



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره ششم، شماره دوم، تابستان ۹۷

<http://jair.gonbad.ac.ir>

اثرات استفاده از عصاره ریشه گیاه سنبل الطیب (*Valeriana officinalis*) ضمن حمل و نقل بر درصد بقا و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

عباسعلی حاجی بگلو^{۱*}، محمد سوداگر^۲

^۱استادیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی

و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^۲دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی

و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ ارسال: ۹۵/۵/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۱۶

چکیده

در این تحقیق اثرات استفاده از عصاره ریشه گیاه سنبل الطیب (*V. officinalis*) در آب، در طول مدت حمل و نقل بر فاکتورهای کیفی آب، برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون و درصد بقا در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور ۲۴ کیسه پلاستیکی که ۱۲ کیسه فاقد عصاره (گروه A یا شاهد) و ۱۲ کیسه دیگر حاوی آب با ۵۰ میلی‌گرم عصاره در لیتر (گروه B) بود ماهی دار شدند. مدت‌زمان حمل و نقل ۱۶ ساعت در نظر گرفته شد. هر ۴ ساعت ۳ کیسه از هر یک از گروه‌های A و B به‌صورت تصادفی انتخاب شده و مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که در کل دوره آزمایش، اختلاف معنی‌داری از نظر pH، اکسیژن محلول، میزان آمونیاک و دمای آب بین گروه‌های A و B مشاهده نشد. سطح گلوکز و کورتیزول سرم خون در کل دوره آزمایش در گروه B به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه A بود. همچنین درصد بقا در گروه B به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه A مشاهده شد. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از عصاره ریشه گیاه سنبل الطیب می‌تواند در کاستن استرس در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) نقش مؤثری داشته باشد. بنابراین استفاده از عصاره این گیاه در آب، در هنگام حمل و نقل ماهی پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: *O. mykiss*، بقا، کورتیزول، سنبل الطیب

*نویسنده مسئول: alihajibeglou@yahoo.com

مقدمه

به‌طور کلی ماهیان در شرایط پرورشی در معرض تغییرات محیطی و عوامل مختلف استرس‌زا از قبیل دستکاری، تراکم بالا، حمل و نقل یا جابجایی و تغییر کیفیت آب قرار دارند (Möck and Peters, 1990). حمل و نقل ماهی به‌ویژه جابجایی ماهی زنده یک عامل استرس‌زای بسیار مهم محسوب می‌گردد. حمل و نقل ماهی زنده جزء لاینفک در صنعت پرورش ماهی قزل آلا به‌شمار می‌آید. به نحوی که حمل و نقل ماهی می‌تواند سبب تلفات آن نیز شود (Lim *et al.*, 2003; Pramod *et al.*, 2010). روش‌های مختلفی برای کاستن اثرات نامطلوب استرس ناشی از حمل و نقل ماهی وجود دارد؛ کاهش دمای آب (Phillips and Brockway, 1954; Lim and Chua, 1993; Lim *et al.*, 2003)، استفاده از ترکیبات بیهوش‌کننده (Takashima *et al.*, 1983; Guo *et al.*, 1995)، برخی داروها (Ling *et al.*, 2000)، رزین (Bower and Turner, 1982; Lim and Chua, 1993) و پروبیوتیک‌ها (Gomes *et al.*, 2009) در آبی که برای حمل و نقل ماهی استفاده می‌شود از جمله این موارد هستند. از این میان گیاهان منابع غنی، مطمئن و ارزان قیمت‌تری نسبت به ترکیبات شیمیایی هستند. همچنین منابع گیاهی اغلب غیرسمی و دوستدار طبیعت بوده و همچنین قابلیت بازگشت به طبیعت را دارا هستند (Farag *et al.*, 1989; Citarasu *et al.*, 2002; Sağdıç and Özcan, 2003). برخی گیاهان بسیار غنی از انواع روغن‌های فرار، ساپونین‌ها، ترکیبات فنولی، آلکالوئیدها، پلی‌پتیدها و انواع پلی‌ساکاریدها هستند. خواص گوناگونی برای ترکیبات گیاهی گزارش شده است که می‌توان به خواص ضد استرس، اشتهاآور، ضد میکروب و تقویت‌کننده سیستم ایمنی اشاره کرد (Citarasu *et al.*, 2002; Citarasu *et al.*, 2003). یکی از گیاهان دارویی که انسان‌ها از هزاران سال قبل تاکنون برای درمان برخی بیماری‌ها از جمله استرس و فشارهای روحی استفاده می‌کردند گیاه سنبل الطیب می‌باشد (Gomes *et al.*, 2008). در مجموع هدف از این تحقیق اندازه‌گیری فاکتورهای کیفی آب، سطح گلوکز و کورتیزول خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طی حمل و نقل به‌منظور بررسی خواص ضد استرس و آرام‌بخش عصاره ریشه گیاه سنبل الطیب (*Valeriana officinalis*) بود.

مواد و روش‌ها

بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) با میانگین وزن 0.42 ± 8 گرم از کارگاه تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلا (استان گلستان، شهر فاضل‌آباد، شرکت آبی‌پروران کتول) تهیه شدند. ماهی‌ها در یک مخزن ۵۰۰ لیتری با یک جریان مداوم آب و هوادهی به‌مدت ۱۰ روز نگهداری شدند. در طول این مدت ماهیان روزانه به میزان $3/3$ وزن بدن با خوراک تجاری (شرکت ۲۱ بیضاء، شیراز، ایران) تغذیه شدند. به‌علاوه ۲۴ ساعت قبل از زمان آغاز حمل و نقل، ماهی‌ها قطع غذادهی شدند.

ریشه‌های گیاه سنبل الطیب (*V. officinalis*) پس از تهیه شسته شده و به مدت ۳ شبانه روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس آسیاب شدند. پودر به دست آمده در اتانول ۷۰ درصد (با نسبت حجمی ۱:۱) به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد (Eloff, 1998; Citarasu *et al.*, 2006; Punitha *et al.*, 2008). سپس مخلوط حاصل از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد. محلول صاف شده حاصل با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخشی (Rotary evaporator, IKA® HB10 basic, China) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به نصف حجم اولیه تغلیظ شد. در نهایت عصاره حاصل با استفاده از دستگاه خشک کن انجمادی (Freeze Drier, Operon: FDB-5503, Korea) به طور کامل خشک شده و به پودر تبدیل شد. عصاره به دست آمده تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2007).

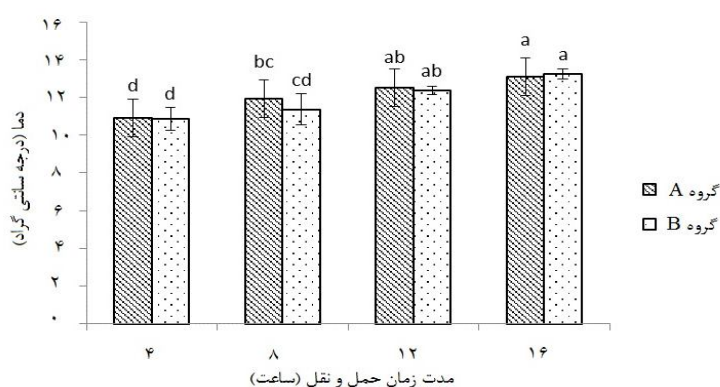
پس از طی دوره ۱۰ روزه سازگاری و سپس ۲۴ ساعت قطع غذادهی، ماهی‌ها به صورت تصادفی به ۲۴ کیسه پلاستیکی با تراکم 40 ± 0.5 گرم ماهی در هر لیتر آب، انتقال داده شدند. در این میان ۱۲ کیسه حاوی آب فاقد عصاره (گروه A) و ۱۲ کیسه دیگر محتوی آب حاوی عصاره گیاه به میزان (۵۰ میلی گرم در لیتر) (گروه B) بودند (Hajibeglou and Sudagar, 2010). هر کیسه حدود ۳۰ لیتر حجم داشت که یک سوم آن با آب و پس از ماهی‌دار کردن، دو سوم دیگر با اکسیژن پر شد (Woynarovich and Hoitsy, 2011). سپس درب کیسه‌ها بسته شده و با قرار دادن در داخل جعبه‌های یونولیت (به منظور جلوگیری از تغییرات شدید دمای آب) برای حمل و نقل ۱۶ ساعته آماده شدند. به منظور نمونه‌گیری، برای هر یک از گروه‌های A و B، در هر یک از زمان‌های ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ ساعت از زمان آغاز حمل و نقل، ۳ کیسه به صورت تصادفی انتخاب شده و فاکتورهای کیفی آب، درصد بقا، سطح گلوکز و کورتیزول پلاسما اندازه‌گیری شدند. دما، pH و اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه دیجیتالی (Horiba U10, Japan) اندازه‌گیری شد. میزان آمونیاک کل آب براساس روش وردو و همکاران (Verdouw *et al.* 1978) اندازه‌گیری شد. میزان غلظت گلوکز پلاسماي خون با استفاده از کیت تجاری (Pars Azmoon Company, Iran) و مطابق با دستور شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان کورتیزول سرم از کیت الیزای تجاری کورتیزول (Monobind INC, USA) استفاده شد. درصد بقا از فرمول زیر محاسبه شد:

$$100 \times (\text{تعداد کل ماهیان} / \text{تعداد ماهیان زنده}) = \text{درصد بقا}$$

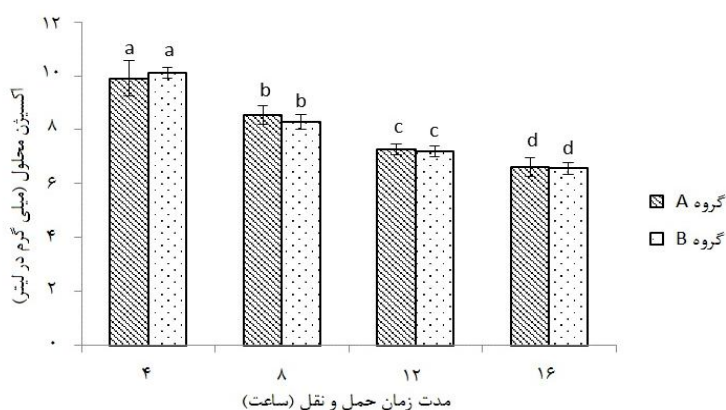
برای تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش از نرم‌افزار آماری SPSS-16 و آزمون واریانس یک طرفه استفاده شد. مقایسه میانگین داده‌ها به کمک آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ($p < 0.05$) انجام شد.

نتایج

نتایج مربوط به دمای آب و میزان اکسیژن محلول در آب کیسه‌های حمل و نقل به ترتیب در شکل‌های ۱ و ۲ آمده است. از نظر دمای آب و میزان اکسیژن محلول اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد ($p > 0.05$) با این وجود ۱۶ ساعت پس از حمل و نقل، میزان اکسیژن محلول تا ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت.

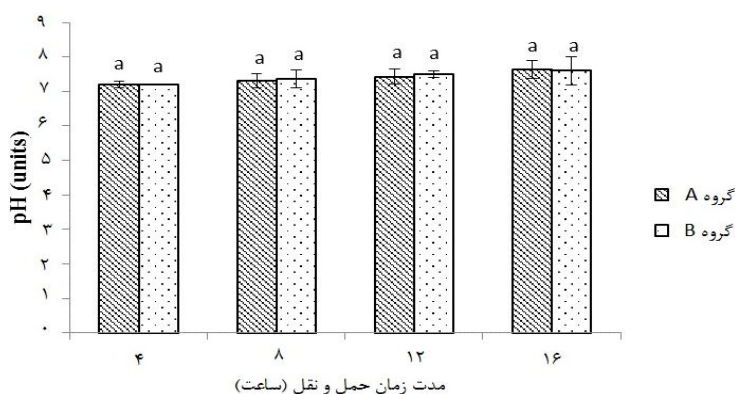


شکل ۱- دمای آب در بازه‌های زمانی مختلف در دوره حمل و نقل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) با آب حاوی عصاره ریشه سنبل‌الطیب (گروه B) و بدون عصاره (گروه A). حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) می‌باشد.

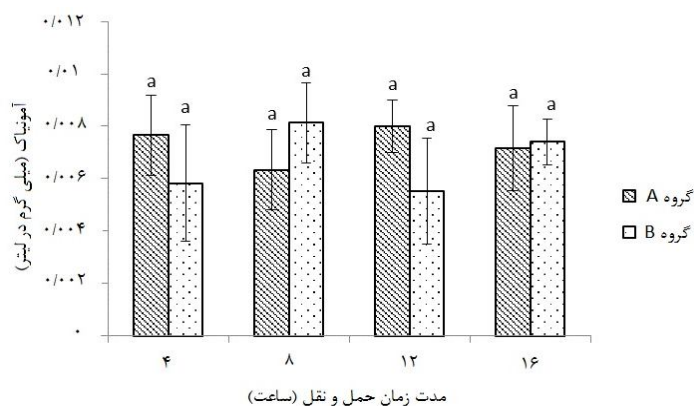


شکل ۲- میزان اکسیژن محلول در بازه‌های زمانی مختلف در دوره حمل و نقل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) با آب حاوی عصاره ریشه سنبل‌الطیب (گروه B) و بدون عصاره (گروه A). حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) می‌باشد.

نتایج همچنین افزایش تدریجی سطح pH آب (حدود ۷/۶) را در ۱۶ ساعت پس از حمل و نقل نشان داد (شکل ۳). اما میزان pH آب در هر دو گروه A و B در کل دوره آزمایش اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشت ($p > 0/05$). نتایج مربوط به سطح آمونیاک آب (شکل ۴) نشان داد که در طی حمل و نقل ماهی، در بازه زمانی ۱۶ ساعته اختلاف معنی داری بین دو گروه وجود نداشت ($p > 0/05$). نتایج نشان داد که میزان آمونیاک در کل دوره آزمایش کمتر از ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر بود.

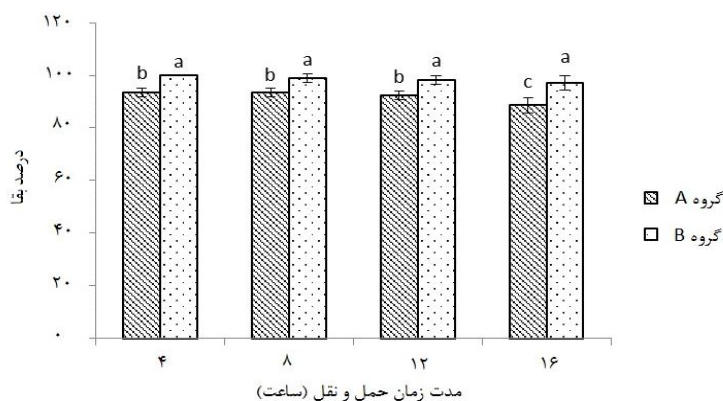


شکل ۳- مقادیر pH آب در بازه‌های زمانی مختلف در دوره حمل و نقل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) با آب حاوی عصاره ریشه سنبل الطیب (گروه B) و بدون عصاره (گروه A). حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) می‌باشد.



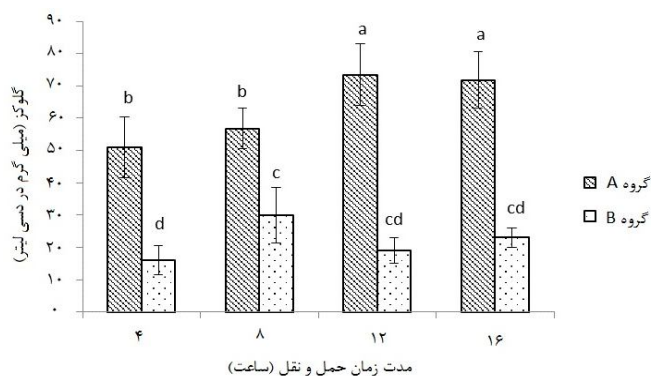
شکل ۴- میزان آمونیاک آب در بازه‌های زمانی مختلف در دوره حمل و نقل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) با آب حاوی عصاره ریشه سنبل الطیب (گروه B) و بدون عصاره (گروه A). حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) می‌باشد.

در این آزمایش درصد بقای ماهیان در کل بازه زمانی حمل و نقل در گروه B به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد (گروه A) بود. به‌علاوه کمترین درصد بقا، ۱۶ ساعت پس از حمل و نقل و در گروه A (شاهد) به‌ثبت رسید (شکل ۵).



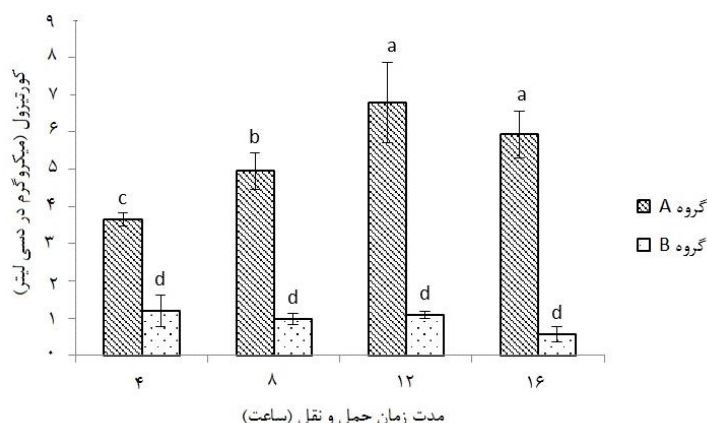
شکل ۵- درصد بقای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) در بازه‌های زمانی مختلف در دوره حمل و نقل با آب حاوی عصاره ریشه سنبل‌الطیب (گروه B) و بدون عصاره (گروه A). حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) می‌باشد.

نتایج مربوط به اندازه‌گیری گلوکز خون نشان داد که میزان گلوکز خون در ماهیان گروه B به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه A (شاهد) بود. همچنین بالاترین سطح گلوکز خون در گروه A در زمان‌های ۱۲ و ۱۶ ساعت حمل و نقل مشاهده شد (شکل ۶).



شکل ۶- سطوح گلوکز خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) در بازه‌های زمانی مختلف در دوره حمل و نقل با آب حاوی عصاره ریشه سنبل‌الطیب (گروه B) و بدون عصاره (گروه A). حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) می‌باشد.

در این آزمایش سطح کورتیزول سرم خون در کل دوره حمل و نقل، در ماهیان گروه B به طور معنی داری کمتر از گروه A (شاهد) بود (شکل ۷). به علاوه در گروه B اختلاف معنی داری از نظر میزان کورتیزول خون در زمان‌های مختلف حمل و نقل (۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ ساعت) مشاهده نشد ($p > 0.05$).



شکل ۷- سطوح کورتیزول خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*O. mykiss*) در بازه‌های زمانی مختلف در خلال حمل و نقل با آب حاوی عصاره ریشه سنبل الطیب (گروه B) و بدون عصاره (گروه A). حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر از نظر سطوح اکسیژن محلول اندازه‌گیری شده در طول بازه زمانی حمل و نقل با نتایج بررسی کوبیلای و اولوکوی مطابقت داشت به طوری که سطح اکسیژن اندازه‌گیری شده سبب بروز تلفات ماهی نشد (Kubilay and Uluköy, 2002).

در طول بازه زمانی حمل و نقل سطح اکسیژن تا حدود ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت اما، این سطح اکسیژن نمی‌تواند سبب تلفات ماهی قزل‌آلای رنگین کمان شود. گزارش شده است که ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌تواند دامنه نسبتاً وسیعی از کاهش اکسیژن (بیشتر از ۴ تا ۵ میلی‌گرم در لیتر) را تحمل کرده و زنده بماند (Woynarovich and Hoitsy, 2011). به علاوه باید توجه داشت که در آزمایش حاضر کاهش سطح اکسیژن در کیسه‌های حمل ماهی در هر دو گروه A و B تقریباً مشابه هم بوده و اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند.

در این تحقیق نتایج مربوط به دمای آب کیسه‌های حمل و نقل ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مشابه دماهای گزارش شده توسط میریک و سچ (Myrick and Cech, 2000) بود. به طور مشابه وویناروویچ و هویتسی (Woynarovich and Hoitsy, 2011) نیز دمای مناسب برای حمل و نقل ماهی قزل‌آلای

رنگین‌کمان را مشابه دمای گزارش شده در این تحقیق اعلام کردند. بنابراین دماهای گزارش شده در این تحقیق نیز نمی‌توان سبب بروز تلفات در ماهی قزل‌آلا شود. به عبارت دیگر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌تواند در دامنه قابل توجهی از دما (حدود ۱۸-۷ درجه سانتی‌گراد) به‌خوبی زندگی و رشد کند (Woynarovich and Hoitsy, 2011). به‌علاوه نتایج نشان داد که در کل بازه زمانی حمل و نقل ماهی، اختلاف معنی‌داری بین گروه A و B از نظر دما وجود نداشت.

در شرایط پرورش متراکم یا در آب‌های با قل‌یابیت بسیار بالا ($pH > 9$)، آمونیاک می‌تواند به‌شدت سمی باشد (Stevenson, 1987; Stickney, 1991). به‌طور کلی پیشنهاد می‌شود که برای موفقیت در پرورش قزل‌آلا، میزان آمونیاک آب باید کمتر از ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر باشد (Barton 1996 cited in DFO, 1973). در تحقیق حاضر میزان pH آب کمتر از ۹ و میزان آمونیاک آب کمتر از ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری شد.

همچنین در کل دوره آزمایش در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری بین گروه‌های A و B، اختلاف معنی‌داری در سطح آمونیاک و pH آب وجود نداشت. بنابراین در این آزمایش سطح آمونیاک و pH آب موجود در کیسه‌های پلاستیکی حمل ماهی نمی‌تواند سبب تلفات در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شود. در حال حاضر اقداماتی که برای کاهش استرس ماهی ضمن حمل و نقل صورت می‌گیرد غالباً محدود به مدیریت و کنترل متابولیت‌ها، مواد خروجی و دفعی تولید شده توسط ماهی در آب ویژه حمل و نقل می‌باشد (Lim *et al.*, 2003). با این وجود یکی از روش‌های مناسب برای بالا بردن مقاومت ماهی نسبت به استرس و شرایط استرس‌زا استفاده از تولیدات طبیعی از قبیل برخی عصاره‌های گیاهی است که می‌توان با افزودن به آب مقاومت ماهی نسبت به استرس حمل و نقل را بالا برده و در نهایت ماهی شرایط تحت تنش را بهتر تحمل کند. هزاران سال است که گیاهان متعددی به‌عنوان گیاهان دارویی توسط انسان مورد استفاده قرار می‌گیرد. یکی از این گیاهان سنبل الطیب (*Valeriana officinalis*) است. گزارش شده است که ریشه سنبل الطیب دارای خواص ضد استرس و آرام بخش است (Torres-Hernández, 2015). از سوی دیگر ثابت شده سطوح گلوکز و کورتیزول خون در ماهیانی که در شرایط آرامش قرار دارند نسبت به شرایط استرس پایین‌تر است (Gomes *et al.*, 2008; 2009). میزان گلوکز و کورتیزول خون در کل دوره آزمایش در گروه B در مقایسه با گروه A به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود ($p < 0/05$). نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از عصاره ریشه سنبل الطیب در آبی که برای حمل و نقل ماهی استفاده می‌شود توانست موجب پایین آمدن سطح گلوکز و کورتیزول خون ماهی در خلال حمل و نقل شود. به‌طور مشابه نتایج استفاده از عصاره ریشه سنبل الطیب در ضمن حمل و نقل ماهی زینتی دم شمشیری نیز نشان می‌دهد که عصاره این گیاه به میزان ۱ گرم در لیتر می‌تواند سبب کاهش سطح گلوکز و کورتیزول خون شود (Hajibeglou and Sudagar, 2010). این

یافته نشان دهنده قابلیت و توانایی مواد مؤثره موجود در عصاره گیاه سنبل الطیب در کاهش دادن اثرات منفی استرس می باشد. به طور مشابه گومس و همکاران (Gomes *et al.*, 2008) نیز نشان دادند که استفاده از عصاره گیاهان در ضمن حمل و نقل ماهی موجب کاهش سطح کورتیزول خون در مقایسه گروه شاهد شد. همچنین محققین مختلف گزارش کرده اند که استرس از جمله استرس ناشی از حمل و نقل می تواند سبب افزایش سطح کورتیزول (Pottinger and Mosuwe, 1994; Wendelaar-) (Bonga *et al.*, 1994; Pottinger *et al.*, 2003; Haukens *et al.*, 2008; و میزان گلوکز خون (Silbergeld, 1974; Wedemeyer and Yasutake, 1977; David *et al.*, 2005) شود.

سطوح گلوکز و کورتیزول ابزار مناسبی برای ارزیابی وضعیت سلامت و یا استرس در ماهی است. نتایج همچنین نشان داد که ارتباط معکوس بین سطح کورتیزول پلاسما با درصد بقای ماهی وجود داشت، به نحوی که با افزایش سطح کورتیزول، درصد بقا کاهش یافت.

از این رو به نظر می رسد در ماهیان مورد مطالعه، بالا بودن غلظت کورتیزول سرم دلیل اصلی تلفات و در نتیجه کاهش درصد بقا در گروه شاهد بود. به طور مشابه نتایج تحقیقات روی ماهی آزاد اقیانوس آرام (*Pacific salmon*) نشان داد، افزایش کورتیزول خون می تواند منجر به تلفات در این ماهی شود (Stein-Behrens and Sapolsky, 1992).

نتایج تحقیق نشان می دهد استفاده از عصاره ریشه گیاه سنبل الطیب در آب ویژه حمل، می تواند سبب افزایش درصد بقا در حین جابجایی ماهی قزل آلائی رنگین کمان شود. سطوح پایین و معنی دار گلوکز و کورتیزول خون در ماهیان گروه B در مقایسه با گروه A (شاهد) نشان دهنده اثرات مثبت عصاره مذکور در کاستن اثرات منفی استرس حمل و نقل در ماهی قزل آلائی رنگین کمان می باشد. مطالعات بیشتری در زمینه شناسایی مکانیسم های مولکولی و نیز جداسازی ترکیبات و مواد مؤثره ریشه گیاه سنبل الطیب ضروری به نظر می رسد.

تشکر و قدردانی

در پایان از خدمات آزمایشگاهی و حمایت های دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تشکر و قدردانی می شود.

منابع

- Arabshahi-Delouee S., Urooj A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.). *Leaves Food Chemistry*, 102: 1233-1240.
- Barton B.A. 1996. General biology of salmonids. In: Pennel W, Barton BA (Eds.). *Principles of Salmonid Culture*. Elsevier, Amsterdam, Netherland, pp: 29-96.

- Bower C.E., Turner T.T. 1982. Ammonia removal by clinoptilolite in the transport of ornamental freshwater fishers. *The Progressive Fish-Culturist*, 44: 19-23.
- Citarasu T., Michael Babu M., Raja Jeya Sekar R., Peter Marian M. 2002. Developing Artemia enriched Herbal diet for producing quality larvae in *Penaeus monodon*, Fabricius. *Asian Fisheries Science*, 15: 21-32.
- Citarasu T., Sivaram V., Immanuel G., Rout N., Murugan V. 2006. Influence of selected Indian immunostimulant herbs against white spot syndrome virus (WSSV) infection in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* with reference to haematological, biochemical and immunological changes. *Fish and Shellfish Immunology*, 21: 372-384.
- Citarasu T., Venket Ramalingam K., Raja Jeya Sekar R., Micheal Babu M., Marian M.P. 2003. Influence of the antibacterial herbs, *Solanum trilobatum*, *Andrographis paniculata* and *Psoralea corylifolia* on the survival, growth and bacterial load of *Penaeus monodon* post larvae. *Aquaculture International*, 11: 583-595.
- David M., Shivakumar R., Mushigeri S.B., Kuri R.C. 2005. Blood glucose and glycogen levels as indicators of stress in the freshwater fish, *Labeo rohita* under fenvalerate intoxication. *Journal of Ecotoxicology & Environmental Monitoring*, 15: 1-6.
- Eloff J.N. 1998. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? *Journal of Ethno Pharmacology*, 60: 1-8.
- Farag R.S., Daw Z.Y., Hewedi F.M., El-Baroty G.S.A. 1989. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection*, 52: 665-667.
- Gomes L.C., Brinn R.P., Marcon J.L., Dantas L.A., Branda F.R., Abreu J.S., Lemos P.E.M., McComb D.M., Baldisserotto B. 2009. Benefits of using the probiotic Efinols[®]L during transportation of cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi* (Schultz), in the Amazon. *Aquaculture Research*, 40: 157-165.
- Gomes L.C., Brinn R.P., Marcon J.L., Dantas L.A., Brandão F.R., Abreu J.S., McComb D.M., Baldisserotto B. 2008. Using EfinolL during transportation of Marbled hatchet- fish, *Carnegiella strigata* (Günther). *Aquaculture Research*, 3(5): 58-69.
- Guo F.C., Teo L.H., Chen T.W. 1995. Effects of anaesthetics on the oxygen consumption rates of platyfish, *Xiphophorus maculatus* (Gunther). *Aquaculture Research*, 26: 887-894.
- Hajibeglou A.A., Sudagar M. 2010. Effect of using the *Valeriana officinalis* extract during transportation of swordtail, *Xiphophorus helleri*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(18): 2377-2381.

- Haukens A.H., Barton B.A., Bolligs H. 2008. Cortisol responses of pallid sturgeon and yellow perch following challenge with lipopolysaccharide. *Journal of Fish Biology*, 72: 780-784.
- Kubilay A., Uluköy G. 2002. The Effects of acute stress on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Zoology*, 26: 249-254.
- Lim L.C., Chua L.H. 1993. Transportation of ornamental fish for export, the Singapore experience. In: AQUARAMA Conference Proceedings, 24-26 June, Expoconsult, Singapore, pp: 1-24.
- Lim L.C., Dhert P., Sorgeloos P. 2003. Recent developments and improvements in ornamental fish packaging systems for air transport. *Aquaculture Research*, 34: 923-935.
- Ling K.H., Chew W.Y., Lim Y.Q., Koh C.H., Lim L.C. 2000. New approaches to quality enhancement of guppy and angelfish during transportation (abstract). In: Abstract Book of First AVA Technical Seminar 1 September, Agri-food and Veterinary Authority of Singapore, Singapore, pp: 6-7.
- Möck A., Peters G. 1990. Lysozyme activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), stressed by handling, transport and water pollution. *Journal of Fish Biology*, 37: 873-885.
- Myrick M., Cech J.J. 2000. Temperature influences on California rainbow trout physiological Performance. *Fish Physiology and Biochemistry*, 22: 245-254.
- Phillips A.M., Brockway D.R. 1954. Effect of starvation, water temperature, and sodium amytal on the metabolic rate of brook trout. *The Progressive Fish-Culturist*, 16: 65-68.
- Pottinger T.G., Mosuwe E. 1994. The corticosteroidogenic response of brown and rainbow trout alevins and fry to environmental stress during a critical period. *General and Comparative Endocrinology*, 95: 350-362.
- Pottinger T.G., Rand-Weaver M., Sumpter J.P. 2003. Overwinter fasting and re-feeding in rainbow trout: plasma growth hormone and cortisol levels in relation to energy mobilization. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 136: 403-417.
- Pramod P.K., Ramachandran A., Sajeevan T.P., Thampy S., Pai S.S. 2010. Comparative efficacy of MS-222 and benzocaine as anaesthetics under simulated transport conditions of a tropical ornamental fish *Puntius filamentosus*. *Aquaculture Research*, 41: 309-314.
- Punitha S.M.J., Babu M.M., Sivaram V., Shankar V.S., Dhas S.A., Mahesh T.C., Immanuel G., Citarasu T. 2008. Immunostimulating influence of herbal biomedicines on nonspecific immunity in Grouper *Epinephelus tauvina* juvenile against *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture International*, 16: 511-523.
- Sağdıç O., Özcan M. 2003. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food Control*, 14: 141-143.

- Silbergeld E.K. 1974. Blood glucose: A sensitive indicator of environmental stress in fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 11: 20-25.
- Stein-Behrens B.A., Sapolsky R.M. 1992. Stress, glucocorticoids, and aging. *Aging*, 4: 197-210.
- Stickney R.R. 1991. Salmonid life histories. In: Stickney RR (Eds.). *Culture of Salmonid Fishes*. CRC Press, Incorporation Boca Raton, USA, pp: 1-20.
- Stevenson J.P. 1987. *Trout Farming Manual*. Second Edition. Fishing News Books, Farnham. 259 P.
- Takashima F., Wang Z.M., Kasai, H., Asakawa O. 1983. Sustained anesthesia with 2-phenoxyethanol in yearling rainbow trout. *Journal of Tokyo University of Fisheries*, 69: 93-96.
- Torres-Hernández B.A., Valle-Mojica L.M.D., Ortiz J.G. 2015. Valerianic acid and *Valeriana officinalis* mextracts delay onset of Pentylene-tetrazole (PTZ)-Induced seizures in adult *Danio rerio* (Zebrafish). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15: 228-237.
- Verdouw H., Vaneched C.J.A., Dekkers E.M.J. 1978. Ammonia determination based on indophenol with sodium salicylate. *Water Research*, 12: 399-402.
- Wedemeyer G.A., Yasutake W.T. 1977. Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on fish health. *Tech Pap USFWS*. 89 P.
- Wendelaar Bonga S.E., Iger Y., Abraham M. 1994. Response of club cells in the skin of the carp *Cyprinus carpio* to exogenous stressors. *Cell Tissue Research*, 277: 485-491.
- Woynarovich A., Hoitsy G. 2011. Small-scale rainbow trout farming. *Fisheries and Aquaculture Technical Paper*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. 81 P.