

"مقاله پژوهشی"

تأثیر رنگ مخزن پرورش روی شاخص‌های رشد، پارامترهای خونی و پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus* Agassiz, 1831)

حکیمه دوپیکر^۱، مجید رضا خوش خلق^{۱*}، سید احمد قاسمی^۲، وحید مرشدی^۲

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

۲. پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۷/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۹

چکیده

در این مطالعه، اثر رنگ‌های متفاوت تانک پرورشی بر شاخص‌های رشد، خون‌شناسی، استرس و بیوشیمیایی پلاسما ماهی اسکار مورد بررسی قرار گرفت. آکواریوم‌ها به رنگ‌های آبی، سفید، زرد و قرمز برای این آزمایش در نظر گرفته شدند. طول دوره این تحقیق ۸ هفته بود. غذادهی در حد سیری و در ۳ وعده در ساعات ۷:۰۰، ۱۲:۰۰ و ۱۷:۰۰ انجام گرفت. بالاترین میزان وزن نهایی در تیمار با رنگ قرمز مشاهده شد و همچنین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار قرمز نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی داری را نشان داد ($P < 0.05$). طبق نتایج بدست آمده تعداد گلبول‌های سفید در تیمار زرد نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0.05$). مقدار کورتیزول در تیمار قرمز نسبت به تیمارهای دیگر کمتر بود و بیشترین مقدار کورتیزول در تیمار آبی مشاهده شد. نتایج حاصل از آزمایش بیوشیمیایی پلاسما نشان داد که در مقدار پروتئین کل بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت. میزان آلبومین در تیمار قرمز نسبت به سایر تیمارها دارای بالاترین میزان خود بود و اختلاف معنی داری را با سایر تیمارها نشان داد ($P < 0.05$). میزان ملاتونین نیز در تیمار قرمز نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0.05$). مطالعه حاضر نشان داد استفاده از رنگ تانک قرمز نسبت به رنگ‌های دیگر به لحاظ شاخص‌های رشد و استرس وضعیت مطلوب‌تری را ایجاد می‌کند که ممکن است به دلیل سازگاری بیشتر و بهتر فیزیولوژیک ماهی با این رنگ باشد.

کلمات کلیدی: اسکار، کورتیزول، ملاتونین، رنگ تانک

مقدمه

امروزه پرورش ماهیان زینتی به عنوان یک صنعت جهانی متنوع مطرح است که در آن به تجارت بیش از ۴۵۰۰ گونه از ماهیان آب شیرین، ۱۴۵۰ گونه از ماهیان دریایی، بیش از ۶۵۰ گونه از مرجان‌ها و سایر بی-مهرگان دریایی پرداخته می‌شود. بیش از ۵۰ درصد از ماهیان زینتی از آسیا تأمین می‌شوند. ۸۰ درصد از ماهیان در مزارع آب شیرین، ۱۵ درصد از صید گونه-های وحشی دریایی و ۵ درصد هم از صید گونه‌های وحشی آب شیرین تهیه می‌شود. سنگاپور و تعدادی از کشورها از جمله تایلند، ژاپن، چین، مالزی و سریلانکا در زمینه پرورش گونه‌های ماهیان زینتی آب شیرین به صورت تخصصی عمل می‌کنند (Oliver, 2003).

در حال حاضر، پرورش و نگهداری گونه‌های مختلف ماهیان آکواریومی آب شیرین و شور در نقاط مختلف دنیا و ایران با اهداف اقتصادی یا زینتی متداول است. در ایران حدود ۱۵۰ گونه ماهی آکواریومی وجود دارد که ۴۰ گونه آن در داخل کشور پرورش داده می‌شود (ریسی و همکاران، ۱۳۹۴). در حقیقت، تولید ماهیان زینتی به عنوان یک پشته‌واره صادراتی برای کشورهای در حال توسعه تلقی می‌شود، به طوری که سال‌ها در فیلیپین جمع‌آوری و برداشت ماهیان از دریا به عنوان یک منبع درآمدزا برای اقشار کم‌درآمد مطرح بوده است. پرورش ماهی به ویژه ماهیان زینتی به لحاظ استفاده از منابع داخلی، سودآوری بالا، سرمایه‌گذاری پایین، سادگی نسبی فن‌آوری تولید و امکان اشاعه نو-آوری و مشارکت فراگیر جوانان برای اشتغال‌زایی مستقیم و غیر مستقیم همواره مورد توجه بوده است (Baquero, 2001).

ماهیان سیچلاید شامل ۴۰۰ گونه مختلف هستند و یکی از خانواده‌های بسیار معروف در بین ماهیان زینتی به شمار می‌روند. ماهیان این خانواده به خاطر تنوع رنگی موجود در ساختار بدنی در بین زیست‌شناسان بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (Maan and Sefc, 2013). یکی از پرطرفدارترین ماهیان این خانواده، ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus*) است که در کشور ما نیز از مهم‌ترین و پرفروش‌ترین ماهیان آکواریومی محسوب می‌شود. ماهی اسکار بواسطه‌ی زیبایی ظاهری و همچنین رفتار اجتماعی، گویی دارای شخصیت و هوش است و در بین طرفداران جایگاه ویژه‌ای دارد (Alishahi et al., 2014). رفتار منحصر به فرد این گونه باعث شده در زمره یکی از پر طرفدار-ترین گونه‌های ماهیان زینتی در ایران و دنیا محسوب شود که این موضوع به دلیل ظاهر منحصر بفرد، رفتار قلمرو طلبانه و تنوع رنگی آنها است. از جمله مهم‌ترین دغدغه‌های پرورش دهندگان، بهبود عملکرد رشد ماهیان است که این پدیده به طور مستقیم تحت تأثیر غذای مصرفی، عوامل محیطی و درونی ماهی قرار می‌گیرد (کمالی و همکاران، ۱۳۹۷).

جهت بهینه‌سازی پرورش این گونه، درک رفتار و عملکرد آن در شرایط پرورش واجد اهمیت است. اصولاً محیط مصنوعی با زیستگاه طبیعی ماهی تفاوت دارد لذا ممکن است بر تغذیه، سلامت و رشد ماهی به خصوص اگر شرایط برای ماهی تنش‌زا باشد، تأثیر منفی داشته باشد (Brannas et al., 2001; Jobling, 1994). در میان عوامل محیطی گوناگونی که ممکن است عملکرد ماهی را در محیط پرورش تحت تأثیر قرار دهند، رنگ تنک پرورشی (Brannas et al., 2001) نیز از جمله موارد تأثیر گذار می‌باشد.

فیزیولوژیک ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus*) (Agassiz, 1831) است.

مواد و روش‌ها

شرایط آزمایش و نگهداری ماهیان

بچه ماهیان مورد نیاز در این آزمایش از شرکت گیل برکه واقع در استان گیلان شهر رشت تهیه شدند. در ابتدای آزمایش زیست‌سنجی ماهیان انجام شد. آکواریوم‌ها به رنگ‌های سفید، آبی، زرد و قرمز برای این آزمایش در نظر گرفته شدند که همه این آکواریوم‌ها در شدت‌های نور یکسان قرار گرفتند. قبل از ذخیره‌سازی، تانک‌ها به وسیله مواد ضدعفونی کننده نظیر هیپوکلریت سدیم کاملاً ضدعفونی شده و سپس با آب شستشو داده شدند. تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی قبل از شروع آزمایش به مدت ۱۵ روز به شرایط آزمایشگاهی و غذای کنسانتره شرکت فرادانه (۱۱-۵ درصد رطوبت، ۵۰-۴۶ درصد پروتئین، ۱۵-۱۱ درصد چربی، ۱۳-۹ درصد خاکستر، ۳-۱/۵ درصد فیبر، ۱-۱/۵ درصد فسفر) سازگار شدند. پس از طی مرحله سازگاری، ماهیانی که از لحاظ وزن و طول تقریبی در یک اندازه بودند، در چهار تیمار (آکواریوم‌هایی به رنگ آبی، سفید، زرد و قرمز) و هر تیمار در سه تکرار (هر تکرار ۱۰ قطعه ماهی) به طور تصادفی انتخاب و در ۱۲ آکواریوم (۶۰×۵۰×۳۵ سانتی متر مکعب) توزیع شدند. هر آکواریوم حاوی ۱۰ قطعه ماهی بود و متوسط وزن اولیه آنها $9/14 \pm 0/34$ گرم بود. در این تحقیق ماهیان به مدت ۸ هفته تحت شرایط آزمایش قرار داشتند. غذا-دهی در حد سیری و در ۳ وعده در ساعات ۷:۰۰، ۱۲:۰۰ و ۱۷:۰۰ انجام گرفت (حسین نژاد جدیدی و همکاران، ۱۳۹۸). مدفوع و دیگر مواد باقیمانده روزانه

در زمینه تغییر رنگ تانک در پرورش بعضی از ماهیان از جمله لارو ماهی سفید دریای خزر (شاهکار و همکاران، ۱۳۸۸)، تیلاپیای نیل (Sabri, et al., 2012)، ماهی گوپی (سوداگر و همکاران، ۱۳۹۷)، لارو روغن ماهی کوچک (*Melanogrammus aeglefinus*) (Downing and Litvak, 1999)، باس دریایی (Ullmann et al., 2011)، گربه ماهی آفریقایی (Okomoda et al., 2017)، لارو ماهی سفید فنلاندی (Sebesta et al., 2018) مطالعات متعددی انجام شده است. علی‌رغم شواهد مبتنی بر تأثیرات رنگ تانک بر پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهیان، نتایج گزارش شده همسان نیستند و واضح است که گونه‌های مختلف احتمالاً به سبب ویژگی‌های خاص زیستگاه طبیعی‌شان و سازگاری سیستم بینایی‌شان با شرایط محیطی، در رنگ‌های پس زمینه مختلف پاسخ‌های متفاوتی را نشان می‌دهند (Karakatsouli et al., 2007).

از آن جایی که رنگ تانک در محیط‌های سر-پوشیده پرورش ماهی قابل تنظیم است، از این رو تعیین شرایط بهینه آنها برای گونه‌های پرورشی نه تنها به منظور بهینه‌سازی موفقیت تولید، بلکه همچنین جهت تضمین ایده‌آل بودن شرایط ماهی حائز اهمیت است. ماهی اسکار یکی از گونه‌های با ارزش و پر-طرفدار در میان علاقمندان به ماهیان زینتی است و از طرفی تولید و پرورش این گونه در ایران به راحتی امکان‌پذیر است بنابراین با بهینه‌سازی شرایط پرورش این گونه می‌توان نقش مؤثری در بازار تولید این گونه ایفا نمود. هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر رنگ مخزن پرورشی بر شاخص‌های رشد، برخی پارامترهای خون‌شناسی و پاسخ‌های

از مخازن سیفون شدند. طول دوره‌ی نوری در این تحقیق ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل: درجه حرارت و اکسیژن، pH و آمونیاک آب در طول دوره آزمایش اندازه گیری شد (جدول ۱).

جدول ۱: پارامترهای کیفی آب در طول دوره آزمایش

پارامترها	DO (ppm)	دما	pH	TDS (mg/l)	NH ₃ (ppm)
مقادیر	۷-۷/۵	۲۳-۲۴	۷-۷/۶	۲۵۰-۲۸۰	۰/۰۲>

زیست سنجی ماهیان در ابتدای آزمایش، هر دو هفته یکبار و نیز در پایان آزمایش ثبت می‌گردد. سپس بر اساس فرمول‌های زیر پارامترهای مرتبط با عملکرد رشد سنجیده می‌شود. نرخ ویژه رشد (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، درصد بازماندگی، فاکتور وضعیت (CF) و درصد افزایش وزن بدن (%BWI) برای هر ماهی محاسبه می‌گردد (Luo *et al.*, 2010).

$100 \times (\text{تعداد کل ماهیان در ابتدای دوره} / \text{تعداد ماهیان باقی مانده در انتهای دوره}) = \text{درصد زنده‌مانی}$

$(\text{وزن ابتدایی به گرم} - \text{وزن انتهایی به گرم}) = \text{افزایش وزن بدن (گرم)} (WG)$

$100 \times (\text{دوره پرورش} / [\ln(\text{وزن ابتدایی}) - \ln(\text{وزن انتهایی})]) = \text{نرخ رشد ویژه (SGR)}$

$(\text{وزن تر به دست آمده به گرم} / \text{مقدار غذای خشک داده شده گرم به}) = \text{ضریب غذایی تبدیل (FCR)}$

$100 \times (\text{طول نهایی}^3 / \text{وزن نهایی}) = \text{وضعیت شاخص (CF)}$

اندازه‌گیری هماتوکریت

جهت اندازه‌گیری هماتوکریت، لوله‌های موئینه هپارینه با نمونه‌های خون پر شدند و پس از آن انتهای آنها با خمیر مخصوص بسته و به وسیله سانتریفیوژ میکروهماتوکریت با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و در نهایت مقدار حجم سلولی یا هماتوکریت هر نمونه‌ی خون با استفاده از خط کش مخصوص محاسبه شد (Rehulka, 2000).

در پایان دوره آزمایش ۲۴ ساعت غذادهی قطع گردید و سپس ماهیان تیمارهای مختلف مورد زیست سنجی قرار گرفتند. جهت بیهوشی ماهیان از پودر گل میخک (۲۰۰ میلی گرم در لیتر) استفاده شد. اندازه‌گیری طول و وزن به ترتیب به وسیله خط کش با دقت ۱ میلی‌متری و ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۱ گرم انجام شد. جهت انجام خون‌گیری از هر تیمار، شش قطعه ماهی (از هر تکرار دو قطعه) به صورت کاملاً تصادفی انتخاب گردید و سپس عمل خون‌گیری با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌متری هپارینه از ورید ساقه دمی انجام شد.

شمارش گلبول قرمز و سفید

جهت شمارش تعداد گلبول قرمز از پیت‌های حباب‌دار (ملانژور) قرمز استفاده شد. تعداد گلبول قرمز با استفاده از لام نئوبار بعد از رقیق سازی خون منعقد نشده با محلول ریس (رقت ۱/۲۰۰) شمارش شد. از مربع میانی (۵ خانه وسط) لام نئوبار برای شمارش گلبول قرمز استفاده و عدد بدست آمده در عدد ۱۰۰۰۰ ضرب شد. تعداد گلبول‌های قرمز در یک میلی‌متر مکعب خون محاسبه شد. به منظور شمارش تعداد گلبول سفید از پیت‌های حباب‌دار (ملانژور) سفید استفاده شد. تعداد گلبول‌های سفید با استفاده از لام نئوبار بعد از رقیق سازی خون منعقد نشده با محلول ریس (رقت ۱/۵۰) شمارش شد. از ۴ مربع کناری لام نئوبار برای شمارش گلبول سفید استفاده و عدد بدست آمده در عدد ۵۰ ضرب شد. تعداد گلبول‌های سفید در یک میلی‌متر مکعب خون محاسبه شد (Barros et al., 2002).

هموگلوبین

مقدار هموگلوبین هر نمونه‌ی خون به وسیله‌ی کیت مخصوص شرکت پارس آزمون (کرج، ایران) به روش کلرومتریک با طول موج ۵۴۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر، مقدار جذب نور ثبت و غلظت هموگلوبین محاسبه شد (Drobkin, 1945).

اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمایی پلاسما

برای تعیین پروتئین کل، آلبومین، کلسترول، تری گلیسرید و گلوکز پلاسما از دستگاه Auto Analyzer (Technicon RA-1000, USA) استفاده گردید. به جز آلبومین و پروتئین که بر حسب گرم بر ۱۰۰ میلی لیتر مورد سنجش قرار گرفت، بقیه پارامترها بر حسب گرم بر دسی لیتر اندازه شدند (Karakatsouli et al., 2009).

(2007). اندازه گیری کورتیزول پلاسما با روش آزمایشگاهی Radioimmunoassay (RIA) انجام شد (Olsen et al., 1995). اندازه گیری لاکتات پلاسما با روش رنگ‌سنجی و بر اساس یک واکنش آنزیمی که شامل تبدیل لاکتات به پیرووات و آب اکسیژنه در مجاورت لاکتات اکسیداز است انجام شد. این اندازه‌گیری با استفاده از کیت آزمایشی آماده و با دستگاه اتوآنالایزر (Technicon RA-1000, USA) با طول موج ۵۲۰ نانومتر انجام شد (Barton et al., 2005). جهت سنجش ملاتونین از پلاسماهای خون و کیت سنجش الیزا استفاده شد. از هر کدام از استانداردها و پلاسمایی که استخراج شدند با توجه به پروتکل مقداری در چاهک‌ها ریخته شد. سپس مقداری از کونژوگه ملاتونین- بیوتین و مقداری آنتی‌سرم اضافه شد. پس از مدتی توسط بافر سنجش ۳ مرتبه شستشو شد پس از آن مقداری کونژوگه آنزیمی استرپتاویدین هورادیش پراکسیداز به هر چاهک اضافه شد. پس از شستشوی واکنش دهنده و آنزیم ایدین یک محلول سوبسترا به چاهک افزوده شد و رنگ نسبت به مقدار ملاتونین در مراحل اولیه افزایش می‌یابد. در مرحله پایانی افزایش شدت رنگ متوقف شد و شدت رنگ اندازه‌گیری شد (Munoz et al., 2009).

آنالیز آماری

این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. پس از برداشت داده‌ها تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS, 25 صورت گرفت. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov انجام شد. برای مقایسه همگنی واریانس‌ها از آزمون Levene استفاده شد.

جهت انجام تجزیه واریانس از آزمون و برای بررسی اختلافات درون گروهی از آزمون توکی استفاده شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم افزار SPSS, 25 استفاده گردید.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری شاخص های رشد نشان داد که در فاکتورهای وزن کسب شده، ضریب تبدیل غذایی و درصد افزایش وزن بین تیمارها تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) وجود دارد. میزان

ضریب تبدیل غذایی در تیمار قرمز نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی داری را نشان داد ($P < 0.05$). مقدار درصد افزایش وزن در تیمار قرمز نسبت به تیمار زرد و آبی بیشتر بود و با تیمار سفید اختلاف معنی داری نداشت. در فاکتورهای نرخ رشد ویژه و درصد بازماندگی بین تیمارهای آزمایش اختلاف معنی دار وجود نداشت (جدول ۲).

جدول ۲: نتایج فاکتورهای رشد در بین تیمارهای آزمایش (انحراف معیار \pm میانگین)

قرمز	زرد	سفید	آبی	
$2/37 \pm 0/18$	$1/8 \pm 0/36$	$2/1 \pm 0/18$	$2/17 \pm 0/15$	ضریب رشد ویژه
$2/6 \pm 0/1^a$	$3/06 \pm 0/15^b$	$3/02 \pm 0/06^b$	$3 \pm 0/1^b$	ضریب تبدیل غذایی
$556/61 \pm 26/93^b$	$443/59 \pm 22/5^a$	$475/21 \pm 74/17^{ab}$	$466/27 \pm 27/63^a$	درصد افزایش وزن بدن
$2/43 \pm 0/16$	$2/53 \pm 0/2$	$2/33 \pm 0/05$	$2/51 \pm 0/17$	فاکتور وضعیت
$51/18 \pm 2^b$	$41/35 \pm 0/61^a$	$42/16 \pm 5/47^a$	$42/74 \pm 3/52^a$	وزن کسب شده
$80 \pm 7/32$	$90 \pm 10/00$	$83/33 \pm 5/77$	$70 \pm 20/00$	درصد بازماندگی

وجود حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها است ($P < 0.05$).

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری فاکتورهای خون شناسی نشان داد که بین هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول های قرمز خون اختلاف معنی داری وجود ندارد. طبق نتایج بدست آمده تعداد گلبول های سفید در

تیمار زرد نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0.05$). تعداد گلبول های سفید در تیمار قرمز و سفید با یکدیگر اختلاف معنی دار نداشتند و به صورت معنی داری بالاتر از تیمار دیگر بودند (جدول ۳).

جدول ۳: نتایج فاکتورهای خون شناسی در بین تیمارهای آزمایش (انحراف معیار \pm میانگین)

قرمز	زرد	سفید	آبی	
$5/55 \pm 0/18$	$5/8 \pm 0/21$	$5/73 \pm 0/12$	$5/7 \pm 0/14$	هموگلوبین (g/dl)
$30/16 \pm 1/16$	$31 \pm 0/63$	$30/66 \pm 0/81$	$31/07 \pm 1/1$	هماتوکریت (%)
$1/6 \pm 0/05$	$1/66 \pm 0/062$	$1/618 \pm 0/011$	$1/687 \pm 0/088$	گلبول های قرمز ($cell \times 10^6/mm^3$)
530.0 ± 316^b	5666 ± 225^c	5175 ± 160^b	$4291/66 \pm 149/7^a$	گلبول های سفید ($cell/mm^3$)

وجود حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها است ($P < 0.05$).

و سفید نسبت به تیمارهای دیگر کمتر بود و بیشترین مقدار کورتیزول در تیمار آبی مشاهده شد ($P < 0/05$) (جدول ۴).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری فاکتورهای استرس در بین تیمارها بیانگر این است که میانگین گلوکز در تیمار قرمز نسبت به سایر تیمارهای کاهش معنی‌داری را نشان داده است ($P < 0/05$). مقدار کورتیزول در تیمار قرمز

جدول ۴: نتایج فاکتورهای استرس در بین تیمارهای آزمایش (انحراف معیار ± میانگین)

قرمز	زرد	سفید	آبی	
$63/68 \pm 1/23^a$	$56/94 \pm 1/46^c$	$54/02 \pm 1/67^b$	$63/68 \pm 1/23^a$	گلوکز (mg/dl)
$52/22 \pm 2^a$	$42/68 \pm 2^c$	$38/33 \pm 1/08^b$	$52/22 \pm 2^a$	کورتیزول (ng/ml)
$30/00 \pm 0/68^a$	$26/00 \pm 0/07^{ab}$	$24/33 \pm 1/85^b$	$30/00 \pm 0/68^a$	لاکتات (mg/dl)

وجود حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0/05$).

میزان خود قرار داشت که با سایر تیمارهای مورد آزمایش دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P < 0/05$). لاکتات اندازه‌گیری شده در تیمار قرمز و سفید نسبت به آبی کمتر بود ($P < 0/05$). میزان ملاتونین در تیمار قرمز نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0/05$) (جدول ۵).

نتایج حاصل از آزمایش بیوشیمیایی پلاسما نشان داد که در میزان پروتئین کل بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت. میزان آلبومین و کلسترول در تیمار قرمز نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0/05$). میزان تری-گلیسرید در تیمار با رنگ آکواریوم زرد در بالاترین

جدول ۵: اثر تیمارهای آزمایش بر شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسما ماهی اسکار (انحراف معیار ± میانگین)

قرمز	زرد	سفید	آبی	
$3/58 \pm 0/21^c$	$3/4 \pm 0/02^b$	$3/22 \pm 0/03^a$	$3/3 \pm 0/07^{ab}$	پروتئین کل (g/dl)
$1/68 \pm 0/02^c$	$1/33 \pm 0/15^{ab}$	$1/23 \pm 0/2^a$	$1/45 \pm 0/04^b$	آلبومین (g/dl)
$0/88 \pm 0/02^b$	$0/65 \pm 0/12^a$	$0/63 \pm 0/2^a$	$0/78 \pm 0/02^{ab}$	گلوبولین/آلبومین
$161/39 \pm 2/1^c$	$155/57 \pm 3/52^b$	$150/47 \pm 2/32^a$	$151/26 \pm 2/78^{ac}$	کلسترول (mg/dl)
$87/03 \pm 2/36^a$	$141/74 \pm 4/62^b$	$96/24 \pm 2/74^c$	$82/68 \pm 2/05^a$	تری گلیسرید (mg/dl)
$12/51 \pm 0/8^c$	$11/33 \pm 0/3^{bc}$	$10/68 \pm 0/99^{ab}$	$9/8 \pm 0/87^a$	ملاتونین (ng/l)

وجود حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0/05$).

بحث

یکی از نشانه‌های استرس افزایش فعالیت دوپامینرژیک و سروتونرژیک مغز است و به تبع این افزایش، سطوح سروتونین، دوپامین و نورآدرنالین و متابولیت‌ها نیز افزایش می‌یابند (Papoutsoglou et al., 2005). طیف‌های نوری با تأثیر بر غده پینه آل و چشم سبب تغییر در میزان ملاتونین می‌شوند (Bayarii et al., 2003; Noar et al., 2002) و از طرفی ملاتونین ترشح شده بر سیستم پامینرژیک اثرگذار است (Behrens et al., 2000) که منجر به ترشح کورتیزول و اثر بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-اینترنال (HIP) می‌شود (Hoglund et al., 2001). با توجه به موارد ذکر شده نور و رنگ می‌توانند عامل تأثیرگذار در میزان استرس باشند (Ruchin, 2005). در شرایط استرس، هیپوتالاموس با اثر بر قسمت قدامی کلیه و تحریک سلول‌های بین کلیوی سبب ترشح کورتیزول می‌شود (Schreck et al., 2001). یکی از عملکردهای کورتیزول افزایش مصرف گلوکز بوسیله سلول‌ها است که منجر به هاپیرگلاسمیا می‌شود که علت این امر تبدیل کورتیکوستروئیدها از طریق گلوکوکورتیکوئید است (Rottland and Tort, 1997).

نتایج این تحقیق نشان داد که فاکتورهای رشد در تیمار با رنگ تانک قرمز نسبت به سایر تیمارها دارای وضعیت مطلوب‌تری بود، بطوری‌که ضریب تبدیل غذایی و میزان درصد افزایش وزن در این تیمار به ترتیب کمترین و بیشترین میزان را نشان داد. بطور کلی تفاوت بین محیط پرورشی و طبیعی می‌تواند بر تغذیه، سلامت و رشد ماهی تأثیر منفی داشته باشد (Brannas et al., 2001). اثرات مثبت رنگ تانک سفید در ماهی

کپور معمولی (Papoutsoglou et al., 2000)، تانک سیاه در اردک ماهی چشم‌مات (*Stizostedion vitreum*) (Harder and Summerfelt, 1996) و ماهی سیم سفید (*Diplodus sargus*) (Karakatsouli et al., 2007)، کپور ماهی پرورشی (*Cyprinus carpio*) در تانک آبی (اکبری‌ان و همکاران، ۱۳۹۱) به اثبات رسیده است. Biswas و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که استرس سبب ایجاد کاهش در پارامترهای رشد می‌شود که دلیل آن افزایش مصرف انرژی جهت تنظیم اسمزی، تنفس و سایر اعمال حیاتی بدن می‌باشد. نتایج مختلف به دست آمده در تحقیقات مختلف می‌تواند ناشی از شرایط مختلف آزمایش از جمله سن ماهیان، مرحله زندگی، تراکم ذخیره‌سازی، دمای آب و کیفیت آن، الگوی تغذیه، دوره نوری و شدت نور باشد (Papoutsoglou et al., 2000, 2005). با توجه به نتایج اندازه‌گیری کورتیزول احتمالاً بهبود عملکرد رشد و تغذیه مشاهده شده در تیمار قرمز ناشی از کاهش معنی‌دار میزان کورتیزول و استرس و به تبع آن سازگاری بیشتر با محیط در این تیمار است.

بررسی فاکتورهای خون‌شناسی نقش مهمی را در تشخیص بیماری‌های متفاوت ایفا می‌کند که نتایج فاکتورهای خون‌شناسی در مطالعه حاضر نشان داد که به استثنای تعداد گلبول‌های سفید، در سایر فاکتورها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. با توجه به نتایج اندازه‌گیری کورتیزول احتمالاً علت کاهش تعداد گلبول‌های سفید در تیمار آبی، افزایش معنی‌دار میزان کورتیزول در این تیمار است. کورتیزول که محصول اولیه ناشی از استرس است با اختلال در تعادل هومئوستاز باعث ایجاد اثرات مخرب در رفتار، رشد،

در ماهیان موجود در تانک آبی رنگ بوده که هر سه شاخص جهت اندازه‌گیری استرس در این تیمار، دارای اختلاف معنی‌دار با سایرین بود و ماهیان موجود در مخازن قرمز رنگ با توجه به وجود اختلاف معنی‌دار در وزن نهایی، پس دارای کمترین سطح استرس بوده‌اند.

مقدار پروتئین کل، در حقیقت وضعیت کلی سلامت بدن را نشان می‌دهد (Kenneth *et al.*, 1990). میزان پروتئین کل در تیمار قرمز بالاترین سطح را نشان داد. کاهش در میزان آلبومین و پروتئین کل می‌تواند ناشی از عوامل مختلفی مثل استفاده زیاد از پروتئین عضلات و کاتابولیسم پروتئین‌ها جهت تأمین انرژی مورد نیاز در مقابله استرس (Sabri *et al.*, 2012)، کاهش اشتها (Sabri *et al.*, 2009)، ترمیم غشای سلولی آسیب دیده در دوره استرس (Sabri *et al.*, 2012) و نیز سرکوب شدن سیستم ایمنی (Browne *et al.*, 2007) باشد. با توجه به کاهش معنی‌دار کورتیزول در تیمار قرمز، می‌توان گفت افزایش میزان پروتئین کل در این تیمار به دلیل کم بودن میزان استرس محیطی رنگ تانک بوده است.

نسبت آلبومین به گلوبولین یک شاخص برای مشخص کردن تغییرات نسبی پلاسما و سرم بوده که مورد استفاده قرار می‌گیرد (Mazeoud *et al.*, 1977). آلبومین از طریق خون سوبستراهای لازم برای رشد بافت‌ها را منتقل می‌کند و گلوبولین که شامل نوع آلفا، بتا و گاما است که نقش مهمی در انتقال فلزات و کمک در دفع عفونت‌های بدن دارد (Svobodova *et al.*, 1991). معمولاً نسبت آلبومین به گلوبولین حدود یک است و نسبت‌های بسیار بالاتر و کمتر از یک نشان دهنده وجود یک مشکل است (Kenneth *et al.*, 1990). با توجه به داده این تحقیق نسبت آلبومین به

تولید مثل و عملکرد سیستم ایمنی (کاهش گلوبولین‌های سفید) می‌شود (Gos and Consten, 2002; Morales *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2005). در مطالعه‌ای که Eslmloo و همکاران (۲۰۱۳) بر روی ماهی قرمز انجام دادند هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در هیچ‌کدام از شاخص‌های هماتولوژیک مشاهده نگردید.

معمولاً از میزان گلوکز، کورتیزول و لاکتات به عنوان شاخص‌های استرس استفاده می‌شود (Santos *et al.*, 1996). نتایج مطالعه حاضر نشان داد میزان گلوکز و کورتیزول در تیمار آبی نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌دار و تیمار قرمز رنگ کاهش معنی‌داری را با سایرین داشته است. Bayrami و همکاران (۲۰۱۷) در بررسی اثر رنگ تانک بر شاخص استرس در ماهی استرلیاد جوان (*Acipenser ruthenus*) نشان دادند که مقدار کورتیزول و گلوکز در تیمار سفید نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری داشتند و همچنین در مطالعه Eslamloo و همکاران (۲۰۱۳) میزان کورتیزول در ماهیانی که در مخازن قرمز رنگ پرورش یافتند نسبت به سایر تیمارها به صورت قابل توجهی بالاتر بود که با مطالعه حاضر کاملاً در تضاد بود ولی اختلافی در میزان لاکتات اندازه‌گیری شده بین تیمارهای مختلف آزمایشی وجود نداشت. وقتی که ماهی در معرض استرس قرار می‌گیرد، روند کاتابولیسم گلیکوژن و تغییر گلوکز به سمت تشکیل لاکتات پیش می‌رود که این امر می‌تواند افزایش سطح آنزیم لاکتات دهیدروژناز را در پی داشته باشد (Velisek *et al.*, 2006). علت اختلاف نتایج تحقیق مذکور با بررسی حاضر را می‌توان به تفاوت در گونه و شرایط پرورشی نسبت داد. با توجه به مطالب عنوان شده می‌توان بیان نمود که در مطالعه حاضر بالاترین میزان سطح استرس

گلبولین در تیمار قرمز ($0/88 \pm 0/02$) نسبت به سایر تیمارها به یک نزدیکتر است و احتمالاً وضعیت مطلوب تری دارد.

خاصیت کاتابولیکی کورتیزول در متابولیسم چربی‌ها به اثبات رسیده است (Mommensen et al., 1990). با توجه به نتایج مطالعه حاضر میزان تری گلیسیرید در تیمار آبی که بیشترین مقدار کورتیزول در این تیمار ثبت شده است، نسبت به سایر تیمارها کمتر است و همچنین میزان کلسترول نسبت به سایر تیمارها در تیمار با رنگ قرمز بالاترین سطح خود را نشان داد. در مطالعه‌ای که بر روی ماهی استرلیاد انجام شد، کمترین میزان تری گلیسیرید در ماهیان نگه‌داری شده در تانک سیاه رنگ مشاهده گردید (Bayrami et al., 2016).

در مطالعه‌ی دیگری که بر روی کپور معمولی انجام شد، رنگ‌های مختلف پس‌زمینه اختلاف معنی‌داری را در میزان کلسترول و تری گلیسیرید خون بین تیمارهای مختلف نشان ندادند و هیچ تفاوتی بین رنگ‌های سفید، سبز و سیاه مشاهده نگردید (Papoutsoglou et al., 2000). بالا بودن میزان تری گلیسیرید در ماهیان موجود در تانک زرد رنگ می‌تواند به دلیل کم بودن فعالیت بچه ماهیان در این تیمار باشد. در مطالعه حاضر میزان ملاتونین در ماهیان موجود در آکواریوم‌های قرمز و زرد رنگ بالاتر از سایر تیمارها بود، با توجه به نقش تغییرات شبانه‌روزی بر روی پارامترهای هماتولوژیک و ایمنی و همچنین تأثیر سطوح ملاتونین بر پارامترهای ایمنی نظیر کمپلمان و لیزوزیم (Tort et al., 1998) می‌توان بیان کرد که ماهیان این تیمارها دارای سطوح بالاتری از ایمنی بوده‌اند که البته با توجه به پایین‌تر بودن سطح استرس، بالا بودن سطح ملاتونین در این تیمار دارای توجیه می‌باشد. اختلاف نتایج با تحقیقات

دیگر ممکن است مربوط به تأثیر کورتیزول، سن، مرحله تکاملی، گونه ماهی و نرخ متابولیکی حیوان باشد (Mommensen et al., 1990).

با توجه به نتایج فاکتورهای رشد، خون‌شناسی، استرس و بیوشیمیایی سرم به نظر می‌رسد ماهی اسکار در تیمار تانک با رنگ قرمز وضعیت مطلوب تری نسبت به سایر تیمارهای رنگی دارد که ممکن است به دلیل سازگاری بیشتر و بهتر فیزیولوژیک ماهی با این رنگ باشد. به نظر می‌رسد برای روشن‌تر شدن واکنش ماهی به رنگ تانک و طیف‌های نوری، تحقیقات بیشتر بر روی پاسخ آنزیم‌های اکسیداتیو و بیان ژن درگیر در رشد و استرس ضروری است.

سپاسگزاری

بدینوسیله نویسندگان این مقاله از تمامی کسانی که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

۱. اکبریان، ح.، نویریان، ح.ع.، بانی، ع.، فلاحتکار، ب.، ۱۳۹۱. اثر رنگ تانک بر عملکرد رشد و ترکیب بدن کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در شرایط پرورشی. مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱(۲)، ۱۹-۳۰.
۲. حسین نژاد جدیدی، م.، خوش خلق، م. ر.، نویریان، ح. ع.، ۱۳۹۸. اثر سطح مختلف پودر آلوئه‌ورا (*Aloe vara*) بر عملکرد رشد و شاخص‌های هماتولوژیک ماهی طلائی (*Carassius auratus*). نشریه علمی توسعه آبی پروری، ۱۳(۴)، ۳۷-۵۲.
۳. ریسی، م.، میرزاپور قهفرخی، م.، پله وریان، ع. ا.، ۱۳۹۴. شناسایی انگل‌های خارجی برخی ماهیان زینتی

- acute handling. *Aquaculture Research*, 36, 172-179.
11. Bayarri, M.J., Madrid, J.A., Sanchez-Vazquez, F.J., 2002. Influence of light intensity, spectrum and orientation on sea bass plasma and ocular melatonin. *Journal of Pineal Research*, 32, 34-40.
 12. Bayrami, A., Noverian, H.A., Sharif, E.A., 2017. Effects of background colour on growth indices and stress of young sterlet (*Acipenser ruthenus*) in a closed circulated system. *Aquaculture Research*, 48, 2004-2011.
 13. Behrens, U.D., Douglas, R.H., Sugden, D., Davies, D.J., Wagner, H.J., 2000. Effect of melatonin agonists and antagonists on horizontal cell spinule formation and dopamine release in a fish retina. *Cell and Tissue Research*, 299, 299-306.
 14. Brannas, E., Alanara, A., Magnhagen, C., 2001. The social behaviour of fish. In: Keeling, L.J., Gonyou, H.W. (Eds.), *Social Behaviour in Farm Animals*. pp. 275-304. New York: CABI publishing.
 15. Browne, C., Swan, J., Rankin, E., Calvert, H., Griffiths, S., Tytel, M., 2007. Extra-cellular heat shock protein 70 has novel functional effects on sea urchin eggs and coelomocytes. *Journal of Experimental Biology*, 210, 1275-1287.
 16. Chen, C., Wooster, G.A., Bowser, P.R., 2004. Comparative blood chemistry and histopathology of Tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin or copper sulfate. *Aquaculture*, 239, 421-443.
 17. Downing, G., Litvak, M.K., 1999. The Influence of Light Intensity on Growth of Larval Haddock. *North American Journal of Aquaculture*, 61, 135-140.
 18. Drobkin, D.R., 1945. Crystallographic and optical properties of human hemoglobin: a proposal for the standardization of hemoglobin. *The American Journal of the Medical Sciences*, 209, 268-270.
 19. Goos, H.J.T., Consten, D., 2002. Stress adaptation, cortisol and pubertal development in the male common carp, *Cyprinus carpio*. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 197, 105-116.
- استان اصفهان. مجله علمی شیلات ایران، ۲۴(۲)، ۹۵-۸۷
۴. سوداگر، م.، ذوالفقاری، م.، جافر نوده، ع.، ۱۳۹۱. اثرات رنگ مخزن پرورشی بر رشد و الگوی رنگی پوست ماهی گویی (*Poeciliareticolata*). مجله بهره برداری و پرورش آبزیان، ۱(۲)، ۱۸-۱.
 ۵. شاهکار، ع.، خارا، ح.، سوداگر، م.، ۱۳۸۸. بررسی اثر رنگ تانک پرورش روی رشد و بازماندگی لارو ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*). Kamensky 1901. نشریه علوم زیستی، ۳(۲)، ۳۷-۴۵
 ۶. کمالی، م.، جرجانی، س.، قلیچی، ا.، ۱۳۹۷. تأثیر فلفل قرمز (*Capsicum annum*) و زنجبیل (*Zingibe rofficinale*) بر شاخص‌های رشد، تغذیه، بازماندگی و ترکیب لاشه ماهی اسکار *Astronotus ocellatus*. نشریه توسعه آبی پروری، ۱۲(۴)، ۱۲۰-۱۰۷
7. Alishahi, M., Karamifar, M., Mesbah, M., Zarei, M., 2014. Comparison of the effect of astaxanthin and (*Dunaliella salina*) algae on skin carotenoid, lipid peroxidation and coloration of (*Heros severus*). *Journal of Veterinary Research*, 69, 95-102.
 8. Baquero, J., 2001. The trade of ornamental fish from the Philippines. In N.L. Chao, P. Petry, G. Prang, L. Sonneschein, M.F. Tlusty, (Eds.), *Conservation and management of ornamental fish resources of the Rio Negro Basin*, pp. 298-301, Manaus, Brazil: Amazonia
 9. Barros, M.M., Lim, C., Klesius, P.H., 2002. Effect of iron supplementation to Cottonseed meal diets on growth performance of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of Applied Aquaculture*, 10, 65-86.
 10. Barton, B.A., Ribas, L., Acerete, L., Tort, L., 2005. Effects of chronic confinement on physiological responses of juvenile gilthead sea bream, *Sparus aurata* L., to

- Cell and Developmental Biology, 24, 516-528.
28. Mazeoud, M.M., Mazeoud, F., Donaldson, E.M., 1977. Primary and secondary effect of stress in fish: Some new data with a general review transaction of American fisheries Society, 106, 201-212.
 29. Mommsen T., Vijayan M., Moon, T., 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. Fish Biology and Fisheries, 9, 211-268.
 30. Morales, A.E., Cardenete, G., Abellan, E., Garcia-Rejon, L., 2005. Stressrelated physiological responses to handling in common dentex (*Dentex dentex* Linnaeus, 1758). Aquaculture Research, 36, 33-40.
 31. Munoz, J.L., Ceinos, R.M., Soengas, J.L., Míguez, J.M., 2009. A simple and sensitive method for determination of melatonin in plasma, bile and intestinal tissues by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. Journal of Chromatography, 877, 2173-2177.
 32. Okomoda, V. T., Tiamiyu, L., Wase, G., 2017. Effects of tank background colour on growth performance and feed utilization of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) fingerlings. Croatian Journal of Fisheries, 75, 5-11.
 33. Olsen, Y.A., Einarsdottir, I.E., Nilssen, K.J., 1995. Metomidate anaesthesia in Atlantic salmon, *Salmo salar*, prevents plasma cortisol increase during stress. Aquaculture, 134, 155-168.
 34. Oliver, K., 2003. World trade in ornamental species. In J.C.Cato & C.L. Brown (Eds.), Marine Ornamental Species: Collection, Culture and Conservation, pp. 49-63. Ames, IA: Blackwell.
 35. Papoutsoglou, S.E., Mylonakis, G., Miliou, H., Karakatsouli, N.P., Chadio, S., 2000. The effect of background colour on growth performances and physiological responses of scaled carp (*Cyprinus carpio* L.) reared in a closed circulated system. Aquacultural Engineering, 22, 309-318.
 36. Papoutsoglou, S.E., Karakatsouli, N., Chiras, G., 2005. Dietary L-tryptophan and tank colour effects on growth performance
 20. Harder, T., Summerfelt, R.C., 1996. Effects of tank color and size on success of training walleye fingerlings to formulated feed, pp. 631-636 In: Libey, G.S., Timmons, M.B. (eds) Successes and failures in commercial recirculating aquaculture, vol. 2. NRAES-98, Cornell University, Ithaca, New York, USA.
 21. Hoglund, E., Kolm, N., Winberg, S., 2001. Stress-induced changes in brain serotonergic activity, plasma cortisol and aggressive behavior in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) is counteracted by LDOPA. Physiology & Behavior, 74, 381-389.
 22. Jobling, M., 1994. Fish Bioenergetics. Chapman and Hall, London, 300 p.
 23. Karakatsouli, M., Papoutsoglou, S., Manoleosos, E., 2007. Combined effects of rearing density and tank colour on the growth and welfare of juvenile White Sea bream (*Diplodus sargus*) in a recirculating water system. Aquaculture Research, 38, 1152-1160.
 24. Karakatsouli, N., Papoutsoglou, S.E., Pizzonia, G., Tsatsos, G., Tsopelakos, A., Chadio, S., Kalogiannis, D., Dalla, C., Polissidis, A., Papadopoulou-Daifoti, Z., 2007. Effects of light spectrum on growth and physiological status of gilthead seabream *Sparus aurata* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* reared under recirculating system conditions. Aquacultural Engineering, 36, 302-309.
 25. Kenneth, W.H., Dallas, H.W., Willis, H.J., Emory, 1990. The History, Physical, and Laboratory Examinations. University School of Medicine, Atlanta, Georgia. Boston: Butterworths; Clinical Methods, 3rd edition 1990. ISBN: 0-409-90077-X.
 26. Luo, G., Xu, J., Teng, Y., Ding, C., & Yan, B., 2010. Effects of dietary lipid levels on the growth, digestive enzyme, feed utilization and fatty acid composition of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus* L.) reared in freshwater. Aquaculture research, 41(2), 210-219.
 27. Maan M.E., Sefc K.M., 2013. Colour variation in cichlid fish: developmental mechanisms, selective pressures and evolutionary consequences. Seminars in

46. Ullmann, J.F.P., Gallagher, T., Hart N.S., Barnes, A.C., Smullen, R.P., Collin, S.P., Temple, S.E., 2011. Tank color increases growth, and alters color preference and spectral sensitivity, in barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*, 322, 235-240.
47. Velisek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodova, Z., Dobsikova, R., Novotny, L., Dudzik, M., 2006. Effects of cypermethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinarni Medicina*, 51, 469-472.
- of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles reared in a recirculating water system. *Aquacultural Engineering*, 32, 277-284.
37. Řehulka, J., 2000. Influence of astaxanthin on growth rate, condition and some blood indices of rainbow trout. *Aquaculture*, 190, 27-47.
38. Rottland, J., Tort, L., 1997. Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. *Journal of Fish Biology*, 51, 21-28.
39. Ruchin, A.B., 2005. Influence of colored light on growth rate of juveniles of fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 30, 175-178.
40. Sabri, D.M., Danasoury, M.A., Eissa, I.A.M., Khouraba, H.M., 2009. Alterations in serum protein fractions and Na⁺-K⁺-ATPase activity in *Clarias gariepinus* infested with henneguyosis in Ismailia, Egypt. *African Journal of Aquatic Science*, 34(1), 103-107.
41. Sabri, D.M., Elnwishy, N., Nwonwu, F., 2012. Effect of environmental color on the behavioral and physiological response of Nile tilapia, *Oreochromis niloticuss*. *Global Journal of Science Frontier Research Biological Sciences*, 12, 1-11.
42. Santos, M.A., Pacheco, M., 1996. *Anguilla Anguilla* L. stress biomarkers recovery in clean water and secondary treated pulp mill effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 35, 96-100.
43. Scherek, C.B., Contreas-Sanches, W., Fitzpatrick, M.I., 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality and progeny. *Aquaculture*, 197, 3-24.
44. Sebesta, R., Stejskal, V., Matousek, J., Lundova, K., 2018. The effect of light intensity and tank wall colour on survival and growth of Peled *Coregonus peled* Gmelin 1788 larvae. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic sciences*, 19, 541-549.
45. Svobodová, Z., Pravda, D., Paláčková, J., 1991. Unified methods of haematological examination of fish. *Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Vodňany*, pp. 31.