استخدام المستخلص المائي لجوزة الطيب *Myristica fragrans* Houtt في تخدير صغار أسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L.

خالدة سالم النعيم[1*]، قصي حامد الحمداني[2]، فاطمة عبد الحسين محمد[3]
[1] وحدة الاستزراع المائي، كلية الزراعة، جامعة البصرة؛ [2] مركز علوم البحار، جامعة البصرة؛
[3] قسم الاسماك والثروة البحرية، كلية الزراعة، جامعة البصرة
*Email: kalidah_salim@yahoo.com

USING AQUEOUS EXTRACT OF *Myristica fragrans* HOUTT FOR ANAESTHESIA OF COMMON CARP (*Cyprinus carpio* L.) FRY

Khalidah S. Al-Niaeem[1]*; Qusay H. Alhamadany[2] and Fatima A. Mohammed[3]
[1] Unit of Aquaculture, College of Agriculture, University of Basrah, Basrah, Iraq
[2] Marine Science Center, University of Basrah, Basrah, Iraq
[3] Department of Fisheries and Marine Resources, College of Agriculture, University of Basrah; Basrah, Iraq

*Corresponding author: kalidah_salim@yahoo.com

الخلاصة

استعملت التراكيز (300 و400 و500) ملغم/ لتر من المستخلص المائي لجوزة الطيب (Nutmeg) *Myristica fragrans* كبديل لمادة MS-222 لتخدير صغار أسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* بمعدل وزن (8.01 ± 1.21) غم ومعدل طول كلي (8.05 ± 1.18) سم، إضافة إلى مشاهدة سلوكها خلال التخدير. بينت النتائج أن للمستخلص المائي لجوزة الطيب تخديراً جزئياً وكلياً على صغار أسماك الكارب الشائع وكانت العلاقة عكسية بين التركيز المستخدم ووقت الوصول إلى التخديرين الجزئي والكلي في حين كانت العلاقة طردية ما بين التركيز المستعمل ووقت الوصول إلى الإفاقة الكلية للأسماك، وإن أفضل النتائج تحققت باستعمال التركيز 500 ملغم/ لتر، إذ تراوح معدل وقت التخدير الجزئي (9.16 ± 0.75) دقيقة، وبلغ معدل وقت التخدير الكلي (13.83 ± 0.40) دقيقة، أما معدل وقت الإفاقة الكلية فكان (31.3 ± 1.21) دقيقة. أظهرت المشاهدات السلوكية للأسماك تبايناً تراوح من بطئ في السباحة مع زيادة سريعة للحركات التنفسية بين فترة واخرى إلى سباحة السمكة بشكل عمودي في الماء وقريباً من السطح وصولاً إلى إضطجاع السمكة على القاع وتباطئ التنفس بشدة. لم تظهر اختلافات معنوية ($p>0.05$) لتركيز الكلوكوز في بلازما الدم للأسماك بعد حالة الإفاقة الكلية مقارنةً بأسماك السيطرة، وهذا يدل على عدم تعرض الاسماك الى الاجهاد نتيجة تخديرها بالمستخلص المائي لجوزة الطيب.

ABSTRACT

Extracted solution of nutmeg *Myristica fragrans* with three concentrations (300, 400 and 500 mg/l) were used to stupefaction small common carp *Cyprinus carpio* (8.05 cm length and 8.01 gm weight). Results shown that extracted solution of nutmeg have partial and overall stupefaction on small common carp with inverse relationship between the concentrations and the time needed for reached partial and overall stupefaction, and also direct relationship between concentrations and time needed for fish recovery. The best results obtained from concentration of 500 mg/l, where time for partial stupefaction was (9.16±0.75) min., time for overall stupefaction was (13.83±0.40) min. and time needed for overall recovery (31.3±1.21) min. Fish behavior observations revealed differentiation ranging from slow swimming with increasing in breathing rate to vertical swimming near the surface, then laying down at the bottom and decrease in breathing rate too much. Results appeared that

there aren't significant differences ($p>0.05$) between glucose concentration in blood plasma of fish after recovery and controlled fish, so it was concluded that these fishes don't stressed during stupefaction using nutmeg extracted solution.

المقدمة INTRODUCTION

تتعرض الأسماك إلى حالات الإجهاد خلال ظروف النقل والصيد والإزدحام العالي والبيئة المحددة والإختلاف في نوعية المياه وبالذات نقص الاوكسجين الذائب (1 و2)، وهذا له تأثير واضح على الحالة الفسلجية ومعدل بقاء الأسماك (3)، مما يؤدي إلى تفشي الأمراض في مزارع الأسماك وبالتالي التسبب في خسائر كبيرة في إنتاج الأسماك المستزرعة (4). أشار كل من Mylonas *et al.*(5) و Weber *et al.* (6) إلى أن استعمال المواد المخدرة مفيد جداً في تقليل الإجهاد خصوصاً خلال هذه العمليات، أوضح Matin *et al.* (7) بأنها تفيد ايضاً في تقليل الوفيات الناتجة عن عمليات النقل والتداول فضلاً عن التقليل من قابلية الإصابة بالأمراض، وكذلك يستخدم التخدير للأسماك خلال عمليات التكثير الإصطناعي والوزن والتعليم والتدريج وأخذ عينات الدم والمعالجة الصحية.

التخدير حالة تمنع الشعور بالألم والأحاسيس الأخرى ويحدث بتأثير مواد مختلفة مثل المواد المسكنة (Analgesia) أو المواد المنومة (Hypnosis) أو مواد الاسترخاء (Relaxation) وهذه الاخيرة هي من تمنع الحركة غير المطلوبة أو الحركة النشطة للعضلات وهو المقصود في مجال تخدير الأسماك (8). يعمل التخدير على تثبيط النشاط اللاإرادي وتقليل انقباض العضلات، لذا فالجرعات العالية أو بقاء الأسماك لفترة طويلة في المخدر ستؤدي إلى انهيار في عملية التنفس والدوران (9). إن الانخفاض الكبير في فعالية التنفس يعد مؤشراً مهماً على وجوب ايقاف التخدير (10).

أوضح Hoseini and Ghelichpour (11) ان معرفة التركيز المناسب الواجب استخدامه في التخدير يعتبر ضروري جداً لأن الزيادة في تقدير الجرعة سيعود بتأثير معاكس، وأشار الباحثان إلى أن أكثر المواد شيوعاً المستعملة في التخدير هي (MS222 (Tricaine methanesulfonate) وBenzocaine وEtomidiate، وMetomidiate و 2 Phenoxiethanole وEquinaldine و Equinaline Sulphate).

تم التوجه في السنوات الأخيرة إلى مواد التخدير المستخلصة من الأعشاب الطبية مثل زيت القرنفل (clove oil) المستخلص من سيقان وأوراق وبراعم نبات القرنفل (12 و13) والمستخلص المائي لنبات الحرمل (*Peganum harmala*) (14). أشار Gilderhus and Marking (15) بأن المواد المستعملة في التخدير يجب أن تمتاز بثلاث مميزات وهي أن تكون فعالة ومستوفية لشروط السلامة ورخيصة الثمن، وهذه المميزات يجب أن تكون معززة بقدرتها على تخدير الأسماك خلال 3- 15 دقيقة. يعتمد تأثير مادة التخدير للأسماك على عدة عوامل كدرجة حرارة الماء وحجم السمكة ونوعها (16). تهدف الدراسة الحالية إلى استخدام مواد طبيعية مثل جوزة الطيب لبيان مدى كفاءتها في تخدير صغار أسماك الكارب الشائع، وبيان مدى تأثير مستخلص جوزة الطيب عل اجهاد الأسماك المخدرة عن طريق قياس تركيز الكلوكوز في بلازما الدم.

مواد العمل وطرائقه MATERIALS and METHODS

تم جلب أسماك الكارب الشائع من أحواض مركز علوم البحار- جامعة البصرة وبمعدل وزن (8.01 ± 1.21) غم ومعدل طول كلي (8.05 ± 1.18) سم. وضعت الأسماك في المختبر لمدة 72 ساعة لأقلمتها في أحوض زجاجية ذات ابعاد (30x30x50) سم، وكانت درجة حرارة الماء 24^{0}م، واستخدمت ساعة توقيت لأقرب دقيقة. أخذت كمية مناسبة من نبات جوزة الطيب وطحنت جيداً باستعمال مطحنة كهربائية، ثم حضرت التراكيز المطلوبة في التجربة (300 و400 و500) ملغم/ لتر بعد إذابتها بالماء الساخن، وتركها لمدة ساعة لإستخلاص المواد الفعالة الكلية (17) والمحورة من قبل Al-Niaeem (18) بعدها تم تهيئة أحواض زجاجية اخرى لإجراء تجارب التخدير ابعادها (24 x 14 x 10) سم (جدول 1). استخدمت ستة أسماك في كل تركيز لإجراء تجارب التخدير مع مراقبة سلوك الأسماك بعد وضعها في أحواض التخدير مباشرة وتسجيل المشاهدات مع كل تركيز وتشمل نشاط السمكة وحركة الغطاء الخيشومي ووضع جسم السمكة داخل الماء والوصول إلى حالة الإجهاد الجزئي بالإضافة إلى الوصول إلى حالة الإجهاد الكلي. تم قياس تركيز الكلوكوز في بلازما الدم باستخدام العدة المختبرية الجاهزة من قبل شركة Biomaghreb الفرنسية الصنع بجهاز المطياف الضوئي على طول موجي 505 نانومتر ووفق المعادلة الآتية:

تركيز الكلوكوز (ملغم/ 100 مل)= (قراءة العينة/ القراءة القياسية) × 10

جدول (1): مواصفات أحواض تجارب التخدير لأسماك الكارب الشائع.

Table (1): The characteristics aquariums used for anaesthesia experiments of common carp.

أحواض تجارب التخدير	الكمية أو العدد
كمية الماء (سعة الحوض)	2.5 لتر
عدد الأحواض المستخدمة للتجربة	3
عدد المكررات لكل معاملة	3
عدد الأسماك في كل حوض	2

النتائج RESULT

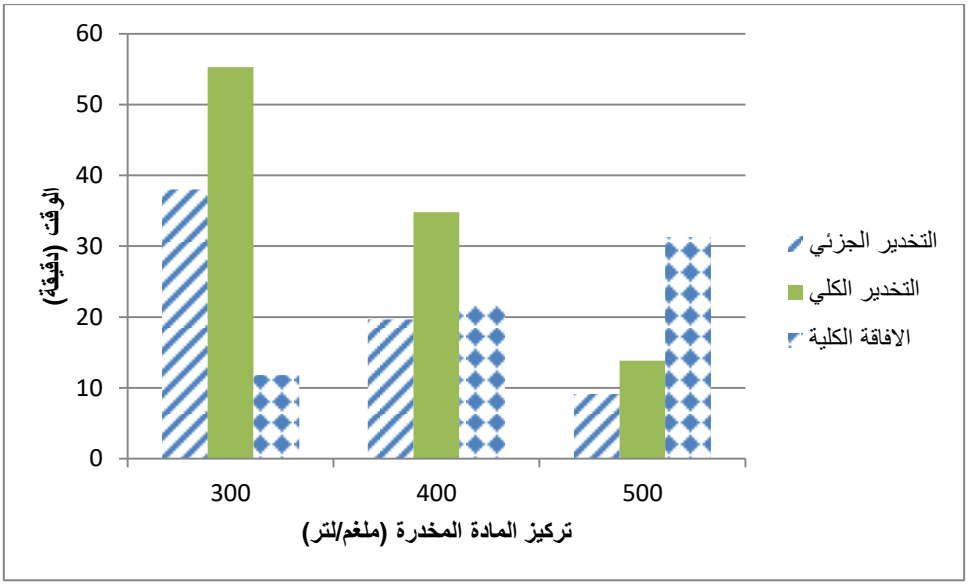
اظهرت جميع التراكيز المستخدمة تخديراً جزئياً وكلياً على الأسماك مع تباين في وقت حصول التخدير الجزئي والكلي والإفاقة الكلية، إذ سجل التركيز 500 ملغم/ لتر افضل وقت للتخدير الكلي والإفاقة الكلية، فيما تميز التركيز 300 ملغم/ لتر بطول الفترة للوصول إلى التخدير الجزئي والتخدير الكلي ولكن فترة الإفاقة الكلية كانت هي الأقصر بين التراكيز المستخدمة للمستخلص المائي لجوزة الطيب، وعلى العموم وجدت فروقات معنوية ($p<0.05$) في التخدير الجزئي والكلي وفي الافاقة الكلية لأسماك الكارب الشائع بين التراكيز المستعملة الثلاث (جدول 2). يبين الشكل (1) العلاقة العكسية بين التركيز المستخدم ووقت الوصول الى التخدير الجزئي والتخدير الكلي في حين كانت العلاقة طردية ما بين التركيز المستخدم ووقت الوصول إلى حالة الإفاقة الكلية لأسماك الكارب الشائع.

جدول (2): أوقات التخدير الجزئي والكلي والإفاقة الكلية عند استعمال تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لجوزة الطيب في تخدير صغار أسماك الكارب الشائع.

Table (2): The times of partial and overall anesthesia with recovery time at different concentrations of nutmeg aqueous extract concentrations for small common carp.

التركيز ملغم/ لتر	التخدير الجزئي (دقيقة)	التخدير الكلي (دقيقة)	الإفاقة الكلية (دقيقة)
300	38	55	11
	39	54	12
	37	56	13
	39	57	11
	38	54	12
	37	56	12
المعدل	a 0.89±38	a 1.21 ± 55.3	a 0.75 ± 11.83
400	20	35	23
	19	35	21
	21	35	20
	20	36	22
	19	34	23
	19	34	21
المعدل	b 0.82± 19.67	b 0.75± 34.83	b 1.21 ± 21.67
500	9	14	30
	10	14	32
	8	13	31
	9	14	33
	10	14	32
	9	14	30
المعدل	c 0.75 ± 9.16	c 0.40 ± 13.83	c 1.21 ± 31.3

الأحرف المختلفة في العمود الواحد تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية 0.05.



شكل (1) تأثير استعمال تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لجوزة الطيب في معدلات التخدير الجزئي والكلي والافاقة الكلية لصغار اسماك الكارب الشائع.

Figure (1) Effects of different concentrations for nutmeg aqueous extract on partial anesthesia, overall anesthesia and recovery times.

أظهرت المشاهدات السلوكية للأسماك تبايناً تراوح من بطئ في السباحة مع زيادة سريعة للحركات التنفسية بين فترة واخرى إلى سباحة السمكة بشكل عمودي في الماء وقريباً من السطح وصولاً إلى إضطجاع السمكة على القاع وتباطئ التنفس بشدة (جدول 3). لم تظهر اختلافات معنوية ($p>0.05$) لتركيز الكلوكوز في بلازما الدم للأسماك بعد حالة الإفاقة الكلية مقارنتاً بأسماك السيطرة (جدول 4).

جدول (3) المشاهدات السلوكية المسجلة حول تأثير التراكيز المختلفة للمستخلص المائي لجوزة الطيب على صغار اسماك الكارب الشائع.

Table (3): The behavioral observations of small common carp due different concentrations of nutmeg aqueous extract.

التركيز المستخدم (ملغم/ لتر)	المشاهدات السلوكية
300	1. بطئ في السباحة مع زيادة سريعة للحركات التنفسية بين فترة واخرى وذلك بعد مرور دقيقتين من التخدير. 2. حدث التخدير الجزئي بعد مضي 38 دقيقة. حركات سريعة وباتجاهات مختلفة والهروب عند محاولة الإمساك بها. فقدان التوازن وعدم الحفاظ على الوضع الطبيعي للسباحة. زيادة في عدد حركات الغطاء الغلصمي بشكل كبير ثم تبدأ بالانخفاض. السباحة تكون بشكل دائري وعلى جوانب الحوض. انخفاض في حركة الزعنفة الذنبية. 3. حدث التخدير الكلي بعد 55.3 دقيقة. استقرار الأسماك في قاع الحوض وحركات موضعية بسيطة وسهولة الامساك بها. يكون وضع الأسماك في قاع الحوض بوضع جانبي. انخفاض كبير جدا في حركة الغطاء الغلصمي. الوصول إلى حالة الاستقرار في قاع الحوض. توقف نهائي عن السباحة. توقف في حركة الزعنفة الذنبية. 4. حصلت الإفاقة الكلية بعد 11.83 دقيقة. حركة آخر جزء توقف في التخدير الكلي وهو الزعنفة الذنبية مع بقاء الأسماك مستقرة في القاع. زيادة في حركة الغطاء الغلصمي. سباحة بطيئة جدا في البداية ثم سباحة طبيعية.
400	1. سجلت نفس المؤشرات التي شوهدت في التركيز السابق. 2- حدث التخدير الجزئي بعد 19.67 دقيقة.

	3. حدث التخدير الكلي بعد 34.83 دقيقة. 3. حصلت الإفاقة الكلية بعد 21.67 دقيقة.
500	1. سجلت نفس المؤشرات التي شوهدت في التركيزين السابقين. 2. حدث التخدير الجزئي بعد 9.16 دقيقة. 3. حدث التخدير الكلي بعد 13.83 دقيقة. 4. حصلت الإفاقة الكلية بعد 31.3 دقيقة.

جدول (4): تركيز الكلوكوز في بلازما الدم لصغار أسماك الكارب الشائع التي لم تخدر وللأسماك المخدرة بعد الإفاقة الكلية.

Table (4): Glucose concentrations in serum of un anesthetics and anesthetics small common carp after recovery.

	تركيز المستخلص المائي لجوزة الطيب (ملغم/ لتر)			
	السيطرة	**300**	**400**	**500**
تركيز الكلوكوز **(ملغم/ 100 مل)**	55.98 ± 6.08 a	57.38 ± 2.54 a	56.53 ± 3.80 a	63.13 ± 4.00 a

الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية 0.05.

المناقشة DUSCATION

استعملت مواد التخدير للتخفيف من حدة الإجهاد في الأسماك في مختلف أنشطة تربية الأحياء المائية (19)، إذ تعمل على تسهيل مختلف الإجراءات الروتينية مثل المسك والتداول والنقل ووضع العلامات والتدريج والقياسات التي غالباً ما تسبب أذى أو إجهاد فسيولوجي، ولأجل الحد من هذه التأثيرات السلبية بالإضافة إلى خفض مستويات الإجهاد ومنع الوفيات كان الحل الأمثل هو استعمال التخدير خلال اجراء هذه العمليات الروتينية في تربية الأسماك (20).

أظهر استخدام التراكيز المناسبة من المستخلص المائي لجوزة الطيب نجاحاً في تخدير الأسماك، وتعتبر جوزة الطيب من المواد الأمينة ورخيصة الثمن وذات فعالية جيدة، كما تنطبق عليها المواصفات العامة للمواد المخدرة. يعود السبب التخديري في جوزة الطيب إلى الزيت الطيار الذي يحتوي على مادة مخدرة تعرف بالميرستسين (Myristicin) وهي المادة الفعالة في جوزة الطيب ويشبه تأثير هذا المركب تأثير كل من الأمفيتامين (Amphetamine) والمسكالين (Mescaline) وهما من المواد المنبهه للجهاز العصبي المركزي القوية التأثير (21 و22).

لوحظ من خلال متابعة سلوك الأسماك في محلول التخدير لجوزة الطيب أن الأسماك مرت بثلاث مراحل عند التخدير هي، هدوء الحركة وانخفاض نشاط السمكة بشكل ملحوظ مع زيادة سرعة التنفس وظهور علامات فقدان التوازن مع محاولة الحفاظ على الوضع الطبيعي في عمود الماء وبدء السباحة العمودية مع تناقص الحركات التنفسية واخيرا الانقلاب على الجانب والانخفاض الحاد في الحركات التنفسية وهو نفس الوصف الذي ذكره Al-Jashami et al. (23) .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية علاقة طردية ما بين تركيز المادة المخدرة المستخدم ووقت حدوث التخدير الجزئي والتخدير الكلي، في حين سجل علاقة عكسية مع وقت حدوث الإفاقة الكلية وهذا يتفق مع ما بينه Sado (24) في دراسته على تأثير مادة Quinaldine على بعض أنواع أسماك البلطي وكذلك مع ما اشار اليه Hoskonen and Pirhonen (25) في دراستهما لتأثير جرع زيت القرنفل على نفس الأسماك. تتفق نتائج الدراسة الحالية أيضاً مع ما أشار اليه(25) Hoskonen and Pirhonen في دراستهما لتأثير جرع زيت القرنفل في تخدير أسماك البلطي في وجود علاقة عكسية بين وقت التخدير الكلي ووقت الإفاقة الكلية.

اتفقت نتائج الدراسة مع ما أشار اليه Booke (26) في العلاقة ما بين التركيز المستخدم من المادة المخدرة ووقت التخدير (الجزئي والكلي) للأسماك خلال دراسته على تأثير مادة MS222 على أسماك التراوت (*Oncorhynchus mykiss*) وأسماك الكارب الشائع إذ كان الوقت المسجل لأفضل تركيز مؤثر متقارباً للنوعين، كذلك حصل Sylvester and Holland (27) ايضاً على نتيجة مقاربة عند استخدام نفس المادة المخدرة (MS222) على صغار أسماك الكارب الشائع مع ملاحظة الاختلاف في التراكيز المستخدمة.

تعدُّ نسبة الكلوكوز في الدم في أي وقت مؤشراً وظيفياً لعدة عوامل مثل الغذاء والعمر والموسم والإجهاد، ولذلك يعدّ الكلوكوز في بلازما الدم عامل مهم، لم يختلف تركيز الكلوكوز في الدراسة الحالية في أسماك الكارب الشائع بعد الإفاقة الكلية مقارنة بمعاملة السيطرة وهذه نتيجة ايجابية تدلل ان الأسماك لم تعاني من الاجهاد نتيجة استخدام المادة المخدرة (28).

المصادر REFRENCE

1. Zahl, I. H.; Samuelsen, O. and Kiessling, A. (2012). Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. Fish Physiol. Biochem., 38: 201-218.
2. Hurst T. P. (2007). Causes and consequences of winter mortality in fishes. J. Fish Biol., 71: 315-345.
3. Harmon, T. S. (2009). Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. Rev. Aqua., 1: 58-66.
4. Davis, M. W. (2010). Fish stress and mortality can be predicted using reflex impairment. Fish and Fisheries, 1-11.
5. Mylonas, C. C.; Cardinaletti, G. S. I. and Polzonetti, M. A. (2005) Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anaesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*) at different temperatures. Aquaculture, 24(6): 467-481.
6. Weber, R. A.; Peleteiro, J. B.; García Martín, L. O. and Aldegunde, M. (2009). The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858). Aquaculture, 288: 147-150.
7. Matin, S. M. A.; Hossain, M. A. and Hashim, M. A. (2009). Clove oil anaesthesia in singhi (*Heteropneustes fossilis*) and lata (*Channa punctatus*) fish, Bangladesh. Vet., 26: 68-73.
8. Alvarez-Lajenchere, L. and Moreno, B. G. (1982). Effects of some anesthetic on post larvae of *Mugil trichodon* poey (Pisces, Mugillidae) for their transportation. Aquaculture, 28: 385-390.
9. Tytler, P. and Hawkins, A. D. (1981). Vivisection, anaesthetics and minor surgery. In: Hawkins A. D. (ed.). Aquarium systems. Academic Press, New York, NY, USA, 247-278.
10. Dziaman, R.; Kyszejko, B. and Hajek, G. (2005). The effects of MS-222 on the cardiac and respiratory function and behaviour of common carp, *Cyprinus carpio* L., during general anaesthesia. Acta Ichthyologica et Piscatoria, 35: 125–131.
11. Hoseini, S. M. and Ghelichpour, M. (2012). Efficacy of clove solution on blood sampling and hematological study in beluga, *Huso huso* (L.). Fish Physiol. Biochem., 38: 493-498.
12. Wagner, G. N.; Singer, T. D. and McKinley, S. R. (2003). The ability of clove oil and MS-222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Aqua. Res., 34: 1139-1146.
13. Inversen, M.; Finstad, B.; McKinley, R. S. and Eliassen, R. A. (2003). The efficacy of etomidate, clove oil, Aqui-STM and Benzoak® as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)

21. Asghar, K. and De Souza, E. (1989). Pharmacology and toxicology of amphetamine and related designer drugs. U. S. Government Printing Office Washington, 365 pp.
22. Kalam, M. A.; Klein, M. T.; Hulsey, D.; Trout, K.; Daley, P. and Terry, M. (2013). Mescaline concentrations in small regrowth crowns vs. mature adult crowns of *Lophophora williamsii* (Cactaceae): cultural, economic, and conservation implications. Journal of the Botanical Institute of Texas, 7: 435-440.
23. Al-Jashami, K.J.; Al-Biaty, N.M.; Al-Obeady, H.J. & Al-Jebury, A.G. (2002). New anaesthetic for common carp, *Cyprinus carpio* (L.) fish. Iraqi J. Agric., 7(1, Spec. Issue): 111-116. (In Arabic).
24. Sado, E. K. (1985). Influence of the anaesthetic quinaldine on some tilapias. Aquaculture, (46): 55-62.
25. Hoskonen, P.; Pirhonen, J. (2006). Effects of repeated handling, with or without anesthetics, on feed intake and growth in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (walbaum). Aquaculture, 37(4): 409-415.
26. Booke, H. E.; Holland, B. and Lutterbie, G. (1978). Sodium becarbonate, an inexpensive fish anaesthetic for field use. The prog. Fish culture, 40 (1): 11-13.
27. Sylvester, J. R. and Holland, L. E. (1982). Influence of temperature hardness and stocking densities of fish. Prog. Fish- Cult., (44): 138-141.
28. Martinz-Porchas, P; Martinez-Cordova, L. R. and Ramos-Enriquez, R. (2009). Cortisol and glucose: Reliable indicators of fish stress. Pan-Am. J. Aqua. Sci., 4(2): 158-178.

smolts, and their potential stress-reducing capacity. Aquaculture, 221: 549-566.
14. Abdel-Fattah, A. F. M.; Matsumoto, K. and Murakami, Y. (1997). Centeral Serotonin level-dependent changes in body temperature following administration of tryptophan to party-liner- pretreated rats. Gen. pharmacol., 28: 405-409.
15. Gilderhus, P. A. and Marking, L. L. (1987). Comparative efficacy of 17 anaesthetic chemicals on rainbow trout. North American J. Fish Manag., 7: 288-292.
16. Soto, C. G. and Burhanuddin, S. (1995). Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbit fish (*Siganus lineatus*). Aquacul., 135: 149-152.
17. Twaij, H. A. A.; Kery, A. & Al-Khazragi, N. K. (1983). Some pharmacological, toxicological and photochemical investigation on Centaure phyllocephala. J. Ethopharmacol., 9: 47-52.
18. Al-Niaeem, K.S.K. (2006). Infection distribution of fish parasites in Basrah province and pathological effects of *Saprolegnia* sp. and its susceptibility to some plant extracts. Ph. D. Thesis, Coll. Agric., Univ. Basrah: 172 pp. (In Arabic).
19. Neiffer, D. L. and Stamper, M. A. (2009). Fish sedation, anesthesia, analgesia, and euthanasia: considerations, methods, and types of drugs. ILAR J., (50): 343-360.
20. Gholipour, k. H.; Mirzargar, S. S.; Soltani, M.; Ahmadi, M; Abrishamifar, A; Bahonar, A. and Yousefi, P. (2011). Anesthetic effect of tricaine methanesulfonate, clove oil and electro anesthesia on lysozyme activity of *Oncorhynchus mykiss*. Iranian J. of Fish. Sc., (10): 393-402.