

Study on the Anaesthetic Effects of Clove Oil on Juvenile *Polyodon spathuln*

Shuangfeng Liu, Meiyun Yuan, Hongwei Dong, Zuoyu Zou, Yanling Lv

Division of Aquaculture Research, Harbin Academy of Agricultural Sciences, Harbin
Email: 47817941@qq.com, 491169238@qq.com

Received: May 8th, 2014; revised: Jun. 10th, 2014; accepted: Jun. 18th, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

This article presents the studies on the anaesthetic effect of clove oil on juveniles *Polyodon spathuln* at 20°C ± 0.5°C. According to the behavior characteristic of the fish in the final anaesthetic stage and the recovery process, the anaesthetic degrees could be divided into six stages, and the recovery process could be divided into four stages. The breath frequency of the fish slightly increased when the fish was in the stage 1. The breath frequency of the fish of stage 2 was similar to initial group, and declined until in the stage 4. The effective concentrations of clove oil on juvenile *Polyodon spathuln* were 37.83 - 44.83 mg/L. The results indicated that when clove oil was used for *Polyodon spathuln* in the process of manual breeding, it was necessary to control the dose and anaesthesia time of eugenol to reduce the death rate.

Keywords

Clove Oil, *Polyodon spathuln*, Anaesthetic, Recovery Time

丁香油对匙吻鲟幼鱼的麻醉效果

刘双凤, 袁美云, 董宏伟, 邹作宇, 吕艳玲

哈尔滨市农业科学院水产研究分院, 哈尔滨
Email: 47817941@qq.com, 491169238@qq.com

收稿日期: 2014年5月8日; 修回日期: 2014年6月10日; 录用日期: 2014年6月18日

摘要

在水温为 $20^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 条件下, 丁香油对匙吻鲟幼鱼的麻醉作用。根据鱼体在最终麻醉状态和复苏过程中的行为特征, 把麻醉程度分为6个时期, 复苏过程分为4个时期。随着丁香油浓度的增加, 鱼体在轻度镇静期时, 呼吸频率略微增加, 在2期时的呼吸频率和初始呼吸频率相差不多, 到4期时呼吸频率才明显下降。丁香酚麻醉匙吻鲟幼鱼的有效浓度为 $37.83\sim 44.83\text{ mg/L}$ 。结果提示, 丁香油在用于匙吻鲟的人工操作时, 应准确掌握好麻醉剂量和麻醉时间, 避免麻醉过度造成损失。

关键词

丁香油, 匙吻鲟, 麻醉, 复苏时间

1. 引言

匙吻鲟(*Polyodon spathuln*)隶属于鲟形目, 匙吻鲟科, 匙吻鲟属, 是北美一种名贵大型淡水经济鱼类, 主要分布在密西西比河和密苏里河流域。匙吻鲟属软骨鱼类, 有一个形如匙柄的长吻, 约占体长的三分之一。躯干流线形, 尾部侧扁, 鳞片退化, 体表光滑, 眼小, 口在吻下不能伸缩。匙吻鲟的体型和其他鱼类不同, 吻部特别长, 呈扁平桨状, 约占体长三分之一。匙吻鲟被认为使用其桨型吻里的感应器检测猎物, 以及在迁徙到产卵地时用以导航, 有平衡作用。它肉质细嫩, 吻部富含胶原蛋白, 营养丰富, 终生以浮游动物为食, 在集约化养殖条件下可以摄食人工配合饲料。因其适温范围广, 生长快、饵料来源广、生产成本低等优点, 我院从2004年引进美国匙吻鲟稚鱼, 经过几年精心培育, 在高寒地区生长情况良好。在鱼体检查、人工繁殖、活鱼运输等过程中, 常因捕捞和鱼体挣扎而对其造成伤害, 导致其缺氧或皮肤损伤进而感染水霉, 引起鱼类死亡, 降低经济效益。因此, 选择一种安全可靠、无残留的麻醉剂应用于这些技术操作, 可以大大提高匙吻鲟的成活率。

丁香油(clove oil)的有效成份为丁香酚(Eugenol) (2-甲氧-4丙稀基酚), 是一种植物香料, 广泛存在于丁香油、樟脑油、肉桂叶油等芳香油中, 其药理作用较广, 可用作芳香剂、防腐剂以及局部镇痛剂[1], 其代谢物能够快速地从血液和组织中排出, 不会诱发机体产生有毒和突变物质[2]。丁香油液体剂在淡水和海水中溶解性好, 与其它的鱼类麻醉剂如MS-222、喹那丁、三氯乙醛、 CO_2 等相比能够同时满足安全性、高效性和低成本的要求, 是近年来很受关注的一种水产麻醉剂, 现已被广泛应用于金鱼 *Carassius auratus*[3]、鲤鱼 *Cyprinus carpio*[4] [5]、虹鳟 *Salmo gairdneri* [6]、大西洋鲑 *Salmo salar*[7] 和大黄鱼 *Pseudosciaena crocea*[8]、半滑舌鳎 *Cynoglossus semillaervis*[9]等亲鱼采卵、活鱼运输以及手术过程中。本试验为丁香油对匙吻鲟幼鱼麻醉效果的研究, 以期为匙吻鲟的活鱼运输及亲鱼采卵提供参考。

2. 材料与方法

2.1. 试验材料

试验用鱼: 挑选身体健康无伤, 规格基本一致的鱼为试验用鱼。体长 $48.4\text{ mm} \pm 3.7\text{ mm}$, 体重 $0.745\text{ g} \pm 0.16\text{ g}$ 。鱼苗(1.5~2 cm)购于北京市水产技术推广站并养成至此规格。试验用鱼共为了115尾, 分3组进行。试验用鱼共试验前停食一天。

试验药品: 丁香油: 国药集团化学试剂有限公司生产, 无色或淡黄色油状液体, 有非常浓重的香味。

2.2. 试验条件

在容器均为 5 L 的塑料盆中分别进行麻醉和复苏实验。实验用水为经充分曝气的自来水,水温 $20^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, pH 值 7.3 ± 0.2 , 溶解氧 $>6.0 \text{ mg/L}$ 。实验期间不更换实验液。

2.3. 试验方法

2.3.1. 丁香油药液的配制

试验用的药液现配现用。用移液管移取一定量的丁香油,配成 100 mg/L 的母液,试验时先充分搅拌均匀,再将母液稀释到所需浓度,静置 5 分钟后,倒入盛有 4 L 水的塑料盆中。试验参照赵艳丽[8]方法进行。

2.3.2. 不同浓度的麻醉效果

共设置 5、10、20、30、40、50、60、70、80 mg/L 9 个不同的浓度组,每个试验组放入匙吻鲟 5 尾,测定麻醉所需时间和复苏所需时间,同时记录复苏率。麻醉时间指鱼被放入麻醉剂溶液开始到鱼体侧躺不能持续游动的时间。复苏所需时间是指麻醉鱼放回到清水中开始到鱼以正常姿势游泳所需的时间。复苏率是指能够完全复苏的麻醉鱼的尾数占试验总数的百分比。

2.3.3. 麻醉程度和复苏过程的分期

鱼体在高浓度丁香油溶液中入麻时间较短,但在低浓度溶液中鱼体能够达到一个稳定的、行为特征较明显的最终麻醉状态,因此能够根据鱼体在最终麻醉状态下的行为特征把麻醉程度分为不同的时期。试验设计 5、10、15、20、25、30、35、40、50 mg/L 9 个浓度梯度,每个浓度试验用鱼 5 尾,观察鱼体在麻醉状态下的行为特征,然后转入清水中复苏,观察鱼体在复苏过程中的行为特征,将麻醉程度和复苏过程分为不同的时期。

2.3.4. 不同浓度的丁香油对匙吻鲟幼鱼呼吸频率的影响

呼吸频率为单位时间内鳃盖的张合次数,本次试验以次/mim 来表示。将鱼放入正常清水中,稳定 10 min 后,计数呼吸频率作为初始呼吸频率,然后转入丁香油溶液中,测定最终麻醉状态下的呼吸频率。本实验设计了 10、20、30、40、50 mg/L 5 个浓度梯度,每个浓度试验用鱼 5 尾,每尾重复测定 5 次,计算平均值作为鱼在该麻醉状态下的呼吸频率。

2.4. 数据处理

试验数据通过 Excel 软件进行分析,数据表示为 $\text{Mean} \pm \text{S.E.}$, 通过回归分析等方法进行统计处理。

3. 结果

3.1. 不同丁香油浓度下匙吻鲟的麻醉和复苏过程的行为特征

由于不同的鱼在丁香油麻醉剂中表现的形为状态均不相同,不同的学者对麻醉和复苏分期也存在不同的标准。参考 Woody[10]、Cooke[11]、李春梅[12]和 CHO[13]等人的报道,在丁香油麻醉剂的作用下,匙吻鲟幼鱼在麻醉和复苏过程中表现在出一系列不同的行为特征,跟据不同的状态将麻醉过程分为 6 个阶段(表 1),恢复过程分为 4 个阶段(表 2)。

将匙吻鲟幼鱼放入麻醉剂中后,轻敲容器壁,鱼体反应明显,游动速度加快,一段时间后,对外界刺激反应降低,能够水平游动(1 期);接着鱼体开始吻端缓慢朝下,尾部朝上游动,有时还能快速游动后又变成吻端朝下尾朝上游动(2 期);之后保持吻端朝下尾朝上,以吻端为顶点,尾部划弧,呈倒“圆锥形”游动,彻底失去平衡,进入轻度麻醉期(3 期);然后完全失去反应能力,躺在容器底部,鳃盖张合缓慢,

Table 1. Anaesthetic stages and behavior characteristic of *Polyodon spathuln*

表 1. 麻醉过程分期和行为特征

麻醉程度分期(Anaesthetic stages)	行为特征(Behavior characteristic)
正常	对外界刺激反应明显, 鳃盖张合频率及肌肉收缩正常, 泳姿正常
1期(轻度镇静期)	对外界刺激反应能力降低, 鱼体水平游动, 平衡性较好。
2期(深度镇静期)	鱼体吻端朝下, 尾部朝上游动; 游一会儿, 趴底1秒钟后再继续游动。
3期(轻度麻醉期)	鳃盖有规律地缓慢张合, 呈“倒圆锥形”游动, 鱼体失去平衡。
4期(麻醉期)	完全失去反应能力; 鳃盖张合微弱没有规律; 鱼体不再持续游动。
5期(深度麻醉期)	鱼体静止, 呼吸不连续, 应立即移入清水中复苏
6期(延髓麻醉期)	鳃盖张合停止, 如果浸浴时间过长, 则鱼体死亡。

Table 2. Recovery stages and behavior characteristic of *Polyodon spathuln*

表 2. 复苏过程分期和行为特征

复苏阶段(Recovery stages)	行为特征(Behavior characteristic)
1 期	开始恢复鳃盖张合
2 期	鱼体开始游动, 身体平衡性没有恢复
3 期	身体平衡完全恢复, 对外界反应恢复
4 期	行为完全恢复正常

进入麻醉期(4期); 鱼体静止, 呼吸不连续(5期); 最后鳃盖张合停止(6期), 如果浸浴时间延长, 则鱼体死亡。

将处于深度麻醉的鱼体放入清水中后, 对其进行“人工呼吸”, 即手握住躯干部, 沿着鱼体中轴线前后移动1到5 min后, 松开手, 鱼体侧躺在水体底部, 鳃盖缓慢张合(1期); 鱼体开始游动, 吻朝下, 尾朝上呈倒“圆锥形”游动(2期); 之后以正常泳姿游动, 沉底后再以正常泳姿游动(3期), 最后彻底正常游动, 恢复正常(4期)。恢复正常的匙吻鲟幼鱼放在单独的缸中喂养三天后, 未见幼鱼死亡, 摄食和泳姿均正常。最后放回池塘中饲养。

3.2. 不同浓度的丁香油对匙吻鲟幼鱼的麻醉效果

不同浓度丁香油对匙吻鲟幼鱼的麻醉及复苏时间的影响见表3。当丁香油的浓度在5 mg/L时, 10分钟内鱼未进入麻醉状态, 只进入深度镇静期; 10 mg/L时, 10分钟内有2尾未进入麻醉状态, 进入轻度麻醉期, 其余3尾则在 573.2 ± 16.42 s 进入麻醉状态; 从表中可以看出, 随着丁香油浓度的增加, 麻醉所需要的时间则越来越短, 从平均 573.2 ± 16.42 s 下降到平均 66.4 ± 7.16 s, 而复苏所需要的时间则越来越多, 从平均 8.67 ± 3.21 s 增加到 814.6 ± 25.51 s。

通过数据处理进行回归运算, 得到丁香油浓度与麻醉所需时间的相关关系为 $y = 6986.6x^{-1.007}$, $R^2 = 0.9514$, ($P < 0.05$), 其中, y 为麻醉所需时间, x 为丁香油的浓度, 呈负相关关系; 丁香油浓度与复苏所需时间的相关关系为 $y = 0.0996x^{2.1064}$, $R^2 = 0.9582$, ($P < 0.05$), 其中, y 为复苏所需时间, x 为丁香油的浓度, 呈正相关关系(图1)。

3.3. 不同浓度的丁香油对匙吻鲟幼鱼呼吸频率的影响

不同浓度的丁香油对匙吻鲟幼鱼呼吸频率的影响见图2。如图所示, 把鱼刚放入丁香油麻醉剂中时, 鱼受到麻醉剂的刺激后, 鱼的呼吸频率(90.6~130次/min)比初始正常呼吸频率(87.2 ± 3.11 次/min)要高一

Table 3. The anaesthetic effects of different concentrations of eugenol on *Polyodon spathuln*
表 3. 不同浓度的丁香油对匙吻鲟幼鱼的麻醉效果

不同浓度丁香油(mg/L)	试验鱼尾数(尾)	麻醉所需时间(s)		复苏所需时间(s)		复苏率(%)
		范围	平均	范围	平均	
5	5	-	-	-	-	100
10	5	552 - 590	573.2 ± 16.42	5 - 11	8.67 ± 2.30	100
20	5	350 - 401	377 ± 19.30	60 - 100	77 ± 15.90	100
30	5	245 - 292	265.4 ± 25.75	140 - 213	180.2 ± 31.90	100
40	5	174 - 195	179.6 ± 11.01	265 - 310	294.8 ± 18.24	100
50	5	135 - 160	151.2 ± 9.98	368 - 410	392.6 ± 19.84	100
60	5	110 - 130	119 ± 8.12	458 - 548	504.8 ± 32.89	100
70	5	84 - 102	94.8 ± 7.33	623 - 679	653 ± 20.213	80
80	5	55 - 74	66.4 ± 7.16	780 - 824	814.6 ± 25.51	60

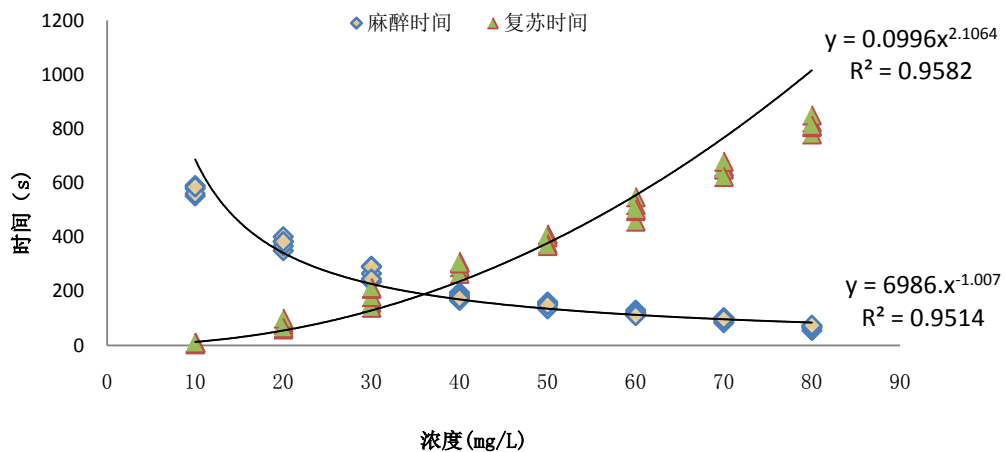


Figure 1. The correlation between anaesthesia and recovery time
图 1. 麻醉和复苏时间与丁香油浓度的相关关系

些，之后慢慢适应了环境后，呼吸频率和初始值相差不大，趋于稳定(81.6~91.2 次/min)；到轻度麻醉期后鱼的呼吸频率开始下降(60~67.2 次/min)；到最终麻醉期后迅速下降(25~43.2 次/min)。当麻醉浓度进一步加大后，如果不及时捞出麻醉的鱼进行复苏，则鱼的呼吸就会停止。随着麻醉剂浓度的不断提高，鱼体在轻度镇静期的呼吸频率呈现一个升高的趋势，在深度镇静期和轻度麻醉期的呼吸频率表现则比较平稳，在整个麻醉过程是一个升高又降低的趋势。

4. 讨论

麻醉剂的作用原理：麻醉剂首先抑制脑的皮质(触觉丧失期)，再作用于基底神经节与小脑(兴奋期)，最后作用于脊髓(麻醉期)。过大剂量或过长的接触可深及髓质，使呼吸与血管舒缩中枢麻痹，最终导致死亡[14]。合理使用鱼类麻醉剂能使鱼类处于麻醉镇静状态，可减少对氧气和能量的消耗，降低鱼类新陈代谢速度，缓解鱼类应激反应，便于操作和长途运输。目前作为鱼类的麻醉剂品种有 MS-222、2-苯氧乙醇、

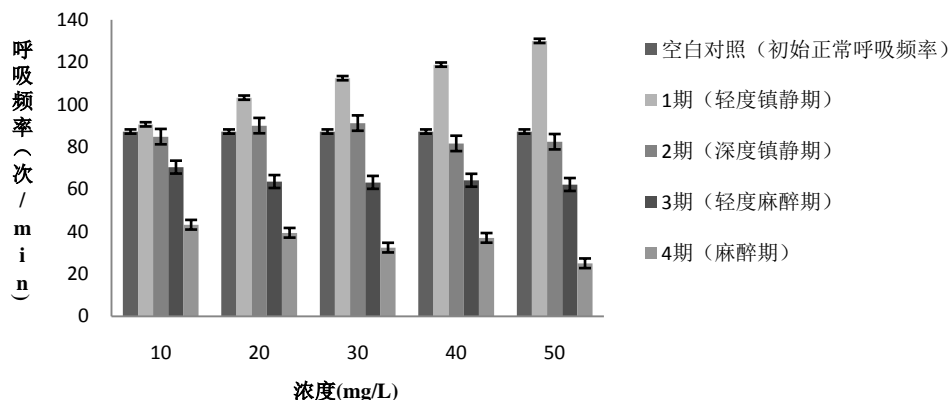


Figure 2. Respiratory frequencies of *Polyodon spathuln* in different eugenol concentrations
图 2. 不同浓度的丁香油对匙吻鲟幼鱼呼吸频率的影响

丁香油、硫酸喹哪啶等 30 多种[1], 其中, 丁香油具有较强的杀虫[15]、抑菌[16]和抗氧化[17]作用, 可作为天然食品添加剂, 其主要活性成分有丁香酚、乙酰丁香酚及石竹烯等。同时丁香油以成本低、效果好、安全性能高等优点而被受关注。关于丁香油对不同鱼类的麻醉作用, 国内外均有报道[4]-[9]。丁香油对匙吻鲟幼鱼的麻醉效果, 未见报道。Marking[18]等(1985)认为理想的麻醉浓度的标准为 3 min 之内麻醉, 5 min 之内苏醒。故本实验有效浓度定义为: 鱼体在丁香油麻醉剂中, 3 min 之内达到 4 期麻醉状态, 5 min 之内苏醒恢复, 并且成活率为 100%时的浓度。水温为 $20^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 时, 通过试验及麻醉和复苏公式表明, 当丁香油浓度大于 37.83 mg/L 时, 匙吻鲟幼鱼能在 3 min 之内达到麻醉状态; 当丁香油浓度小于 44.83 mg/L 时, 匙吻鲟能在 5 min 之内苏醒恢复, 因此丁香油对匙吻鲟麻醉的有效浓度为 37.83~44.83 mg/L。本试验结果表明, 丁香油对匙吻鲟幼鱼的麻醉效果较好, 安全性较高。国内用麻醉剂麻醉鲟科鱼类的研究中, 陈细华[19]报道, 在水温 $15^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$ 条件下, 30~40 mg/L 的 MS-222 对中华鲟和施氏鲟具有较好的麻醉效果, 适合于长途运输。

鱼体麻醉后的呼吸频率是反映麻醉深度的一个重要指标。呼吸频率慢则麻醉程度深, 反之则麻醉程度浅。关于麻醉对鱼体呼吸频率的影响, 大多数报道显示, 鱼体呼吸频率在整个麻醉期间都是下降的。例如, 丁香酚麻醉黄腊鲡[20]、黑鲈[11]; MS-222 麻醉金鱼[12]、美洲鲟[21]等。但用喹哪啶麻醉狼鲈时, 鱼体只有在深度麻醉时呼吸频率才急剧下降, 而在其它阶段呼吸频率均显著上升[22], 主要是因为喹哪啶对鱼类的呼吸粘膜具有较强刺激性。而本试验研究表明, 随着麻醉剂浓度的不断提高, 鱼体在轻度镇静期的呼吸频率呈现一个升高的趋势, 在深度镇静期和轻度麻醉期的呼吸频率表现则比较平稳, 从 1 期到 4 期其呼吸频率逐渐下降, 而整个的麻醉过程是一个升高又降低的过程。因此, 麻醉对鱼体呼吸频率的影响, 不仅具有物种差异性, 还与麻醉剂种类有关。

采用麻醉方法运输鲜活水产品与水产品的种类、使用麻醉剂的剂量、水温、正确的操作方法等有关。大量的资料表明, 在深度镇静期(视觉、触觉丧失, 呼吸频率略减, 平衡感正常)是运输的适宜时期[11]。若是深度麻醉, 鱼体将失去平衡, 沉到容器底部, 增加与容器壁的冲撞机会, 使水质迅速恶化, 或相互挤压造成鱼体窒息死亡[22] [23]。用丁香油作为麻醉剂麻醉匙吻鲟进行活鱼运输, 迄今为止未见报道, 值得调查研究。

本试验主要探讨不同浓度的丁香油对匙吻鲟幼鱼的麻醉效果, 丁香油对鱼种及成鱼的致死浓度、生长影响等将在今后继续开展相关试验进行研究。

项目基金

哈尔滨市优秀青年科技创新基金项目(2012RFQYN028, 2011RFQYN037)。

参考文献 (References)

- [1] 刘长琳, 何力, 陈四清, 等 (2007) 鱼类麻醉研究综述. *渔业现代化*, **5**, 21-25.
- [2] Velisek, J., Svobodova, Z. and Piackova, V. (2005) Effects of clove oil anaesthesia on rainbow trout. *Acta Veterinaria Brno*, **74**, 139-146.
- [3] Endo, T., Ogishima, K. and Tanaka, H. (1972) Studies of the anesthetic effect of eugenol in some freshwater fishes. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **38**, 761-767.
- [4] 张富林, 吕世明 (2007) 丁香油对鲤麻醉作用的研究. *江西水产科技*, **4**, 15-18.
- [5] Hikasa, T., Takase, K. and Ogasawara, T. (1986) Anesthetic and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. *Japanese Journal of Equine Veterinary Science*, **48**, 341-351.
- [6] Keene, J., Noakes, D. and Moccia, R. (1998) The efficacy of clove oil as an anesthetic for rainbow trout. *Aquaculture and Research*, **29**, 89-101.
- [7] Chanseau, M., Bosc, S., GaLaiay, E. (2002) The use of clove oil as anaesthetic for Atlantic salmon smolts and comparison of its effects with those of 2-phenoxyethanol. *Bulletin Francais de La Peche et de La Pisciculture*, **365**, 579-589.
- [8] 赵艳丽, 杨先乐, 黄艳平, 吴寅 (2002) 丁香酚对大黄花鱼麻醉效果的研究. *水产科技情报*, **4**, 163-165.
- [9] 刘长琳, 李继强, 陈四清, 等 (2007) 丁香油麻醉半滑舌鲷成鱼的试验研究. *海洋水产研究*, **3**, 50-56.
- [10] Woody, C.A., Nelson, J. and Ramstad, K. (2002) Clove oil as an Anesthetic for adult sockeye salmon: Field trials. *Journal of Fish Biology*, **60**, 340-347.
- [11] Cooke, S.J., Suski, C.D., Ostrand, K.G., et al. (2004) Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture*, **239**, 509-529.
- [12] 李春梅, 黄永坚 (2002) MS-222 麻醉金鱼的研究. *黄冈职业技术学院学报*, **4**, 67-70.
- [13] Cho, G.K. and Heath, D.D. (2000) Comparison of tricainemethanesulphonate (MS-222) and clove oil anaesthesia effects on the physiology of juvenile chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). *Aquaculture Research*, **31**, 537-546.
- [14] 李思发 (1988) 鱼类麻醉剂. *淡水渔业*, **1**, 22-23.
- [15] Huang, Y., Ho, S.H., Lee, H.C., et al. (2002) Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, **38**, 403-412.
- [16] Smith-Palmer, A., Stewart, J. and Fyfe, L. (2001) The Potential Application of Plant Essential Oils as Natural Food Preservatives in Soft Cheese. *Food Microbiology*, **18**, 463-470.
- [17] Poncea, A.G., de l Valle, C.E. and Roura, S.I. (2004) Natural essential oils as reducing agents of peroxidase activity in leafy vegetables. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, **37**, 199-204.
- [18] Marking, L.L. and Meyer, F.P. (1985) Are better anesthetics needed in fisheries. *Fisheries*, **10**, 2.
- [19] 陈细华, 朱永久, 刘鉴毅 (2006) MS-222 对中华鲟和施氏鲟的麻醉试验. *淡水渔业*, **36**, 39-42.
- [20] 张朝晖, 丛娇日, 王波, 等 (2003) 麻醉剂丁香酚对黄腊鲂耗氧的影响. *海洋科学*, **6**, 11-14.
- [21] 杜浩 (2005) 美洲鲟人工孵化、养殖及转运关键技术的研究. 华中农业大学, 武汉.
- [22] Yanarm, M. and Kumlum, M. (2001) The anaesthetics effects of quinaldine sulphate and/or diazepam on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, **25**, 185-189.
- [23] Coyle, S.D., Durborow, R.M. and Tidwell, J.H. (2004) Anesthetics in aquaculture. SRAC Publication, No. 3900.