³ dan BABUL AIRIANA OTHMAN¹

¹*Pusat Pengajian Biosains dan Bioteknologi, Fakulti Sains dan Teknologi,
Universiti Kebangsaan Malaysia 43600 Bangi, Selangor, Malaysia*

²*Pusat Pengajian Sains Kimia dan Teknologi Makanan, Fakulti Sains dan Teknologi,
Universiti Kebangsaan Malaysia 43600 Bangi, Selangor, Malaysia*

³*Bahagian Perkhidmatan Muzik, Jabatan Penyiaran Malaysia, Tingkat 1,
Bangunan Rentak 50, Angkasapuri 50614 Kuala Lumpur, Malaysia*

*E-mail: shazrul@ukm.edu.my

Accepted 20 January 2017, Published online 31 March 2017

ABSTRACT

In this study, we observed the effect of sound, predatory and new environment on zebrafish behavior to determine which factor gives the most effect on the fish. Elevation of stress was observed on fishes that were moved consecutively into a container. Interestingly, this does not impair the fish feeding activity, even with the presence of a predator. Transferring of fish into different size of container also did not change the level of stress and anxiety in the fish. Zebrafish were also shown to have high cognitive ability to adapt to new sound condition in the environment, preferring constant and slow tempo compared to fast and erratic tempo. In conclusion, external environment such as sound and transferring of fish were able to effect fish behavior.

Key words: *Danio rerio* behaviour, sound stress, predatory stress, environment stress

PENGENALAN

Ikan *Zebra* (*Danio rerio*) banyak digunakan dalam penyelidikan neurobiologi kerana kesan psikologi ikan dapat diukur dan dikaitkan dengan perlakuannya (Subbiah & Kar, 2013). Ikan ini juga mempunyai banyak kelebihan seperti tumbesaran yang cepat, jangka hayat hidup yang pendek, kadar pembiakan yang cepat dan mempunyai jujukan dan fungsi genetik yang hampir sama dengan manusia (Gerhard & Cheng, 2002). Salah satu kompleks tingkah laku yang boleh diukur dalam model ikan *Zebra* adalah corak pergerakan, termasuk cara renangan ikan, kelajuan ikan dan kecenderungan ikan ke sesuatu kawasan dalam tangki apabila terdedah dengan persekitaran yang baru (Anichtchik *et al.*, 2004; Iturriaga-Vasquez *et al.*, 2012).

Ikan *Zebra* digunakan sebagai model haiwan untuk kajian tekanan dan keresahan yang dipengaruhi oleh faktor persekitaran yang pelbagai, farmakologi dan genetik. Sebagai contoh, dengan penggunaan dadah anxiolitik atau anxiogenik yang pelbagai dapat mempengaruhi tingkah laku keresahan kepada ikan *Zebra* (Iturriaga-Vasquez *et al.*, 2012). Dalam kajian ini kami memerhatikan perlakuan ikan *Zebra* di bawah tekanan bunyi, pemangsa dan persekitaran baru untuk menentukan tekanan mana yang memberi kesan yang tinggi kepada ikan. Ini adalah penting bagi menentukan parameter dan faktor yang dapat mempengaruhi kelakuan ikan *Zebra* dalam kajian dan penjagaan ikan pada masa akan datang.

* To whom correspondence should be addressed.

BAHAN DAN KAEDAH

Penggunaan ikan *Zebra* sebagai model haiwan dalam mengkaji penyakit psikiatrik dan tekanan (*stress*) sudah lama digunakan kerana persamaan pada sistem pengawalaturan antara ikan *Zebra* dan vertebrat, termasuk roden dan manusia (Alsop & Mathilakath Vijayan, 2009). Ujian tangki novel ialah ujian di mana ikan diuji dengan persekitaran tangki yang baru. Tangki ini dibahagikan kepada dua garisan yang sama besar secara mendatar dan melintang pada bahagian luar tangki. Dengan ini tingkah laku ikan dapat dilihat dan diperhatikan. Antara parameter yang dilihat adalah berapa lama masa ikan untuk naik ke bahagian atas tangki untuk kali pertama (kependaman bahagian atas), jumlah kelajuan ikan, berapa lama ikan berada dibahagian bawah tangki dan berapa kali ikan berenang melepasi garisan melintang. Corak berenang juga dapat diperhatikan dan dapat direkodkan menggunakan perisian komputer (Cachat *et al.*, 2011; Gerlai, 2011).

Sumber Ikan

Ikan yang digunakan adalah ikan *Zebra* (*Danio rerio*) dewasa yang berumur di antara 3 dan 4 bulan. Penjagaan ikan adalah berdasarkan Avdesh *et al.* (2012).

Ujian Tangki Novel

Ujian tangki novel dijalankan seperti yang telah dicadangkan oleh Cachat *et al.* (2011) dengan sedikit ubahsuaian. Ikan yang telah diaklimatisasikan dengan keadaan makmal selama 2 minggu diambil satu persatu dan dimasukkan ke dalam bikar bersaiz 250 ml selama 10 minit untuk menenangkan diri. Ikan dimasukkan ke dalam tangki novel selama 6 minit dan tingkah laku ikan tersebut dirakam. Tangki ikan yang digunakan di dalam kajian adalah berukuran 20×33×15 cm, 13×21.5×11.5 cm, 11×18×10.5 cm dan 9×15.5×8.5 cm.

Ujian Tangki Novel Secara Berulangan

Ujian tangki novel secara berulangan ini adalah untuk menentukan sama ada ikan yang kerap diganggu akan mengalami keresahan yang serius. Setelah kelakuan ikan dirakam selama 6 minit selepas dimasukkan ke dalam tangki novel (berukuran 13×21.5×11.5 cm), ikan dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam bikar bersaiz 250 ml untuk direhatkan selama 30 minit. Pemindahan kali pertama ini juga merupakan kawalan kepada eksperimen ini. Ikan yang telah direhatkan ini dimasukkan semula ke dalam tangki novel yang sama dan kelakuannya dirakam sekali lagi selama 6 minit. Langkah ini diulang sekali lagi untuk merekodkan kelakuan ikan pada kali ketiga. Untuk menguji ikan yang tertekan tidak akan mengambil

makanan, 120 kalori makanan ikan iaitu sebanyak 0.027 g diberikan kepada ikan ketika diuji dengan tangki novel. Bilangan kalori ini adalah berdasarkan percubaan yang dilakukan di dalam makmal dan hasil kajian oleh Oka *et al.* (2010). Baki makanan ikan yang tidak dimakan akan ditimbang untuk mendapatkan peratusan makanan yang dimakan.

Ujian Pendedahan kepada Pemangsa

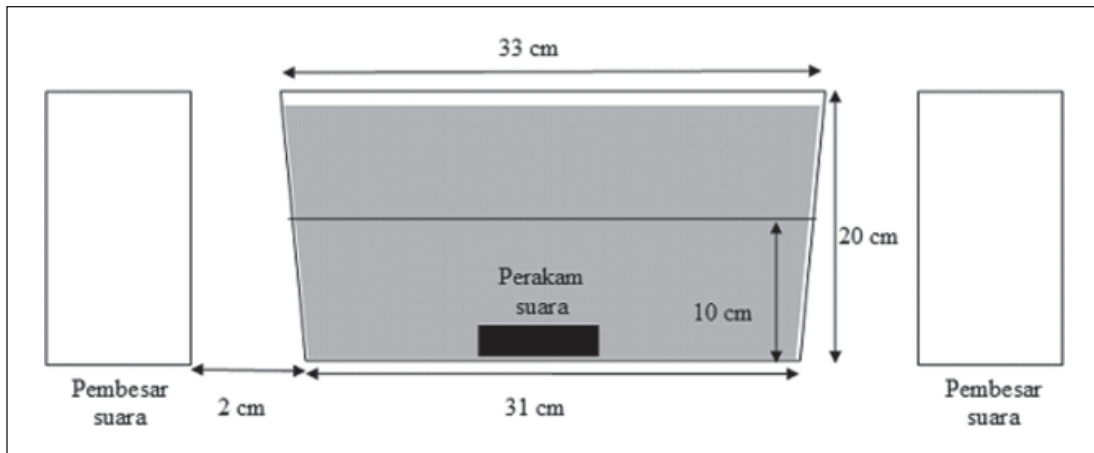
Ujian pendedahan ikan *Zebra* kepada pemangsa dilakukan seperti yang telah dilakukan pada ujian tangki novel (berukuran 13×21.5×11.5 cm) kecuali *Atractosteus spatula* (ikan *Alligator Gar*, yang dibeli dari kedai ikan Akuarium Bandar Baru Bangi) yang telah diberi makan sehingga kenyang dimasukkan ke tangki tersebut. Rakaman video pergerakan ikan *Zebra* direkodkan selama 6 minit dengan menggunakan camera *Canon Cybershot G12* (Gerlai *et al.*, 2009). Untuk menguji jika ikan yang terdedah kepada pemangsa akan mengambil makanan, ikan diberi makan dengan kehadiran pemangsa dan makanan lebih ditimbang selepas selesai ujikaji.

Ujian Tangki Novel yang Berlainan Saiz

Untuk menguji tekanan dan keresahan ikan apabila dipindahkan ke tangki saiz yang berbeza-beza, tiga saiz tangki novel yang berlainan disediakan untuk eksperimen ini. Saiz 1, juga merupakan saiz kawalan berukuran (13×21.5×11.5 cm) manakala tangki kedua bersaiz (saiz 2) berukuran 11×18×10.5 cm. Saiz 3 berukuran 9×15.5×8.5 cm. Perlakuan ikan *Zebra* dirakam selama 6 minit (menggunakan camera *Canon Cybershot G12*) untuk setiap saiz tangki novel yang berlainan.

Ujian Tekanan Bunyi

Untuk menguji kesan bunyi ke atas perlakuan ikan *Zebra*, satu tetapan khas telah dilakukan seperti yang ditunjukkan pada Rajah 1. Perakam audio yang digunakan adalah *Walkman Sony Ericsson* (CKM-NWS770) yang telah dijadikan kalis air dengan menggunakan beg plastik. Pembesar suara yang digunakan merupakan pembesar suara komputer (Dell, USA). Untuk mendedahkan ikan *Zebra* dengan pelbagai jenis bunyi, fail mp3 dari bacaan Al-fatihah dari Sheikh Mishary Rashid Alafasy (Sheikh Mishary), bacaan Al-fatihah dari Muhammad Taha Al Junaid (Muhd. Taha), lagu "*heavy metal*", *Shadow Fear* dari The Vader, lagu "*slow rock*", *Everything I Do, I Do It For You* dari Bryan Adams, gamelan Melayu, Perang Manggong, dan gamelan Jawa, Ketawang Suba Kastawa digunakan dalam ujian ini. Pemilihan lagu adalah berdasarkan kelajuan tempo lagu atau bunyi. Perlakuan ikan direkodkan seperti yang telah dilakukan pada ujian



Rajah 1. Rekabentuk eksperimen yang digunakan untuk menguji kesan bunyi ke atas perlakuan ikan Zebra. Eksperimen dijalankan di dalam sebuah bilik khas yang bebas dari sebarang gangguan bunyi yang lain.

tangki novel. Ujian kawalan dilakukan tanpa bunyi. Perakam audio digunakan untuk merekod bunyi dalam air tangki bagi memastikan bunyi daripada pembesar suara dapat didengari di dalam air.

Rakaman

Perlakuan ikan dirakam dengan menggunakan camera *Canon Cybershot G12*. Pergerakan ikan dianalisis secara terperinci dengan menggunakan perisian Kinovea. Parameter yang dianalisa adalah jumlah masa yang diambil untuk naik ke bahagian atas, bilangan peralihan ke bahagian atas tangki dan jumlah masa ikan tersebut berada di bahagian atas tangki.

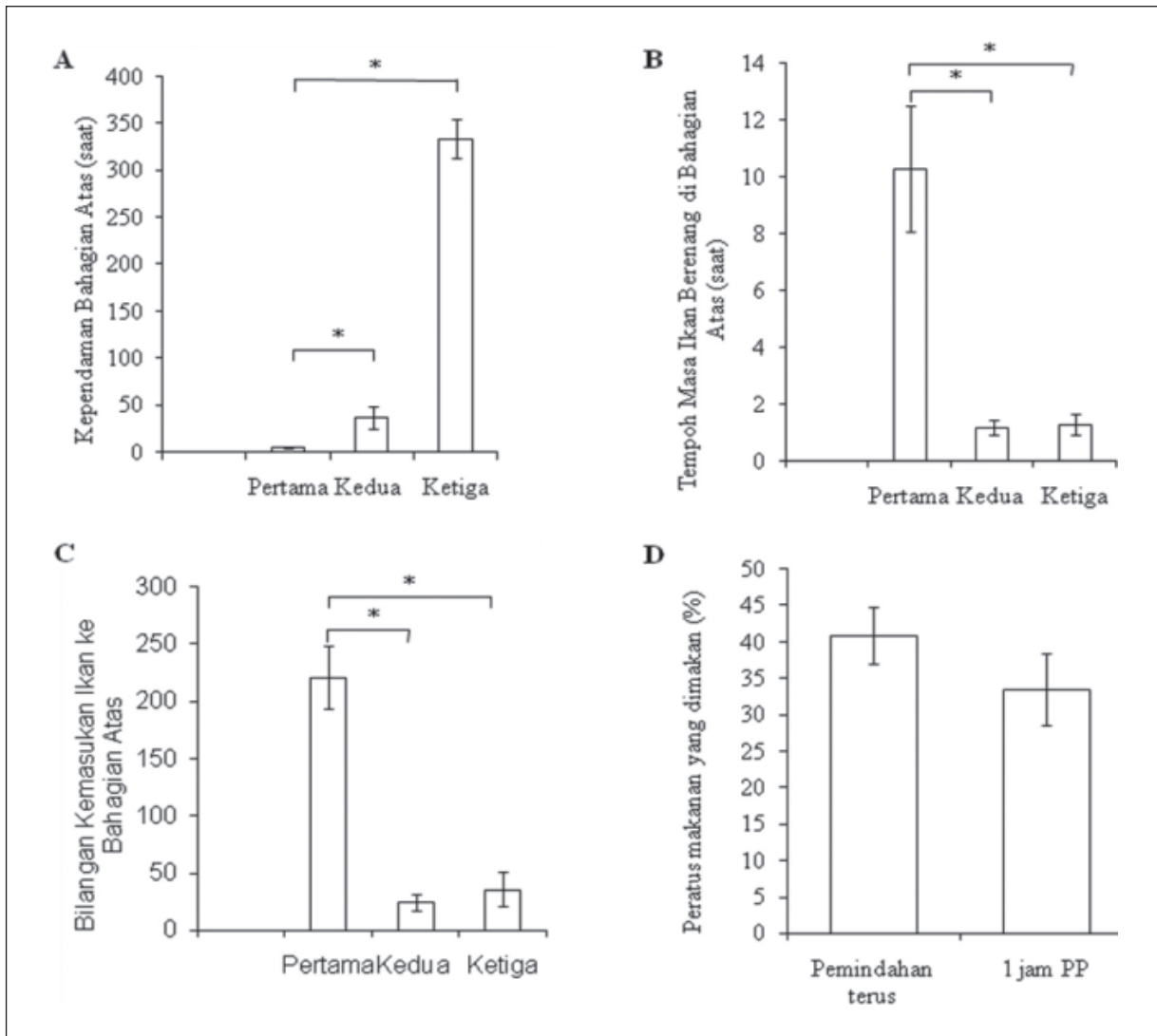
HASIL DAN PEMBINCANGAN

Keresahan dan tekanan ikan dapat ditentukan melalui kelakuan ikan di dalam sesuatu persekitaran. Ikan yang resah biasanya lebih cenderung untuk berada di dasar permukaan air dan bergerak secara eratik atau berada di dalam keadaan pegun. Ikan yang kurang resah atau tertekan akan lebih cepat bergerak ke permukaan air dan berenang dengan tenang serta lebih kerap meluangkan masa di permukaan air (Cachat *et al.*, 2011). Semasa dipindahkan ke tangki novel secara berulang kali (Rajah 2), dapat diperhatikan tekanan ikan semakin meningkat setiap kali dipindahkan. Pada pertama kali (kawalan) dipindahkan, ikan yang diuji hanya mengambil masa kurang 10 saat (4.57 ± 1.34 saat) untuk naik ke bahagian atas tangki, berbanding pemindahan kedua (36.57 ± 12.46 saat) dan ketiga (333.29 ± 21.13 saat). Ikan juga meluangkan lebih banyak masa dibahagian atas pada pemindahan pertama (10.29 ± 2.21 saat) berbanding pemindahan kedua (1.14 ± 0.26 saat) dan ketiga (1.29 ± 0.36

saat). Perkara ini seiring dengan berapa kali ikan naik ke atas bahagian atas bagi setiap pemindahan iaitu sebanyak 220.57 ± 27.24 kali semasa pemindahan pertama, 24.43 ± 35.57 kali pada pemindahan kedua dan 35.57 ± 15.20 kali pada pemindahan ketiga. Hasil ini menyokong dapatan klasik tekanan atau *stress* ikan *Zebra*. Kajian Egan *et al.* (2009) dan Gould (2011) menunjukkan bahawa ikan *Zebra* yang tertekan atau resah akan menghabiskan masa berada di bawah dan tepi permukaan tangki sebanyak 70%–85% semasa diuji dengan tangki novel. Antara tanda-tanda lain ikan *Zebra* mengalami tekanan dan keresahan ialah pergerakan yang sangat tidak menentu atau tidak bergerak langsung (Riehl *et al.*, 2011). Ciri-ciri perlakuan ini juga dapat dilihat pada model haiwan yang lain khususnya pada haiwan roden (Champagne *et al.*, 2010).

Walau bagaimanapun, keresahan dan tekanan ikan yang diperhatikan tidak mempengaruhi jumlah pengambilan makanan semasa pemindahan ikan ke persekitaran yang baru (Rajah 2D). Perbezaan pengambilan makanan ini hanya 7.38% di antara ikan yang diberi makan terus selepas pemindahan ($40.84 \pm 3.84\%$) (kawalan keresahan) dan ikan diberi makan 1 jam pasca pemindahan (PP) ($33.46 \pm 4.99\%$) (kawalan rehat).

Perkara yang sama diperhatikan apabila ikan *Zebra* didedahkan kepada pemangsa, di mana perbezaan makanan yang diambil di antara kumpulan kawalan ($40.94 \pm 4.84\%$) dan kumpulan yang didedahkan kepada pemangsa ($35.51 \pm 5.64\%$) (Rajah 3D) adalah hanya sebanyak 5.13%. Perlakuan mengambil risiko ikan *Zebra* ini pernah diperhatikan sebelum ini oleh Dugatkin *et al.* (2005) memandangkan pengambilan risiko ini boleh menguntungkan. Perlakuan ini mungkin adalah suatu adaptasi bagi ikan *Zebra* dalam menangani



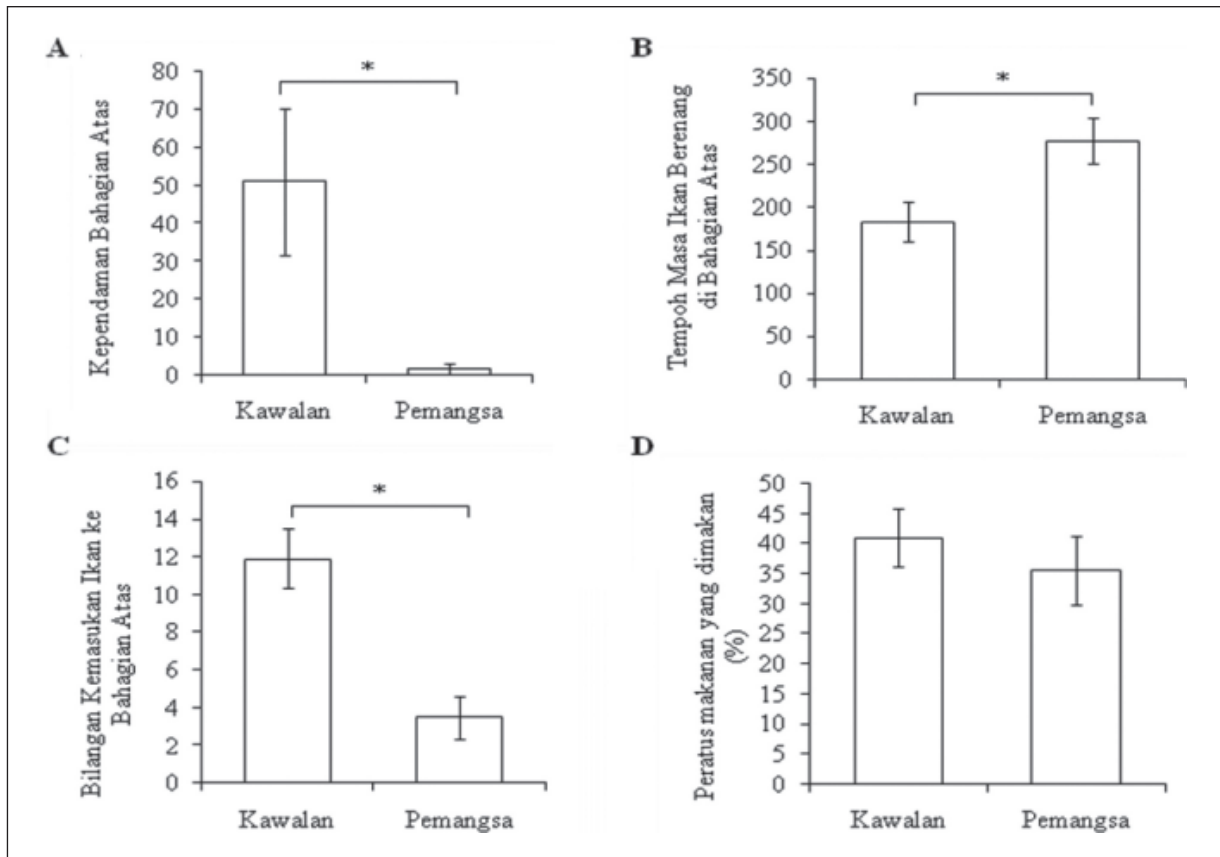
Rajah 2. Kesan pemindahan ikan berulang kali ke tangki yang sama dengan pemindahan pertama adalah kawalan. Parameter yang direkodkan adalah Kependaman Bahagian Atas (A), Tempoh Masa Berenang (B) dan Bilangan Kemasukan Ikan ke Bahagian Atas (C). Kumpulan pemindahan terus merupakan ikan yang diberi makan serta merta selepas ikan dipindahkan ke tangki yang baru (kawalan keresahan), manakala kumpulan 1 jam PP (pasca pemindahan) (kawalan rehat) adalah ikan yang diberi makan selepas direhatkan di dalam tangki baru selama 1 jam (D). Sampel saiz, $n=9$ ekor ikan per eksperimen. Eksperimen diulang sebanyak 3 kali. Bar ralat merupakan min ralat piawai (SEM). Nilai-p dikira dengan menggunakan Ujian ANOVA: Faktor Tunggal dengan Ujian-t: Dua Sampel Menganggarkan Varians Sama, *post-hoc*. * $p \leq 0.05$.

saingan lain bagi mendapatkan makanan. Perlakuan lain yang ditunjukkan pada Rajah 3A-C menunjukkan perlakuan ikan di dalam kehadiran pemangsa. Perlakuan keresahan ikan *Zebra* di dalam ujian ini adalah berbeza dengan ujian tangki novel, di mana perlakuan ikan pemangsa *mempengaruhi pergerakan ikan Zebra*. Ikan *Zebra* lebih cenderung menjauhi ikan pemangsa (Gerlai *et al.*, 2009) dan di dalam ujian ini ikan pemangsa *A. Spatula* lebih gemar berada di bahagian dasar tangki. Dapat diperhatikan, ikan *Zebra* akan lebih cepat naik ke bahagian atas tangki dan berada di bahagian ini pada masa yang lebih lama berbanding perlakuan kawalan. Bilangan kemasukan ikan ke bahagian atas berkurang seperti dijangkakan kerana ikan kurang

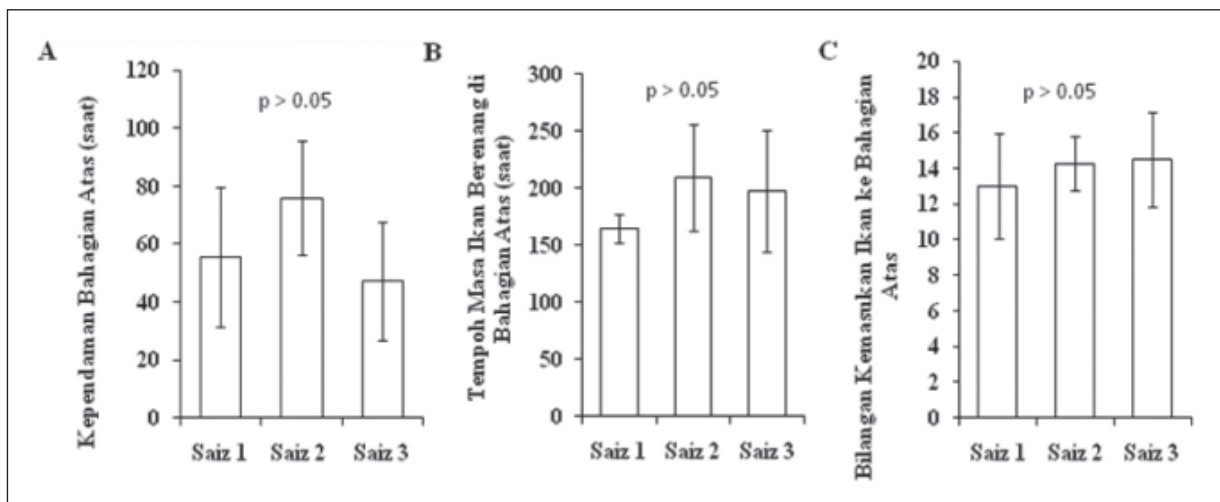
untuk berenang ke dasar tangki di atas kehadiran ikan pemangsa di situ.

Tiada perbezaan yang nyata dapat diperhatikan apabila ikan dipindahkan ke tangki novel yang berbeza-beza (Rajah 4). Ini menunjukkan bahawa perlakuan ikan *Zebra* tidak dipengaruhi oleh keluasan persekitaran yang baru. Analisis Ujian ANOVA: Faktor Tunggal pada data ini menunjukkan tiada perbezaan signifikan di antara perlakuan ikan di dalam semua saiz tangki ($p > 0.05$).

Pencemaran bunyi terutamanya bunyian antropogenik (bunyi hasil buatan manusia) telah mendapat perhatian ramai kerana mampu mengganggu aktiviti semulajadi hidupan akuatik



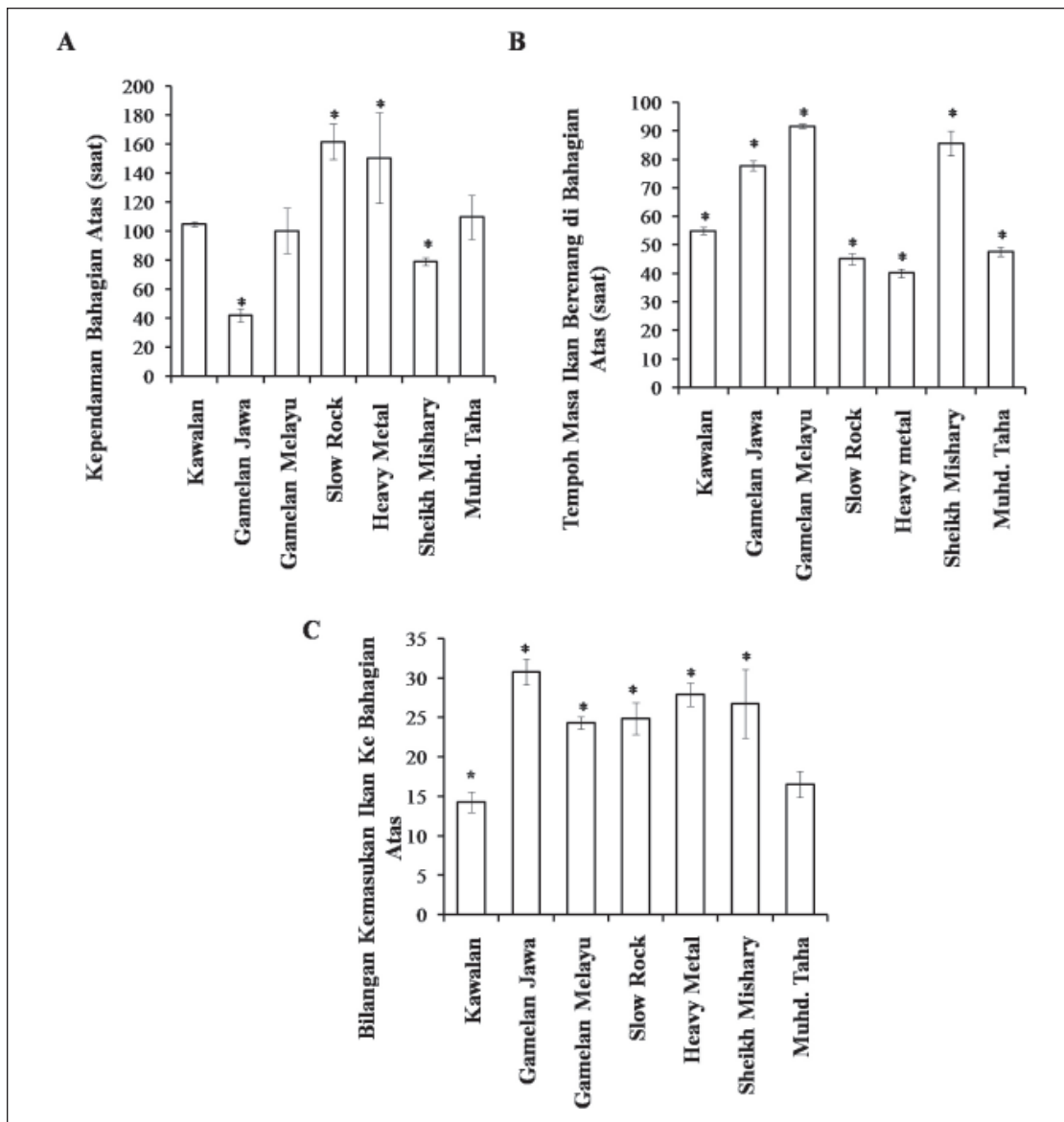
Rajah 3. Keresahan dan tekanan ikan direkodkan tanpa kehadiran (kawalan) dan dengan kehadiran ikan pemangsa *A. spatula*. Parameter yang direkodkan adalah Kependaman Bahagian Atas (A), Tempoh Masa berenang (B) dan Bilangan Kemasukan Ikan ke Bahagian Atas (C) dan Peratus pengambilan makanan ikan (D) tanpa kehadiran (kawalan) dan dengan kehadiran pemangsa *A. spatula*. $n=9$ ekor ikan untuk setiap eksperimen. Eksperimen diulang sebanyak 3 kali. Bar ralat merupakan min ralat piawai (SEM). Nilai-p dikira dengan menggunakan Ujian ANOVA: Faktor Tunggal. $*p \leq 0.05$.



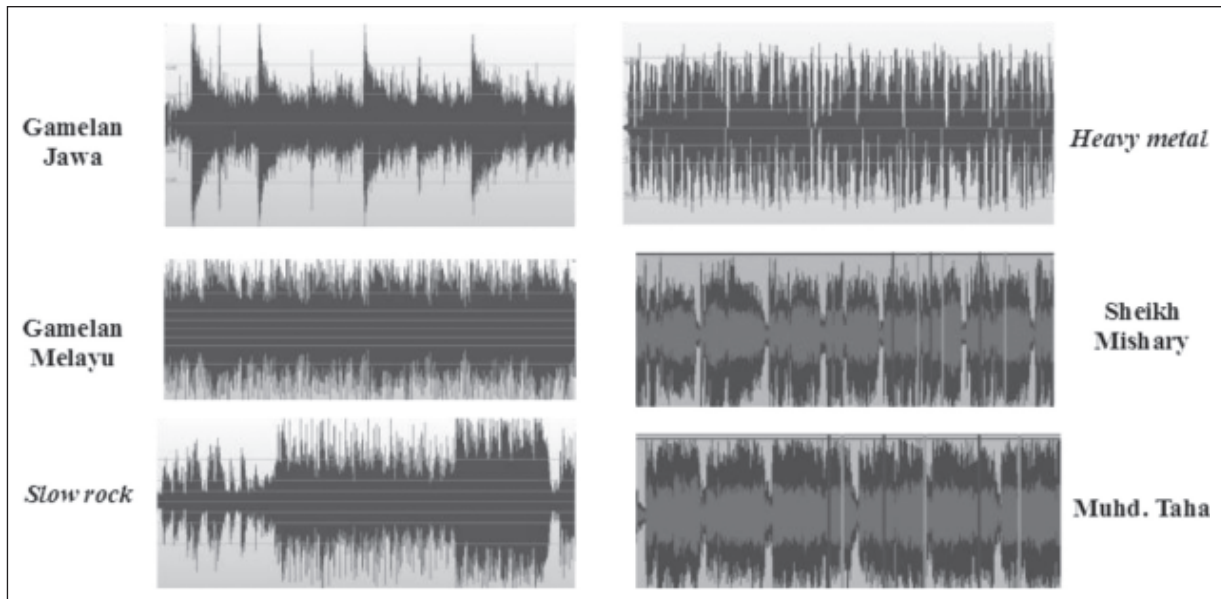
Rajah 4. Kesan pemindahan ikan ke tangki yang berbeza saiz terhadap A) Kependaman Bahagian Atas B) Tempoh Masa Ikan Berenang di Bahagian Atas dan C) Bilangan Kemasukan Ikan ke Bahagian Atas. Tangki yang digunakan berukuran $13 \times 21.5 \times 11.5$ cm (Saiz 1)(kawalan), $11 \times 18 \times 10.5$ cm (Saiz 2) dan $9 \times 15.5 \times 8.5$ cm (Saiz 3). $n=9$ ekor ikan untuk setiap eksperimen. Eksperimen diulang sebanyak 3 kali. Bar ralat merupakan min ralat piawai (SEM). Nilai-p dikira dengan menggunakan Ujian ANOVA: Faktor Tunggal. (A-C)

(Fay, 2009; Slabbekoorn *et al.*, 2010; Slabbekoorn, 2012). Kelakuan ikan *Zebra* dikatakan mampu dipengaruhi oleh bunyi yang mereka dengari di dalam air (Bretschneider *et al.*, 2013; Bhandiwad *et al.*, 2013). Untuk mengkaji kelakuan ikan *Zebra* dibawah pengaruh bunyi yang berbeza, 6 jenis bunyi telah dipilih berdasarkan kelajuan dan konsisten sesuatu tempo muzik/suara manusia. Bacaan Sheikh Mishary menggambarkan nada yang lembut manakala bacaan Muhd. Taha menggambarkan nada yang lebih keras. Lagu *Everything I Do, I Do It For You (slow rock)* dari Bryan Adams pula merupakan jenis lagu yang

mendayu bertentangan dengan lagu *Shadow Fear (heavy metal)* dari The Vader yang menggambarkan keadaan yang kucar kacir. Gamelan Melayu (Perang Manggong) yang dipilih menggambarkan bunyian santai dari peralatan tradisional berbanding nada berunsur pemujaan dari gamelan Jawa (Ketawang Suba Kastawa). Secara keseluruhan, ikan *Zebra* kelihatan lebih tenang di bawah aruhan bacaan Sheikh Mishary dan lagu gamelan Jawa (Rajah 5) berbanding kawalan (perlakuan kependaman bahagian atas yang rendah berserta tempoh bilangan dan kemasukan ke bahagian atas yang tinggi).



Rajah 5. Kesan bacaan Al-fatihah Sheikh Mishary, bacaan Al-fatihah Muhd. Taha, lagu “heavy metal”, *Shadow Fear*, lagu “slow rock”, *Everything I Do, I Do For You*, gamelan Melayu, Perang Manggong, dan gamelan Jawa, Ketawang Suba Kastawa ke atas keresahan dan tekanan ikan direkodkan berdasarkan kependaman bahagian atas (A), tempoh masa ikan berada dibahagian atas (B) dan bilangan kemasukan ke bahagian atas (C). n=9 ekor ikan untuk setiap eksperimen. Eksperimen diulang sebanyak 3 kali. Bar ralat merupakan min ralat piawai (SEM). Nilai-p dikira dengan menggunakan Ujian ANOVA: Faktor Tunggal dengan Ujian-t: Dua Sampel Menganggapkan Varians Sama, *post-hoc* antara perlakuan dan kawalan. *p ≤ 0.05.



Rajah 6. Rakaman frekuensi audio. Frekuensi audio yang dirakam oleh *Walkman Sony Ericsson* (CKM-NWS770) ketika ujian aruhan bunyi dijalankan ke atas ikan *Zebra*.

Ini mungkin disebabkan tempo frekuensi audio ini yang lebih konsisten berbanding audio yang lain (Rajah 6) memudahkan ikan *Zebra* untuk membiasakan diri dan belajar beradaptasi pada keadaan tersebut. Ikan *Zebra* telah dilaporkan mempunyai kebolehan kognitif untuk mempelajari perkara baru dan memahami sesuatu tekanan bagi mendapat habuan dan mengurangkan keresahan (Barcellos *et al.*, 2010; Karnik *et al.*, 2012). Keadaan tempo audio yang lain yang tidak konsisten dan laju menyukarkan proses pembelajaran dan pengadaptasian ikan *Zebra*.

KESIMPULAN

Dari kajian ini, didapati ikan *Zebra* mempunyai daya kognitif yang tinggi dan mampu beradaptasi kepada tekanan di sekitar mereka. Pemindahan yang berulang kali serta dedahan ikan kepada kehadiran pemangsa dapat mengaruh tekanan pada kelakuan ikan. Walau bagaimanapun keadaan tertekan pada ikan tidak menghalang ikan daripada mengambil makanan. Hasil kajian juga mendapati ikan *Zebra* kurang tertekan dan resah apabila didedahkan kepada lagu atau bunyi yang mempunyai tempo yang konsisten dan perlahan.

PENGHARGAAN

Penghargaan diberikan kepada geran penyelidikan dari Kementerian Sains, Teknologi dan Inovasi Malaysia (ScienceFund 02-01-02-SF1279), Kement-

terian Pendidikan Tinggi Malaysia, (FRGS/2/2014/ST04/UKM/03/1), dan Universiti Kebangsaan Malaysia (Dana Top Down-Geran Penyelidikan Universiti-Komuniti KOMUNITI-2014-010 dan GGPM-2014-006) kerana menaja kajian ini.

RUJUKAN

- Alsop, D. & Vijayan, M. 2009. The zebrafish stress axis: molecular fallout from the teleost-specific genome duplication event. *General and Comparative Endocrinology*, **161**(1): 62-66.
- Anichtchik, O.V., Kaslin, J., Peitsaro, N., Scheinin, M. & Panula, P. 2004. Neurochemical and behavioural changes in zebrafish *Danio rerio* after systemic administration of 6-hydroxydopamine and 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine. *Journal of Neurochemistry*, **88**(2): 443-453.
- Avdesh, A., Chen, M., Martin-Iverson, M.T., Mondal, A., Ong, D., Rainey-Smith, S., Taddei, K., Lardelli, M., Groth, D.M., Verdile, G. & Martins, R.N. 2012. Regular care and maintenance of a zebrafish (*Danio rerio*) laboratory: an introduction. *Journal of Visualized Experiments*, **69**: 4196-4196.
- Barcellos, L.J.G., Ritter, F., Kreutz, L.C. & Cericato, L. 2010. Can zebrafish *Danio rerio* learn about predation risk? The effect of a previous experience on the cortisol response in subsequent encounters with a predator. *Journal of Fish Biology*, **76**(4): 1032-1038.

- Bhandiwad, A.A., Zeddies, D.G., Raible, D.W., Rubel, E.W. & Sisneros, J.A. 2013. Auditory sensitivity of larval zebrafish (*Danio rerio*) measured using a behavioral prepulse inhibition assay. *Journal of Experimental Biology*, **216(18)**: 3504-3513.
- Bretschneider, F., van Veen, H., Teunis, P.F., Peters, R.C. & van den Berg, A.V. 2013. Zebrafish can hear sound pressure and particle motion in a synthesized sound field. *Animal Biology*, **63(2)**: 199-215.
- Cachat, J.M., Canavello, P.R., Elegante, M.F., Bartels, B.K., Elkhayat, S.I., Hart, P.C., Tien, A.K., Tien, D.H., Beeson, E., Mohnot, S. & Laffoon, A.L. 2011. Modeling stress and anxiety in zebrafish. In: *Zebrafish Models in Neurobehavioral Research*. A.V. Kalueff and J.M. Cachat (Eds.). Springer, America. 73-88pp.
- Champagne, D.L., Hoefnagels, C., De Kloet, R.E. & Richardson, M.K. 2010. Translating Rodent Behavioral Repertoire to Zebrafish (*Danio rerio*): Relevance for Stress Research. *Behavioural Brain Research*, **214(2)**: 332-342.
- Dugatkin, L.A., McCall, M.A., Gregg, R.G., Cavanaugh, A., Christensen, C. & Unsel, M. 2005. Zebrafish (*Danio rerio*) exhibit individual differences in risk-taking behavior during predator inspection. *Ethology Ecology & Evolution*, **17(1)**: 77-81.
- Egan, R.J., Bergner, C.L., Hart, P.C., Cachat, J.M., Canavello, P.R., Elegante, M.F., Elkhayat, S.I., Bartels, B.K., Tien, A.K., Tien, D.H. & Mohnot, S. 2009. Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in zebrafish. *Behavioural Brain Research*, **205(1)**: 38-44.
- Fay, R. 2009. Soundscapes and the sense of hearing of fishes. *Integrative Zoology*, **4(1)**: 26-32.
- Gerhard, G.S. & Cheng, K.C. 2002. A call to fins! Zebrafish as a gerontological model. *Aging Cell*, **1(2)**: 104-111.
- Gerlai, R., Fernandes, Y. & Pereira, T. 2009. Zebrafish (*Danio rerio*) responds to the animated image of a predator: towards the development of an automated aversive task. *Behavioural Brain Research*, **201(2)**: 318-324.
- Gerlai, R. 2011. Zebrafish, a Potential Novel Research Tool for the Analysis and Modeling of Anxiety. In: *Different Views of Anxiety Disorders*. S. Selek (Eds.). InTech, Croatia. pp. 137.
- Gould, G.G. 2011. Zebrafish biogenic amine transporters and behavior in novel environments: targets of reuptake inhibitors and pesticide action as tools for neurotoxicology research. In: *Zebrafish Models in Neurobehavioral Research*. A.V. Kalueff and J.M. Cachat (Eds.). Springer, America. pp. 181-209.
- Iturriaga-Vásquez, P., Osorio, F., Riquelme, S., Castro, S. & Herzog, R. 2012. Zebrafish: a model for behavioral pharmacology. *Farmacología de Chile*, **5**: 27-32.
- Karnik, I. & Gerlai, R. 2012. Can zebrafish learn spatial tasks? An empirical analysis of place and single CS-US associative learning. *Behavioural Brain Research*, **233(2)**: 415-421.
- Oka, T., Nishimura, Y., Zang, L., Hirano, M., Shimada, Y., Wang, Z., Umemoto, N., Kuroyanagi, J., Nishimura, N. & Tanaka, T. 2010. Diet-induced obesity in zebrafish shares common pathophysiological pathways with mammalian obesity. *BMC Physiology*, **10(21)**: 1-13.
- Riehl, R., Kyzar, E., Allain, A., Green, J., Hook, M., Monnig, L., Rhymes, K., Roth, A., Pham, M., Razavi, R. & DiLeo, J. 2011. Behavioral and physiological effects of acute ketamine exposure in adult zebrafish. *Neurotoxicology and Teratology*, **33(6)**: 658-667.
- Slabbekoorn, H., Bouton, N., van Opzeeland, I., Coers, A., ten Cate, C. & Popper, A.N. 2010. A noisy spring: the impact of globally rising underwater sound levels on fish. *Trends in Ecology & Evolution*, **25(7)**: 419-427.
- Slabbekoorn, H. 2012. Measuring behavioural changes to assess anthropogenic noise impact on singing birds. In: *Proceedings of Measuring Behavior 2012*. A. Spink, F. Grieco, O. Krips, L. Loijens, L. Noldus and P. Zimmerman (Eds.). Noldus Information Technology, The Netherlands. pp. 158-162.
- Subbiah, S. & Kar, B. 2013. Adult zebrafish as a new animal model to study anxiety. *Asian Journal of Experimental Biological Science*, **4**: 167-171.