

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**FARKLI SU SICAKLIKLARINDA GÜL AĞACI (*Aniba rosaeodora*) ESANSİYEL
YAĞININ VE 2-FENOKSİETANOLÜN JAPON BALIĞI (*Carassius auratus*)
ÜZERİNDEKİ ANESTEZİK ETKİLERİ**

Barış ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Volkan KIZAK

TUNCELİ-2023

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**FARKLI SU SICAKLIKLARINDA GÜL AĞACI (*Aniba rosaeodora*) ESANSİYEL
YAĞININ VE 2-FENOKSİETANOLÜN JAPON BALIĞI (*Carassius auratus*)
ÜZERİNDEKİ ANESTEZİK ETKİLERİ**

Barış ŞAHİN
(200100022)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Volkan KIZAK

TUNCELİ-2023

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**FARKLI SU SICAKLIKLARINDA GÜL AĞACI (*Aniba rosaeodora*)
ESANSİYEL YAĞININ VE 2-FENOKSİETANOLÜN JAPON BALIĞI
(*Carassius auratus*) ÜZERİNDEKİ ANESTEZİK ETKİLERİ**

Barış ŞAHİN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 06/06/2023 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

İmza:.....

İmza:.....

Prof. Dr. Mehmet KOCABAŞ
(Karadeniz Teknik
Üniversitesi)

Prof. Dr. Volkan KIZAK
(Munzur Üniversitesi)

Doç. Dr. Filiz
KUTLUYER
KOCABAŞ (Munzur
Üniversitesi)

BAŞKAN

DANIŞMAN

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Murat KORUNUR
Enstitü Müdürü

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynakgösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı “Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu”ndaki hükümlere tabidir.

06/06/2023

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İmza
Barış ŞAHİN

Danışman
Prof. Dr. Volkan KIZAK

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenim sürecinde benden desteğini esirgemeyen ve her konuda yardımcı olan tez danışmanım Prof. Dr. Volkan KIZAK'a teşekkür ederim.

Barış ŞAHİN
TUNCELİ-2023



İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
TABLOLAR LİSTESİ	VI
RESİMLER LİSTESİ	VII
KISALTMALAR LİSTESİ	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ	1
1.1. Balıklarda Anestezi.....	3
1.1.1. Anestezik ajan tipleri.....	4
1.1.2. Potansiyel balık anestezikleri olarak bitkisel esansiyel yağlar	4
1.1.3. Balıklarda anestezik safhalar.....	5
1.2. Anesteziyi Etkileyen Faktörler	6
1.2.1. Farklı su sıcaklıklarında anestezik ajanların etkileri	6
1.3. Önceki Çalışmalar	7
1.4. Gül Ağacı (<i>Aniba rosaeodora</i>) ve Esansiyel Yağı	9
1.5. 2-fenoksietanol	10
1.6. Japon Balığı (<i>Carassius auratus</i>)	10
2. MATERYAL VE METOT	11
2.1. Deneme Yeri ve Deneme Materyalleri	11
2.2. Deneme Balığı ve Su Koşulları	12
2.3. Anestezik Ajanlar	12
2.4. Anestezik Uygulamalar	12
2.5. İstatiksel Analizler	13
3. BULGULAR	14
3.1. Su Kalitesi	14
3.2. Japon Balığında Anestezik Safhaların Tespiti.....	14
3.2.1. Anestezik safhalar.....	14
3.2.2. İyileşme safhaları.....	16
3.3. Anestezik Ajanların İndüksiyon ve İyileşme Süreleri.....	17
3.3.1. ArEO indüksiyon ve iyileşme süreleri.....	18
3.3.2. 2-PE indüksiyon ve iyileşme süreleri	23
3.3.3. A_D ve R_F zamanları arasındaki ilişki	28
3.3.4. Farklı su sıcaklıklarında A_D/R_F zamanları ve konsantrasyonlar arasındaki ilişki.....	31
4. TARTIŞMA	34
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	39
6. KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi A _I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.	19
Şekil 3.2. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi A _D safhası sürelerine ait Box Plot grafiği i.	20
Şekil 3.3. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi R _I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.	20
Şekil 3.4. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi R _F safhası sürelerine ait Box Plot grafiği 1.	21
Şekil 3.5. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi A _I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.	21
Şekil 3.6. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi A _D safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.	22
Şekil 3.7. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi R _I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.	22
Şekil 3.8. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi R _F safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.	23
Şekil 3.9. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi A _I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.	24
Şekil 3.10. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi A _D safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.	25
Şekil 3.11. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi R _I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.	25
Şekil 3.12. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi R _F safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.	26
Şekil 3.13. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi A _I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.	26
Şekil 3.14. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi A _D safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.	27
Şekil 3.15. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi R _I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.	27
Şekil 3.16. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde anestezi R _F safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.	28
Şekil 3.17. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlardaki ArEO ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde A _D ve R _F zamanları arasındaki ilişki.	29
Şekil 3.18. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlardaki ArEO ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde A _D ve R _F zamanları arasındaki ilişki.	29
Şekil 3.19. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde A _D ve R _F zamanları arasındaki ilişki.	30
Şekil 3.20. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen <i>C. auratus</i> türünde A _D ve R _F zamanları arasındaki ilişki.	30

Şekil 3.21. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında ArEO A_D zamanları ve konsantrasyonları arasındaki ilişki.....	31
Şekil 3.22. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında ArEO R_F zamanları ve konsantrasyonları arasındaki ilişki.....	32
Şekil 3.23. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında 2-PE A_D zamanları ve konsantrasyonları arasındaki ilişki.....	32
Şekil 3.24. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında 2-PE R_F zamanları ve konsantrasyonları arasındaki ilişki.....	33



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Anestezi ve iyileşme safhalarında balığın gösterdiği davranış özellikleri [A: İndüksiyon (Anestezi), R: İyileşme] (Mylonas ve ark., 2005; Kızak ve ark., 2018a).....	6
Tablo 3.1. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında <i>C. auratus</i> türünde farklı konsantrasyonlardaki ArEO anestezi ajanına ait indüksiyon (A_I ve A_D) ve iyileşme (R_I ve R_F) safhalarının süreleri (sn).	19
Tablo 3.2. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında <i>C. auratus</i> türünde farklı konsantrasyonlardaki 2-PE anestezi ajanına ait indüksiyon (A_I ve A_D) ve iyileşme (R_I ve R_F) safhalarının süreleri (sn).	24



RESİMLER LİSTESİ

Resim 1.1. Gülağacı esansiyel yağı (<i>Aniba rosaeodora</i>) (Orijinal).....	9
Resim 1.2. Japon balığı (<i>Carassius auratus</i>) (Orijinal).	10
Resim 2.1. Balık tankları, şeffaf anestezi kabı, kepçe (Orijinal)..	11
Resim 2.2. Mikropipet, sarı uçlar ve gülağacı esansiyel yağı (Orijinal).....	11
Resim 3.1. Deneme balığının anesteziye suya bırakılması (Orijinal)..	14
Resim 3.2. İlk indüksiyon safhası (Orijinal).	15
Resim 3.3. Derin anestezi safhası (Orijinal).	15
Resim 3.4. Derin anesteziye suya bırakılan balığın anesteziye suya bırakılması (Orijinal).	16
Resim 3.5. İlk iyileşmede balığın dengeyi sağlaması (Orijinal)..	17
Resim 3.6. Tam iyileşmede balığın normal davranışları ve yüzme hareketleri (Orijinal)...17	



KISALTMALAR LİSTESİ

A_D	: Derin anestezi
A_I	: İlk indüksiyon
ArEO	: Gül ağacı esansiyel yağı
mg	: Miligram
R_F	: Tam iyileşme
R_I	: İlk iyileşme
lt	: Litre
μl	: Mikrolitre
2-PE	: Fenoksietanol
°C	: Santigrat



ÖZET

Bu tez çalışmasında, Japon balıklarında (*Carassius auratus*) gül ağacı (*Aniba rosaeodora*) esansiyel yağının ve 2-fenoksietanolün farklı su sıcaklıklarında anestezik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında anestezik denemeler gerçekleştirilmiştir. Gülağacı esansiyel yağı (ArEO) için 250, 300 ve 350 µl/lit, 2-fenoksietanol (2-PE) için 600, 700 ve 800 µl/lit konsantrasyonlar denenmiştir. Derin anestezi (A_D) ve tam iyileşme (R_F) birlikte dikkate alındığında 14°C su sıcaklığında ideal ArEO konsantrasyonu 300 µl/lit, 20°C su sıcaklığında ise 250 µl/lit olarak belirlenmiştir. 2-PE için her iki su sıcaklığında da ideal konsantrasyon 800 µl/lit olarak tespit edilmiştir. ArEO ve 2-PE konsantrasyonları arttıkça A_D süreleri kısalmış, R_F süreleri ise uzamıştır. Anestezik ajanların konsantrasyonları indüksiyon süreleri ile negatif, iyileşme süreleri ile pozitif korelasyon göstermiştir. 14°C su sıcaklığında ArEO anestezik ajanında A_D ve R_F süreleri arasında zayıf negatif bir ilişki ($R^2=0,3093$), 20°C su sıcaklığında A_D ve R_F süreleri arasında negatif bir ilişki bulunmuştur ($R^2=0,5833$). 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında 2-PE anestezik maddesinde A_D ve R_F süreleri arasında negatif ilişki tespit edilmiştir (sırasıyla, $R^2=0,5092$ ve $R^2=0,6357$). ArEO A_D süreleri ve ArEO konsantrasyonları arasında 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında kuvvetli negatif bir ilişki (sırasıyla, $R^2=0,9937$ ve $R^2=0,9615$) vardır. 2-PE A_D süreleri ve 2-PE konsantrasyonları arasında 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında kuvvetli negatif bir ilişki (sırasıyla, $R^2=0,9982$ ve $R^2=0,9996$) bulunmuştur. ArEO R_F süreleri ve ArEO konsantrasyonları arasında 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında kuvvetli pozitif ilişki (sırasıyla, $R^2=0,9941$ ve $R^2=0,8157$) vardır. 2-PE R_F süreleri ve 2-PE konsantrasyonları arasında 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında kuvvetli pozitif ilişki (sırasıyla, $R^2=0,9435$ ve $R^2=0,9807$) bulunmuştur. Artan su sıcaklığının bir sonucu olarak her iki anestezik maddede anestezi ve iyileşme sürelerinin kısaldığı görülmüştür. ArEO ve 2-PE için indüksiyon ve iyileşme sürelerinde su sıcaklığı ve anestezik konsantrasyon interaksyonu önemli bulunmuştur. Japon balıkları üzerinde ArEO ve 2-PE anesteziklerinin herhangi bir yan etkisi gözlemlenmemiştir. Sonuç olarak, ArEO anestezik ajan özelliklerini her iki su sıcaklığında da Japon balığında sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Anestezi, su sıcaklığı, *Carassius auratus*, *Aniba rosaeodora*, 2-fenoksietanol.

ABSTRACT

Anaesthetic Effects of Rosewood (*Aniba rosaeodora*) Essential Oil and 2-phenoxyethanol on Goldfish (*Carassius auratus*) at Different Water Temperatures

In this thesis, it was aimed to investigate the anesthetic effects of rosewood (*Aniba rosaeodora*) essential oil and 2-phenoxyethanol in goldfish (*Carassius auratus*) at different water temperatures. Anesthetic trials were carried out at water temperatures of 14°C and 20°C. Concentrations of 250, 300 and 350 µl/l for rosewood essential oil (ArEO) and 600, 700 and 800 µl/l for 2-phenoxyethanol (2-PE) were tested. When deep anesthesia (A_D) and full recovery (R_F) are considered together, the ideal ArEO concentration was determined as 300 µl/l at 14°C and 250 µl/l at 20°C. The ideal 2-PE concentration was determined as 800 µl/l at both water temperatures. As the ArEO and 2-PE concentrations increased, the A_D durations were shortened and the R_F durations were prolonged. Concentrations of anesthetic agents correlated negatively with induction times and positively with recovery times. A weak negative correlation was found between A_D and R_F times ($R^2=0.3093$) in ArEO anesthetic agent at 14°C water temperature, and a negative relationship was found between A_D and R_F times at 20°C water temperature ($R^2=0.5833$). A negative correlation was found between A_D and R_F times in 2-PE anesthetic agent at 14°C and 20°C water temperatures ($R^2=0.5092$ and $R^2=0.6357$, respectively). There is a strong negative relationship ($R^2=0.9937$ and $R^2=0.9615$, respectively) between ArEO A_D times and ArEO concentrations at 14°C and 20°C. A strong negative correlation ($R^2=0.9982$ and $R^2=0.9996$) was found between 2-PE A_D times and 2-PE concentrations at 14°C and 20°C water temperatures. There is a strong positive correlation ($R^2=0.9941$ and $R^2=0.8157$, respectively) between ArEO R_F times and ArEO concentrations at 14°C and 20°C. A strong positive correlation ($R^2=0.9435$ and $R^2=0.9807$, respectively) was found between 2-PE R_F times and 2-PE concentrations at 14°C and 20°C water temperatures. As a result of increasing water temperature, it was observed that anesthesia and recovery times were shortened in both anesthetic agents. The interaction of water temperature and anesthetic concentration on induction and recovery times was found to be significant for ArEO and 2-PE. No adverse effects of ArEO and 2-PE anesthetics have been observed on goldfish. As a result, ArEO provides anesthetic agent properties in goldfish at both water temperatures.

Key words: Anesthesia, water temperature, *Carassius auratus*, *Aniba rosaeodora*, 2-phenoxyethanol.

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun artışıyla beraber birçok üretim sisteminde de hızlı gelişmeler görülmektedir. Su ürünleri sektörü hayvansal üretim sektörleri içerisinde üretim bakımından başı çekmektedir ve yıldan yıla kendini geliştirmektedir. Su ürünlerine olan talebin her geçen yıl artması kadar teknolojik ve teknik gelişmeler de bu üretim artışına mühim katkılar sunmaktadır. Su ürünleri üretiminin özellikle yetiştiricilik veya diğer adıyla akuakültür yoluyla kayda değer artışı balık refahını gündeme getirmekte ve bu yönde gereken hassasiyetin de göz ardı edilmemesi gerekliliği doğmaktadır. Akuakültür alanında yapılan birçok operasyonel uygulamalarda – morfometrik ölçüm, aşılama, boylama vb. – balık refahının gözetilmesi kaçınılmazdır. Bu uygulamalarda balıkların en az strese ve zarara maruz kalması için anestezi ajanları ve teknikler ön plana çıkmaktadır. Balık refahı dikkate alınarak yapılacak bir üretim hem insan sağlığı hem de balık sağlığı açısından oldukça önemlidir.

Balıklar popüler deneysel modeller olduğu kadar başta insan gıdası olarak birçok amaç için üretilen canlılardır. Bu nedenle, bu hayvan grubunda cerrahi ve invaziv prosedürler oldukça yaygındır (Sneddon, 2012). Suda yaşayan hayvanlar tek tek veya gruplar halinde sudan çıkarıldığında, fizyolojik stres, özellikle mücadele eden bir hayvanda ciddi aşınma ve mekanik şok riskiyle birleşir. Basit markalama veya pompalanan su sistemleri kullanılarak boylama ve suda toplu tartım gibi tamamen suda gerçekleştirilebilen prosedürlerin ciddi zararlara yol açması pek olası değildir. Bir tür sakinleştirme tekniğinin veya sedasyonun gerekli olacağı birçok durum vardır; örneğin, boy-ağırlık çalışmaları sırasında, cinsiyet belirleme, basit enjeksiyon, kan alma, markalama ve birçok etiketleme türü. Diğer durumlarda, hayvanlarla ilgilenmek veya ameliyat yapmak için ek süre gerekebilir; örneğin gonadektomi, hipofizektomi, doku biyopsisi veya uzun süreli fizyolojik incelemeler sırasında ve ardından tam cerrahi anestezisi gerekecektir (Ross ve Ross, 2008).

Beynin duyu merkezlerini çeşitli derecelerde geri dönüşümlü olarak baskılayan ve sonunda refleks eylemi ortadan kaldıran genel anestezi ajanları olarak tanımlanan ajanlar, balıkçılık biyolojisinde giderek daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Genel anestezi ajanları önce korteksi (analjezi safhası), sonra bazal gangliyonları ve serebellumu (uyarılma safhası) ve ardından omuriliği (cerrahi anestezi safhası) baskılar. Aşırı doz veya uzun süreli maruz kalma, medulla tutulumuna yol açar; hayati solunum ve vazomotor merkezlerinin felci o

zaman olağan ölüm nedenidir. Tüm genel anestezikler, değişen derecelerde merkezi sinir sistemi depresanları olarak hareket eder (Bell, 1967).

Anestezi ilaçları tarihsel olarak su ürünleri yetiştiriciliğinde, deneylerde ve veterinerlik uygulamalarında balıklar üzerinde kullanılmıştır (Schoettger ve Julin, 1967). Kullanımları, özellikle tartım, aşılama, kan alma, markalama, deneysel cerrahi ve veterinerlik prosedürleri gibi rutin prosedürler sırasında ellemenin stresli etkilerini azaltır. Bu nedenle, hafif anestezi veya sedasyon, hızlı prosedürlerin etkinliğini artırabilir. Doku hasarının oluşacağı invaziv prosedürlerde, tam veya derin anestezi veya bilinç kaybı, balık refahını iyileştirmek ve cerrahi müdahale ile ilişkili ağrıyı en aza indirmek için kullanılır (Summerfelt ve Smith, 1990). Anestezi uygulama genellikle, ilacın balığın tutulduğu suda veya bir tank veya büyük kova (inhalasyon olarak da adlandırılır) gibi bir anestezi kabında çözülmesiyle, daldırma yoluyla gerçekleştirilir. İndüksiyon daldırma yoluyla gerçekleştiğinde, aşırı doz vakasını azaltmak için balığı gözlemlemek ve anestezi derinliğini ölçmek çok önemlidir. Bu kimyasalların alımı öncelikle solungaçlar ve muhtemelen deri yoluyla olur. Anestezi düzeyi, solungaç havalandırma hızlarının, dengenin korunmasının (dik konum) ve refleks tepkilerinin (örneğin, kuyruğun kıstırılmasına yüzme tepkisi) kaydedilmesiyle izlenir. Araştırma çalışmaları, bu ajanların farmakokinetiğinin yanı sıra indüksiyon ve iyileşme oranlarını, dış uyaranlara yanıt verme ve kullanım oranlarını ölçmek üzerinedir (Sneddon, 2012).

Anestezi işlemi ile balıklar üzerinde bütün operasyonel faaliyetler balıklara zarar vermeden gerçekleştirilebilir. Anestezi ajanları strese bağlı balıkta meydana gelebilecek zararları ve strese karşı fizyolojik tepkiyi azaltabilir (Weber ve ark., 2009; Pawar ve ark., 2011). Balık üzerine yapılacak işlemlerde en uygun seçenek anestezidir ve stresin negatif etkilerini ortadan kaldırmak için uygulanır (Kızak ve ark., 2018a).

Doğal ve kimyasal birçok anestezi ajanı balıkları anestezi etmek amacıyla kullanılmaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliği uygulamalarında MS-222, 2-fenoksietanol ve benzokain gibi kimyasal özellikte anestezi maddelerin kullanımı yaygındır. Doğal olan bitkisel anestezi maddeleri içerisinde ise en çok karanfil yağının su ürünleri yetiştiriciliği alanında kullanımının yaygınlaştığı görülmektedir (Kızak ve ark., 2018a). Geçmişten bugüne bitkisel esansiyel yağlar sağlık, kozmetik, gıda ve tarım uygulamalarında yoğun olarak kullanılmıştır. Son yıllarda birbirinden farklı birçok bitkisel esansiyel yağın su ürünleri araştırmalarında anestezi ajanı olarak etkinliği araştırılmıştır (Cunha ve ark., 2010; Kızak ve ark., 2013; Silva ve ark., 2013; Roohi ve Imanpoor, 2015; Pedrazzani ve Neto,

2016; Can ve ark., 2017; Santos ve ark., 2017; Correia ve ark., 2018; Can ve ark., 2018a; Kızak ve ark., 2018a; Kızak ve ark., 2018b; Can ve ark., 2019; Can ve Sümer, 2019; Kızak ve ark., 2020; Ferreira ve ark., 2022; Oliveira ve ark., 2022; Yigit ve Kocaayan, 2023).

Bu tez çalışmasında bir akvaryum balığı türü olan Japon balıklarında (*Carassius auratus*) gül ağacı (*Aniba rosaeodora*) esansiyel yağının ve kimyasal bir anestezik ajan olan 2-fenoksietanolün farklı su sıcaklıklarında anestezik etkilerinin incelenmesi ve optimal konsantrasyonlarının belirlenmesi yanında, anestezik konsantrasyonu ile su sıcaklığı arasındaki interaksiyonun anesteziklerin etkinliği üzerindeki tesirlerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Gül ağacı esansiyel yağının farklı su sıcaklıklarında bir balık türü üzerinde anestezik etkileri ile ilgili bir anestezi çalışmasına rastlanılmamıştır. Anestezik madde özelliği gösteren gül ağacı esansiyel yağının, Japon balıklarında farklı su sıcaklıklarındaki anestezik özelliklerinin ve konsantrasyonlarının belirlenmesi operasyonel faaliyetler bakımından önem taşımaktadır.

1.1. Balıklarda Anestezi

Diğer birçok hayvanda olduğu gibi, balıklarda indüksiyon ve anestezi derinliği genellikle artan aşamalara bölünür. Balıklar için aktivite veya yüzme, duruş, davranış, solungaç havalandırma hızı, göz hareketi, refleks tepkileri ve kalp atış hızının izlenmesi yaygın olarak yapılır. İstenen değişiklik derecesi, belirli bir prosedür için gereken anestezi seviyesine bağlıdır. İndüksiyon hızlıysa, bir aşamayı diğerinden ayırt etmekte güçlük çekilebilir; bu nedenle, aşırı dozdan kaçınmak için doğru dozun kullanılması özellikle önemlidir. Hızlı ve invaziv olmayan prosedürler için hafif anestezi yeterli olabilir (örn. tartma, taşıma, muayene, solungaç kazıma, harici markalama). Bununla birlikte, invaziv prosedürler ve daha uzun süreli olanlar için cerrahi anestezi tavsiye edilir ve gerektiğinde bir ağızlık ve pompa ile taze veya anestezik dozlu su ile solungaçların suni havalandırmasının eşlik etmesi gerekebilir. Poikiloterm canlılarda gereksiz stresi önlemek için suyun havalandırılması ve bunların normal ortamına benzer bir sıcaklıkta tutulması özellikle önemlidir (Sneddon, 2012).

1.1.1. Anestezik ajan tipleri

Laboratuvar çalışmaları, veterinerlik ve su ürünleri yetiştiriciliği kapsamında birkaç farklı anestezik ajan uygulanagelmektedir. Balıklarda en sık kullanılan anestezik ajanlar MS-222 veya diğer adıyla Tricaine, benzokain, izoeugenol, metomidat, 2-fenoksietanol ve kinaldindir (Summerfelt ve Smith, 1990). Deneysel çalışmalar, indüksiyon, iyileşme oranı ve farmakokinetik ile istenmeyen veya ters yan etkileri araştırmıştır. Bununla birlikte, bu araştırmalar nispeten az sayıda türle sınırlıdır ve bu ajanlardan herhangi biri doğrulanmamış bir tür üzerinde kullanılırken dikkatli olunmalıdır. Balık türleri ve özellikleri son derece çeşitlilik gösterdiğinden, su kalitesindeki ve çevresel gereksinimlerdeki bir değişiklik, bir anestezik ajanın etkinliğini herhangi bir balık türü üzerinde önemli ölçüde etkileyebilir. Bu nedenle başlangıçta düşük dozlar en etkili doza ulaşılan kadar kademeli artışlarla kullanılmalıdır (Sneddon, 2012). Kimyasal ajanlardan farklı olarak bir diğer anestezik ajan tipi ise bitkisel esansiyel yağlardır. Bitkisel kökenli maddeler anestezik ajan adayı olarak dünya genelinde araştırılmaktadır.

1.1.2. Potansiyel balık anestezikleri olarak bitkisel esansiyel yağlar

Esansiyel yağlar kolay ayrıştırılabilir ekolojik özellikleri ve fitotoksik olmamaları sebebiyle son yıllarda artan bir ilgi görmektedir. Çeşitli balık türleri üzerinde anestezi amacıyla denemeleri yapılmış birçok esansiyel bitkisel esansiyel yağ vardır. Farklı balık türleri üzerinde anestezi denemeleri yapılmış bitkisel esansiyel yağlar ve konsantrasyonlarına ait örnekler verecek olursak;

- 5-500 µl/l konsantrasyonda sardunya esansiyel yağı gümüş yayın balığında (Cunha ve ark., 2010),
- 250-1000 µl/l konsantrasyonda biberiye esansiyel yağı sazan balığında (Ghazilou ve Chenary, 2011),
- 20-40 µl/l konsantrasyonda karanfil esansiyel yağı gökkuşağı ve dere alabalıklarında (Kızak ve ark., 2013),
- 3000-7000 µl/l konsantrasyonda nane esansiyel yağı sazan balığında (Roohi ve Imanpoor, 2015),
- 5-35 µl/l konsantrasyonda karanfil esansiyel yağı palyaço balığında (Pedrazzani ve Neto, 2016),

- 200-600 µl/lt konsantrasyonda kafur esansiyel yağı palyoço balığında (Pedrazzani ve Neto, 2016),
- 400-1600 µl/lt konsantrasyonda limon otu esansiyel yağı kırmızı pacu balığında (Barbas ve ark., 2017),
- 100-1000 µl/lt konsantrasyonda papatya esansiyel yağı ahli balığında (Can ve ark., 2017),
- 25-300 µl/lt konsantrasyonda *Pelargonium graveolens* esansiyel yağı sarı prenses balığında (Can ve ark., 2018a),
- 50-300 µl/lt konsantrasyonda gül ağacı esansiyel yağı Japon balığında (Kızak ve ark., 2018a),
- 25-300 µl/lt konsantrasyonda *Cymbopogon citratus* esansiyel yağı iki farklı akvaryum balığı türünde (Kızak ve ark., 2018b),
- 100-200 µl/lt konsantrasyonda *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* esansiyel yağları *Pseudoplatystoma reticulatum* türünde (Silva ve ark., 2020),
- 300-800 µl/lt konsantrasyonda defne yaprağı esansiyel yağı mavi yunus çiklit balığında (Kızak ve ark., 2020)
- 75-450 µl/lt konsantrasyonda *Hesperozygis ringens* esansiyel yağı *Colossoma macropomum* türünde (Ferreira ve ark., 2022)
- 10-250 µl/lt konsantrasyonda *Cymbopogon citratus* ve *Lippia sidoides* esansiyel yağları *Pterophyllum scalare* türünde (Oliveira ve ark., 2022)
- 20-600 µl/lt konsantrasyonda *Origanum onites* ve *Coriandrum sativum* esansiyel yağları gökkuşağı alabalığında (Yigit ve Kocaayan, 2023) test edilmiştir.

1.1.3. Balıklarda anestezi safhaları

Balıklarda anestezi safhaları genel olarak dört safhadan oluşmaktadır (Tablo 1.1). İlk iki safha anestezi safhaları olup A_I (İlk İndüksiyon) ve A_D (Derin Anestezi) safhalarından oluşmaktadır. Son iki safha ise anesteziden uyanma yani iyileşme safhalarıdır ve R_I (İlk İyileşme) ve R_F (Tam İyileşme) safhalarından ibarettir.

Tablo 1.1. Anestezi ve iyileşme safhalarında balığın gösterdiği davranış özellikleri [A: İndüksiyon (Anestezi), R: İyileşme] (Mylonas ve ark., 2005; Kızak ve ark., 2018a).

SAFHALAR	DAVRANIŞ ÖZELLİKLERİ
A_I İlk İndüksiyon	Tam denge kaybı, yavaş fakat düzenli operküler hareket.
A_D Derin Anestezi	Refleks olmaz, solungaç kapakları yavaş ve düzensiz hareket eder, kuvvetli dış müdahalelere tepki vermez.
R_I İlk İyileşme	Tam denge, düzensiz yüzme.
R_F Tam İyileşme	Normal davranış ve yüzme hareketleri gerçekleşir.

1.2. Anesteziyi Etkileyen Faktörler

Yaş, cinsiyet, vücut kondüsyonu ve ağırlığı, gelişim aşaması, büyüme ve fizyolojik durum, sağlık ve üreme durumu gibi biyolojik faktörlerin yanı sıra su kalitesi, sıcaklık ve oksijenasyon gibi abiyotik faktörler balık anestezisinin etkinliğini etkiler. Balıklarda anestezi çalışmalarında, vücut kondüsyonunun, su sıcaklığının ve fizyolojik stresin anestezi üzerindeki kesin etkilerini belirlemek amacıyla çeşitli araştırmalar yapılmıştır (Sneddon, 2012).

1.2.1. Farklı su sıcaklıklarında anestezi ajanlarının etkileri

Anestezi madde konsantrasyonu ve çeşitli biyolojik veya çevresel faktörler balıkların anestezisini önemli ölçüde etkiler. Sıcaklık, pH, yaş, boyut, cinsiyet ve bu faktörler arasındaki etkileşimler de balıklarda anestezi ajanlarının etkinliğine tesir eder (Ross ve Ross, 2008; Zahl ve ark., 2009; Aydın ve ark., 2015; Santos ve ark., 2015; Li ve ark., 2018; Mitjana ve ark., 2018; Aydın ve ark., 2019). Balıklar poikilotermiktir ve bu nedenle fizyolojileri ve metabolik hızları ortamdaki su sıcaklığına bağlıdır. Daha yüksek sıcaklıklar genellikle indüksiyon ve iyileşme sürelerini azaltır. Balıkların anesteziklere tepkileri farklı su sıcaklıklarında önemli ölçüde değişebilmektedir (Hamackova ve ark., 2004; Mylonas ve ark., 2005; Zahl ve ark., 2009; Aydın ve ark., 2015; Santos ve ark., 2015; Skår ve ark., 2017; Park ve ark., 2018; Rozynski ve ark. 2018; Aydın ve ark., 2019). Atlantik somonu, kahverengi alabalık, beyaz balık, tatlı su levreği, gökkuşağı alabalığı ve *Rutilus rutilus*

türlerinde izoeugenol; çizgili levrekte benzokain; Atlantik morina balığı, Atlantik pisi balığı, levrek ve çipurada 2-fenoksietanol ve izoeugenol; ve gökkuşağı alabalığında izoeugenol daha yüksek sıcaklıklarda daha kısa indüksiyon ve iyileşme hızına sahiptir (Stehly ve Gingerich, 1999; Hoskonen ve Pirhonen, 2004; Woolsey ve ark., 2004; Zahl ve ark., 2009; Sneddon, 2012). MS-222 anestezi çeşitli balıklarda yüksek sıcaklıklarda daha hızlıdır (Sylvester ve Holland, 1982). Bununla birlikte, su sıcaklığı ile indüksiyon ve iyileşme arasında her zaman tutarlı ve basit bir ilişki yoktur. Örneğin, pisi balığında yüksek sıcaklıklarda indüksiyon çok daha hızlı olmasına rağmen, iyileşmenin daha uzun sürdüğü görülmüştür. Su sıcaklığı ve anestezi arasındaki ilişki konusunda dikkatli olunmasında fayda vardır. Ayrıca, su sıcaklığındaki hızlı değişimler balıklarda strese neden olabilir ve metabolizma hızlarını, dolaşımlarını ve anestetik ajanın alımını etkileyebilir (Zahl ve ark., 2009; Sneddon, 2012). Bu nedenle, farklı su sıcaklıklarında her balık türü için etkili anestetik konsantrasyonlarının belirlenmesi su ürünleri yetiştiriciliği açısından oldukça önemlidir.

1.3. Önceki Çalışmalar

Weyl ve ark. (1996) 2-fenoksietanolün bir anestetik olarak etkinliğini ve etki tarzını iki farklı büyüklükteki *Carassius auratus* türünde üç farklı sıcaklıkta değerlendirmiştir. İyileşme oranının anestezinin uzunluğundan bağımsız olduğunu, anestezinin solungaç zarı ve deri/çözeltili arayüzündeki bir konsantrasyon gradyanı yoluyla alındığını ve kaybolduğunu belirtmiştir. Balıklar anestetik solüsyondan çıkarıldıktan sonra 10 dakikadan daha kısa sürede iyileşmiştir. 14 günlük bir süre boyunca günlük olarak tekrarlanan 2-fenoksietanol maruziyetine, balıklar artan toleransla yanıt vermiş ve bunun anesteziye bir alışma tepkisi olduğu rapor edilmiştir.

Aydın ve ark. (2015) Karadeniz kalkan balığının karanfil yağı ile anestezi edilmesinde farklı sıcaklıkların, balık büyüklüklerinin ve anestetik konsantrasyonların anestezi ve iyileşme sürelerine etkilerini araştırmıştır. Su sıcaklığı, balık büyüklüğü ve karanfil yağı konsantrasyonunun anestezi ve iyileşme sürelerini etkilediğini belirlemiştir. Su sıcaklığı 10°C'den 20°C'ye yükseldiğinde anestezi ve iyileşme süreleri azalmıştır. Küçük balıkların anestezi ve iyileşme süreleri su sıcaklığına bağlı olarak değişmesine rağmen, genel olarak büyük balıklardan daha kısa olmuştur. Karadeniz kalkan balığının hızlı bayılması ve

nispeten kısa sürede ayrılması için 180-220 mg/lt karanfil yağı konsantrasyonunun uygun olduğu bildirilmiştir.

Santos ve ark. (2015) dört farklı anestezi ajanının etkilerini juvenil *Siganus rivulatus* üzerinde üç farklı canlı ağırlıkta ve üç farklı su sıcaklığında değerlendirmiştir. Bunun dışında, vücut lipid içeriği ile dört anestezi ajanının etkinliği arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Sıcaklığın indüksiyon ve iyileşme süreleri üzerinde önemli etkileri olmuştur. Artan su sıcaklığı ile indüksiyon ve iyileşme süreleri azalmıştır. Vücut ağırlığı ile anestezi etkinlik arasında uniform bir ilişki gözlenmemiştir. Vücut yağ içeriği, yalnızca MS-222 kullanıldığında indüksiyon süresi ile pozitif korelasyon göstermiş, ancak 2-PE, karanfil yağı veya benzokaine maruz kalan balıkların indüksiyon süreleri etkilenmemiştir. Anestezi etkinliğinin artan su sıcaklığı ile arttığı, ancak vücut ağırlığından güçlü bir şekilde etkilenmediği görülmüştür. Balıklardaki vücut yağı anestezi ajanların etkinliğini etkileyerek genellikle iyileşmeyi yavaşlatmıştır.

Skår ve ark. (2017) *Cyclopterus lumpus* türünde 200 mg/lt metakainin hem maruz kalma süreleri hem de dozlar açısından iyi güvenlik marjları nedeniyle balık boyutu ve sıcaklığından bağımsız olarak derin narkoz için etkili bir doz olduğunu tespit etmiştir. Ölümcül dozlar için koşullar, seçilen anestezi, balık boyutu ve sıcaklığa göre değişmektedir.

Park ve ark. (2018) *Epinephelus akaara* türünde anestezi sıcaklığı ve karanfil yağı konsantrasyonu artırıldığında anestezi ve iyileşme sürelerinin azaldığını ve juvenil ile erişkin arasında benzer olma eğiliminin olduğunu bildirmiştir. Sıcaklık ve konsantrasyon arttıkça, yavru ve yetişkin arasındaki maruz kalma süresi ve iyileşme süresi oranı azalmıştır.

Rozynski ve ark. (2018) belirli boydaki sudak balıkları için iki farklı su sıcaklığında MS-222'nin optimum konsantrasyonunu belirlemeyi çalışmıştır. Optimum MS-222 konsantrasyonunun büyük ölçüde sudak boyutuna ve su sıcaklığına bağlı olduğunu ortaya koymuştur.

Aydın ve ark. (2019) iki farklı su sıcaklığında karanfil yağı ve 2-PE'nin doktor balıklarda (*Garra rufa*) anestezi etkinliğini belirlemeyi amaçlamıştır. Doktor balıklarda indüksiyon ve iyileşme sürelerinin karanfil yağı ve 2-PE konsantrasyonlarının yanı sıra su sıcaklığından önemli ölçüde etkilendiğini göstermiştir. Konsantrasyon ve su sıcaklığının tüm indüksiyon aşaması süresi üzerindeki etkileşimi karanfil yağında önemli bulunmuştur. Konsantrasyon ve sıcaklık arasındaki etkileşim her iki anestezi ajanda da iyileşme süreleri için önemli çıkmıştır. İndüksiyon süresi 15°C ve 25°C su sıcaklığında her iki anestezi

ajanın konsantrasyonunun artmasıyla önemli ölçüde azalmıştır. Karanfil yağının 2-PE'den 4 kat daha düşük konsantrasyonlarda etkili olduğu, ancak iyileşme süresinin 2-PE'den daha uzun olduğu kaydedilmiştir.

1.4. Gül Ağacı (*Aniba rosaeodora*) ve Esansiyel Yağı

Gülağacı türleri Brezilya, Guyana, Peru, Kolombiya, Venezuela ve Surinam'da dağılım göstermektedir. *Aniba rosaeodora* esansiyel yağı yüksek linalol içeriğine (~%85) dayalı kokusu nedeniyle dünya çapında parfümeri ve kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır. Gülağacı yağı analjezik, antikonvülsan, antidepresan, antimikrobiyal, antiseptik, afrodizyak, bakterisidal, hücresel uyarıcı, sefalik, uyarıcı, doku yenileyici ve uykusuzluğu ve ağrıyı azaltmak için uygulanmaktadır (Sarrazin ve ark., 2016).



Resim 1.1. Gülağacı esansiyel yağı (*Aniba rosaeodora*) (Orijinal).

1.5. 2-fenoksietanol

En yaygın kimyasal ajanlardan biri 2-fenoksietanoldür (2-PE). 2-PE'ün etkinliği birçok çalışmada farklı balık türleri için çalışılmış ve değerlendirilmiştir (Weyl ve ark., 1996; Velisek ve Svobodova, 2004; Mylonas ve ark., 2005; Velisek ve ark, 2007; Weber ve ark., 2009; Gokcek ve Ogretmen, 2011; Adel ve ark., 2016; Hekimoglu ve ark., 2017; Gökçek ve ark., 2017; Can ve ark., 2018b; Kızak ve ark., 2018a; Mitjana ve ark., 2018; Aydın ve ark., 2019; Kızak ve ark., 2020). 2-PE nakiller sırasında balıkların sakinleştirilmesi için de yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, hipoventilasyon üretir, çok az analjezi sağerlar ve 2-PE'ye düzenli olarak maruz kalmak insanlarda nörofizyolojik bir sendroma neden olur (Fernandez-Parra ve ark., 2017).

1.6. Japon Balığı (*Carassius auratus*)

Japon balığı, havuz sazanı ve Japon havuz sazanı dahil olmak üzere *Carassius* (Cypriniformes, Cyprinidae) cinsi balıklar tatlı sularda yaşar. Tayvan ve Japon adaları da dahil olmak üzere Avrasya kıtasında ve çevresinde yaygın olarak dağılım gösterir. Büyük değerşkenlikleri nedeniyle sınıflandırmaları tam olarak belirlenmemiş olsa da en az üç tre ayrılabilirler: *C. auratus*, *C. carassius* ve *C. cuvieri*. Bunların arasında *C. auratus* eşitleri bazen bağımsız türler veya alt türler olarak ele alınır [rneğin, *C. (a.) burgeri*, *C. (a.) gibelio*, *C. (a.) grandoculis* ve *C. (a.) langsdorfii*]. Yapay seleksiyon altında üretilen ve dünya çapında yaygın olan evcilleştirilmiş ss balıkları olan akvaryum balıklarının (*C. a. auratus*) varlığıyla değerşkenliğin daha da arttığı görülmektedir (Takada ve ark., 2010).



Resim 1.2. Japon balığı (*Carassius auratus*) (Orijinal).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Deneme Yeri ve Deneme Materyalleri

Tez çalışması Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Denemelerde 500 lt hacimli balık tankları, ~1 lt şeffaf anestezi kabı, kepçe ve mikropipet kullanılmıştır (Resim 2.1 ve 2.2.).



Resim 2.1. Balık tankları, şeffaf anestezi kabı, kepçe (Orijinal).



Resim 2.2. Mikropipet, sarı uçlar ve gülağacı esansiyel yağı (Orijinal).

2.2. Deneme Balığı ve Su Koşulları

Denemeler ortalama canlı ağırlığı $8,33 \pm 0,07$ gr ($n=84$) olan Japon balıkları (*Carassius auratus*) ile gerçekleştirildi. Balıklar Elazığ'daki bir pet-shop'tan temin edildi ve Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne transfer edildi. Balıklar 2 adet 500 lt hacimli fiberglas tanklara stoklandı ve kademeli olarak suya alıştırdı. Balıklar günde iki kez *ad libitum* olarak beslendi ve deneylerin başlamasından 24 saat önce aç bırakıldı.

Su kalitesi parametrelerinden su sıcaklığı ve çözünmüş oksijen değerleri YSI marka portatif multi parametre ölçüm cihazı ile ölçüldü. $\sim 20^{\circ}\text{C}$ su sıcaklığını sağlamak 20°C sıcaklığa ayarlanmış 200 watt gücünde akvaryum su ısıtıcıları kullanıldı. Deneme balıklarının bir kısmı $\sim 14^{\circ}\text{C}$ su sıcaklığında stoklanırken, bir kısmı da $\sim 20^{\circ}\text{C}$ su sıcaklığına adapte edilip stoklandı. Bu sayede aynı zaman diliminde aynı popülasyon için iki farklı su sıcaklığı oluşturuldu.

2.3. Anestezik Ajanlar

Bu çalışmada bir bitkisel esansiyel yağ ve bir kimyasal ajan anestezik madde olarak değerlendirildi. Gülağacı (*Aniba roseaodora*) esansiyel yağı ticari bir şirketten temin edildi. Bu esansiyel yağın ana bileşeni %86,23 ile linalool maddesidir. Gülağacı esansiyel yağı renksizdir ve karakteristik bir kokuya sahiptir. Kimyasal bileşimleri ve fiziksel özellikleri ticari üreticisi (Nu-Ka Defne Essencia) tarafından sağlandı. Kimyasal anestezik ajan olarak 2-fenoksietanol (2-PE) (Sigma-Aldrich) kullanıldı.

2.4. Anestezik Uygulamalar

Gülağacı esansiyel yağı ilk olarak etanol içinde çözüldü. Gülağacı esansiyel yağı ve etanol karışımından ArEO anestezik ajanı oluşturuldu. Her anestezik konsantrasyon denemeye başlamadan birkaç dakika önce hazırlandı. Esansiyel yağların homojenizasyonu Can ve ark. (2018a)'na göre gerçekleştirildi. İlk olarak 15 ml hacimli plastik kapaklı bir tüpe istenilen konsantrasyonda esansiyel yağ aktarıldı ve ardından tüpe 1:10 olacak şekilde %94 saflıkta etanol eklendi. ~ 5 sn çalkaladıktan sonra uçucu yağ+etanol solüsyonuna 10 ml saf su ilave edildi ve tekrar çalkalandı. Son olarak solüsyon ~ 1 lt su ile doldurulmuş şeffaf

anestezik kaba uygulandı. 2-fenoksietanol anestezik ajanı (2-PE) ise doğrudan deneme suyunda çözüldü.

Her iki anestezik ajan için üç farklı konsantrasyon seçildi;

- ArEO → 250, 300 ve 350 µl/lt,
- 2-PE → 600, 700 ve 800 µl/lt konsantrasyonlar denendi.

Anestezi (A) ve iyileşme (R) safhalarının tespiti Tablo 1.1’de gösterilmiştir. Anestezi (A_I : İlk İndüksiyon, A_D : Derin Anestezi) ve İyileşme (R_I : İlk İyileşme, R_F : Tam İyileşme) safhalarının tespitinde balık davranışları dikkate alındı ve saniye (sn) olarak süreler tespit edilerek kaydedildi. Her bir konsantrasyon için 7 adet balık teker teker denendi ve her bir balık bir tekerrür olarak kabul edildi. Toplamda her bir konsantrasyon için 7 tekrarlı uygulama gerçekleştirildi. Anestezi ve iyileşme safhalarının belirlenmesinde iki kişi tarafından gözlem yapıldı. Sürelerin ölçülmesinde kronometre kullanıldı. Kepçe yardımıyla alınan balık şeffaf anestezi kabına aktarıldıktan sonra denge kaybı, operküler hareket ve kuyruğa dış müdahaleye verdiği tepki yönünden gözlemlendi. Anestezi kabında A_D safhasına ulaşan balık kepçe yardımıyla alınıp ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra iyileşmenin gerçekleşeceği anestezik maddenin bulunmadığı iyileşme (ayılma) kabına alındı. R_F safhasına ulaşan balık stok tankına alınarak ölüm ve anormal davranışlar olup olmadığının tespiti amacıyla 24 saat gözlem altında tutuldu. Anestezi ve iyileşme esnasında deneme sularına hafif şiddette havalandırma uygulandı.

2.5. İstatistiksel Analizler

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS istatistik programı (20.0) ve Excel programı kullanıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi. Verilerin normalliği ve homojenliği ANOVA varsayımlarına uyacak şekilde kontrol edildi. Ortalamalar arasındaki önemli farklılıklar ANOVA ve ardından Duncan post hoc testi kullanılarak karşılaştırıldı. Anestezik konsantrasyonlar ve su sıcaklıkları arasında interaksyonu belirlemek için iki yönlü varyans analizi (two-way ANOVA) kullanıldı. $p < 0,05$ ise farklılıklar anlamlı olarak kabul edildi. Anestezik konsantrasyonları ile indüksiyon/iyileşme süreleri ve ayrıca indüksiyon ve iyileşme süreleri arasındaki ilişkiyi açıklamak için regresyon denklemleri kullanıldı.

3. BULGULAR

3.1. Su Kalitesi

Tez çalışmasında iki farklı su sıcaklığı ortamı denendi. Ortalama $14,11 \pm 0,4$ °C su sıcaklığında çözünmüş O₂ değeri ortalama $7,06 \pm 0,11$ mg/lt iken, ortalama $20,07 \pm 0,8$ °C su sıcaklığında çözünmüş O₂ değeri ortalama $6,35 \pm 0,12$ mg/lt olarak kaydedildi. Denemelere başlamadan önce yaklaşık bir hafta boyunca deneme ortamlarına Japon balıklarının refleks ve yüzme hareketlerinin normal olduğuna gözlem yoluyla kanaat getirilerek çalışmaya başlandı.

3.2. Japon Balığında Anestezik Safhaların Tespiti

Anestezik safhaların tespitinde iki gözlemci yer aldı. Bunun yanında kameralı kayıtlar da gerçekleştirilerek tereddütlü durumlarda görüntülerden istifade edildi.

3.2.1. Anestezik safhalar

İlk olarak deneme balığı anestezikli su bulunan anestezi kabına nazikçe bırakıldı (Resim 3.1) ve akabinde gözlem yapılmaya başlandı.



Resim 3.1. Deneme balığının anestezikli suya bırakılması (Orijinal).

Anestezinin ilk safhası İlk İndüksiyon (A_I) gerçekleşmeye başladığında (Resim 3.2) balıkta tam denge kaybı ve yavaş düzenli operküler hareket gözlemlendi.



Resim 3.2. İlk indüksiyon safhası (Orijinal).

Anestezinin ikinci safhası olan Derin Anestezi (A_D) safhasında ise (Resim 3.3) balıkta refleks kaybı, solungaç kapaklarında yavaşlama ve düzensiz hareket, kuvvetli dış müdahalelere tepkisizlik gözlemlendi.



Resim 3.3. Derin anestezi safhası (Orijinal).

3.2.2. İyileşme safhaları

Derin anestezide olan deneme balığı anestezikli sudan çıkarılıp anestezik ajandan ari suyun bulunduğu iyileştirme kabına nazikçe bırakıldı (Resim 3.4), ardından gözlem yapılmaya başlandı.



Resim 3.4. Derin anestezide olan balığın anestezikten ari suya bırakılması (Orijinal).

İyileşmenin ilk safhası İlk İyileşme (R_1) gerçekleşmeye başladığında (Resim 3.5) balıkta tam denge ve düzensiz yüzme gözlemlendi.



Resim 3.5. İlk iyileşmede balığın dengeyi sağlaması (Orijinal).

İyileşmenin ikinci safhası olan Tam İyileşme (R_F) safhasında ise (Resim 3.5) balıkta normal davranış ve yüzme hareketleri gözlemlendi.



Resim 3.6. Tam iyileşmede balığın normal davranışları ve yüzme hareketleri (Orijinal).

3.3. Anestezik Ajanların İndüksiyon ve İyileşme Süreleri

Farklı su sıcaklıklarında ArEO ve 2-PE ile Japon balıkları üzerinde yapılan anestezi çalışmasında bütün konsantrasyonlarda indüksiyon sağlandı. Anestezi safhaları incelendiğinde, balıklarda denge kaybı oluştu ve operkulumlarda hareket düzenli gerçekleşti. Derin anestezide bütün reflekslerde kayıp gözlemlendi. Bu safhadaki balıkta

solungaç kapakları düzensiz ve yavaş hareketli idi. Bu safhaya ulaşan deneme balıkları anesteziye sokularak aynı su şartlarını sağlayan iyileştirme kabına alındı. İyileştirme zamanı da balıkların iyileştirme akvaryumuna alındığı andan itibaren anesteziye kurtulduğu ve tamamen normal davranış gösterdiği ana kadar olan zamanı kapsamaktadır.

Anestezi edilen balıklarda mortalite ve herhangi bir yan etki gözlemlenmedi. R_F safhasından ~2 saat sonra balıklar yem almaya başladı. 24 saatlik gözlem neticesinde balıklarda herhangi bir negatif durum kaydedilmedi. Su sıcaklığı farkına bağlı olarak her iki anestezi ajanında indüksiyon ve iyileşme sürelerinin değişkenlik sergilediği kaydedildi. ArEO için indüksiyon ve iyileşme süreleri Tablo 3.1’de, 2-PE için ise Tablo 3.2’de verildi.

3.3.1. ArEO indüksiyon ve iyileşme süreleri

En etkili ArEO konsantrasyonu 14°C su sıcaklığında 350 µl/l (A_D ; $R_F \rightarrow 151 \pm 6,4$ sn ; $524 \pm 32,6$ sn), 20°C su sıcaklığında yine 350 µl/l (A_D ; $R_F \rightarrow 131 \pm 1,6$ sn ; $468 \pm 11,1$ sn) olarak tespit edildi. Konsantrasyonlar arasında aynı safhalar bakımından önemli istatistiksel farklılıklar vardır ($p < 0,05$) (Tablo 3.1). 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında ArEO anestezi ajanında konsantrasyon arttıkça A_D safhasında süreleri kısalırken (Tablo 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.6), R_F safhası süreleri konsantrasyon arttıkça uzamıştır (Tablo 3.1, Şekil 3.4, Şekil 3.8).

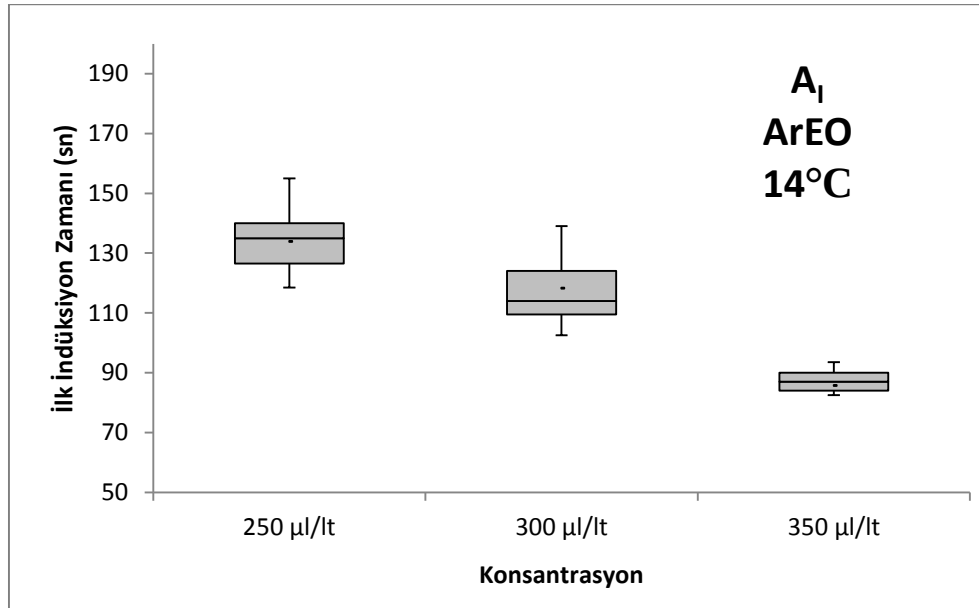
Su sıcaklığı farkına bağlı olarak ArEO’da indüksiyon ve iyileşme süreleri de farklılık göstermiştir. Düşük sıcaklıkta bütün indüksiyon (A_I ve A_D) ve iyileşme (R_I ve R_F) süreleri yüksek sıcaklığa göre uzun kaydedilmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında *C. auratus* türünde farklı konsantrasyonlardaki ArEO anestezik ajanına ait indüksiyon (A_I ve A_D) ve iyileşme (R_I ve R_F) safhalarının süreleri (sn).

14°C Su Sıcaklığında				
Konsantrasyon (μ l/l)	İndüksiyon Zamanı (sn)		İyileşme Zamanı (sn)	
	A_I	A_D	R_I	R_F
250	134 $\pm$ 3,9 ^c	236 $\pm$ 12,8 ^c	156 $\pm$ 15,7 ^a	425 $\pm$ 25,6 ^a
300	118 $\pm$ 4,7 ^b	188 $\pm$ 13,9 ^b	261 $\pm$ 15,9 ^b	481 $\pm$ 16,1 ^{ab}
350	86 $\pm$ 3,1 ^a	151 $\pm$ 6,4 ^a	301 $\pm$ 16,9 ^b	524 $\pm$ 32,6 ^b
20°C Su Sıcaklığında				
Konsantrasyon (μ l/l)	İndüksiyon Zamanı (sn)		İyileşme Zamanı (sn)	
	A_I	A_D	R_I	R_F
250	74 $\pm$ 2,3 ^c	182 $\pm$ 2,3 ^c	133 $\pm$ 3,7 ^a	316 $\pm$ 5,7 ^a
300	63 $\pm$ 2,5 ^b	165 $\pm$ 2,0 ^b	163 $\pm$ 4,4 ^b	455 $\pm$ 8,6 ^b
350	49 $\pm$ 1,2 ^a	131 $\pm$ 1,6 ^a	244 $\pm$ 4,9 ^c	468 $\pm$ 11,1 ^b

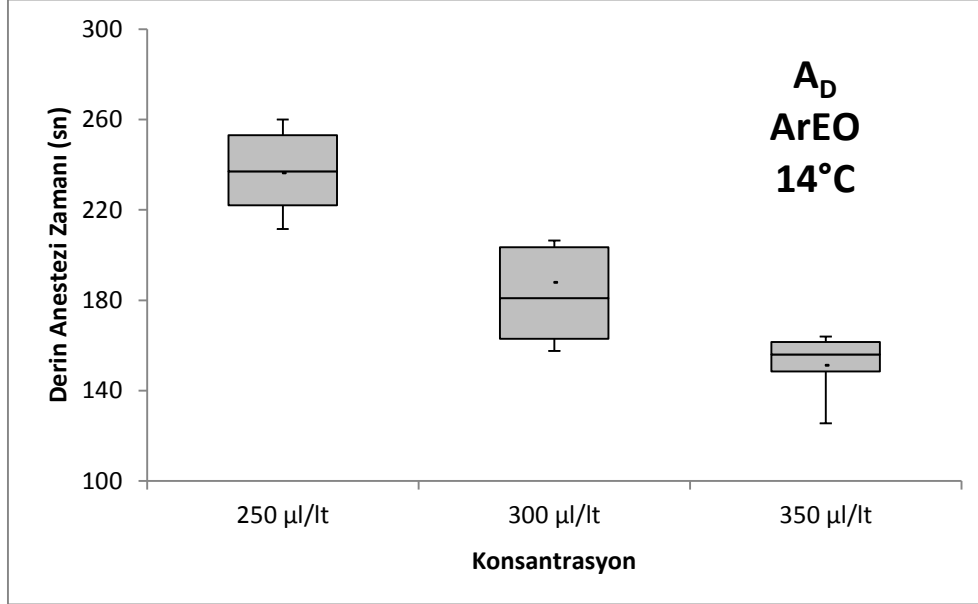
*Aynı sütün içinde aynı su sıcaklığı için farklı üst simgelere sahip değerler (ortalama $\pm$ sh) arasında istatistiksel olarak önemli farklılık vardır ($p < 0,05$).

14°C su sıcaklığında ArEO konsantrasyonu arttıkça A_I safhasında süreler kısalmaktadır (Şekil 3.1, Tablo 3.1) ($p < 0,05$).



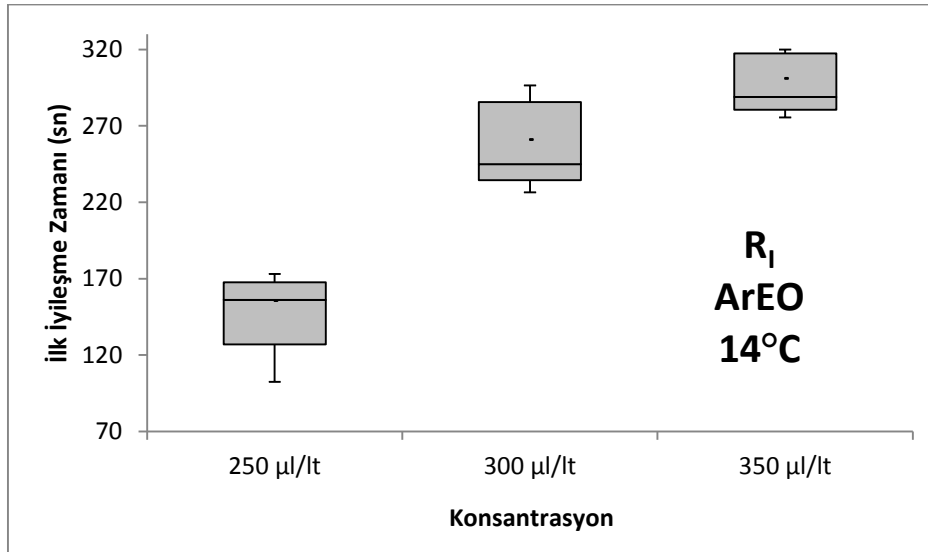
Şekil 3.1. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi A_I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

14°C su sıcaklığında ArEO konsantrasyonu arttıkça A_D safhası süreleri kısalmaktadır (Şekil 3.2, Tablo 3.1) ($p<0,05$).



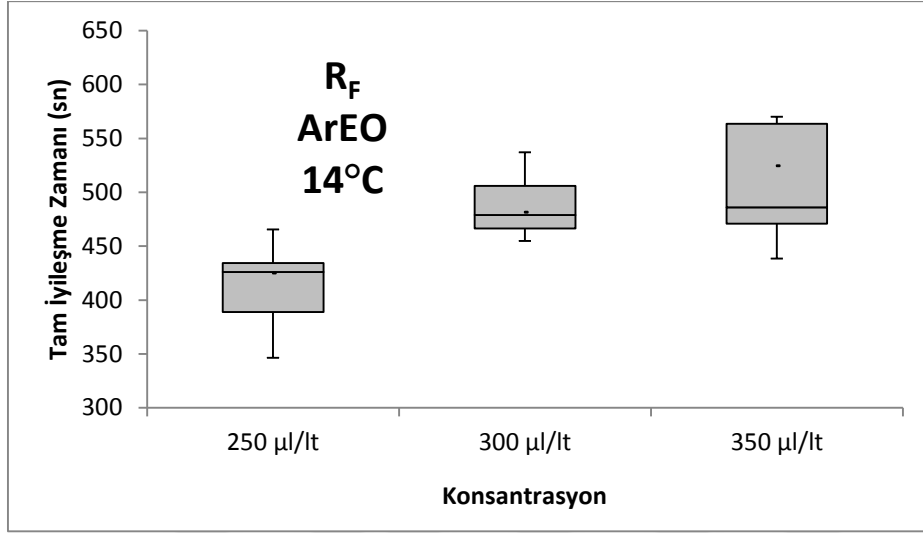
Şekil 3.2. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi A_D safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

14°C su sıcaklığında ArEO konsantrasyonu arttıkça R_I safhası süreleri uzamaktadır (Şekil 3.3, Tablo 3.1) ($p<0,05$).



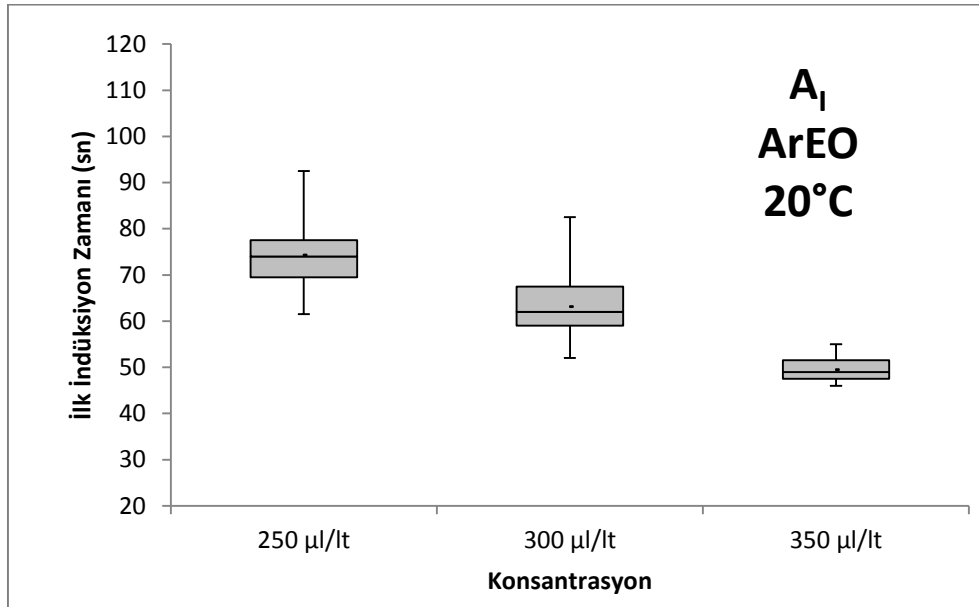
Şekil 3.3. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi R_I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

14°C su sıcaklığında ArEO konsantrasyonu arttıkça R_F safhası süreleri uzamaktadır (Şekil 3.4, Tablo 3.1) (p<0,05).



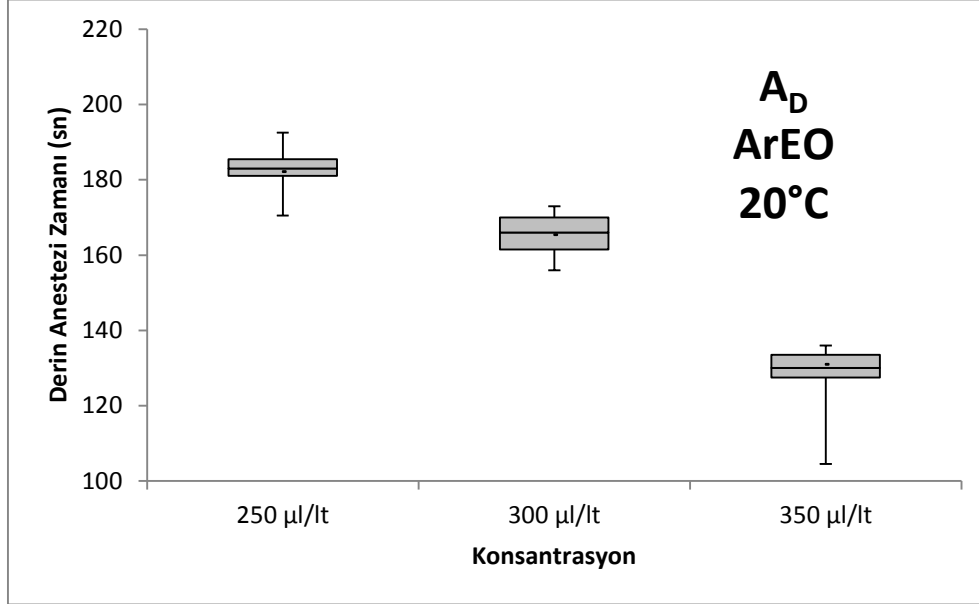
Şekil 3.3. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi R_F safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

20°C su sıcaklığında ArEO konsantrasyonu arttıkça A_I safhasında süreler kısalmaktadır (Şekil 3.5, Tablo 3.1) (p<0,05).



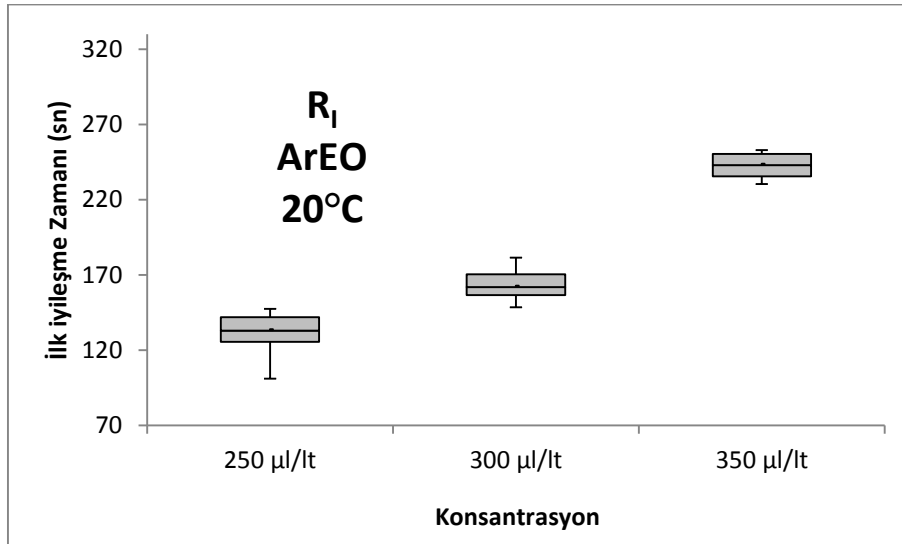
Şekil 3.5. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi A_I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

20°C su sıcaklığında ArEO konsantrasyonu arttıkça A_D safhası süreleri kısalmaktadır (Şekil 3.6, Tablo 3.1) ($p<0,05$).



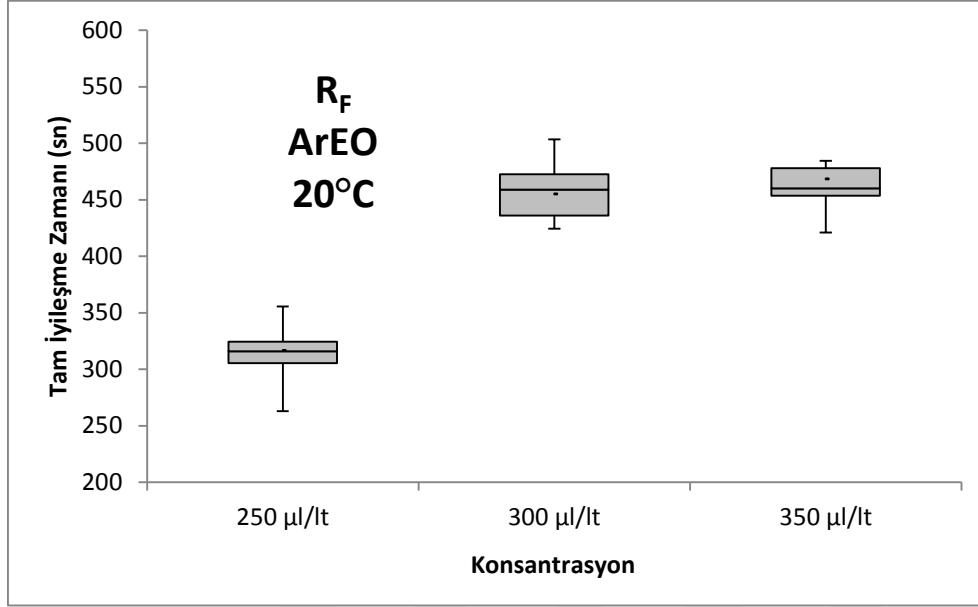
Şekil 3.6. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi A_D safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

20°C su sıcaklığında ArEO konsantrasyonu arttıkça R_I safhası süreleri uzamaktadır (Şekil 3.7, Tablo 3.1) ($p<0,05$).



Şekil 3.7. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi R_I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

20°C su sıcaklığında ArEO konsantrasyonu arttıkça R_F safhası süreleri artış göstermektedir (Şekil 3.8, Tablo 3.1) (p<0,05).



Şekil 3.8. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi R_F safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

ArEO anestezik ajanında indüksiyon ve iyileşme sürelerinin iki farklı su sıcaklığında da önemli derecede konsantrasyona bağlı olduğu görülmektedir (p<0,05).

3.3.2. 2-PE indüksiyon ve iyileşme süreleri

14°C su sıcaklığında en etkili 2-PE konsantrasyonu 800 µl/l (A_D ; R_F→181 ± 2,38 sn ; 274 ± 9,8 sn) ve 20°C su sıcaklığında 800 µl/l (A_D ; R_F→168 ± 3,4 sn ; 253 ± 7,8 sn) olarak belirlenmiştir. Konsantrasyonlar arasında aynı safhalar bakımından önemli istatistiksel farklılıklar vardır (p<0,05) (Tablo 3.2). 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında 2-PE anestezik ajanında konsantrasyon artışına bağlı olarak A_D safhası süreleri kısalmaktadır (Tablo 3.2, Şekil 3.10, Şekil 3.14). Buna karşın 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında konsantrasyon artışına bağlı olarak R_F sürelerinin arttığı gözlemlenmiştir (Tablo 3.2, Şekil 3.12, Şekil 3.16).

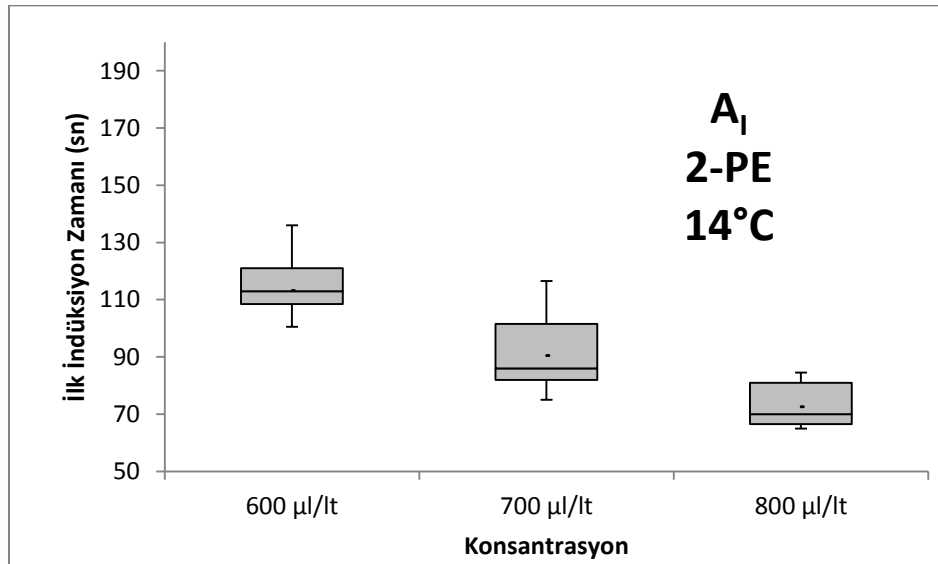
Su sıcaklığı farkına bağlı olarak 2-PE’de indüksiyon ve iyileşme süreleri de farklılık göstermiştir. Düşük sıcaklıkta bütün indüksiyon (A_I ve A_D) ve iyileşme (R_I ve R_F) süreleri yüksek sıcaklığa göre uzun kaydedilmiştir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında *C. auratus* türünde farklı konsantrasyonlardaki 2-PE anestezi ajanına ait indüksiyon (A_I ve A_D) ve iyileşme (R_I ve R_F) safhalarının süreleri (sn).

14°C Su Sıcaklığında				
Konsantrasyon (μ l/lt)	İndüksiyon Zamanı (sn)		İyileşme Zamanı (sn)	
	A_I	A_D	R_I	R_F
600	113 $\pm$ 4,9 ^c	231 $\pm$ 4,52 ^c	128 $\pm$ 5,8 ^a	232 $\pm$ 7,0 ^a
700	90 $\pm$ 4,8 ^b	208 $\pm$ 2,2 ^b	149 $\pm$ 4,7 ^b	244 $\pm$ 4,5 ^a
800	73 $\pm$ 4,5 ^a	181 $\pm$ 2,38 ^a	162 $\pm$ 3,7 ^b	274 $\pm$ 9,8 ^b
20°C Su Sıcaklığında				
Konsantrasyon (μ l/lt)	İndüksiyon Zamanı (sn)		İyileşme Zamanı (sn)	
	A_I	A_D	R_I	R_F
600	91 $\pm$ 2,1 ^c	212 $\pm$ 5,0 ^c	118 $\pm$ 5,1 ^a	211 $\pm$ 7,1 ^a
700	80 $\pm$ 2,0 ^b	189 $\pm$ 6,7 ^b	132 $\pm$ 6,9 ^{ab}	227 $\pm$ 6,7 ^a
800	67 $\pm$ 1,4 ^a	168 $\pm$ 3,4 ^a	141 $\pm$ 6,2 ^b	253 $\pm$ 7,8 ^b

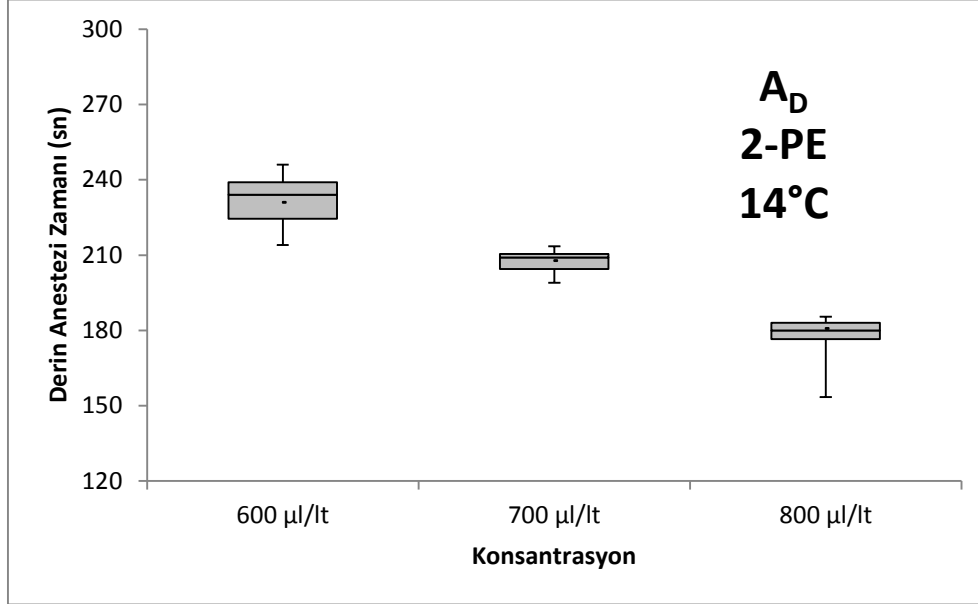
*Aynı sütun içinde aynı su sıcaklığı için farklı üst simgelere sahip değerler (ortalama $\pm$ sh) arasında istatistiksel olarak önemli farklılık vardır ($p < 0,05$).

14°C su sıcaklığında 2-PE konsantrasyonu arttıkça A_I safhasında süreler kısalmaktadır (Şekil 3.9, Tablo 3.2) ($p < 0,05$).



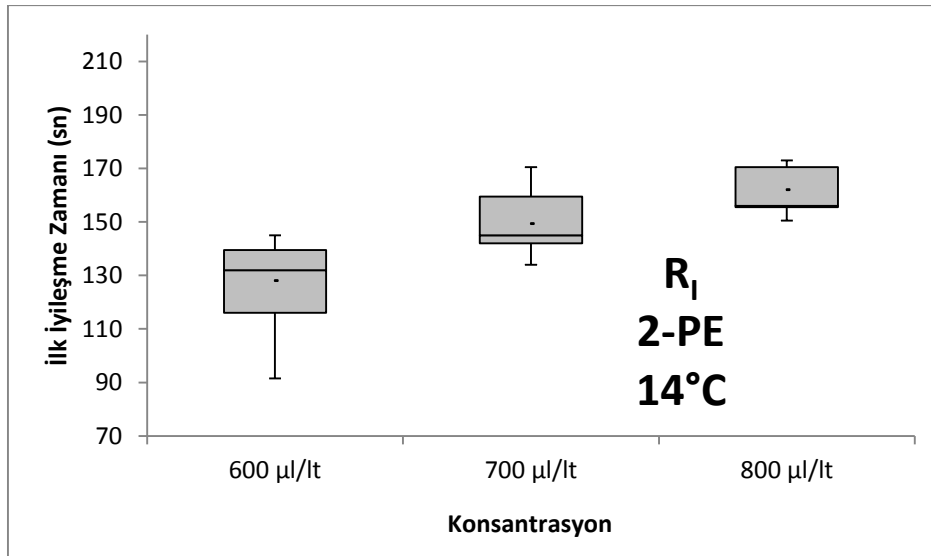
Şekil 3.9. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi A_I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

14°C su sıcaklığında 2-PE konsantrasyonu arttıkça A_D safhası süreleri kısalmaktadır (Şekil 3.10, Tablo 3.2) ($p<0,05$).



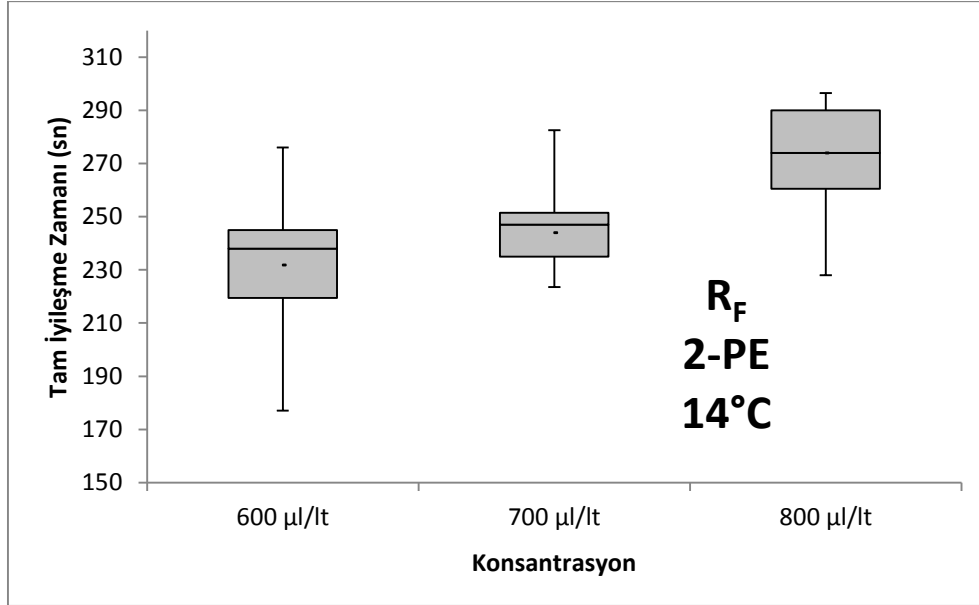
Şekil 3.10. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi A_D safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

14°C su sıcaklığında 2-PE konsantrasyonu arttıkça R_I safhası süreleri uzamaktadır (Şekil 3.11, Tablo 3.2) ($p<0,05$).



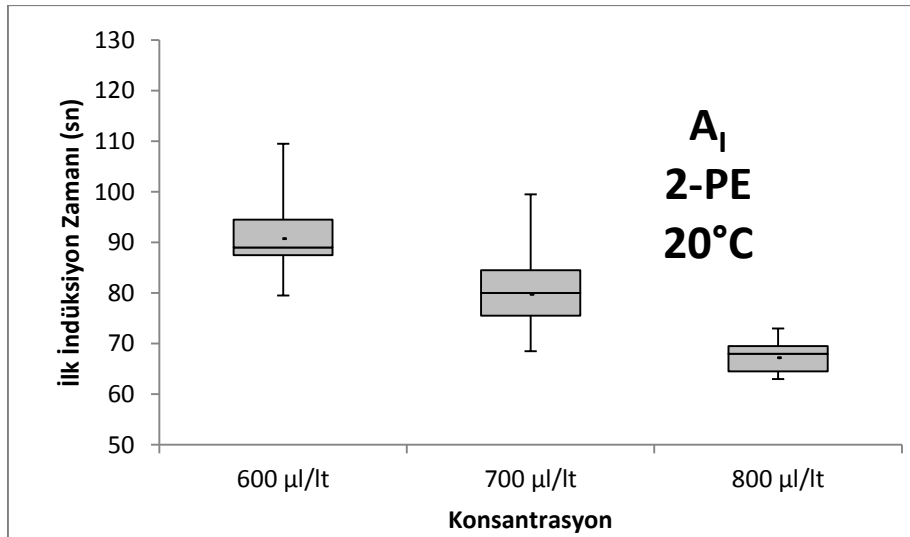
Şekil 3.11. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi R_I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

14°C su sıcaklığında 2-PE konsantrasyonu arttıkça R_F safhası süreleri artmaktadır (Şekil 3.12, Tablo 3.2) ($p<0,05$).



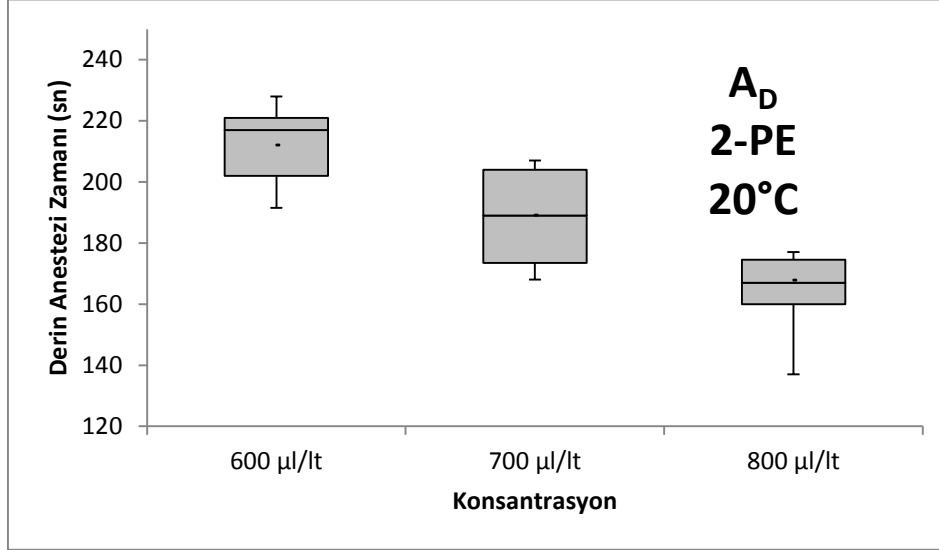
Şekil 3.12. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi R_F safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

20°C su sıcaklığında 2-PE konsantrasyonu arttıkça A_I safhasında süreler kısalmaktadır (Şekil 3.13, Tablo 3.2) ($p<0,05$).



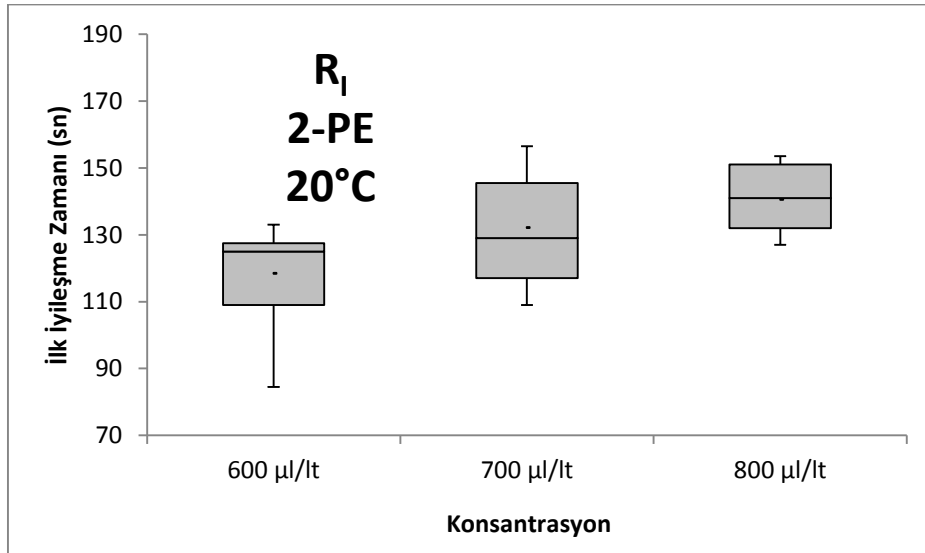
Şekil 3.13. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi A_I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

20°C su sıcaklığında 2-PE konsantrasyonu arttıkça A_D safhası süreleri kısalmaktadır (Şekil 3.14, Tablo 3.2) ($p<0,05$).



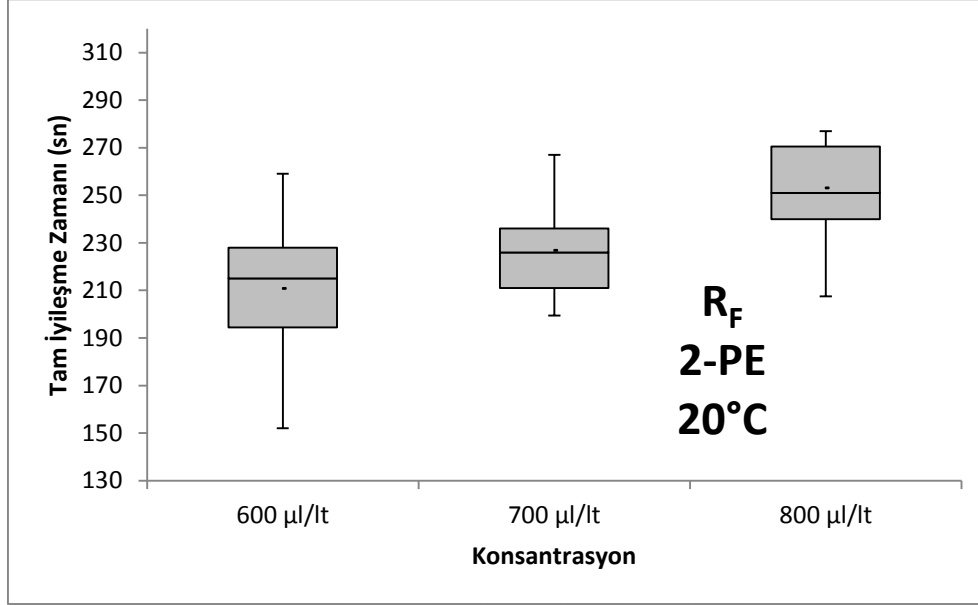
Şekil 3.14. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi A_D safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

20°C su sıcaklığında 2-PE konsantrasyonu arttıkça R_I safhası süreleri uzamaktadır (Şekil 3.15, Tablo 3.2) ($p<0,05$).



Şekil 3.15. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi R_I safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

20°C su sıcaklığında 2-PE konsantrasyonu arttıkça R_F safhası süreleri artış göstermektedir (Şekil 3.16, Tablo 3.2) ($p<0,05$).

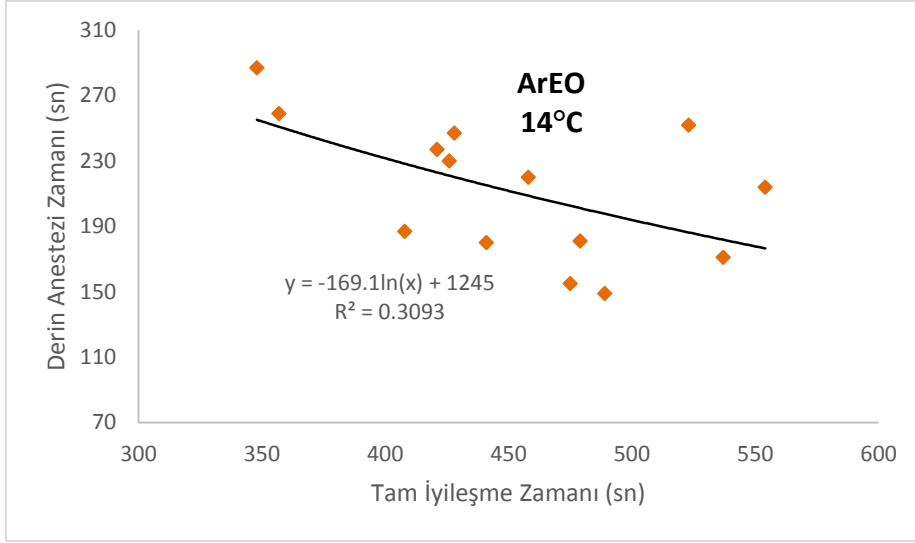


Şekil 3.16. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen *C. auratus* türünde anestezi R_F safhası sürelerine ait Box Plot grafiği.

2-PE anestezik maddesinde indüksiyon ve iyileşme süreleri iki farklı su sıcaklığında da önemli derecede konsantrasyona bağlıdır ($p<0,05$).

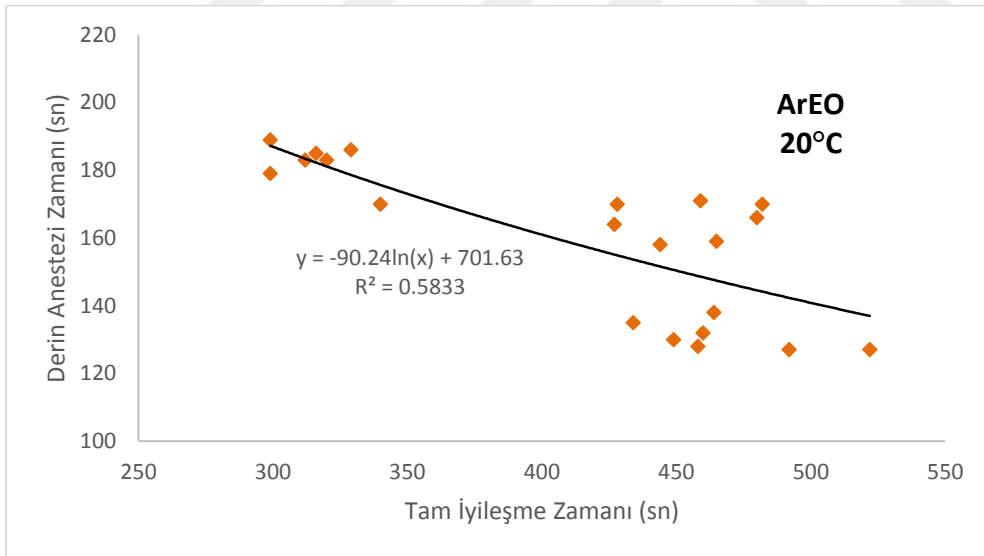
3.3.3. A_D ve R_F zamanları arasındaki ilişki

14°C su sıcaklığında ArEO anestezik ajanında A_D ve R_F süreleri arasında zayıf negatif bir ilişki kaydedilmiştir ($R^2= 0,3093$) (Şekil 3.17).



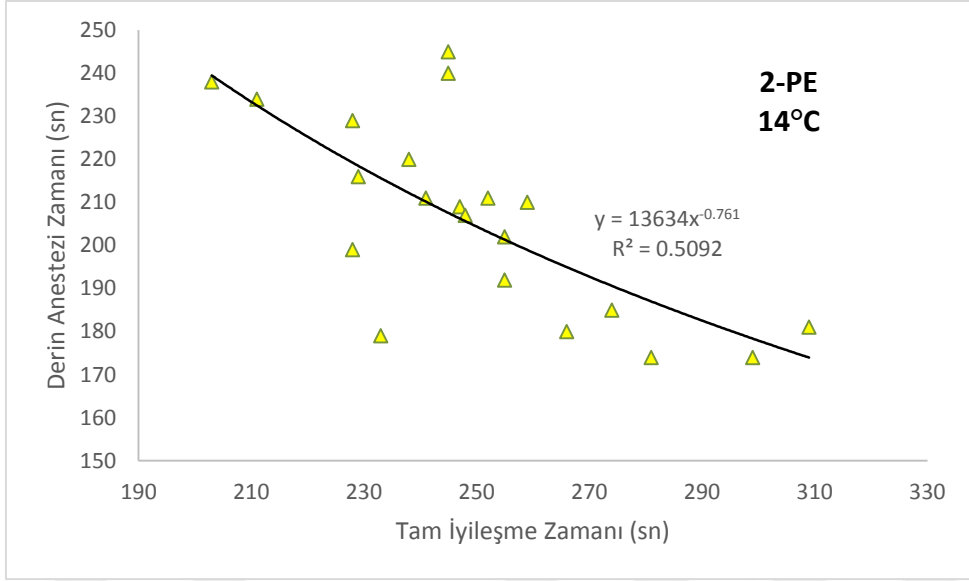
Şekil 3.17. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlardaki ArEO ile anestezi edilen *C. auratus* türünde A_D ve R_F zamanları arasındaki ilişki.

20°C su sıcaklığında ArEO anestezi ajanında A_D ve R_F süreleri arasında negatif bir ilişki kaydedilmiştir ($R^2 = 0,5833$) (Şekil 3.18).



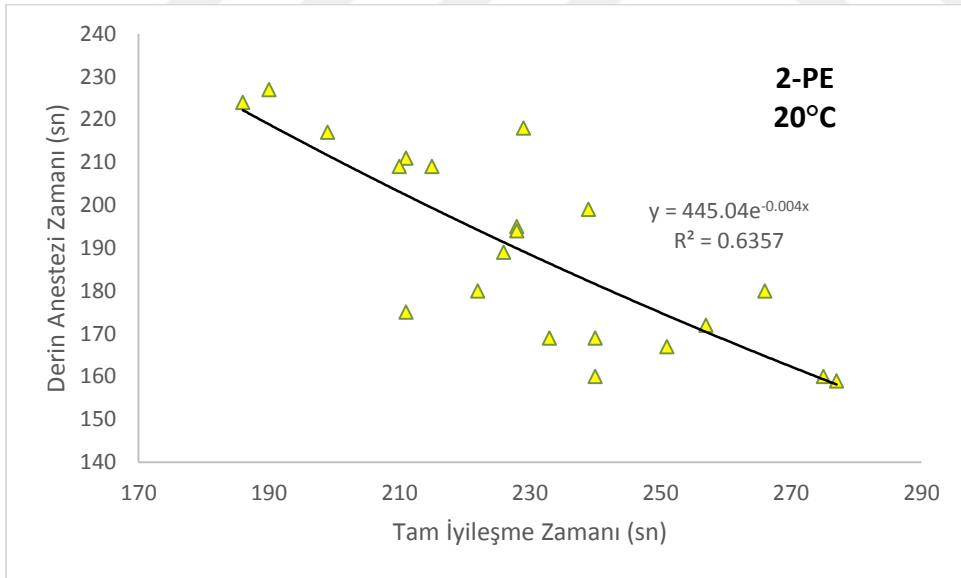
Şekil 3.18. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlardaki ArEO ile anestezi edilen *C. auratus* türünde A_D ve R_F zamanları arasındaki ilişki.

14°C su sıcaklığında 2-PE anestezi maddesinde A_D ve R_F süreleri arasında negatif bir ilişki kaydedilmiştir ($R^2 = 0,5092$) (Şekil 3.19).



Şekil 3.19. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen *C. auratus* türünde A_D ve R_F zamanları arasındaki ilişki.

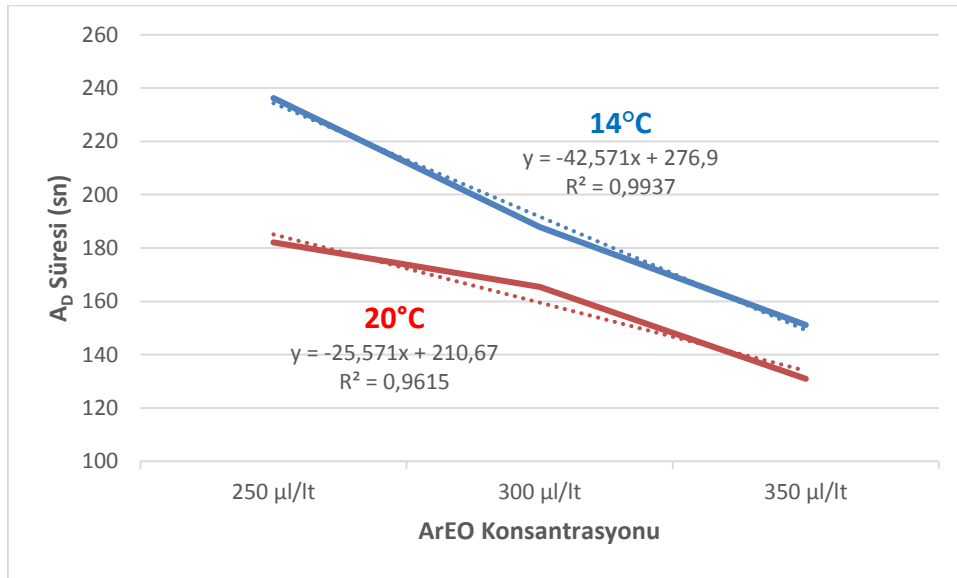
20°C su sıcaklığında 2-PE anestezik maddesinde A_D ve R_F süreleri arasında negatif bir ilişki kaydedilmiştir ($R^2 = 0,6357$) (Şekil 3.20).



Şekil 3.20. 20°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen *C. auratus* türünde A_D ve R_F zamanları arasındaki ilişki.

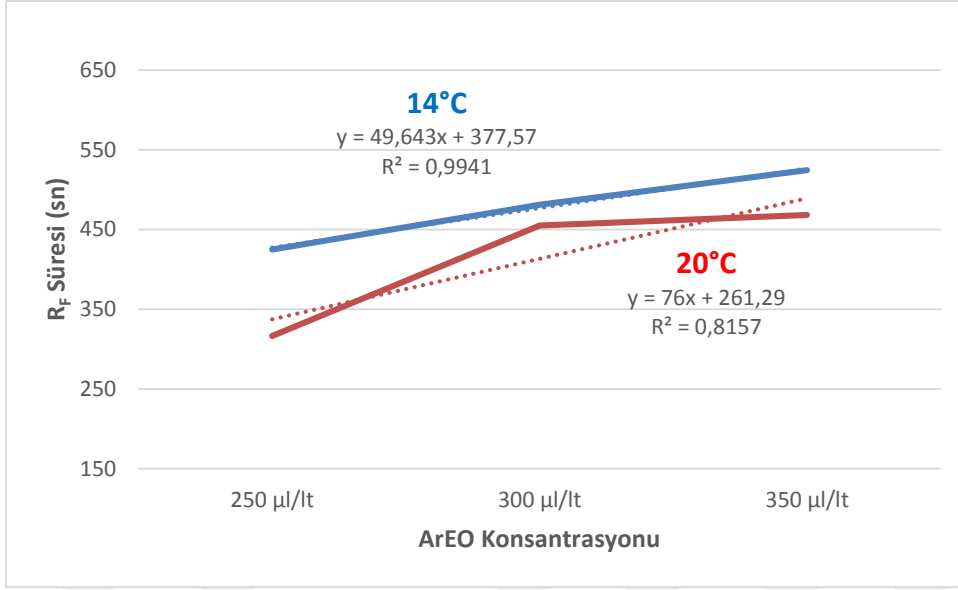
3.3.4. Farklı su sıcaklıklarında A_D/R_F zamanları ve konsantrasyonlar arasındaki ilişki

ArEO A_D süreleri ve konsantrasyonlar arasında 14°C su sıcaklığında kuvvetli negatif bir ilişki ($R^2= 0,9937$) ve 20°C su sıcaklığında kuvvetli negatif bir ilişki kaydedilmiştir ($R^2= 0,9615$) (Şekil 3.21).



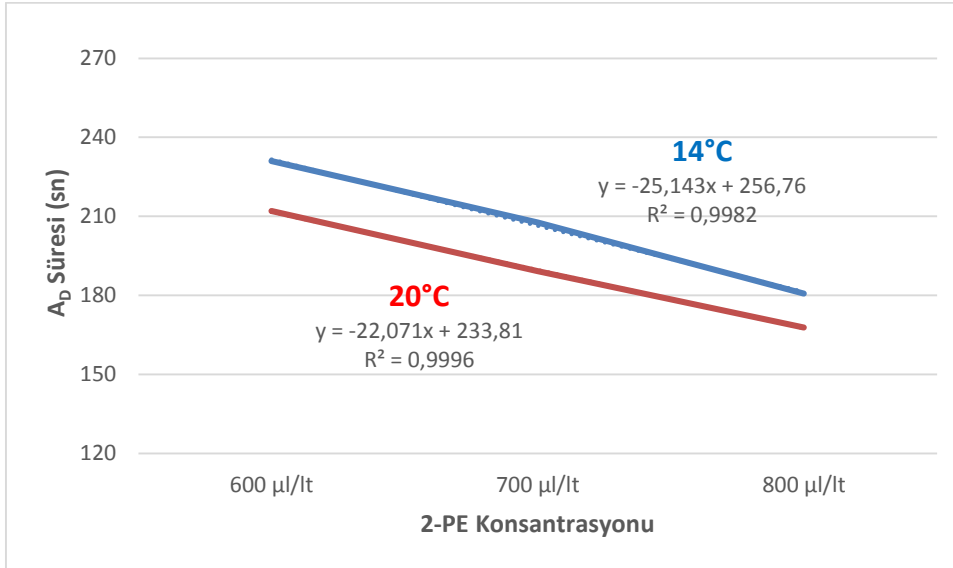
Şekil 3.21. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında ArEO A_D zamanları ve konsantrasyonları arasındaki ilişki.

ArEO R_F süreleri ve konsantrasyonlar arasında 14°C su sıcaklığında kuvvetli pozitif bir ilişki ($R^2= 0,9941$) ve 20°C su sıcaklığında kuvvetli pozitif bir ilişki kaydedilmiştir ($R^2= 0,8157$) (Şekil 3.22).



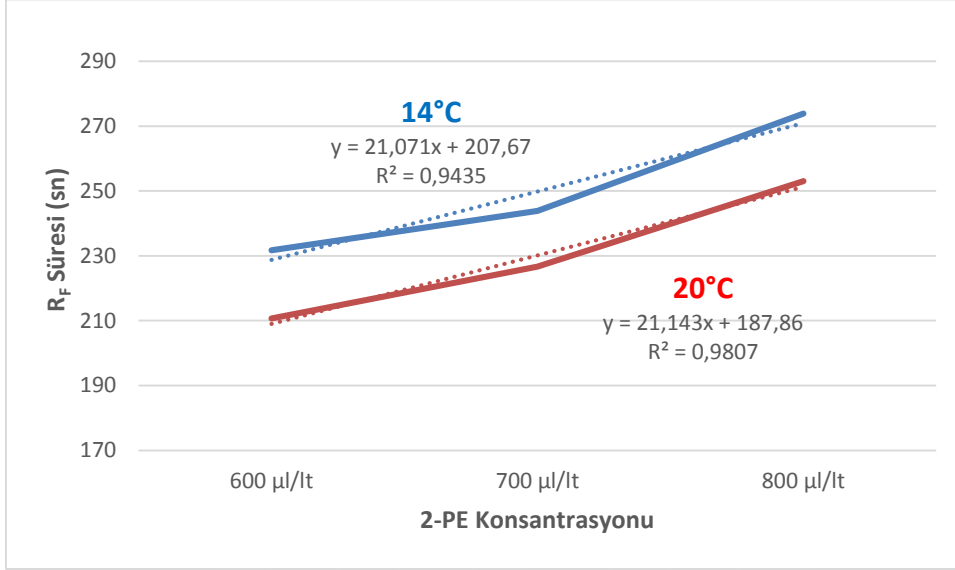
Şekil 3.22. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında ArEO R_F zamanları ve konsantrasyonları arasındaki ilişki.

2-PE A_D süreleri ve konsantrasyonlar arasında 14°C su sıcaklığında kuvvetli negatif bir ilişki ($R^2 = 0,9982$) ve 20°C su sıcaklığında kuvvetli negatif bir ilişki kaydedilmiştir ($R^2 = 0,9996$) (Şekil 3.23).



Şekil 3.23. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında 2-PE A_D zamanları ve konsantrasyonları arasındaki ilişki.

2-PE R_F süreleri ve konsantrasyonlar arasında 14°C su sıcaklığında kuvvetli pozitif bir ilişki ($R^2 = 0,9435$) ve 20°C su sıcaklığında kuvvetli pozitif bir ilişki kaydedilmiştir ($R^2 = 0,9807$) (Şekil 3.24).



Şekil 3.24. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında 2-PE R_F zamanları ve konsantrasyonları arasındaki ilişki.

4. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, Japon balıkları (*C. auratus*) iki farklı su sıcaklığında (14°C ve 20°C) farklı konsantrasyonlardaki gül ağacı (*A. rosaeodora*) esansiyel yağı (ArEO) ve kimyasal anestezik ajan 2- fenoksietanol (2-PE) ile anestezi edilmiştir. ArEO'ın farklı su sıcaklıklarında Japon balığı üzerine denenmiş anestezi araştırması alakalı literatürlerde mevcut değildir. Tez çalışmasında elde edilen bulgular, ArEO'nun farklı su sıcaklıklarında anestezik ajan olarak etkinliğini ortaya koymaktadır. Elde edilen sonuçlara göre, ArEO potansiyel anestezik madde özelliklerini her iki su sıcaklığında Japon balığı için sağlamaktadır.

ArEO'nun ana bileşeni linalool olup %86,23'lük bir orana sahiptir. Linalool maddesinin anestezik etkisinin olduğu birkaç çalışmada bildirilmektedir (Heldwein ve ark., 2014; Mirghaed ve ark., 2016; Mazandarani ve ark., 2017; Silva ve ark., 2017; Souza ve ark., 2017). ArEO'nun Japon balıkları üzerinde anestezik etki göstermesinde başlıca unsurun linalool bileşeni olduğu düşünülmektedir. Kızak ve ark. (2018a) Japon balıkları üzerinde gül ağacı esansiyel yağının anestezik etkilerini detaylı olarak ortaya koymaktadır.

Akuakültürde balıklar üzerinde yapılan birçok operasyonel faaliyetlerde (ölçüm, boylama, aşılama, markalama, hormonal enjeksiyon, sağım vb.) anestezi uygulamaları, balıklarda oluşabilecek stres ve zedelenmeleri önlemede etkili yöntemlerdir. Ancak, anestezi uygulamasının makul süreler içerisinde yapılması balık refahı açısından oldukça önemlidir. Ross ve Ross (2008)'a göre, derin anestezi (A_D) safhası 3 dk'dan az bir sürede gerçekleşmelidir. Tam iyileşme (R_F) safhası da 5 dk'yı aşmamalıdır. Weber ve ark. (2009)'na göre bu süreler balıklar üzerinde yapılacak operasyonel faaliyetler için yeterlidir. Denemede 14°C su sıcaklığında Japon balıklarının anestezi (A_D) edilmesinde en ideal ArEO konsantrasyonu 350 µl/lit ($A_D \rightarrow 151 \pm 6,4$ sn) iken, iyileşme (R_F) bakımından en ideal konsantrasyon 250 µl/lit ($R_F \rightarrow 425 \pm 25,6$ sn) olarak kaydedilmiştir (Tablo 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.4). Bununla birlikte, 14°C su sıcaklığında ideal süreler yakınlık açısından A_D ve R_F birlikte dikkate alındığında ideal konsantrasyonun 300 µl/lit (A_D ; $R_F \rightarrow 188 \pm 13,9$ sn ; $481 \pm 16,1$ sn) olduğunu söyleyebiliriz. 20°C su sıcaklığında Japon balıklarının anestezi (A_D) edilmesinde en ideal ArEO konsantrasyonu 350 µl/lit ($A_D \rightarrow 131 \pm 1,6$ sn) iken, iyileşme (R_F) bakımından en ideal konsantrasyon 250 µl/lit ($R_F \rightarrow 316 \pm 5,7$ sn) olarak kaydedilmiştir (Tablo 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.4). 20°C su sıcaklığında ideal süreler yakınlık açısından A_D ve R_F beraber ele alındığında ideal konsantrasyonun 250 µl/lit (A_D ; $R_F \rightarrow 182 \pm 2,3$ sn ; 316

$\pm 5,7$ sn) olduğu görülmektedir. Bu verilere göre, balıklarda anestezi için süre kriterleri dikkate alındığında ArEO maddesinin ideal bir anestezik ajan olduğu ortaya çıkmaktadır. 14°C su sıcaklığında A_D için en ideal 2-PE konsantrasyonu 800 $\mu\text{l/l}$ ($A_D \rightarrow 181 \pm 2,38$ sn) ve R_F bakımından en ideal 2-PE konsantrasyonu 600 $\mu\text{l/l}$ ($R_F \rightarrow 232 \pm 7,0$ sn) olarak belirlenmiştir (Tablo 3.2, Şekil 3.10, Şekil 3.12). Bununla birlikte, 14°C su sıcaklığında ideal sürelerle yakınlık açısından A_D ve R_F birlikte dikkate alındığında ideal 2-PE konsantrasyonunun 800 $\mu\text{l/l}$ (A_D ; $R_F \rightarrow 181 \pm 2,38$ sn ; $274 \pm 9,8$ sn) olduğu görülmektedir. 20°C su sıcaklığında A_D için en ideal 2-PE konsantrasyonu 800 $\mu\text{l/l}$ ($A_D \rightarrow 168 \pm 3,4$ sn), R_F bakımından en ideal konsantrasyon 600 $\mu\text{l/l}$ ($R_F \rightarrow 211 \pm 7,1$ sn) olarak kaydedilmiştir (Tablo 3.2, Şekil 3.10, Şekil 3.12). 20°C su sıcaklığında ideal sürelerle yakınlık açısından A_D ve R_F beraber dikkate alındığında ideal konsantrasyonun 800 $\mu\text{l/l}$ (A_D ; $R_F \rightarrow 168 \pm 3,4$ sn ; $253 \pm 7,8$ sn) olduğu söylenebilir. Bu sonuçlara göre, balıklarda anestezi için süre kriterleri dikkate alındığında 2-PE kimyasal maddesinin ideal bir anestezik ajan olduğu görülmektedir. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında ArEO ve 2-PE konsantrasyonları arttıkça A_D süreleri kısalırken R_F süreleri artış eğilimi göstermektedir ($p < 0,05$). Gülağacı esansiyel yağı ve 2-PE için benzer bulgular ~23°C su sıcaklığında Kızak ve ark. (2018a) tarafından da bildirilmektedir. Weyl ve ark. (1996) balıkların anesteziden kurtulma süresinin konsantrasyona bağlı olduğunu, en yüksek konsantrasyonda anestezi uygulanan balıkların daha düşük konsantrasyonlarda anestezi uygulananlardan daha geç iyileştiğini belirtmiştir. Bu tez çalışmasında anestezik ajanların konsantrasyonları indüksiyon süreleri ile negatif, iyileşme süreleri ile pozitif korelasyon göstermiştir.

Genel olarak anesteziden iyileşme durumuna geçme anestezinin konsantrasyonuna bağlıdır (Weyl ve ark., 1996) ve bu durum anestezik ajan tipine ve balık türüne bağlı olarak indüksiyon ve iyileşme arasında pozitif veya negatif bir ilişkiye sebep olabilmektedir. Bu tez çalışmasında, 14°C su sıcaklığında ArEO anestezik ajanında A_D ve R_F süreleri arasında zayıf negatif bir ilişki ($R^2 = 0,3093$) (Şekil 3.17), 20°C su sıcaklığında A_D ve R_F süreleri arasında negatif bir ilişki bulunmuştur ($R^2 = 0,5833$) (Şekil 3.18). Yine benzer şekilde, 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında 2-PE anestezik maddesinde A_D ve R_F süreleri arasında negatif ilişki tespit edilmiştir (sırasıyla, $R^2 = 0,5092$ ve $R^2 = 0,6357$) (Şekil 3.19, Şekil 3.20). İndüksiyon ve iyileşme süreleri arasındaki negatif ilişki birçok çalışmada sonuç olarak verilmiştir (Weyl ve ark., 1996; Gökçek ve Öğretmen, 2011; Hoseini ve ark., 2015; Gökçek ve ark., 2017; Mazandarani ve ark., 2017; Tarkhani ve ark., 2017; Can ve ark., 2018a; Kızak ve ark., 2018a; Kızak ve ark., 2018b; Kızak ve ark., 2020).

ArEO ve 2-PE anestezi maddelerinde konsantrasyon ve indüksiyon süresi arasında önemli derecede negatif bir ilişki olduğu görülmektedir. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında ArEO A_D süreleri ve konsantrasyonlar arasında kuvvetli negatif bir ilişki (sırasıyla, R²= 0,9937 ve R²= 0,9615) bulunmuştur (Şekil 3.21). 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında 2-PE A_D süreleri ve konsantrasyonları arasında da kuvvetli negatif bir ilişki (sırasıyla, R²= 0,9982 ve R²= 0,9996) kaydedilmiştir (Şekil 3.23). Konsantrasyon ve indüksiyon süresi arasındaki bu negatif ilişki durumu diğer anestezi maddelerle yapılan çalışmalarda da karşılaşılan bir olgudur (Cunha ve ark., 2010; Kızak ve ark., 2018a; Kızak ve ark., 2018b; Aydın ve ark., 2015; Aydın ve ark., 2019; Can ve ark., 2019; Kızak ve ark., 2020; Silva ve ark., 2020). ArEO ve 2-PE’de konsantrasyon artışına bağlı olarak A_D süreleri kısalmış olsa da R_F sürelerinde durum farklı olmuştur (p<0,05) (Tablo 3.1, Tablo 3.2). Her iki su sıcaklığında da ArEO ve 2-PE’de R_F süreleri konsantrasyon artışına bağlı olarak uzamıştır. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında ArEO R_F süreleri ve konsantrasyonlar arasında kuvvetli pozitif ilişki (sırasıyla, R²= 0,9941 ve R²= 0,8157) kaydedilmiştir (Şekil 3.22). 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında 2-PE R_F süreleri ve konsantrasyonları arasında kuvvetli pozitif ilişki (sırasıyla, R²= 0,9435 ve R²= 0,9807) bulunmuştur (Şekil 3.24). Anestezi konsantrasyonu ile iyileşme süresi arasındaki bu pozitif ilişki farklı anestezi ajanlar ve farklı balık türleriyle yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir (Akbulut ve ark., 2011; Aydın ve ark., 2015; Adel ve ark., 2016; Kızak ve ark., 2018a; Kızak ve ark., 2018b; Can ve ark., 2019; Aydın ve ark., 2019). Bununla birlikte, Kızak ve ark. (2020) defne yaprağı esansiyel yağı ve 2-PE ile yaptıkları çalışmada, 2-PE konsantrasyonları ile iyileşme süreleri arasında pozitif, defne yaprağı esansiyel yağı konsantrasyonları ile iyileşme süreleri arasında negatif ilişki kaydetmiştir. Benzer negatif ilişkiler birkaç çalışmada da bildirilmiştir (Sena ve ark., 2016; Limma-Netto ve ark., 2016). Uygulanan anestezi ajanlar, su sıcaklığı ve balık türleri iyileşme sürelerini etkileyebilir (Mylonas ve ark., 2005; Limma-Netto ve ark., 2016).

Su sıcaklığı farkının indüksiyon ve iyileşme sürelerine olan etkisi barizdir. Su sıcaklığı yükseldikçe anestezi ve iyileşme sürelerinin azalması olgusu (Sneddon, 2012) bu tez çalışmasında elde edilen bulgular ile teyit edilmektedir (Tablo 3.1, Tablo 3.2). Daha yüksek sıcaklıklarda daha hızlı indüksiyon ve iyileşme sürelerinin gerçekleşmesi, sıcaklık ve balık metabolizması arasındaki pozitif ilişkiye bağlanmaktadır (Mylonas ve ark., 2005). *Psetta maxima* türünde karanfil yağı ile yapılan bir çalışmada, balık boyutu ve konsantrasyonları fark etmeksizin, su sıcaklığının 10°C’den 20°C’ye çıkarılmasıyla indüksiyon ve iyileşme sürelerinin yarı yarıya azaldığı bildirilmektedir (Aydın ve ark.,

2015). Su sıcaklığındaki değişiklik nedeniyle balık fizyolojisinde meydana gelen değişimler, anestezi ve iyileşme sürelerini önemli ölçüde etkiler (Aydın ve ark., 2019). Olasılıkla daha yüksek oksijen talebi gerektiren artan bazal metabolik hız ile ilişkili olarak bu durum artan solunum ve dolaşıma yol açmaktadır (Schurmann ve Steffensen, 1997; Clarke ve Johnston, 1999). Farklı balık türlerinde farklı anestezi maddeleriyle yapılan araştırmalarda artan su sıcaklığının bir sonucu olarak anestezi ve iyileşme sürelerinin kısaldığı bildirilmektedir (Hamackova ve ark., 2004; Hoskonen ve Pirhonen, 2004; Mylonas ve ark., 2005; Zahl ve ark., 2009; Yıldız ve ark., 2013; Aydın ve ark., 2015; Santos ve ark., 2015; Skår ve ark., 2017; Park ve ark., 2018; Aydın ve ark., 2019).

Sıcaklık, pH, yaş, boyut, cinsiyet ve bu faktörler arasındaki interaksyonlar anestezi balıklardaki etkinliğini etkiler (Ross ve Ross, 2008; Zahl ve ark., 2009; Aydın ve ark., 2015; Mitjana ve ark., 2018; Aydın ve ark., 2019). Bununla birlikte, interaksyon ile ilgili farklı sonuçlar da ortaya çıkabilmektedir. Skår ve ark. (2017) *Cyclopterus lumpus* türü üzerine yaptıkları çalışmada, anestezi konsantrasyonlarının, sıcaklığın ve balık boyutunun etkisinin ve bunların birleşik etkilerinin istatistiksel analizleri, her bir parametrenin ayrı ayrı ve anestezi konsantrasyonun sıcaklık ve balık boyutu ile birlikte önemli bir etkiye sahip olduğunu belirtmiş, ancak sıcaklık ve balık boyutu arasında veya konsantrasyon, sıcaklık ve balık boyutu arasında herhangi bir interaksyon olmadığını bildirmiştir. Aydın ve ark. (2019) *Garra rufa* türünde farklı konsantrasyonlarda karanfil yağı ve 2-PE'ü farklı su sıcaklıklarında denemiş, su sıcaklığı ve anestezi konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı interaksyonlar tespit etmiştir. Tez çalışmasında elde edilen verilere göre, ArEO ve 2-PE için indüksiyon ve iyileşme sürelerinde su sıcaklığı ve anestezi konsantrasyon interaksyonu önemli bulunmuştur ($p<0,001$).

Her iki anestezi ajan konsantrasyonlar bakımından karşılaştırıldığında, Japon balıklarının anestezi edilmesinde daha düşük ArEO konsantrasyonlarının etkili olduğu dikkati çekecektir. 2-PE'e kıyasla ArEO konsantrasyonları yaklaşık 1/3 oranındadır. Benzer sonuç Kızak ve ark. (2018a) tarafından da bildirilmiştir. Bu oransal fark su ürünleri yetiştiriciliği operasyonel faaliyetlerinde ArEO anestezi ajanının ekonomik kullanımını sağlaması bakımından oldukça önemlidir.

Bitkisel esansiyel yağlar ve bunların etken maddeleri ile yapılan anestezi çalışmalarda, balıklarda anormal yüzme davranışları, kas kasılması, öksürme, solunum kesme, lateral bölgede siyah bant oluşumları gibi bir takım yan etkilerden bahsedilmektedir (Mazandarani ve Hoseini, 2017; Mirghaed ve ark., 2018; Kızak ve ark., 2020). Başka bir

Çalışmada istemsiz kas kasılmaları ve ayrıca mortalite nedeniyle fesleğen yağı önerilmemiştir (Correia ve ark., 2018). Deri rengine ve desenlerde, siyah ve hafif gölgelenme şeklindeki bant oluşumları ile meydana gelen değişimler balıklarda stresi işaret etmektedir (Van der Salm ve ark., 2006; Rezende ve ark., 2017). Tez alışmasında, Japon balıkları üzerinde ArEO ve 2-PE anestejik ajanlarının herhangi bir yan etkisi gözlemlenmemiştir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak ArEO’nun karakteristik kokusu artmasına rağmen uygulayanlar üzerinde rahatsız edici bir tesire sahip değildir. Gl ağacı esansiyel yağının etanol ile olan karışımı suda herhangi bulanıklığa sebep olmamakta, dolayısıyla balık davranışlarını gözlemek açısından bir zorlukla karşılaşılmamaktadır.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması sonucunda, akvaryum dünyasında önemli bir balık türü olan Japon balıkları üzerinde gülağacı esansiyel yağı etanol karışımının ve 2-PE'ün anestezik etkileri iki farklı su sıcaklığında araştırılmış ve etkili konsantrasyonları belirlenmiştir. Sonuç olarak, ArEO anestezik ajanının her iki su sıcaklığında da etkili olduğu kanaatine varılmıştır. Uygulayanlarda koku ve gözlem açısından herhangi bir olumsuz etkisinin olmaması, balıklar üzerinde herhangi bir yan etkisinin olmaması, anestezi ve iyileşme süreleri bakımından ideal süreler içinde olması, anesteziyi sağlayabilmek için yüksek konsantrasyonlarda esansiyel yağ kullanılmasına gerek olmaması gibi makul özellikleri sebebiyle ArEO maddesi, anestezik ajan karakteristiklerini sergilemektedir. Bununla birlikte, ArEO anestezik ajanının farklı balık türleri üzerinde, farklı balık büyüklüklerinde ve farklı su koşullarında test edilmesi faydalı olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Adel, M., Sadegh, A.B., Yeganeh, S., Movafagh, A.N., Saoud, I.P., 2016. Anesthetic efficacy of clove oil, propofol, 2-phenoxyethanol, and ketamine hydrochloride on Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, juveniles. *Journal of the World Aquaculture Society*, 47:812-819.
- Akbulut, B., Çavdar, Y., Çakmak, E., Aksungur, N., 2011. Use of clove oil to anaesthetize larvae of Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*). *Journal of Applied Ichthyology*, 27:618-621.
- Aydın, İ., Akbulut, B., Küçük, E., Kumlu, M., 2015. Effects of Temperature, Fish Size and Dosage of Clove Oil on Anaesthesia in Turbot (*Psetta maxima* Linnaeus, 1758). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15:899-904.
- Aydın, A., Akhan, S., Gümüş, E., Özbaş, M., 2019. Anesthetic Efficacy of Clove Oil and 2-Phenoxyethanol on Doctor Fish, *Garra rufa* (Heckel, 1843). *Boletim Do Instituto De Pesca*, 45(4):e506.
- Barbas, L.A.L., Hamoy, M., de Mello, V.J., Barbosa, R.P.M., de Lima, H.S.T., Torres, M.F., do Nascimento, L.A.S., do Rosario da Silva, J.K., de Aguiar Andrade, E.H., Gomes, M.R.F., 2017. Essential oil of citronella modulates electrophysiological responses in Tambaqui *Colossoma macropomum*: a new anaesthetic for use in fish. *Aquaculture*, 479:60-68.
- Bell, G.R., 1967. A guide to the properties, characteristics and uses of some general anaesthetics for fish. Bulletin No. 148 (Second Edition, revised), Fisheries Research Board of Canada, Ottawa.
- Can, E., Kızak, V., Özçiçek, E., Can, S.S., 2017. The efficacy of chamomile (*Matricaria chamomilla*) oil as a promising anesthetic agent for two freshwater aquarium fish species. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 1437(69):1-8.
- Can, E., Kızak, V., Özçiçek, E., Can S.S., 2018a. Anesthetic potential of geranium (*Pelargonium graveolens*) oil for two cichlid species, *Sciaenochromis fryeri* and *Labidochromis caeruleus*. *Aquaculture*, 491:59-64.
- Can, E., Başusta, S., Karataş, B., 2018b. Anesthetic efficiency of 2-phenoxyethanol on broodstock of *Salmo munzuricus*, a new trout species originating from Munzur stream. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(2):233-237.
- Can, E., Kızak, V., Özçiçek, E., Can, S.S., 2019. Anesthetic Efficiency of Three Medicinal Plant Oils for Aquatic Species: Coriander *Coriandrum sativum*, Linaloe Tree *Bursera delpechiana*, and Lavender *Lavandula hybrida*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 31:266-273.
- Can, E., Sümer, E., 2019. Anesthetic and sedative efficacy of peppermint (*Mentha piperita*) and lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils in blue dolphin cichlid (*Cyrtocara moorii*). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 43:334-341.

- Clarke, A., Johnston, N.M., 1999. Scaling of metabolic rate with body mass and temperature in teleost fish. *Journal of Americal Ecology*, 68:893-905.
- Correia, A.M., Pedrazzani, A.S., Mendonca, R.C., Massucatto, A., Ozorio, R.A., Tsuzuki, M.Y., 2018. Basil, tea tree and clove essential oils as analgesics and anaesthetics in *Amphiprion clarkii* (Bennett, 1830). *Brazilian Journal of Biology*, 78(3):436-442.
- Cunha, M.A., Barros, F.M.C., Oliveira Garcia, L., Lima Veeck, A.P., Heinzmann, B.M., Loro, V.L., and Baldisserotto, B., 2010. Essential oil of *Lippia alba*: A new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*, 306:403-406.
- Fernandez-Parra, R., Donnelly, T.M., Pignon, C., Noirault, A., Zilberstein, L., 2017. Immersion anesthesia with alfaxalone in a goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Exotic Pet Medicine*, 26:276-282.
- Ferreira, A.L., Santos, F.A.C., Souza, A.S., Favero, G.C., Baldisserotto, B., Pinheiro, C.G., Heinzmann, B.M., Luz, R.K., 2022. Efficacy of *Hesperozygis ringens* essential oil as an anesthetic and for sedation of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) during simulated transport. *Aquaculture International*, 30:1549-1561.
- Ghazilou, A., Chenary, F., 2011. Evaluation of rosemary oil anesthesia in carp. *Journal of Veterinary Research*, 15:112-118.
- Gokcek, K., Ogretmen, F., 2011. Comparative efficacy of three anesthetic agents in Himri Barbel, *Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843) under controlled conditions. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10:3350-3355.
- Gökçek, K., Öğretmen, F., Kanyilmaz, M., 2017. Efficacy of clove oil, 2-phenoxyethanol and benzocaine on European catfish, *Silurus glanis* Linnaeus 1758. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16:129-133.
- Hamackova, J., Lepicova, A., Kozak, P., Stupka, Z., Kouril, J., Lepic, P., 2004. The efficacy of various anaesthetics in tench (*Tinca tinca* L.) related to water temperature. *Veterinarni Medicina*, 49:467-472.
- Hekimoglu, M.A., Suzer, C., Saka, S., Firat, K., 2017. Sedative effect of clove oil and 2-phenoxyethanol on marine clownfish (*Amphiprion ocellaris*) and freshwater swordfish (*Xiphophorus helleri*). *Pakistan Journal of Zoology*, 49:2209-2216.
- Heldwein, C.G., Silva, L.L., Gai, E.Z., Roman, C., Parodi, T.V., Bürger, M.E., Baldisserotto, B., Flores, E.M., Heinzmann, B.M., 2014. S-(+)-Linalool from *Lippia alba*: sedative and anesthetic for silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 41:621-629.
- Hoseini, S.M., Rajabiesterabadi, H., Tarkhani, R., 2015. Anaesthetic efficacy of eugenol on iridescent shark, *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878) in different size classes. *Aquaculture Research*, 46:405-412.
- Hoskonen, P., Pirhonen, J., 2004. Temperature effects on anaesthesia with clove oil in six temperate-zone fishes. *Journal of Fish Biology*, 64:1136-1142.

- Kızak, V., Guner, Y., Kayım, M., Can, E.,** 2013. The effects of clove oil on adult males and females of rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trouts (*Salmo trutta fario*). *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 11:1542-1545.
- Kızak, V., Can, E., Danabaş, D., Seyhaneyıldız Can, S.,** 2018a. Evaluation of anesthetic potential of rosewood (*Aniba rosaeodora*) oil as a new anesthetic agent for goldfish (*Carassius auratus*), *Aquaculture*, 493:296-301.
- Kızak, V., Can, E., Can, Ş.S., Özçiçek, E.,** 2018b. Anesthetic efficacy of *Cymbopogon citratus* essential oil as a herbal agent in two ornamental fish species. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 70:1-8.
- Kızak, V., Can, E., Seyhaneyıldız Can, S.,** 2020. Potential anesthetic properties of Bay Leaf (*Laurus nobilis*) essential oil compared with 2-Phenoxyethanol on Blue Dolphin Cichlid, *Cyrtocara moorii*. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 72:1-9.
- Li, Y., Liang, S., She, Q., Han, Z., Li, Y., Li, X.,** 2018. Influence of temperature and size on menthol anaesthesia in chinese grass shrimp *Palaemonetes sinensis* (Sollaud, 1911). *Aquaculture Research*, 49:2091-2098.
- Limma-Netto, J.D., Sena, A.C., Copatti, C.E.,** 2016. Essential oils of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon flexuosus* in the sedation, anesthesia and recovery of tambacu (*Piaractus mesopotamicus* male x *Colossoma macropomum* Female). *Boletim do Instituto de Pesca*, 42(3):727-733.
- Mazandarani, M., Hoseini, S.M., Ghomshani, M.D.,** 2017. Effects of linalool on physiological responses of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) and water physico-chemical parameters during transportation. *Aquaculture Research*, 48:5775-5781.
- Mazandarani, M., Hoseini, S.M.,** 2017. Menthol and 1,8-cineole as new anaesthetics in common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture Research*, 48:3041-3051.
- Mirghaed, A.T., Ghelichpour, M., Hoseini, S.M.,** 2016. Myrcene and linalool as new anesthetic and sedative agents in common carp, *Cyprinus carpio* - comparison with eugenol. *Aquaculture*, 464:165-170.
- Mirghaed, A.T., Yasari, M., Mirzargar, S.S., Hoseini, S.M.,** 2018. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) anesthesia with myrcene: efficacy and physiological responses in comparison with eugenol. *Fish Physiology and Biochemistry*, 44:919-926.
- Mitjana, O., Bonastre, C., Tejedor, M.T., Garza, L., Esteban, J., Falceto, M.V.,** 2018. Simultaneous effect of sex and dose on efficacy of clove oil, tricaine methanesulfonate, 2-phenoxyethanol and propofol as anaesthetics in guppies, *Poecilia reticulata* (Peters). *Aquaculture Research*, 49:2140-2146.
- Mylonas, C.C., Cardinaletti, G., Sigelaki, I., Polzonetti-Magni, A.,** 2005. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus auratus*) at different temperature. *Aquaculture*, 246:467-481.

- Oliveira, I.C., Oliveira, R.S.M., Lemos, C.H.P., Oliveira, C.P.B., Silva, A.F., Lorenzo, V.P., Lima, A.O., Cruz, A.L., Copatti, C.E., 2022.** Essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Lippia sidoides* in the anesthetic induction and transport of ornamental fish *Pterophyllum scalare*. *Fish Physiology Biochemistry*, 48:501-519.
- Park, I.S., Lee, T.H., Lim, S.G., 2018.** Anesthetic efficacy and physiological responses of clove oil on juvenile and adult red spotted grouper, *Epinephelus akarra*. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 21:1-6.
- Pawar, H.B., Sanaye, S.V., Sreepada, R.A., Harish, V., Suryavanshi, U., Ansari, T., Ansari, Z.A., 2011.** Comparison of efficacy of four anaesthetic agents in the Yellow Seahorse, *Hippocampus kuda* (Bleeker, 1852). *Aquaculture*, 311:155-161.
- Pedrazzani, A.S., Neto, A.O., 2016.** The anesthetic effect of camphor (*Cinnamomum camphora*), clove (*Syzygium aromaticum*) and mint (*Mentha arvensis*) essential oils on clown anemonefish, *Amphiprion ocellaris* (Cuvier 1830). *Aquaculture Research*, 47:769-776.
- Rezende, F.P., Pascoal, L.M., Vianna, R.A., Lanna, E.A.T., 2017.** Sedation of Nile tilapia with essential oils: Tea tree, clove, eucalyptus, and mint oils. *Revista Caatinga*, 30(2):479-486.
- Roohi, Z., Imanpoor, M.R., 2015.** The efficacy of the oils of spearmint and methyl salicylate as new anesthetics and their effect on glucose levels in Common Carp (*Cyprinus carpio* L 1758) juveniles. *Aquaculture*, 437:327-332.
- Ross, L.G., Ross, B., 2008.** Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals, 3rd edition. Wiley-Blackwell Publishing, Oxford, İngiltere, 240s.
- Rozynski, M., Hopko, M., Stawecki, K., Zakez, Z., 2018.** Impact of fish size, water temperature, and MS-222 concentration on inducing general anesthesia in pikeperch (*Sander lucioperca*). *Aquaculture Research*, 49:2774-2781.
- Santos, S., Ghanawi, J., Saoud, I.P., 2015.** Effects of water temperature and body weight on anaesthetic efficiency in marbled rabbitfish (*Siganus rivulatus*). *Aquaculture Research*, 46:928-936.
- Santos, A.C., Junior, G.B., Zago, D.C., Zeppenfeld, C.C., Silvay, D.T., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., Cunha, M.A., 2017.** Anesthesia and anesthetic action mechanism of essential oils of *Aloysia triphylla* and *Cymbopogon flexuosus* in silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 44:106-113.
- Sarrazin, S.L.F., Oliveira, R.B., Maia, J.G.S., Mourao, R.H.V., 2016.** Antibacterial activity of the rosewood (*Aniba rosaeodora* and *A. parviflora*) linalool-rich oils from the Amazon. *European Journal of Medicinal Plants*, 12:1-9.
- Schoettger, R.A., Julin, A.M., 1967.** Efficacy of MS-222 as an anesthetic on four salmonids. Investigations in Fish Control 13, Report-Federal Government Series, U.S. Fish and Wildlife Service, A.B.D, 15s.

- Schurmann, H., Steffensen, J.F.**, 1997. Effects of temperature, hypoxia and activity on the metabolism of juvenile Atlantic cod. *Journal of Fish Biology*, 50:1166-80.
- Sena, A.C., Teixeira, R.R., Ferreira, E.L., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., Caron, B.O., Schmidt, D., Couto, R.D., Copatti, C.E.**, 2016. Essential oil from *Lippia alba* has anaesthetic activity and is effective in reducing handling and transport stress in tambacu (*Piaractus mesopotamicus* X *Colossoma macropomum*). *Aquaculture*, 465:374-379.
- Silva, L.L., Silva, D.T., Garlet, Q.I., Cunha, M.A., Malmann, C.A., Baldisserotto, B., Longhi, S.J., Pereira, A.M.S., Heinzmann, B.M.**, 2013. Anesthetic activity of Brazilian native plants in silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Neotropical Ichthyology*, 11:443-451.
- Silva, L.L., Balconi, L.S., Gressler, L.T., Garlet, Q.I., Sutili, F.J., Vargas, A.P.C., Baldisserotto, B., Morel, A.F., Heinzmann, B.M.**, 2017. S-(+)- and R-(-)-linalool: a comparison of the in vitro anti-*Aeromonas hydrophila* activity and anesthetic properties in fish. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89:203-212.
- Silva, L.A., Martins, M.A., Santo, F.E., Oliveira, F.C., Chaves, F.C.M., Chagas, E.C., Martins, M.L., Campos, C.M.**, 2020. Essential oils of *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* as anesthetics for the South American catfish *Pseudoplatystoma reticulatum*. *Aquaculture*, 528:735595.
- Skår, M.W., Haugland, G.T., Powell, M.D., Wergeland, H.I., Samuelsen, O.B.**, 2017. Development of anaesthetic protocols for lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.): Effect of anaesthetic concentrations, sea water temperature and body weight. *PLoS ONE*, 12(7):e0179344.
- Sneddon, L.U.**, 2012. Clinical anesthesia and analgesia in fish. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 21:32-43.
- Souza, C.F., Baldissera, M.D., Salbego, J., Lopes, J.M., Vaucher, R.A., Mourao, R.H.V., Caron, B.O., Heinzmann, B.M., Silva, L.V.F., Baldisserotto, B.**, 2017. Physiological responses of *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae) to anesthesia with essential oils from two different chemotypes of *Lippia alba*. *Neotropical Ichthyology*, 15:1-10.
- Stehly, G.R., Gingerich, W.H.**, 1999. Evaluation of AQUI-S (TM) (efficacy and minimum toxic concentration) as a fish anaesthetic sedative for public aquaculture in the United States. *Aquaculture Research*, 30:365-372.
- Summerfelt, R.C., Smith, L.S.**, 1990. Anaesthesia and surgery and related techniques. In *Methods for Fish Biology*, pp. 213-272. Eds. Schreck, C.B., Moyle, P.B., American Fisheries Society, Bethesda.
- Sylvester, J.R., Holland, L.E.**, 1982. Influence of temperature, water hardness, and stocking density on MS-222 response in three species of fish. *The Progressive Fish-Culturist*, 44:138-141.

- Takada, M., Tachihara, K., Kon, T., Yamamoto, G., Iguchi, K., Miya, M., Nishida, M.,** 2010. Biogeography and evolution of the *Carassius auratus*-complex in East Asia. *BMC Evolutionary Biology*, 10:7.
- Tarkhani, R., Imani, A., Jamali, H., Farsani, H.G.,** 2017. Anaesthetic efficacy of eugenol on various size classes of angelfish (*Pterophyllum scalare* Schultze, 1823). *Aquaculture Research*, 48:5263-5270.
- Van der Salm, A.L., Pavlidis, M., Flik G., Wendelaar Bonga, S.E.,** 2006. The acute stress response of red porgy, *Pagrus pagrus*, kept on a red or white background. *General and Comparative Endocrinology*, 145:247-253.
- Velisek, J., Svobodova, Z.,** 2004. Anaesthesia of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with 2-phenoxyethanol: acute toxicity and biochemical blood profile. *Acta Veterinaria Brno*, 73:379-384.
- Velisek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodova, Z., Novotny, L.,** 2007. Effects of 2-phenoxyethanol anaesthesia on sheatfish (*Silurus glanis* L.). *Veterinární medicína*, 52:103-110.
- Weber, R.A., Peleteiro, J.B., García Martín, L.O., 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.
- Weyl, O., Kaiser, H., Hecht, T.,** 1996. On the efficacy and mode of action of 2-phenoxyethanol as an anaesthetic for goldfish (*Carassius auratus*), at different temperatures and concentrations. *Aquaculture Research*, 27:757-764.
- Woolsey, J., Holcomb, M., Ingermann, R.L.,** 2004. Effect of temperature on clove oil anesthesia in steelhead fry. *North American Journal of Aquaculture*, 66:35-41.
- Yigit, N.O., Kocaayan, H.,** 2023. Efficiency of thyme (*Origanum onites*) and coriander (*Coriandrum sativum*) essential oils on anesthesia and histopathology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 562:738813.
- Yıldız, M., Kayım, M., Akın, S.,** 2013. The anesthetic effects of clove oil and 2-phenoxyethanol on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at different concentrations and temperatures. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(4):947-961.
- Zahl, I.H., Kissling, A., Samuelsen, O.B., Hansen, M.K.,** 2009. Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) - Effect of pre-anaesthetic sedation, and importance body weight, temperature and stress. *Aquaculture*, 295:52-59.