

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BAZI BİTKİSEL KAYNAKLI UÇUCU YAĞLARIN SAZAN BALIKLARINDA  
(*Cyprinus carpio*) GÖRÜLEN MONOGENEAN PARAZİTLER ÜZERİNDEKİ  
ANTİPARAZİTİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

**Bilgenur HARMANŞA YILMAZ**

**SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA  
2020**

**Her hakkı saklıdır**

# ÖZET

## Yüksek Lisans Tezi

### BAZI BİTKİSEL KAYNAKLI UÇUCU YAĞLARIN SAZAN BALIKLARINDA (*Cyprinus carpio*) GÖRÜLEN MONOGENEAN PARAZİTLER ÜZERİNDEKİ ANTİPARAZİTİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Bilgenur HARMANŞA YILMAZ

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Su Ürünleri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hijran YAVUZCAN

*Dactylogyrus* sp. (Monogenea), sazan (*Cyprinus carpio*) balıkları ve diğer tatlı su balıklarında en tehlikeli patojenlerden biri olarak kabul edilmektedir. Parazitlere karşı bitkisel ürünlerin kimyasallara kıyasla çevre ve balıklar üzerinde daha az olumsuz etkiye sahip olması bağlamında su ürünleri yetiştiriciliğinde hastalıklarla mücadelede kullanım eğilimi artış göstermiştir. Bu çalışmada sazan balıklarının solungaçlarında bulunan *Dactylogyrus* sp.'e karşı, nane (*Mentha piperita*), limon (*Citrus limon*) ve çay ağacı (*Melaleuca alternifolia*) uçucu yağlarının antiparazitik etkisi *in vitro* ve *in vivo* olarak araştırılmıştır. *In vitro* testlerde uçucu yağların 0.5, 1, 2.5, 5 ve 10 µl/ml konsantrasyonlarda uygulanması sonrası nane (*M. piperita*) yağında yaklaşık 15 dakika, limon (*C. limon*) yağında 10 dakika, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağında ise 3 dakika sonra parazitlerde %100 ölüm oranına ulaşılmıştır. *In vitro* deneylerde hesaplanan lethal konsantrasyon (LC50) değerlerinden nane uçucu yağı (LC50=2.53 µl/ml 5 dk) ve limon uçucu yağı (LC50=0.73 µl/ml 5 dk) ile çay ağacı uçucu yağı (LC50=0.24 µl/ml 2 dk) *in vivo* deneylerde balıklara tek banyo olarak uygulanmıştır. *In vivo* deneylerde balıkların uçucu yağlara maruz bırakılması sonrası ortalama parazit yoğunluğunda önemli azalma gerçekleşmiştir ( $p < 0.05$ ). *In vivo* deneylerde, solungaçtaki *Dactylogyrus* sp.'e karşı nane, limon ve çay ağacı uçucu yağlarının antiparazitik etkililikleri sırasıyla %28.23, %30.95, %35.31 olarak tespit edilmiştir. *In vitro* ve *in vivo* deney sonuçlarına göre, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı en etkili, nane (*M. piperita*) yağı en az etkili olmak üzere, her üç bitkisel uçucu yağ da optimum doz ve uygulama süresi esas olmak üzere balıklarda monogenean enfeksiyonlarına karşı antiparazitik olarak kullanım potansiyeli taşımaktadır.

**Aralık 2020, 59 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Su ürünleri yetiştiriciliği, balık, parazitler, bitkisel uçucu yağlar, tedavi, *Mentha piperita*, *Citrus limon*, *Melaleuca alternifolia*, *Cyprinus carpio*, *Dactylogyrus* sp.

## ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINING ANTI-PARASITIC EFFECTS OF SOME HERBAL ESSENTIAL OILS  
(EO) AGAINST MONOGENEAN PARASITES FOUND ON CARP (*Cyprinus carpio*)

Bilgenur HARMANŞA YILMAZ

Ankara University  
Graduate School Of Natural and Applied Sciences  
Department of Fisheries and Aquaculture

Supervisor: Prof. Dr. Hijran YAVUZCAN

*Dactylogyrus* sp. (Monogenea) is recognized as one of the most dangerous pathogens in carp (*Cyprinus carpio*) and other freshwater fish. Since herbal products have less negative impact on the environment and fish compared to chemicals, their use in aquaculture against diseases has increased. In this study, antiparasitic effects of peppermint (*Mentha piperita*), lemon (*Citrus lemon*) and tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oils were investigated *in vitro* and *in vivo* against *Dactylogyrus* sp. found in the gills of carp. In *in vitro* tests, after application of essential oils at 0.5, 1, 2.5, 5 and 10 µl/ml concentrations, 100% mortality of parasites was reached in peppermint (*M. piperita*), lemon (*C. lemon*) and tea tree (*M. alternifolia*) oils after approximately 15, 10 and 3 minutes respectively. From the lethal concentration (LC50) values calculated in *in vitro* experiments, peppermint (LC50=2.53 µl/ml 5 min), lemon (LC50=0.73 µl/ml 5 min) and tea tree oils (LC50=0.24 µl/ml 2 min) were applied to fish as a single bath in *in vivo* experiments. In *in vivo* experiments, there was significant decrease in the mean parasite density after exposure of fish to essential oils ( $p<0.05$ ) and antiparasitic effectiveness of peppermint, lemon and tea tree essential oils was determined as 28.23%, 30.95%, 35.31%, respectively. According to the results of *in vitro* and *in vivo* experiments, tea tree (*M. alternifolia*) oil being the most effective and peppermint (*M. piperita*) oil the least effective, all three herbal essential oils have antiparasitic potential against monogenean infections in fish in optimum dosage and application time.

**December 2020, 59 pages**

**Key Words:** Aquaculture, fish, parasites, essential oils, treatment, *Mentha piperita*, *Citrus limon*, *Melaleuca alternifolia*, *Cyprinus carpio*, *Dactylogyrus* sp.

## ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile beni yönlendirip yol gösteren, öneri ve desteklerini esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Hijran YAVUZCAN'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım. Tez çalışmalarım esnasında içtenlikle beni destekleyen tüm Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerine ve personeline teşekkür ederim.

Beni en iyi şekilde yetiştiren, her zaman yanımda olan canım aileme teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan değerli eşim Oğuz YILMAZ'a sonsuz teşekkür ederim.

Bilgenur HARMANŞA YILMAZ

Ankara, Aralık 2020

## İÇİNDEKİLER

### TEZ ONAYI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
SİMGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1 Materyal.....	18
3.1.1 Balık materyali.....	18
3.1.2 Parazit, <i>Dactylogyrus</i> sp.....	18
3.1.3 Bitkisel uçucu yağlar.....	19
3.2 Yöntem.....	19
3.2.1 <i>In vitro</i> bitkisel uçucu yağların <i>Dactylogyrus</i> sp. üzerindeki antiparazitik etkisinin belirlenmesi.....	19
3.2.2 <i>In vivo</i> bitkisel uçucu yağların antiparazitik etkisinin balıklar üzerinde test edilmesi.....	20
3.2.3 İstatistiki değerlendirme.....	21
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	22
4.1 Bitkisel Uçucu Yağların <i>In Vitro</i> Deneylerde <i>Dactylogyrus</i> sp. Üzerindeki Antiparazitik Etkileri.....	22
4.1.1 Nane yağının ( <i>M. piperita</i> ) <i>Dactylogyrus</i> sp. üzerinde <i>in vitro</i> deney bulguları.....	22
4.1.2 Limon yağının ( <i>C. limon</i> ) <i>Dactylogyrus</i> sp. üzerinde <i>in vitro</i> deney bulguları.....	25
4.1.3 Çay ağacı yağının ( <i>M. alternifolia</i> ) <i>Dactylogyrus</i> sp. üzerinde <i>in vitro</i> deney bulguları.....	27
4.1.4 Bitkisel uçucu yağlara maruz kalan parazitin ( <i>Dactylogyrus</i> sp.) davranışı.....	33
4.2 Bitkisel Uçucu Yağların <i>In Vivo</i> Deneylerde <i>Dactylogyrus</i> sp. Üzerindeki Antiparazitik Etkileri.....	34
4.2.1 Nane yağının ( <i>M. piperita</i> ) sazan ( <i>C. carpio</i> ) balıklarındaki <i>Dactylogyrus</i> sp. üzerindeki <i>in vivo</i> deney bulguları.....	34
4.2.2 Limon yağının ( <i>C. limon</i> ) sazan ( <i>C. carpio</i> ) balıklarındaki <i>Dactylogyrus</i> sp. üzerindeki <i>in vivo</i> deney bulguları.....	35
4.2.3 Çay ağacı yağının ( <i>M. alternifolia</i> ) sazan ( <i>C. carpio</i> ) balıklarındaki <i>Dactylogyrus</i> sp. üzerindeki <i>in vivo</i> deney bulguları.....	35

<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>37</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>52</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>59</b>



## SİMGELER DİZİNİ

$\mu$ l	mikrolitre
ml	mililitre
mg	miligram
kg	kilogram
g	gram
$^{\circ}$ C	derece-santigrat
L	litre
cm	santimetre
ppm	milyonda bir
ppmv	hacimsel milyonda bir
dk	dakika
Å	angstrom

### **Kısaltmalar**

FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu
DMSO	Dimetil sülfoksit
LC	Lethal konsantrasyon
RPMI	Hücre kültürü için besi yeri (Roswell Park Memorial Institute)
N	İncelenen örnek sayısı

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1 <i>In vitro</i> nane ( <i>M. piperita</i> ) yağına maruz bırakılmış <i>Dactylogyrus</i> sp. kümülatif mortalitesi Kontrol: 1:50 DMSO.....	25
Şekil 4.2 <i>In vitro</i> limon ( <i>C. limon</i> ) yağına maruz bırakılmış <i>Dactylogyrus</i> sp. kümülatif mortalitesi Kontrol: 1:50 DMSO.....	27
Şekil 4.3 <i>In vitro</i> çay ağacı ( <i>M. alternifolia</i> ) yağına maruz bırakılmış <i>Dactylogyrus</i> sp. kümülatif mortalitesi Kontrol: 1:50 DMSO.....	29
Şekil 4.4 Nane ( <i>M. piperita</i> ), limon ( <i>C. limon</i> ) ve çay ağacı ( <i>M. alternifolia</i> ) yağına (1 µl/ml) maruz bırakılmış <i>Dactylogyrus</i> sp.'nin <i>in vitro</i> kümülatif mortalitesi .....	31
Şekil 4.5 Nane ( <i>M. piperita</i> ), limon ( <i>C. limon</i> ) ve çay ağacı ( <i>M. alternifolia</i> ) yağına (2.5 µl/ml) maruz bırakılmış <i>Dactylogyrus</i> sp.'nin <i>in vitro</i> kümülatif mortalitesi.....	31
Şekil 4.6 Nane ( <i>M. piperita</i> ), limon ( <i>C. limon</i> ) ve çay ağacı ( <i>M. alternifolia</i> ) yağına (5 µl/ml) maruz bırakılmış <i>Dactylogyrus</i> sp.'nin <i>in vitro</i> kümülatif mortalitesi.....	32
Şekil 4.7 Nane ( <i>M. piperita</i> ), limon ( <i>C. limon</i> ) ve çay ağacı ( <i>M. alternifolia</i> ) yağına (10 µl/ml) maruz bırakılmış <i>Dactylogyrus</i> sp.'nin <i>in vitro</i> kümülatif mortalitesi.....	32
Şekil 4.8 a) <i>Dactylogyrus</i> sp. bitkisel uçucu yağ uygulama öncesi b) Bitkisel uçucu yağ uygulama sonrasında <i>Dactylogyrus</i> sp. kontraksiyonu c) Bitkisel uçucu yağ uygulama sonunda <i>Dactylogyrus</i> sp. ölümü.....	33
Şekil 4.9 <i>In vivo</i> nane ( <i>M. piperita</i> ) (5 dk), limon ( <i>C. limon</i> ) (5 dk) ve çay ağacı ( <i>M. alternifolia</i> ) (2 dk) uçucu yağlarına maruz kalma öncesi ve sonrası ortalama <i>Dactylogyrus</i> sp. yoğunlukları.....	36

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. <i>In vitro</i> deneylerde değişik konsantrasyonlarda ve sürelerde DMSO uygulama sonrası <i>Dactylogyrus</i> sp.'nin kümülatif mortalite değerleri.....	20
Çizelge 4.1 <i>In vitro</i> deneylerde değişik konsantrasyonlarda nane ( <i>M. piperita</i> ) yağı uygulama sonrası <i>Dactylogyrus</i> sp.'nin %100 kümülatif mortaliteye ulaşma süreleri.....	22
Çizelge 4.2 <i>In vitro</i> nane ( <i>M. piperita</i> ) yağı LC50 değerleri ( <i>Dactylogyrus</i> sp.'e karşı) (N=10 her bir test konsantrasyonu için).....	24
Çizelge 4.3 <i>In vitro</i> deneylerde değişik konsantrasyonlarda limon ( <i>C. limon</i> ) yağı uygulama sonrası <i>Dactylogyrus</i> sp.'nin %100 kümülatif mortaliteye ulaşma süreleri.....	26
Çizelge 4.4 <i>In vitro</i> limon ( <i>C. limon</i> ) yağı LC50 değerleri ( <i>Dactylogyrus</i> sp.'e karşı) (N=10 her bir test konsantrasyonu için).....	26
Çizelge 4.5 <i>In vitro</i> deneylerde değişik konsantrasyonlarda çay ağacı ( <i>M. alternifolia</i> ) yağı uygulama sonrası <i>Dactylogyrus</i> sp.'nin %100 kümülatif mortaliteye ulaşma süreleri.....	28
Çizelge 4.6 <i>In vitro</i> çay ağacı ( <i>M. alternifolia</i> ) yağı LC50 değerleri ( <i>Dactylogyrus</i> sp.'e karşı) (N=10 her bir test konsantrasyonu için).....	28
Çizelge 4.7 <i>In vitro</i> nane ( <i>M. piperita</i> ) yağı, limon ( <i>C. limon</i> ) yağı, çay ağacı ( <i>M. alternifolia</i> ) yağı LC50 değerleri ( <i>Dactylogyrus</i> sp.'e karşı) (N=10 her bir test konsantrasyonu için).....	30

## 1. GİRİŞ

Dünyada su ürünleri yetiştiriciliği son 60 yılda büyük artış göstermiş, 1950'lerdeki yıllık 1 milyon tondan az üretimlerden, 2000 yılında 32.4 milyon tona ve 2018 yılında 82.1 milyon tona ulaşmıştır (Anonymous 2020). Ülkemizde de su ürünleri yetiştiriciliği her geçen gün artmaktadır, 2000 yılında yıllık yaklaşık 79 bin ton iken, 2019 yılında yıllık yaklaşık 373 bin tona yükselmiştir (Anonim 2020).

Bu çalışmada kullanılan sazan balığı (*Cyprinus carpio*) su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisinde ekonomik olarak önemli bir türdür ve yaklaşık 100 ülkede yetiştirilmektedir. 2018 yılında, dünya çapında toplam üretimde dördüncü sırada olup, aynı yıl dünya sazan balığı üretimi 4 milyon tondan fazla olmuştur (Anonymous 2020).

Sazan balıkları özellikle ılıman ilkim bölgelerinde ekonomik öneme sahip türlerdir. Su sıcaklığı değişimlerine uyum sağlayabilen ve az oksijene gereksinim duyan, entansif yetiştiricilikte hızlı gelişen ve yem değerlendirmesi yüksek olan bir türdür.

Ülkemizde 1970 yılından beri sazan balığı yetiştiriciliği yapılmaktadır. Sazan balığı yetiştiriciliği 1980'lerin sonlarında ülkemizde içsu balıkları yetiştiriciliğinin yarısından fazlasını oluşturmakta iken miktar olarak artsa da her geçen yıl su ürünleri üretimindeki payı azalmıştır. Türkiye'de 2019 yılında yaklaşık 3058 ton sazan balığı yetiştiriciliği gerçekleştirilmiştir (Anonim 2020).

Yetiştiricilik ekonomide balık arzını artırmadaki ana kaynaktır. Üretimin hızlı yükselmesi ve artan balık talebi balık kültürlerinde yoğunlaşmaya sebep olmuş ve balıklar için stres faktörlerini artırarak hastalık risklerini de yükseltmiştir. Yoğun su ürünleri yetiştiriciliği sistemleri (örneğin: yoğun stok yapılan havuz, deniz kafesleri ve tanklar) balıklar için oksijen yetersizliği gibi optimal olmayan su kalitesi ve beslenme eksikliği gibi çeşitli stres faktörleri oluşturabilmektedir. Bu tür yetiştiricilik sistemlerinde, bakım koşulları, oluşan atıklar, olumsuz ışıklandırma, tuzluluk ve sıcaklık, bağışıklık yetersizliğine ve hastalıklara karşı artan hassaslığa sebep

olabilmektedir (Bauer vd. 1973, Thoney ve Hargis 1991, Lucas ve Southgate 2012). Su ürünleri yetiştiriciliği sektöründe virüs, bakteri, mantar ve parazit kaynaklı birçok hastalık problemi görülebilmektedir. Su ürünleri yetiştiriciliğinin gittikçe artan yaygınlığı sektörün sürdürülebilirliğini riske atan paraziter hastalıkların çoğalmasına yol açmıştır (Soler-Jiménez vd. 2017, Soares vd. 2017a, b). Ancak, metazoan ektoparazitler, özellikle monogeneanlar, çoğu zaman daha önemli kayıplara sebep olmaktadır (Ernst vd. 2002, Shinn vd. 2015). Shinn vd. (2015) tarafından parazitlerin dünya su ürünleri yetiştiriciliğine ekonomik etkileri üzerine yapılan araştırma verileri, monogenean parazitlerin birçok ülkede önemli üretim kayıplarına ve ekonomik kayıplara sebep olduğunu göstermiştir. Örneğin, *N. melleni* Tayvan'da 2001 yılında Cobia (*Rachycentron canadum*) balığında %40 ölüme sebep olmuştur ve eşdeğer üretim kaybının 284 milyon ton olduğu tahmin edilmektedir.

Sazan balıklarında da yetiştiricilikte monogenean parazitlerin sebep olduğu paraziter hastalıklarla karşılaşmaktadır.

Monogeneanlar deniz ve tatlı su balıklarında yaşayan yassı parazitlerdir ve en çok değişik türü olan balık parazitleridir (Buchmann ve Bresciani 2006, Whittington ve Chisholm 2008). Yapılan araştırmalarda 4000 ile 5000 arasında monogenean türü tanımlanmıştır. Tatlı ve tuzlu su balıklarında ve geniş bir su sıcaklığı aralığında bulunurlar. Monogeneanlar genel olarak deri, yüzgeçler, kafa, solungaçlar ve gözler gibi dış vücut yüzeylerinde ve ağız ile solungaç boşluklarında yaşarlar (Whittington ve Chisholm 2008). Bazı monogeneanlar ürogenital sistem gibi dışarıya açılışı olan iç noktalarda yaşasalar da çok az çeşidi sindirim yolu, kalp, böbrekler ya da kan damarlarını enfekte eder.

Monogeneanlar doğadaki balıklarda yaygın olarak görülse de bu balıklarda genelde yüksek sayıda olmadıklarından ender olarak hastalığa sebep olurlar. Su ürünleri yetiştiriciliğinde balıkların tutulduğu yoğun koşullar, serbest yüzen monogenean larvaların konakçı balıklar bulmalarını ya da ergen monogenean parazitlerin balıktan balığa geçmelerini kolaylaştırır. Bunun yanında, balıkların tutulduğu ortamdaki yetersiz

beslenme koşulları ve düşük su kalitesi gibi faktörler balıkların bağışıklık sisteminin parazitlere karşı koyma kabiliyetini olumsuz etkiler (Reed vd. 2009).

Monogeneanların direkt bir yaşam döngüsü vardır; yaşam döngülerini tamamlamak için tek bir konakçı türe ihtiyaçları vardır ve balıktan balığa direkt geçerler. Hızlı üreme eğilimlidirler ve kısa üreme süreleri ile yükselen eğri şeklinde popülasyon artışı gösterebilirler. Yetiştiricilikte, kapalı, yarı kapalı ve açık sistemlerde yaygındırlar. Buna rağmen sadece küçük bir yüzdeleri araştırılmıştır, örneğin, Güneydoğu Asya'da monogenean türlerin %8'i bilinmektedir (Lim 1998).

Monogenean ektoparazitlerden biri olan *Dactylogyrus* sp. tatlı su ve deniz balıkları yetiştiriciliğinde önemli kayıplara sebep olan parazitlerdendir. *Dactylogyrus* sp. genelde beslenme ve tutunma bölgesi olarak solungaçları tercih eder, balığın gaz alışverişini engelleyen patolojik değişikliklere yol açarak ciddi zarar verir ve sonuç olarak balıklarda iştah kaybı, düşük büyüme performansı ve yüksek ölüm oranları oluşur (Obiekezie ve Taege 1991). Bu parazitler mukus ve kanla beslendiği için vücudunun arkasındaki kancalarla konakçının solungaç epiteline tutunurlar. Solungaçta yoğun şekilde bulduklarında dokuda sorunlara neden olurlar. Ayrıca diğer patojenlere portre oluşturabilirler. *Dactylogyrus* sp. hermafrodit ve ovipar üreme şekline sahiptir. Larvaları (oncomiracidia) silleriyle serbet yüzer ve doğrudan ara konakçıya ihtiyaç duymadan balıklara tutunur (Klinger ve Floyd 2002, Buchmann ve Bresciani 2006, Eiras vd. 2008).

Parazitler tarafından zarar görmüş dokularda bakteriyel ve fungal sekonder enfeksiyonlar da yaygındır (Reed vd. 2009).

Monogenean parazitler tatlı su ve deniz su ürünleri yetiştiriciliğinde yıllık büyük ekonomik kayıplardan sorumludur (Zoral vd. 2017). Günümüzde enfekte balıkları en yaygın tedavi tekniklerinden biri, formalin, bakır sülfat, potasyum permanganat, hidrojen peroksit gibi kimyasallar kullanarak, banyo yoluyla, tutunmuş parazitleri yok etmektir. Her ne kadar etkili olsa da, bu tür banyo yoluyla kullanılan kimyasallar balığın yaşadığı su kalitesini bozar ve balık derisinde kalan toksinlerle de tüketim anında insan

sağlığına karşı riskler taşır. Balıklara oral yolla praziquantel ve mebendazole gibi sentetik antiparazitikler de verilebilmektedir. Fakat bunların kullanımı dirençli organizmaların gelişmesi, kimyasal kalıntıların birikmesiyle doğal çevreye, insanlara zarar vermesi gibi sorunlar oluşturabilmektedir ve kimyasal maddelerle tedavi edilmiş çiftlik balıklarının tüketimi sağlık riskleri taşıyabilmektedir (Ling vd. 2015, Hashimoto vd. 2016, Soares vd. 2016, Soares vd. 2017a, b). Bu sebeple, balık hastalıklarıyla mücadele etmek için kimyasal maddelerin kullanımı birçok ülkede kısıtlanmıştır (Ling vd. 2015). Bu problemler su ürünlerinde parazitik hastalıkların tedavisinde alternatif yöntemlerin araştırılmasını teşvik etmiştir (Yavuzcan Yıldız ve Bekcan 2020). Dünyada hastalık tedavisindeki gelişmeler, ekonomik sürdürülebilirlik, üreticilerin daha iyi kazanç sağlamaları, su ürünleri üretiminin yerel, bölgesel ve ulusal ekonomilere daha çok katkı yapması ve daha verimli, doğal tedavi yöntemlerinin bulunmasını sağlayabilir (Engle vd. 2017).

Bitkisel tedavi kimyasallarla tedaviye göre daha ucuz ve etkili olabildiğinden, su ürünleri yetiştiriciliğinde faydalı alternatif bir tedavi yöntemi olma potansiyeli taşımaktadır (Soares ve Tavares-Dias, 2013, Soares vd. 2016, Soares vd. 2017a, b). Bitkisel ürünlerin, içerdikleri alkaloidler, terpenoidler, saponinler ve flavonoidler gibi aktif moleküller sayesinde balıklarda iştah ve ağırlık artırıcı, bağışıklık güçlendirici, antibakteriyel ve antiparazitik etkileri rapor edilmiştir (Reverter vd. 2014). Son yıllarda doğal bitkisel ürünlerin balıklardaki monogenean enfeksiyonlara karşı umut verici antiparaziter etkileri gösterilmiştir. Çok çeşitli bitkilerden elde edilen bitkisel özler, uçucu yağlar ve bioaktif metabolitlerin balıklardaki değişik parazit türlerine karşı alternatif tedavi potansiyelleri çalışılmıştır (Wang vd. 2011, Wu vd. 2011, Lu vd. 2012, Ramudu ve Dash 2013, Valladao vd. 2015, Tavares-Dias 2018).

Bitkisel uçucu yağ, bitkilerden elde edilen uçucu kimyasal bileşikler içeren yoğun hidrofobik bir sıvıdır. Bitkisel uçucu yağ çoğunlukla su buharı kullanılarak damıtma yoluyla çıkarılır. Uçucu yağlar üreten bitki türleri hakkındaki artan bilgi birikimi su ürünleri yetiştiriciliğinde parazit enfeksiyonlarını tedavi etmede kullanılması için çok önemlidir. Bitkisel uçucu yağların antiparazitik etkisi diğer bitkisel özlere kıyasla yeterince araştırılmamıştır (Tavares-Dias 2018).

Bu çalışmada bitkisel uçucu yağlardan nane (*Mentha piperita*), limon (*Citrus limon*) ve çay ağacı (*Melaleuca alternifolia*) yağlarının antiparazitik etki potansiyeli araştırılmıştır. Bu kapsamda belirtilen yağların sazan balığı (*C. carpio*) solungacında bulunan monogenean *Dactylogyrus* sp. zerindeki antiparazitik etkileri, *in vitro* ve *in vivo* olarak test edilmiştir.



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Su ürünleri yetiştiriciliği 1970'lerden bu yana yılda ortalama %7.5 ile en hızlı büyüyen hayvansal gıda üretimi sektörüdür (Anonymous 2020). Fakat, yetiştiricilikteki yüksek yoğun koşullar, hızlı ve ani sıcaklık değişimleri, düşük su kalitesi, zayıf beslenme gibi sebepler balıklarda stres ve bağışıklık baskılanması gibi fizyolojik değişimlere sebep olmakta ve enfeksiyonlara olan dirençlerini azaltmaktadır. Dahası, yüksek balık konsantrasyonları ve düşük hijyen koşulları patojenlerin kolayca yayılmasına yol açarak balıklarda yüksek ölüm oranlarına sebebiyet vermektedir (Cabello, 2006, Naylor vd. 2000, Quesada vd. 2013).

Balıklarda hastalıkların patlak vermesini önlemek ya da hasta balıkları tedavi amacıyla çeşitli ilaçlar ve kimyasallar kullanılmaktadır. Antimikrobial ve diğer ilaçlar yaygın olarak balık yemine ilave edilerek, balıklara banyo ile ve aşılama yoluyla uygulanmakta ve hastalıkları ortaya çıkmadan önlemek için, ortaya çıktığında tedavi için ya da büyüme desteği olarak verilmektedir (Rico vd. 2013). Trichlorfon ve praziquantel gibi ilaçların banyo tedavisi ile ektoparazitlere karşı kullanılması bunlara karşı direnç gelişimi, balık sağlığına ve çevreye olumsuz etkiler gibi dezavantajlar taşır (Forwood vd. 2013, Kiemer ve Black, 1997). Çevre ve insan sağlığına karşı olumsuz yan etkilerinden dolayı ilaçların ve kimyasalların kullanımı artan kısıtlamalara tabi tutulmaktadır (Cabello, 2006, Romero Ormazabal vd. 2012).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde kimyasalların kullanılmasının getirdiği dezavantajlar, bunların kullanımına getirilen kısıtlar, tüketicideki organik ve çevreye dost gıdalara olan talep, balık hastalıklarıyla mücadelede bitkisel malzemelere ilgiyi artırmıştır. Bitkisel maddelerin içerdikleri alkaloidler, terpenoidler, tanninler, saponinler, glikosidler, flavonoidler, fenolikler, steroidler veya uçucu yağlar sebebiyle balıklarda stres azaltıcı, büyüme destekleyici, iştah artırıcı, bağışıklık güçlendirici, antipatojen etkileri raporlanmıştır (Chakraborty ve Hancz, 2011, Citarasu, 2010).

Monogenean parazitler, balıkların deri, solungaç ve gözlerine yerleşen yassı kurtlardır. *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus* ve *Neobenedenia* çok sayıda kültür balığını etkileyen ve

dünya çapında büyük ekonomik kayıplara sebep olan yaygın monogenean parazit türleridir (Deveney vd. 2001, Woo vd. 2002). Monogenean yumurtaları, gelişen embriyoyu koruyan protein kabuk sebebiyle, fiziksel ve kimyasal tedavilere çok dirençlidir (Ernst vd. 2005, Whittington, 2012). Bitkisel ürünlerin kullanımı, tedavi maliyetlerini düşürmek, sentetik moleküllere göre doğada daha iyi parçalanarak çevreye daha dost olmak, içerdikleri çok zengin moleküllerle parazitlerde daha az direnç oluşturmak gibi potansiyeller taşımaktadır (Blumenthal vd. 2000, Logambal vd. 2000, Olusola vd. 2013). Bundan dolayı, çeşitli bitkilerden elde edilen bitkisel özler, uçucu yağlar ve bioaktif metabolitlerin monogenean parazitlere karşı alternatif tedavi potansiyelleri çalışılmıştır.

Alternatif antiparazitik tedavi potansiyelleri çalışılmış bitkisel maddelere örnek olarak sarımsak (*Allium sativum*) ve soğan (*Allium cepa*) ekstreleri verilebilir.

Militz vd. (2013)'nin araştırmasında sarımsak (*A. sativum*) katkılı balık yeminin *Lates calcarifer* balıklarında *Neobenedenia* sp. monogenean parazit enfeksiyonuna karşı önleyici etkililiği çalışılmıştır. Araştırmada değişik konsantrasyonlara (50 ml/kg ve 150 ml/kg) sahip iki sarımsak (*A. sativum*) katkılı yem ve bir katkısız kontrol yem 10 ve 30 gün boyunca 6 farklı grupta sağlıklı balığa verilmiş, daha sonra balıklara *Neobenedenia* sp. bulaştırılmış ve balıklar 5 gün daha aynı şekilde beslenmeye devam edilmiştir. Kısa dönem (10 gün) boyunca her iki konsantrasyonda sarımsak (*A. sativum*) katkılı yem uygulamasında henüz patojen direnci yeterli seviyeye ulaşmadığından enfeksiyon oranı kontrol diyeteye göre önemli şekilde değişmezken, 30 gün boyunca sarımsak (*A. sativum*) katkılı yem verilen grupta her iki konsantrasyonda %70'e kadar kontrol gruba göre enfeksiyona karşı başarı görülmüştür. Çalışmada deniz balığı yetiştiriciliğinde *Neobenedenia* sp. enfeksiyonunu önlemek için sarımsak (*A. sativum*) ekstrelerinin yem katkısı olarak uygulanmasının en uygulanabilir metodlardan biri olabileceği belirtilmiştir.

Yavuzcan Yıldız vd. (2019) tarafından, sarımsak (*A. sativum*) ve soğan (*A. cepa*) bitki sularının, deniz balığı yetiştiriciliğinde levrek (*Dicentrarchus labrax*) solungaçlarında sıkça görülen *Lernanthropus kroyeri* copepod parazitine karşı antiparazitik etkileri, *in*

*vitro* deneyler ile çalışılmıştır. Araştırma kapsamında %20, 40, 60, 80 ve 100 konsantrasyonlarında bitki sularının kullanıldığı deneylerde, her iki bitki suyunun zaman ve doza bağlı antiparazitik etkileri gözlenmiş, en düşük konsantrasyonda sarımsak (*A. sativum*) suyunun 30 dk, soğan (*A. cepa*) suyunun ise 60 dk içerisinde tüm parazitleri öldürdüğü tespit edilmiştir. Deneyler sonucu sarımsak (*A. sativum*) ve soğan (*A. cepa*) bitki sularının antiparazitik tedavi potansiyeli taşıdığı ve *in vivo* balık tolerans testlerinin gerekliliği belirtilmiştir.

Yavuzcan Yıldız ve Bekcan (2020)'nin araştırmasında sarımsak (*Allium sativum*) ve soğan (*Allium cepa*) ekstrelerinin sazan balıklarındaki (*Cyprinus carpio*) *Gyrodactylus elegans* (Monogenea)'ya karşı antiparazitik etkisi *in vitro* ve *in vivo* deneyler ile çalışılmıştır. *G. elegans* üzerinde 250, 125, 100, 50 ve 10 mg/ml konsantrasyonlarında sarımsak (*A. sativum*) ve soğan (*A. cepa*) ekstrelerinin uygulandığı *in vitro* deneylerde, bu ekstrelerin *G. elegans*'a karşı uygulama süresi ve doza bağlı antiparazitik etkileri tespit edilmiştir. *In vitro* deneylerde uygulanan konsantrasyonlarda *G. elegans* kümülatif mortalitesinin her iki bitkisel ekstre uygulamasında yaklaşık 6 dk'da %100'e ulaştığı gözlenmiştir. *In vitro* deney sonuçlarına göre sarımsak (*A. sativum*) ekstresi için 8.37 mg/ml ve soğan (*A. cepa*) ekstresi için 4.72 mg/ml olarak hesaplanan EC50 konsantrasyonları takip eden *in vivo* deneylerde 3 dk boyunca tek banyo şeklinde sazan balıklarına uygulanmış ve *G. elegans* ortalama yoğunluğunun sarımsak (*A. sativum*) ekstresi uygulanan balıklarda %14.40, soğan (*A. cepa*) ekstresi uygulanan balıklarda %19.79 düştüğü tespit edilmiştir. Her iki tedavi grubunda, balık fizyolojik stres parametrelerinde (hematokrit, plazma glukoz ve plazma laktat) hafif değişimler olmuş ve bu stres indikatörleri balıkların *in vivo* deneyler sonrası tatlı suda 1 saat beklemesi sonrası normale dönmüştür.

Bitkisel uçucu yağlar, 5000 yıldan uzun süredir kişisel bakım (parfüm ve kozmetik) ve ev temizliği için, gıda olarak, insan ve hayvanlarda çeşitli hastalıkları tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Bakkali vd. 2008, Raut ve Karuppaiyil, 2014, Sharifi-Rad vd. 2017). Üç bin den fazla bitkisel uçucu yağ bulunmasına karşın, bunların %0.4'ünden daha azı balık parazitleri üzerinde denenmiştir. Bundan dolayı diğer bitkisel uçucu yağların

antiparazitik potansiyellerinin değerlendirilmesi amacıyla daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Tavares-Dias 2018).

Su rnleri yetiştiriciliğinde kullanılmak üzere daha önce test edilen bitkiler arasında nane (*M. piperita*) bulunmaktadır (Malheiros vd. 2016).

Mousavi vd. (2012)'nin araştırmasında, *Eucalyptus globulus*, *M. piperita*, *Salvia officinalis* ve *Thymus vulgaris* uçucu yağlarının kombinasyonu kullanılarak gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ve yumurtalarında fungal enfeksiyonları tedavi amaçlanmıştır ve kimyasal olarak tedavi amaçlı kullanılan malahit yeşili ile karşılaştırılmıştır. Araştırma sonucunda kuluçkahanelerde *Saprolegnia parasitica* ve *Fusarium solani* fungal enfeksiyonları olan gökkuşağı alabalıkları (*O.mykiss*) ve yumurtaları üzerinde uçucu yağların kombinasyonunun uygun doza bağlı fungal enfeksiyon önleyici olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Hashimoto vd. (2016) tarafından biberiye (*Lippia sidoides*) ve nane (*M. piperita*) uçucu yağlarının, 320 adet Nil tilapyasının solungaçlarını enfekte etmiş *Cichlidogyrus tilapiae*, *Cichlidogyrus thurstonae*, *Cichlidogyrus halli*, *Scutogyrus longicornis* monogenean parazitleri üzerindeki antiparazitik etkileri *in vitro* ve *in vivo* deneylerle araştırılmıştır. Çalışmada uçucu yağlar 1:10 oranında DMSO (dimetil sülfoksit) solüsyonunda çözdürülmüş, kontrol grubu olarak DMSO+su ve su grubu kullanılmıştır. *In vitro* deneylerde balıkların solungaçlarından alınan parazit örnekleri, test edilen uçucu yağların altı konsantrasyonuna (320, 160, 80, 40, 20, 10 mg/l) maruz bırakılmıştır. Balıkların bu uçucu yağlara olan toleransını değerlendirmek üzere toksisite testleri yapılmıştır. *In vivo* deneylerde ise balıklar 20 mg/l konsantrasyonunda *L. sidoides* uçucu yağı ya da 40 mg/l konsantrasyonunda nane (*M. piperita*) uçucu yağında 24 saat aralıklarla 3 kez 10 dakika süresince banyoya tabi tutulmuştur. Her ne kadar 20 mg/l'lik *L. sidoides* yağı parazitler üzerinde etkili olmuşsa da balıklarda hematolojik değişikliklere yol atığından kullanılması tavsiye edilmemiştir. Nane (*M. piperita*) yağının 40 mg/l konsantrasyonda kullanıldığı banyo işlemi ise balıkların vücut yüzeyinde herhangi değişikliğe ya da balık ölümüne sebebiyet vermemiş ve araştırmacılar tarafından güvenilir bulunarak tavsiye edilmiştir.

Malheiros vd. (2016), *Arapaima gigas* balıklarının solungaçlarında bulunan *Dawestrema cycloancistrum* ve *Dawestrema cycloancistrioides* türündeki monogenean parazitlere karşı nane (*M. piperita*) uçucu yağının antiparazitik etkisini *in vitro* ve *in vivo* deneylerle araştırmışlardır. Bu çalışmanın deneylerinde öncelikle iki ayrı kontrol grubu kullanılmıştır; biri sadece tank suyu, diğeri ise etil alkol ilaveli tank suyudur. *In vitro* deneyler için 10 adet *A. gigas* balığının solungaçları çıkartılmış ve her biri ayrı ayrı 80, 160, 320 mg/l konsantrasyonlarında nane (*M. piperita*) yağı solüsyonuna daldırılmıştır. Her bir solungaç kemerinden görsel olarak 20 adet parazit seçilmiş ve her 15 dakikada bir canlı/ölü parazit sayısı saptanmıştır. Monogenean parazitlerin bazı davranışsal kriterleri kullanılarak (örneğin; vücut kasılması ve gevşemesi, hareketlerde yavaşlama ve hareketsizlik (ölüm) gibi) *in vitro* deneylerin etkinliği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmanın *in vitro* deneylerinde nane (*M. piperita*) yağının antiparazitik aktivitesinin doza bağlı olduğu gözlenmiştir. Araştırmada nane (*M. piperita*) yağının toksisite testi esnasında 168 adet *A. gigas* balık yavrusu 1 g/10 ml etil alkolde seyreltilmiş 20, 40, 80, 100, 130 ve 160 mg/l konsantrasyonlarında nane (*M. piperita*) yağı içeren tanklarda 4 saat tutulmuş ve balık ölümleri kaydedilmiştir. Toksikite deneyleri sonucunda 4 saatlik lethal konsantrasyon (LC<sub>50-4h</sub>) 38 mg/l olarak belirtilmiştir. Çalışmanın bir sonraki aşaması olan *in vivo* deneylerde nane (*M. piperita*) yağının etkinliğinin araştırılmasına devam edilmiştir. *In vivo* deneyler için *A. gigas* balıkları nane (*M. piperita*) yağının 0, 20 ve 40 mg/l konsantrasyonlarında ve kontrol grubu olarak da sadece su ve etil alkol ilaveli suda 60 dakika süre ile banyoya tabi tutulmuştur. Balıklar banyoda nane (*M. piperita*) uçucu yağının 20 mg/l konsantrasyonuna 60 dakika, 40 mg/l konsantrasyonuna 30 dakika maruz bırakılmıştır. 20 mg/ml'de herhangi parazit ölümü gözlenmezken, 40 mg/ml'de nane (*M. piperita*) uçucu yağının %15.6 etkililiği tespit edilmiştir.

Ferreira vd. (2019), *Collosoma macropomum* balıklarını enfekte eden dinoflagellatlerden *Piscinoodinium pillulare* parazitlerine karşı nane (*M. piperita*) uçucu yağını kullanarak bu yağın antiparazitik etkinliğini incelemiştir. Toksikite testi için 192 adet *C. macropomum* balık yavrusu, 10 farklı nane (*M. piperita*) uçucu yağı (5, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 ve 160 mg/l) konsantrasyonu ve kontrol grubu olarak da sadece tank suyu ve etil alkol ilaveli su kullanılmıştır. Nane (*M. piperita*) yağ

konsantrasyonları 1g:10ml etil alkolde seyreltilerek kullanılmıştır. Yapılan toksisite testi sonucunda nane (*M. piperita*) yağının 5, 10, 20, 40 mg/l konsantrasyonlarında, balıklarda herhangi davranışsal ve anestezi etkisi gözlemlenmemiş olsa da, 60, 80, 100 mg/l konsantrasyonlarında 15 dakika sonra düzensiz yüzme, denge kaybı ve anestezi davranışlar gözlemlenmiştir ve 100 mg/l üzerindeki nane (*M. piperita*) konsantrasyonlarında 40 dakika içinde ölüm gerçekleşmiştir. Nane (*M. piperita*) uçucu yağının 4 saatlik letal konsantrasyonu (LC<sub>50-4h</sub>) 79.54 mg/l olarak belirtilmiştir. Bu sonuçlara göre *in vivo* deneylerde 150 adet *P. pillulare* ile enfekte balık, üç farklı nane (*M. piperita*) konsantrasyonunda (10, 20, 40 mg/l) banyolara 3 gün 24 saat aralıklarla 10 dakika boyunca maruz bırakılmıştır. *In vivo* deneyler sonucunda 20 ve 40 mg/l nane (*M. piperita*) uçucu yağının *C. macropomum* balıklarında *P. pillulare* parazit yükünü azaltmada etkili olduğu gözlemlenmiştir. 20 mg/l konsantrasyonda nane (*M. piperita*) yağı uygulaması 40 mg/l'ye göre daha ekonomik olduğundan ve balık fizyolojisine daha az etki ettiğinden, bu konsantrasyonun kullanılması daha uygun bulunmuştur.

de Souza Costa vd. (2020), *Neoechinorhynchus buttnerae* ile enfekte olmuş *Colossoma macropomum* balıklarında nane (*M. piperita*), *Lippia alba* ve zencefil (*Zingiber officinale*) uçucu yağlarının antiparazitik etkinliğini *in vitro* ve *in vivo* deneyler ile incelemişlerdir. *In vitro* deneylerde %3'lük Tween 80'de çözdürülen 360, 540, 720, 1440 ve 2880 mg/l konsantrasyonlarında üç uçucu yağ (*M. piperita*, *L. alba* ve *Z. officinale*) maruz bırakılan parazitler her 15 dakikada bir gözlem yapılarak 24 saat takip edilmiştir. Kontrol grubu olarak iki grup (RPMI ve RPMI+tween) kullanılmıştır. *In vitro* deneylerde 9 adet balığa %10'luk benzokain ile anestezi uygulanmış, kardinal delme yoluyla ötenazi yapılmış ve balığın bağırsağı parazitlere ulaşmak için kesilmiştir. Her bir uçucu yağ konsantrasyonu ve kontrol grupları için 10 adet parazit üzerinde çalışılmıştır. *In vitro* araştırma sonucunda kontrol gruplarındaki *N. buttnerae*'larda ölüm görülmemiştir. Her üç uçucu yağın 360 mg/l konsantrasyonlarında parazit ölümü görülmemiştir. Nane (*M. piperita*) uçucu yağının 540 mg/l konsantrasyonunda 2 saat içinde parazitlerin %100'nün ölümü gözlemlenmiştir. Nane (*M. piperita*)'nın en iyi antiparazitik aktiviteyi 2880 mg/l konsantrasyonunda gösterdiği belirtilmiştir. *L. alba* ve *Z. officinale* uçucu yağları sadece 1440 ve 2880 mg/l konsantrasyonlarında letal aktivite göstermiştir. *In vivo* deneylerde ise 210 adet *C. macropomum* balığı 30 gün

boyunca günde iki defa *M. piperita*, *L. alba* ve *Z. officinale* uçucu yağları ile takviyeli yemlerle beslenerek antiparazitik etkiler araştırılmıştır. Bu üç bitkisel uçucu yağdan antiparazitik etkisi en yüksek olanın nane (*M. piperita*) olduğu tespit edilmiştir.

dos Anjos ve Isaac (2020), tilapya (*Oreochromis niloticus*) balıklarında nane (*M. piperita*) uçucu yağının güvenli konsantrasyon değerini ve bu balıkların solungaçlarını enfekte etmiş monogenean parazitlere karşı nane (*M. piperita*) uçucu yağının etkinliğini araştırmışlardır. Bu çalışmada öncelikle nane (*M. piperita*) uçucu yağının yedi konsantrasyonu (20, 25, 30, 35, 40, 45 ve 50 mg/l) ve iki kontrol grubu (su ve etil alkol + su) ile 270 adet yavru *O. niloticus*'a toksisite testi yapılmış ve 48 saatlik LC50 değeri tespit edilmiştir. Toksikite testlerinde ilk 24 saat 30 dk'da bir, sonraki 24 saat 60 dk'da bir balık hareketleri izlenmiştir. Toksikite testleri sonucunda, *in vivo* deneyler için kullanılacak nane (*M. piperita*) uçucu yağı konsantrasyonu belirlenmiştir. Belirlenen 35 mg/l nane (*M. piperita*) yağı konsantrasyonu ile 27 adet *O. niloticus* balığına 60 dk'lık banyolar yaptırılarak *in vivo* testler yapılmış, bu 60 dk'lık banyolarda her 15 dk'da bir balık hareketleri izlenmiştir. *In vivo* deneylerde 35 mg/l konsantrasyonda bir saatlik banyodan sonra, nane (*M. piperita*) uçucu yağının monogeneanlara karşı herhangi etkisi gözlenmemiştir.

Zenner vd. (2003)'nin çalışmasında, limon (*C. limon*), *Cinnamomum aromaticum* ve *Allium sativum* uçucu yağlarının kümes hayvanlarının bağırsaklarında bulunan *Tetratrichomonas gallinarum* ve *Histomonas meleagridis* parazitleri üzerine öldürücü etkileri *in vitro* deneylerle araştırılmıştır. *In vitro* deneylerde bu uçucu yağlar 0.001 µl/ml ile 2 µl/ml arasında konsantrasyonlara seyreltilerek uygulanmış ve her üçünün de anti-*T.gallinarum* ve anti-*H.meleagridis* etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Baba vd. (2016), *Oreochromis mossambicus* balıklarında limon (*C. limon*) kabuğu uçucu yağının balık yemi takviyesi olarak kullanılmasının büyüme performansına, spesifik olmayan bağışıklık sistemine ve *Edwardsiella tarda*'ya karşı hastalık direncine etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada balık yemine %0, %0.5, %0.75, %1 oranında limon (*C. limon*) uçucu yağı ilavesi yapılarak, balıklar 60 gün boyunca beslenmiştir ve daha sonra balıklar *E. tarda* ile deneysel olarak enfekte edilip kontrol grubunda ve

limon (*C. limon*) yağı verilen grupta ölümler incelenmiştir. Limon (*C. limon*) uçucu yağı verilen grupların kontrol grubuna göre daha yüksek hayatta kalma oranı sergilediği belirtilmiştir. Çalışmada limon (*C. limon*) uçucu yağı takviyesinin *O. mossambicus* balıklarında büyüme performansını ve spesifik olmayan bağışıklık sistemi parametrelerini iyileştirdiği, *E. tarda* enfeksiyonuna bağlı ölüm oranını da düşürdüğü belirtilmiştir.

Ngugi vd. (2017)'nin çalışmasında, *Labeo victorianus* balıklarında limon (*C. limon*) uçucu yağının balıklarda büyümeye, biyokimyasal ve immünolojik parametrelere etkisi ve *Aeromonas hydrophila* bakterisine karşı etkililiği incelenmiştir. Araştırmada balıklar %1, %2, %3, %5, %8, limon (*C. limon*) destekli yemlerle beslenerek ve kontrol grubuna ise limon (*C. limon*) ilavesi yapılmamış yemler verilerek deney gerçekleştirilmiştir. Deneyler sonucunda büyüme performansı limon (*C. limon*) ilavesiyle artmıştır ve %5 ilaveli yemde maksimuma ulaştığı belirtilmiştir. Ayrıca limon (*C. limon*) ilavesiyle balıklarda plazma kortizol ve glikoz konsantrasyonları azalmıştır. Bu azalma stres yanıt göstergesi olarak ifade edilir ve limon (*C. limon*) uçucu yağının birincil stresi azaltan bileşikler içerdiği belirtilmiştir. *L. victorianus* balıkları 28 günlük yemlemeden sonra *A. hydrophila* ile enfekte edilmiştir ve limon (*C. limon*) uçucu yağı ile desteklenmiş yem verilen gruplarla kontrol grupları arasındaki hayatta kalma oranları karşılaştırmalı incelenmiştir. Limon (*C. limon*) ile yem destekli grupların kontrol grubuna göre hayatta kalma oranının daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur.

Steverding vd. (2005) tarafından, *Gasterosteus aculeatus* balıklarında *Gyrodactylus* spp. enfeksiyonuna karşı çay ağacı uçucu yağının (*M. alternifolia*) etkisi balıklar banyo işleminden geçirilerek *in vivo* deneyler ile araştırılmıştır. Çay ağacı (*M. alternifolia*) yağını çözmek için Tween 80 kullanılmıştır. Çalışmada çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının 1, 3, 10, 30 ppm konsantrasyonları ve iki kontrol grubu (sadece su ve su+%0.01 Tween 80 ilavesi) incelenmiştir. Deneyler sonucunda balıkların yüzgeç, deri ve solungaçlarına bakıldığında kontrol grubu ve 1 ppm'lik çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı grubunda fark önemli bulunmamış ancak 3, 10 ve 30 ppm gruplarında parazit sayısında azalma olmuştur. Kontrol grupları arasındaki fark da önemli olarak belirtilmiştir. Sadece su bulunan kontrol grubu ile 30 ppm'lik çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı grubu arasında

parazit sayısında %90'lık azalma gözlemlenmiştir. Çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağına maruz bırakılmış balıklarda herhangi bir olumsuz etki belirtilmemiştir.

Gómez-Rincón vd. (2014), çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağının insanda anisakiasis hastalığına sebep olan *Anisakis simplex* üçüncü evre larvalarına (L3) karşı aktivitesini *in vitro* olarak test etmişlerdir. Araştırmada *A. simplex* L3 parazitleri *Micromesistius poutassou* balıklarından izole edilmiştir. *In vitro* deneylerde çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağının 10, 7, 5, 4, 3, 2, 1, 0.5 µl/ml konsantrasyonlarının 24 saat ve 48 saatte parazitlere etkisi incelenmiş ve hareketsiz parazitler ölü kabul edilmiştir. Araştırma sonuçlarında çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağının doza bağlı önemli bir öldürücü etki gösterdiği görülmüştür. Çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının 5 µl/ml ve üzerindeki konsantrasyonlarda 24 saatlik uygulamalarından sonra larvaların hayatta kalma oranları azalmıştır. En etkili konsantrasyonlar 24 saatte %100 ölüm oranı sağlayan 10 µl/ml, 24 saatte %93 ve 48 saatte %100 ölüm oranı sağlayan 7 µl/ml konsantrasyonları olarak belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlar çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağının insanda oluşan anisakiasis hastalığı için de tedavi edici bir araç olabileceğini düşündürmüştür.

Valladão vd. (2016), *M. alternifolia*, *Lavandula angustifolia* ve *M. piperita* uçucu yağlarının *Ichthyophthirius multifiliis* protozoanına karşı *in vitro* etkisini incelemişler ve *Piaractus mesopotamicus* balıklarında *I. multifiliis* etkeninin sebep olduğu beyaz benek hastalığına karşı çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağının tedavi potansiyelini *in vivo* deneyler ile araştırmışlardır. *In vitro* deneylerde *M. alternifolia*, *L. angustifolia* ve *M. piperita* uçucu yağlarının sırasıyla 57, 114, 227 ve 455 µl/l konsantrasyonlarının ve iki kontrol grubunun (sadece su ve DMSO ilaveli su) parazitler üzerinde etkisi 4 saat boyunca her saat başı gözlemlenmiştir. *In vitro* deneylerde üç uçucu yağın da kontrol gruplarından istatistiksel olarak farklı olarak *I. multifiliis*'e karşı antiparazitik etkisi görülmüştür. Üç uçucu yağ 455 µl/l konsantrasyonunda uygulandığında birinci saat sonunda %100 etkililik göstermiştir. Araştırmacılar *in vivo* deneylerde az sayıda balık kullanmak istedikleri için *I. multifiliis* ile enfekte *P. mesopotamicus* balıkları sadece çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağı ile banyoya tabi tutmuş ve uygulama 50 µl/l konsantrasyonunda 5 gün boyunca günde 2 saat şeklinde olmuştur. Deneyler sonucunda kontrol gruplarında bulunan balıkların tümünde parazit etkinliği gözlemlenmiş ve

%100'e yakın balık ölümü gerçekleşmiştir, fakat çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağı uygulanan grupta %53.33 oranında balık hayatta kalmıştır. Bu balıklardan alınan örnekler üzerinde yapılan parazitolojik analiz deri ve yüzgeçlerde yaklaşık %100 antiparazitik etkililik ortaya koymuştur. *In vivo* deneyler ile de çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağının *I. multifiliis*'e karşı antiparazitik etkililiği gözlenmiştir.

Baldissera vd. (2017)'nin araştırmasında, *Ichthyophthirius multifiliis* ile enfekte olmuş 36 adet gümüş yayın balığında (*Rhamdia quelen*) çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağı alternatif bir tedavi arayışının parçası olarak *I. multifiliis*'in neden olduğu hepatik oksidatif stresi önleyebilmek veya en aza indirebilmek için kullanılmıştır. Balıklar 4 gün, her gün 1 saat boyunca 50 µl/l konsantrasyonunda çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı ile banyo işlemine tabi tutulmuştur. Çözeltilerde çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı %95'lik etanolde seyreltilmiştir. Kontrol grubu ile çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağı grupları kıyaslandığında *I. multifiliis* trofonlarında %94.87 azalma gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağının *I. multifiliis* ile enfekte olmuş gümüş yayın balıklarında *I. multifiliis*'i öldürmekle kalmayıp hepatik antioksidan sistemi iyileştirerek hepatik oksidatif stresi de minimize ettiği belirtilmiştir ve alternatif bir tedavi seçeneği olduğu düşünülmüştür.

da Costa vd. (2017), nane (*M. piperita*), çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağlarının ve *Copaifera duckei* oleoresinin, *Piaractus mesopotamicus* balıklarının solungaçlarında bulunan monogenean parazitlere (*Anacanthorus penilabiatus* ve *Mymarothecium viatorum*) antiparazitik etkisini önce *in vitro* deneyler ile incelemiştir. *In vitro* testlerde 100, 200, 400, 800 ve 1600 mg/l konsantrasyonlarında yağlar ve kontrol grupları (sadece su ve DMSO+su) parazitlere uygulanmış ve 4 saat boyunca her 15 dakikada bir parazitler gözlemlenmiştir. *In vitro* deneylerde doza ve süreye bağlı olarak her üç bitkisel maddenin de etkili olduğu görülmüştür ve içlerinde en etkilisinin *C. duckei* oleoresini olduğu gözlenmiştir. *In vivo* deneylerde sadece *in vitro* deneylerde en etkili olan *C. duckei* oleoresini kullanılmıştır. *In vivo* deneylerde 96 adet balığa tedavi için 10 ve 50 mg/l konsantrasyonlarında *C. duckei* oleoresini 10 dakikalık kısa banyolar şeklinde uygulanmıştır. *C. duckei* oleoresinin 50 mg/l'lik uygulamaları sonucunda %45 parazit azalması tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda nane (*M. piperita*), çay ağacı

(*M. alternifolia*) uçucu yağlarının ve *C. duckei* oleoresinin monogenean parazitlere karşı antiparazitik etkisi tespit edilmiştir.

Valladao vd. (2017), nane (*M. piperita*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağlarını *Oreochromis niloticus* balıklarına 100 ve 250 mg/kg miktarlarında yem ilavesi olarak uygulamış, 7, 14, 30 ve 60. günlerde balıklardan örnekler alarak hematolojik, biyokimyasal ve immünolojik parametrelere bakmış ve bağırsak sağlığını incelemişlerdir. Araştırma sonucunda hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde kontrol grubundan önemli bir değişiklik gözlenmemiştir, ancak 250 mg/kg konsantrasyonunda nane (*M. piperita*) uçucu yağının ve 100 ya da 250 mg/kg konsantrasyonunda çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağının bağışıklık parametreleri üzerine olumlu etkileri tespit edilmiştir. Yine 250 mg/kg konsantrasyonunda çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağının bağırsak sağlığına olumlu etkileri tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda her iki uçucu yağın da yem ilavesi olarak kullanılabilme potansiyeli belirtilmiştir.

Zorin vd. (2019), lepistes (*Poecilia reticulata*) balıklarının enfekte eden monogenean parazitlerden *Gyrodactylus turnbulii*'ne karşı bitki bazlı ticari bir böcek öldürücü olan Timor C'nin etkinliğini incelemişlerdir. Timor C'nin içeriğinde çay ağacı yağı (*M. alternifolia*) bulunduğu belirtilmiştir. *In vitro* deneylerde *G. Turnbulii*'ye 20, 50 ve 100 ppm konsantrasyonlarında Timor C uygulanmış ve parazitler 3 saat boyunca her 20 dakikada bir gözlemlenerek ölüm zamanları kaydedilmiştir. *In vitro* deneylerde Timor C uygulanan tüm konsantrasyonlarda *G. turnbulii*'nin 30 dk içerisinde hızlı kasılma hareketleri yaptıkları gözlenmiştir ve 100 ppm Timor C konsantrasyonunda yaklaşık 40 dakika içinde ölüm gerçekleşirken, 20 ppm konsantrasyonunda bu süre 210 dk olmuştur. Uygulanan tüm konsantrasyonlar kontrolle kıyaslandığında parazit üzerine etkili olmuştur. *In vivo* deneylerde ise 10 ve 20 ppm konsantrasyonlarında Timor C, lepistes balıklarına banyo şeklinde uygulanmış ve kontrolle kıyaslandığında *G. turnbulii* üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir.

Lam vd. (2020), çay ağacı uçucu yağının (*M. alternifolia*) çeşitli omurgalılarda parazitik protozoan (*Plasmodium falciparum*, *Leishmania spp.*, *Trypanosoma spp.*,

*Acanthamoeba castellanii*, *Trichomonas vaginalis*, *Eimeria* ve *Ichthyophthirius multifiliis*), nematod (*Haemonchus contortus* ve *Anisakis simplex*), cestod (*Echinococcus ortleppi*) ve monogenean (*Gyrodactylus spp.* ve *Dactylogyrus minutus*) enfeksiyonlarına etkileri üzerine çalışmaları derlemiştir. Bu araştırmalarda çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının veya bileşenlerinin protozoan ve helmint enfeksiyonlarına karşı etkili olduğu belirtilmiştir.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Balık materyali

Araştırmada balık materyali olarak Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü akuaponik ünitesinde bulunan 50-100 gr ağırlığındaki sazan (*C. carpio*) balıkları kullanılmıştır. Çalışma Mart 2020-Eylül 2020 tarihleri arasında yapılmış ve balıklar Ankara Üniversitesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü Balık Sağlığı Laboratuvarında incelenmiştir. Araştırma süresince toplam 40 adet balık kullanılmıştır. Balıklar, kuru hava motoru ile havalandırılan 2 adet fiber tanka (80x60x50 cm) 20'şer adet olarak stoklanmıştır. Tanklardaki su, 20-22 °C sıcaklıkta, çözülmüş oksijen 5.50-5.97 mg/L ve pH 6.97-7 olarak sağlanmıştır. Balıklar %45 ham protein içeren ticari alabalık yemi ile %2 toplam vücut ağırlığı oranında beslenmiştir.

Araştırma, Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'nun 2020-8-67 sayılı iznine ve hayvan deneyleleri için belirlenen etik değereilere uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Araştırma kapsamında elde edilen veriler, balıklar öldürülmeden elde edilmiştir.

##### 3.1.2 Parazit, *Dactylogyrus* sp.

Parazitlerin toplanması: Parazitler, ağır düzeyde enfekte sazan balıklarının solungaçlarından toplanmıştır. Karanfil yağının (25 mg/l) suya ilavesi ile bayıltılmış sazan balıklarının solungaç mukusundan hafif kazıntı yoluyla ektoparazit örnekleri alınmıştır. Solungaç mukusundan alınan örnek lam üzerine alınmış, distile su ile sulandırılmış ve binoküler mikroskopta incelenmiştir.

Parazit teşhisi: Araştırmada akuaponik sistemde bulunan balıkların (karanfil yağı (25 mg/l) suya katılarak bayıltılarak) solungaç mukusundan alınan örneklerin parazitler

yönden incelemelerinde Lom ve Dykova (1992) tarafından bildirilen esaslar uygulanmıştır ve bu örneklerde monogenean cinsi ektoparazitlerden *Dactylogyrus* sp. dört adet göz lekesi, bir çift kanca gözlemlenerek teşhis edilmiştir (Malmberg, 1970, Bruno vd. 2006).

### **3.1.3 Bitkisel uçucu yağlar**

Çalışmamızda bitkisel uçucu yağlardan, nane (*M. piperita*), limon (*C. limon*) ve çay ağacı yağının (*M. alternifolia*) antiparazitik etkisi araştırılmıştır. Yağlar Ankara'da bulunan baharatçılardan temin edilmiştir ve marka tarafından %100 saflıkta olduğu belirtilmiştir. Bitkisel uçucu yağlar suda çözünmediği için yağ çözücü olarak DMSO (dimetil sülfoksit) kullanılmıştır.

## **3.2 Yöntem**

### **3.2.1 *In vitro* bitkisel uçucu yağların *Dactylogyrus* sp. üzerindeki antiparazitik etkisinin belirlenmesi**

Bitkisel uçucu yağların parazit üzerine öldürücü etkisi LC50'nin tespiti üzerinden çalışılmıştır. Solungaçlardan alınan parazitler 10, 5, 2.5, 1 ve 0.5 µl/ml konsantrasyonlarında nane (*M. piperita*), limon (*C. limon*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağının her birine 1 ila 15 dakika arasında maruz bırakılıp, parazitler ölüm anına kadar sürekli gözlenmiştir. *In vitro* deneylerde her bitkisel uçucu yağ konantrasyonu 10 parazit üzerinde denenmiştir. Parazitlerin hareketliliği ve küçülmesi mikroskop altında sürekli incelenmiş ve ölüm zamanları kaydedilmiştir. İğne ile dokunmaya tepki vermeyen hareketsiz parazitler ölü olarak kabul edilmiştir. Çalışmada iki kontrol grubu kullanılmıştır. Kontrol gruplarında parazitler hem yağların çözdürücüsü olan DMSO'ya ve hem de sadece suya maruz bırakılmışlardır.

### **Kontrol grubunu belirleme**

Araştırmamızda kullanılacak yağları çözdürmek için kontrol grubu olarak DMSO ve su kullanılmıştır. Ancak DMSO'nun da parazit üzerinde öldürücü etkisi olabildiği için

seyreltme oranları denenmiş ve 1:50 oranında DMSO ve su konsantrasyonunun parazit üzerinde etkisinin olmadığı saptanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. *In vitro* deneylerde değişik konsantrasyonlarda ve sürelerde DMSO uygulama sonrası *Dactylogyrus* sp.'nin kümülatif mortalite değerleri

Maruz kalma süresi (dakika)	Kümülatif Mortalite (%)				
	1/10	1/20	1/30	1/40	1/50
1	60	0	0	0	0
2	100	70	0	0	0
3	100	90	50	0	0
4	100	100	70	0	0
5	100	100	100	0	0
6	100	100	100	0	0
7	100	100	100	0	0
8	100	100	100	0	0
9	100	100	100	0	0
10	100	100	100	20	0
15	100	100	100	30	0
20	100	100	100	50	0

### 3.2.2 *In vivo* bitkisel uçucu yağların antiparazitik etkisinin balıklar üzerinde test edilmesi

*In vivo* testlerde, 40 adet sazan balığı kullanılmış, her bitkisel yağda 10'ar adet balık, tek tek, LC50 konsantrasyonlarında nane (LC50=2.53 µl/ml 5 dk), limon (LC50=0.73 µl/ml 5 dk) ve çay ağacı uçucu yağlarına (LC50=0.24 µl/ml 2 dk) ilgili süreler boyunca maruz bırakılmıştır. Kontrol grupları DMSO+su ve su kullanılmıştır. Testlerde bitkisel uçucu yağlar balıklara tek banyo şeklinde uygulanmıştır. Test sonucunda solungaç mukusundan alınan örnekler (0.01 g) cam lamaların üzerine konmuş, mukustaki canlı ve ölü parazit sayıları ışık mikroskopu altında (Nikon 120 model) 25 Å~10 büyütme ile tespit edilmiştir.

Antiparazitik etkililiğin belirlenmesinde Wang vd. (2008)'in geliştirdiği formül kullanılmıştır.

$$\text{Antiparazitik Etkililik} = (A-B)/A \times 100$$

A: Solungaç mukusundaki kontrol grubundaki ortalama parazit sayısı

B: Solungaç mukusundaki uygulamadan sonraki ortalama parazit sayısı

### 3.2.3 İstatistiki değerlendirme

Bitkisel uçucu yağların parazitler üzerindeki lethal konsantrasyonu LC50 değeri ile ifade edilmiştir. LC50 değerlerinin NCSS 2020 istatistik programı ile %95 güven seviyesinde hesaplanmasında Finney (1971)'in gösterdiği esaslar dikkate alınarak probit analizi kullanılmıştır. *In vitro* deneylerde parazitlerin yağlara maruz kaldıktan sonra ortalama ölüm süresiyle, yağın konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi belirlemek için Pearson korelasyon testi kullanılmıştır. *In vivo* deney sonuçları için istatistiksel analiz tek yönlü ANOVA kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm istatistiksel testlerde, farklılıklar  $p < 0.05$  olduğunda önemli olarak kabul edilmiştir.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1 Bitkisel Uçucu Yağların *In Vitro* Deneylede *Dactylogyrus* sp. Üzerindeki Antiparazitik Etkileri

#### 4.1.1 Nane yağının (*M. piperita*) *Dactylogyrus* sp. üzerinde *in vitro* deney bulguları

Çalışmamızda bitkisel uçucu yağlardan nane (*M. piperita*) yağının *in vitro* antiparazitik etkileri, sazan balıklarının solungaçlarında bulunan *Dactylogyrus* sp.'e karşı, 10, 5, 2.5 ve 1 µl/ml konsantrasyonlarında, 1 ile 15 dk arasında değerlendirilmiştir. Bu deneylerde kümülatif mortalitenin 10 µl/ml'de 2 dk'da, 5 µl/ml'de 7 dk'da, 2.5 µl/ml'de 8 dk'da, 1 µl/ml'de 15 dk'da %100'e ulaştığı görülmüştür (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 *In vitro* deneylerde değişik konsantrasyonlarda nane (*M. piperita*) yağı uygulama sonrası *Dactylogyrus* sp.'nin %100 kümülatif mortaliteye ulaşma süreleri

Parazit türü	Bitkisel uçucu yağ	Konsantrasyon (µl/ml)	%100 Kümülatif Mortaliteye Ulaşma Süresi (dakika)
<i>Dactylogyrus</i> sp.	Nane ( <i>M. piperita</i> ) yağı	10	2
		5	7
		2.5	8
		1	15

LC50 değerleri hesaplanmış ve uygulama süresine bağlı olduğu tespit edilen bu değerler,  $6.2984 \pm 0.8298$  µl/ml ile  $0.042 \pm 0.351$  µl/ml arasında hesaplanmıştır (Çizelge 4.2). *In vitro* deneylerde *Dactylogyrus* sp.'nin nane (*M. piperita*) yağına maruz kaldıktan sonraki ortalama yaşam süresi  $0.36 \pm 0.28$  dk ile  $11.53 \pm 2.15$  dk arasında değişmiştir (N=10 her bir test konsantrasyonu için). Pearson korelasyon testi ile, artan yağ konsantrasyonlarıyla azalan parazit ortalama yaşam süreleri arasındaki ilişkinin önemli olduğu, antiparazitik etkinin zaman ve doza bağlı olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ).

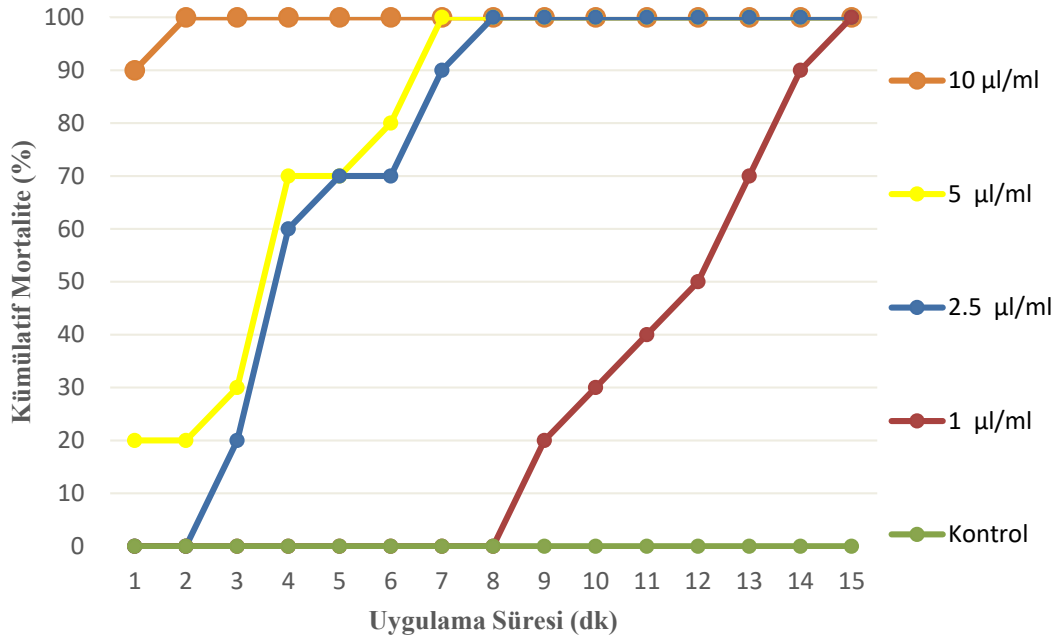
Nane (*M. piperita*) yağının 5 dk'lık LC50 değeri  $2.529 \pm 0.503$   $\mu\text{l/ml}$  olarak hesaplanmış ve bu değer *in vivo* deneylerde kullanılmıştır.



Çizelge 4.2 *In vitro* nane (*M. piperita*) yağı LC50 değerleri (*Dactylogyrus* sp.'e karşı) (N=10 her bir test konsantrasyonu için)

Nane ( <i>M. piperita</i> ) Yağı	1 dk	2 dk	3 dk	4 dk	5 dk	6 dk	7 dk	8 dk	9 dk	10 dk	11 dk	12 dk	13 dk	14 dk
LC50 ( $\mu$ l/ml)	6.2984 $\pm$ 0.829 8	6.0266 $\pm$ 0.743 9	5.0751 $\pm$ 0.813 9	2.7090 $\pm$ 0.561 9	2.529 $\pm$ 0.503	2.365 $\pm$ 0.449	1.774 $\pm$ 0.258	1.581 $\pm$ 0.2082	1.361 $\pm$ 0.178	1.246 $\pm$ 0.186	1.129 $\pm$ 0.194	1 $\pm$ 0.21 9	0.6536 $\pm$ 0.363 1	0.042 $\pm$ 0.351

Araştırmamızda test edilen tüm konsantrasyonlarda (10, 5, 2.5 ve 1 µl/ml) nane (*M. piperita*) yağının 15 dk'nın sonunda *Dactylogyrus* sp.'e karşı *in vitro* antiparazitik etkililiği %100'e ulaşmıştır. En yüksek konsantrasyon olarak seçtiğimiz 10 µl/ml'de 2 dk'nın sonunda, en düşük konsantrasyon olan 1 µl/ml'de 15 dk'nın sonunda %100 etkililik gözlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 *In vitro* nane (*M. piperita*) yağına maruz bırakılmış *Dactylogyrus* sp. kümülatif mortalitesi Kontrol: 1:50 DMSO

#### 4.1.2 Limon yağının (*C. limon*) *Dactylogyrus* sp. üzerinde *in vitro* deney bulguları

Araştırmamızda bitkisel uçucu yağlardan limon (*C. limon*) yağının sazan balıklarının solungaçlarından alınan örneklerde saptanan *Dactylogyrus* sp.'e karşı 10, 5, 2.5 ve 1 µl/ml konsantrasyonlarda etkisi *in vitro* deneylerde 1 ile 10 dk arasında incelenmiştir.

*In vitro* deneylerde kümülatif mortalitenin 10 µl/ml'de 3 dk'da, 5 µl/ml'de 4 dk'da, 2.5 µl/ml'de 6 dk'da, 1 µl/ml'de 10 dk'da %100'e ulaştığı görülmüştür (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 *In vitro* deneylerde değişik konsantrasyonlarda limon (*C. limon*) yağı uygulama sonrası *Dactylogyrus* sp.'nin %100 kümülatif mortaliteye ulaşma süreleri

Parazit türü	Bitkisel uçucu yağ	Konsantrasyon (µl/ml)	%100 Kümülatif Mortaliteye Ulaşma Süresi (dakika)
<i>Dactylogyrus</i> sp.	Limon ( <i>C. limon</i> ) yağı	10	3
		5	4
		2.5	6
		1	10

LC50 değerleri  $7.4241 \pm 1.7061$  µl/ml ile  $0.0429 \pm 0.3512$  µl/ml arasında hesaplanmıştır (Çizelge 4.4).

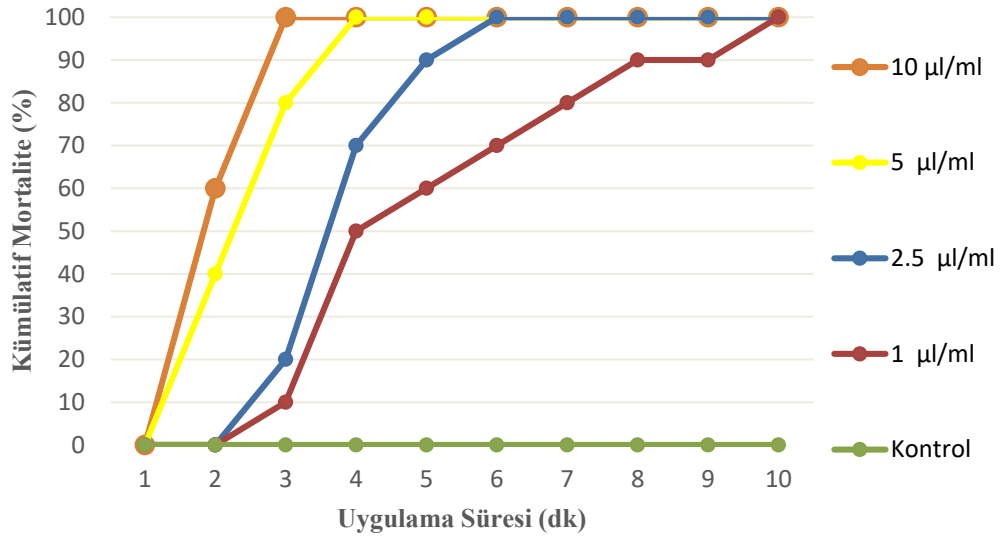
Çizelge 4.4 *In vitro* limon (*C. limon*) yağı LC50 değerleri (*Dactylogyrus* sp.'e karşı) (N=10 her bir test konsantrasyonu için)

Limon ( <i>C. limon</i> ) Yağı	2 dk	3 dk	4 dk	5 dk	6 dk	7 dk	8 dk	9 dk
LC50 (µl/ml)	$7.4241 \pm 1.7061$	$3.2558 \pm 0.5742$	$1.0973 \pm 0.4257$	$0.7349 \pm 0.3922$	$0.6536 \pm 0.3631$	$0.387 \pm 0.503$	$0.0429 \pm 0.3512$	$0.0429 \pm 0.3512$

Limon (*C. limon*) yağının 5 dk'lık LC50 değeri  $0.7349 \pm 0.3922$  µl/ml olarak hesaplanmış ve bu değer *in vivo* deneylerde kullanılmıştır.

*In vitro* deneylerde, *Dactylogyrus* sp., limon (*C. limon*) yağına maruz kaldığında, ortalama yaşam süresi  $1.67 \pm 0.64$  dk ile  $5.41 \pm 3.14$  dk arasında değişmiştir (N=10 her bir test konsantrasyonu için). Pearson korelasyon testi ile, artan yağ konsantrasyonlarıyla azalan parazit ortalama yaşam süreleri arasındaki ilişkinin önemli olduğu, antiparazitik etkinin zaman ve doza bağlı olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ).

Araştırmamızda test edilen tüm konsantrasyonlarda (10, 5, 2.5 ve 1 µl/ml) limon (*C. limon*) yağının 10 dk'nın sonunda *Dactylogyrus* sp.'e karşı antiparazitik etkililiği %100'e ulaşmıştır. En yüksek konsantrasyon olarak seçtiğimiz 10 µl/ml'de 3 dk'nın sonunda, en düşük konsantrasyon olan 1 µl/ml'de 10 dk'nın sonunda %100 etkililik gözlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 *In vitro* limon (*C. limon*) yağına maruz bırakılmış *Dactylogyrus* sp. kümülatif mortalitesi Kontrol: 1:50 DMSO

#### 4.1.3 Çay ağacı yağının (*M. alternifolia*) *Dactylogyrus* sp. üzerinde *in vitro* deney bulguları

Çalışmamızda çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının sazan balıklarının solungaçlarında bulunan *Dactylogyrus* sp.'e karşı antiparazitik etkisi 10, 5, 2.5, 1 ve 0.5 µl/ml konsantrasyonlarında 1 dk ile 3 dk arasında *in vitro* deneyler ile incelenmiştir. Bu deneylerde kümülatif mortalitenin 10, 5 ve 2.5 µl/ml'de 1 dk'da, 1 µl/ml'de 2 dk'da, 0.5 µl/ml'de 3 dk'da %100'e ulaştığı görülmüştür (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 *In vitro* deneylerde değişik konsantrasyonlarda çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı uygulama sonrası *Dactylogyrus* sp.'nin %100 kümülatif mortaliteye ulaşma süreleri

Parazit türü	Bitkisel uçucu yağ	Konsantrasyon (µl/ml)	%100 Kümülatif Mortaliteye Ulaşma Süresi (dakika)
<i>Dactylogyrus</i> sp.	Çay ağacı ( <i>M. alternifolia</i> ) yağı	10	1
		5	1
		2.5	1
		1	2
		0.5	3

LC50 değerleri hesaplanmış ve uygulama süresine bağlı olduğu tespit edilen bu değerler,  $0.7734 \pm 0.1594$  µl/ml ve  $0.298 \pm 0.151$  µl/ml olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.6).

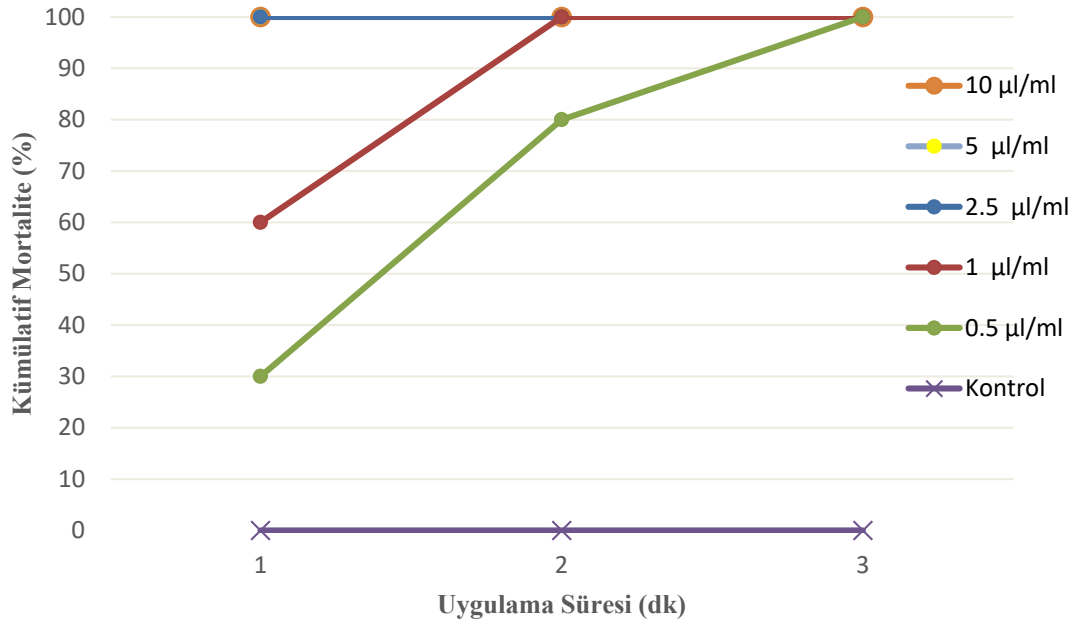
Çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının 2 dk'lık LC50 değeri  $0.298 \pm 0.151$  µl/ml değeri olarak hesaplanmış ve bu değer *in vivo* deneylerde kullanılmıştır.

Çizelge 4.6 *In vitro* çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı LC50 değerleri (*Dactylogyrus* sp.'e karşı) (N=10 her bir test konsantrasyonu için)

Çay Ağacı Yağı	1 dk	2 dk
LC50 (µl/ml)	$0.7734 \pm 0.1594$	$0.298 \pm 0.151$

*In vitro* deneylerde *Dactylogyrus* sp.'nin çay ağacı (*M. alternifolia*) yağına maruz kaldıktan sonraki ortalama yaşam süresi  $0.25 \pm 0.15$  dk ile  $1.40 \pm 0.66$  dk arasında değişmiştir (N=10 her bir test konsantrasyonu için). Pearson korelasyon testi ile, artan yağ konsantrasyonlarıyla azalan parazit ortalama yaşam süreleri arasındaki ilişkinin önemli olmadığı tespit edilmiştir ( $p > 0.05$ ).

Araştırmamızda çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının *Dactylogyrus* sp.'e karşı antiparazitik etkililiği tüm konsantrasyonlarda 3 dk'nın sonunda %100'e ulaşmıştır. En yüksek üç konsantrasyon olan 10, 5 ve 2.5 µl/ml'de 1 dk'nın sonunda %100 etkililik gözlenmiştir (Şekil 4.3).



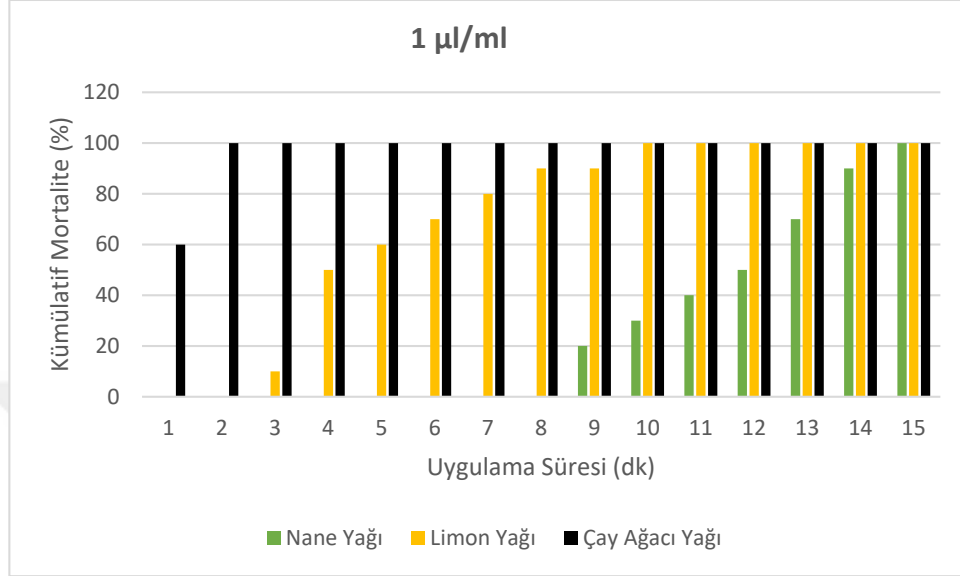
Şekil 4.3 *In vitro* çay ağacı (*M. alternifolia*) yağına maruz bırakılmış *Dactylogyrus* sp. kümülatif mortalitesi Kontrol: 1:50 DMSO

Nane (*M. piperita*), limon (*C. limon*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) yağlarının *Dactylogyrus* sp.'ye karşı antiparazitik etkilerinin kıyaslanabilmesi amacıyla *in vitro* deney sonucu verilerinden hesaplanan LC50 değerleri Çizelge 4.7'de listelenmiştir.

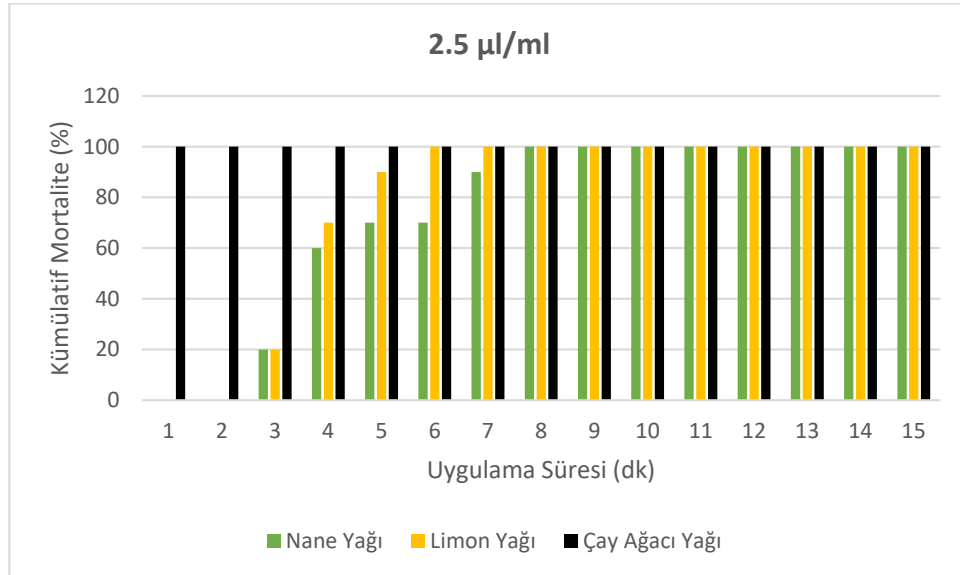
Çizelge 4.7 *In vitro* nane (*M. piperita*) yağı, limon (*C. limon*) yağı, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı LC50 değerleri (*Dactylogyrus* sp.'e karşı) (N=10 her bir test konsantrasyonu için)

LC50	1 dk	2 dk	3 dk	4 dk	5 dk	6 dk	7 dk	8 dk	9 dk	10 dk	11 dk	12 dk	13 dk	14 dk
Nane ( <i>M. piperita</i> ) yağı (µl/ml)	6.2984± 0.8298	6.0266± 0.7439	5.0751± 0.8139	2.7090± 0.5619	2.529±0 .503	2.365±0 .449	1.774±0 .258	1.581±0 .2082	1.361±0 .178	1.246±0 .186	1.129±0 .194	1±0.219	0.6536± 0.3631	0.042±0 .351
Limon ( <i>C. limon</i> ) yağı (µl/ml)	-	7.4241± 1.7061	3.2558± 0.5742	1.0973± 0.4257	0.7349± 0.3922	0.6536± 0.3631	0.387±0 .503	0.0429± 0.3512	0.0429± 0.3512	-	-	-	-	-
Çay ağacı ( <i>M. alternifolia</i> ) yağı (µl/ml)	0.7734± 0.1594	0.298±0 .151	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

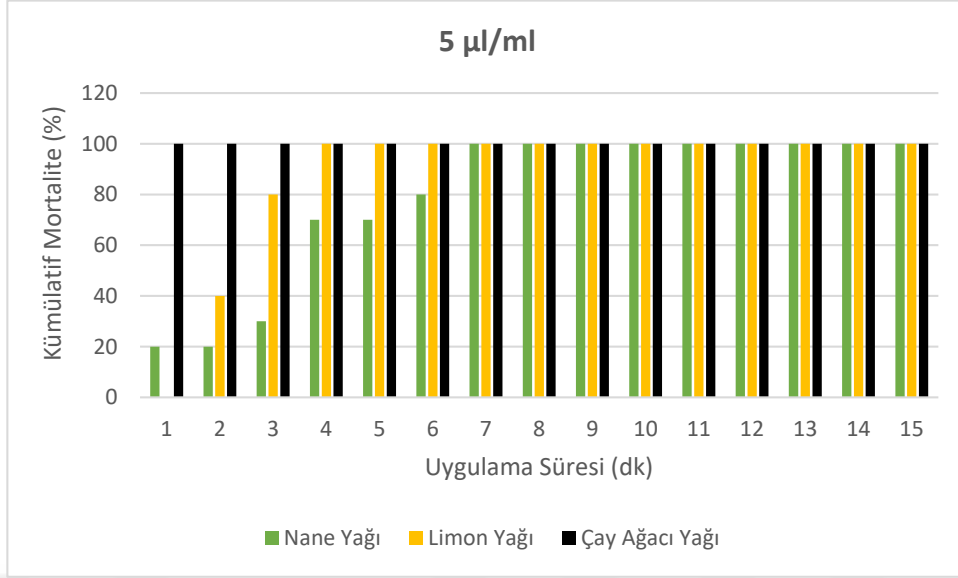
*In vitro* deneylerde nane (*M. piperita*), limon (*C. limon*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) yağlarının *Dactylogyrus* sp. üzerinde, uygulama zamanına bağlı kümülatif mortalite etkileri, Şekil 4.4–4.7’deki histogramlarda bir arada gösterilmiştir.



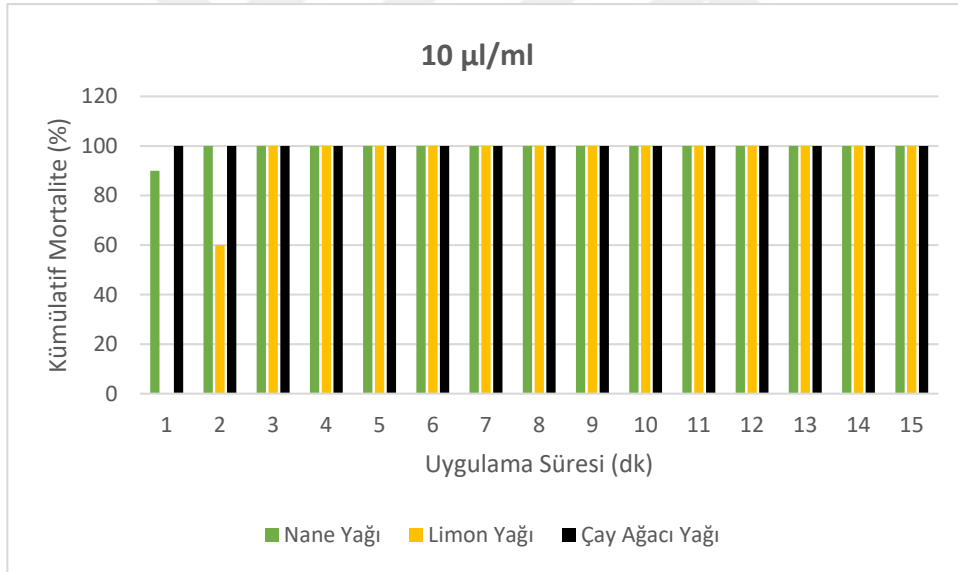
Şekil 4.4 Nane (*M. piperita*), limon (*C. limon*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) yağına (1 µl/ml) maruz bırakılmış *Dactylogyrus* sp.’nin *in vitro* kümülatif mortalitesi



Şekil 4.5 Nane (*M. piperita*), limon (*C. limon*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) yağına (2.5 µl/ml) maruz bırakılmış *Dactylogyrus* sp.’nin *in vitro* kümülatif mortalitesi



Şekil 4.6 Nane (*M. piperita*), limon (*C. limon*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) yağına (5 µl/ml) maruz bırakılmış *Dactylogyrus* sp.'nin *in vitro* kümülatif mortalitesi



Şekil 4.7 Nane (*M. piperita*), limon (*C. limon*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) yağına (10 µl/ml) maruz bırakılmış *Dactylogyrus* sp.'nin *in vitro* kümülatif mortalitesi

#### 4.1.4 Bitkisel uçucu yağlara maruz kalan parazitin (*Dactylogyrus* sp.) davranışı

*In vitro* deneylerde *Dactylogyrus* sp.'nin bitkisel uçucu yağlara maruz bırakıldıktan sonra hızlıca kontraksiyon gösterdiği ve daha sonra öldüğü gözlemlenmiştir (Şekil 4.8a, b, c)



Şekil 4.8a *Dactylogyrus* sp. bitkisel uçucu yağ uygulama öncesi



Şekil 4.8b Bitkisel uçucu yağ uygulama sonrasında *Dactylogyrus* sp. kontraksiyonu



Şekil 4.8c Bitkisel uçucu yağ uygulama sonunda *Dactylogyrus* sp. ölümü

## 4.2 Bitkisel Uçucu Yağların *In Vivo* Deneylede *Dactylogyrus* sp. Üzerindeki Antiparazitik Etkileri

*In vivo* deneylerde nane (*M. piperita*), limon (*C. limon*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağlarının sazan balıklarının solungaçlarında bulunan *Dactylogyrus* sp. yoğunluğunu etkilediği saptanmıştır (Şekil 4.11).

### 4.2.1 Nane yağının (*M. piperita*) sazan (*C. carpio*) balıklarındaki *Dactylogyrus* sp. üzerindeki *in vivo* deney bulguları

Araştırmamızda nane (*M. piperita*) yağı kullanılarak yapılan *in vitro* deneylerde takip eden *in vivo* deneylerde kullanılmak üzere 5 dk'lık LC50 değeri  $2.529 \pm 0.503$  µl/ml olarak saptanmıştır. Yaptığımız *in vivo* deneylerde nane (*M. piperita*) yağı sazan balıklarının solungaçlarında bulunan *Dactylogyrus* sp. türü ektoparazit ortalama yoğunluğunda önemli ( $p < 0.05$ ) azalma yaratmıştır.

*In vivo* deneylerde nane (*M. piperita*) yağının *Dactylogyrus* sp.'e karşı antiparazitik etkililiği %28.23±2.12 olmuştur ve ortalama parazit yoğunluğu 50.6±7.78'ten 36.3±5.52'ye düşmüştür.

#### **4.2.2 Limon yağının (*C. limon*) sazan (*C. carpio*) balıklarındaki *Dactylogyrus* sp. üzerindeki *in vivo* deney bulguları**

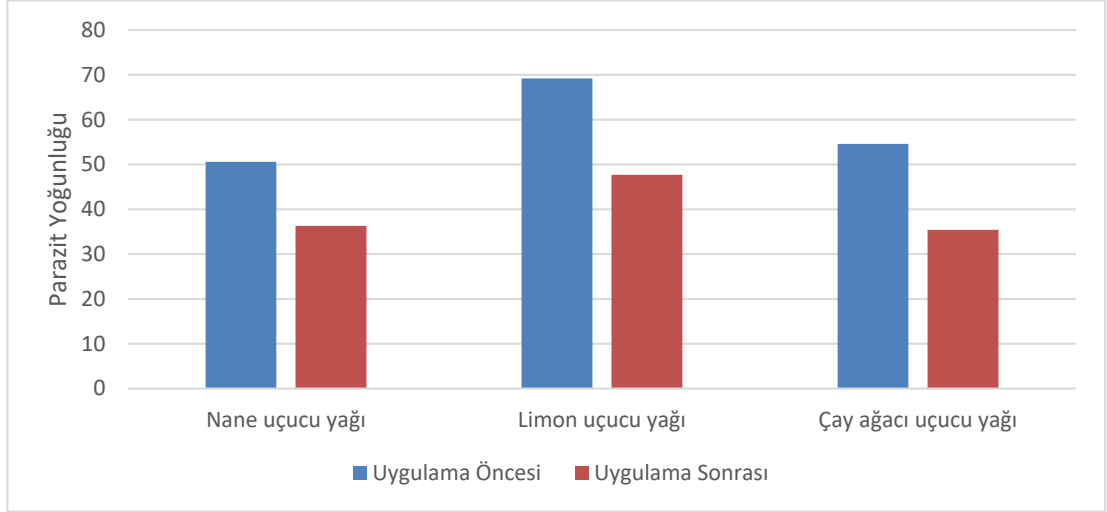
Çalışmamızda *in vitro* deneylerde limon (*C. limon*) yağının 5 dk'lık LC50 değeri ilgili *in vivo* deneylerde kullanılmak üzere 0.7349±0.3922 µl/ml olarak hesaplanmıştır. Sazan balıklarının solungaçlarında bulunan *Dactylogyrus* sp., balıklar limon (*C. limon*) yağına maruz bırakılmadan önce ve sonra solungaç mukusundan örnek alınarak sayılmış ve ortalama parazit yoğunluğunda önemli ( $p < 0.05$ ) azalma gerçekleşmiştir.

Yapılan deneylerde limon (*C. limon*) yağının *Dactylogyrus* sp.'e karşı antiparazitik etkililiği %30.95±2.78 olmuş ve ortalama parazit yoğunluğu 69.2±21.95'ten 47.7±14.71'e düşmüştür.

#### **4.2.3 Çay ağacı yağının (*M. alternifolia*) sazan (*C. carpio*) balıklarındaki *Dactylogyrus* sp. üzerindeki *in vivo* deney bulguları**

Çalışmamızın *in vitro* deneylerinde çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının antiparazitik etkili olduğu gözlemlenmiş ve hesaplanan LC50 değerlerinden 2 dk'lık 0.243±0.239 µl/ml LC50 değeri *in vivo* deneyler için uygun görülmüştür. Yaptığımız *in vivo* deneylerde sazan balıklarından alınan solungaç mukus örneklerindeki ortalama parazit yoğunluğunda balıkların çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı ile banyo işleminden sonra önemli ( $p < 0.05$ ) azalma gerçekleşmiştir.

Yapılan deneylerde çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının solungaçtaki *Dactylogyrus* sp.'e karşı antiparazitik etkililiği %35.31±9.94 olmuştur ve ortalama parazit yoğunluğu 54.6±7.04'ten 35.4±9.58'e düşmüştür.



Şekil 4.9 *In vivo* sazan balığının nane (*M. piperita*) (5 dk), limon (*C. limon*) (5 dk) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) (2 dk) uçucu yağlarına maruz bırakılması öncesi ve sonrasında solungaçlarda ortalama *Dactylogyrus* sp. yoğunlukları

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Balıklarda paraziter hastalıklarla mücadelede kullanılan geleneksel kimyasal terapilerin balık, insan ve çevreye olan zararlı yan etkileri dolayısıyla birçok ülkede kullanımlarının kısıtlanması ya da yasaklanması, alternatif tedavilerin araştırılmasını gerekli kılmıştır. Bu sebeple doğal ürünler ve bitkisel maddelerin potansiyel uygulamalarıyla ilgili gittikçe artan sayıda araştırmalar yapılmaktadır (Tavares-Dias 2018).

Çeşitli bitkilerden elde edilmiş bitkisel özler, uçucu yağlar ve bioaktif metabolitlerin değişik balık parazitlerine karşı alternatif tedavi potansiyelleri çalışılmıştır (Wang vd. 2011, Wu vd. 2011, Lu vd. 2012, Militz vd. 2013, Ramudu ve Dash 2013, Zhang vd. 2013, Valladao vd. 2015, Tavares-Dias 2018, Yavuzcan Yıldız vd. 2019, Yavuzcan Yıldız ve Bekcan 2020).

Balık parazitlerine karşı alternatif tedavi potansiyelleri çalışılmış bitkisel maddeler arasında örneğin sarımsak (*Allium sativum*) ve soğan (*Allium cepa*) ekstraktları bulunmaktadır.

Militz vd. (2013)'nin araştırmasında sarımsak (*A. sativum*) katkı balık yeminin *Lates calcarifer* balıklarında *Neobenedenia* sp. monogenean parazit enfeksiyonuna karşı önleyici etkililiği çalışılmıştır. Sarımsak (*A. sativum*) katkı yem ile 30 gün boyunca beslenen balıklarda kontrol gruba göre parazit enfeksiyonuna karşı %70 daha fazla direnç görülmesi, sarımsak (*A. sativum*) ekstresinin yem katkısı olarak uygulanmasının deniz balıkları yetiştiriciliğinde *Neobenedenia* sp. enfeksiyonunu önlemek için en uygulanabilir metodlardan biri olabileceğini göstermiştir. Her ne kadar çalışmamızda bitkisel uçucu yağlar banyo ile uygulanarak antiparazitik etkileri tespit edilmiş olsa da, oral yolla uygulamaların avantajları düşünülerek takip edecek araştırmalarda balık yemi katkısı olarak da antiparazitik etkileri test edilebilir.

Yıldız vd. (2019)'nın %20, 40, 60, 80 ve 100 konsantrasyonlarında sarımsak (*A. sativum*) ve soğan (*A. cepa*) bitki sularını levrek (*Dicentrarchus labrax*)

solungaçlarından alınan *Lernanthropus kroyeri* copepod parazitlerine karşı kullandıkları *in vitro* deneylerde bunların zaman ve doza bağlı antiparazitik etkileri tespit edilmiştir. *In vitro* deneylerimizde en düşük antiparazitik etkiyi gösteren nane (*M. piperita*) yağı test edilen en düşük konsantrasyon olan 1 µl/ml'de yaklaşık 15 dk'da tüm parazitleri öldürürken, araştırmacıların *in vitro* deneylerinde en düşük konsantrasyonda sarımsak (*A. sativum*) suyunun yaklaşık 30 dk içerisinde %100 oranında, soğan (*A. cepa*) suyunun ise 60 dk içerisinde %50 oranında parazitleri öldürdüğü tespit edilmiştir.

Yıldız ve Bekcan (2020)'nin araştırmasında sarımsak (*Allium sativum*) ve soğan (*Allium cepa*) ekstrelerinin sazan balıklarındaki (*Cyprinus carpio*) *Gyrodactylus elegans* (Monogenea)'ya karşı antiparazitik etkisi *in vitro* ve *in vivo* deneyler ile çalışılmıştır. *G. elegans* üzerinde 250, 125, 100, 50 ve 10 mg/ml konsantrasyonlarında sarımsak (*A. sativum*) ve soğan (*A. cepa*) ekstrelerinin uygulandığı *in vitro* deneylerde, bu ekstrelerin *G. elegans*'a karşı uygulama süresi ve doza bağlı antiparazitik etkileri tespit edilmiştir. *In vitro* deneylerde uygulanan konsantrasyonlarda *G. elegans* kümülatif mortalitesinin her iki bitkisel ekstre uygulamasında yaklaşık 6 dk'da %100'e ulaştığı gözlenmiştir. Araştırmamızda kullandığımız 10, 5, 2.5, 1 ve 0.5 µl/ml konsantrasyonlarında ise %100 kümülatif mortaliteye ulaşma süreleri yaklaşık olarak nane (*M. piperita*) yağında 15 dk, limon (*C. limon*) yağında 10 dk, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağında 3 dk olmuştur. Araştırmacıların, *in vitro* deney sonuçlarına göre sarımsak (*A. sativum*) ekstresi için 8.37 mg/ml ve soğan (*A. cepa*) ekstresi için 4.72 mg/ml olarak hesaplanan EC50 konsantrasyonları takip eden *in vivo* deneylerde 3 dk boyunca tek banyo şeklinde sazan balıklarına uygulanmış ve *G. elegans* ortalama yoğunluğunun sarımsak (*A. sativum*) ekstresi uygulanan balıklarda %14.40, soğan (*A. cepa*) ekstresi uygulanan balıklarda %19.79 düştüğü tespit edilmiştir. Nane (*M. piperita*) (2.53 µl/ml ) ve limon (*C. limon*) (0.73 µl/ml ) yağının 5 dk'lık, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağıninsa 2 dk'lık (0.24 µl/ml ) LC50 konsantrasyonlarının tek banyo şeklinde uygulandığı *in vivo* testlerimizde ise nane (*M. piperita*), limon (*C. limon*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) yağlarının *Dactylogyrus* sp. üzerindeki antiparazitik etkililikleri sırasıyla %28.23, %30.95 ve %35.31 olmuştur. Böylece sazan balıklarındaki monogenean enfeksiyonlara karşı sarımsak (*A. sativum*) ve soğan (*A. cepa*) bitkisel özleri gibi, nane (*M. piperita*), limon

(*C. limon*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) yağlarının da tedavi potansiyeli taşıdığı düşünülmektedir.

Bitkisel uçucu yağların antiparazitik etkisi diğer bitkisel özlere kıyasla yeterince araştırılmamıştır (Tavares-Dias 2018). Bilinen üç binden fazla bitkisel uçucu yağ bulunmasına karşın, bunların %0.4'ünden azı parazitler üzerinde denenmiştir.

Bu çalışmada bitkisel uçucu yağlardan nane (*M. piperita*), limon (*C. limon*) ve çay ağacı yağları (*M. alternifolia*), sazan balıklarının (*C. carpio*) solungaçlarında bulunan *Dactylogyrus* sp.'e karşı antiparazitik etkilerinin bulunması amacıyla *in vitro* ve *in vivo* deneyler ile incelenmiştir.

Nane (*M. piperita*), tadı ve aroması için kullanılmasının yanında tıpta antimikrobik ve antioksidan olarak faydalanılmıştır (Tsai vd. 2013). Nane (*M. piperita*), mentol içeren uçucu yağ ve ilaç ile doğal ürünler sektörlerinde kullanılan birçok bileşen içerir (Kumar vd. 2012). Uçucu yağın ana bileşeni mentoldür (Freire vd. 2011, Tsai vd. 2013). Bitkisel özlerinin bağışıklık uyarıcı etkileri için kullanılmalarına kıyasla, parazitlere özellikle monogeneanlara karşı az kullanılmışlardır (Buffon vd. 2015).

Limon (*C. limon*) uçucu yağının taşıdığı antibakteriyel, antioksidan ve antikanser özellikler içerdiği fenolik bileşiklerden özellikle de limoninden kaynaklanır. Literatürde limon (*C. limon*) uçucu yağının balıklarda antiparazitik etkileri üzerine kısıtlı araştırma bulunmaktadır.

Çay ağacı (*M. alternifolia*), geniş antiseptik, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antiparazitik etkinlik taşıyan Avustralya kökenli bir bitkidir (Thomsen vd. 2011).

Bitkisel uçucu yağların araştırılmasında, *in vitro* analizler, bitkisel uçucu yağların parazit üzerine etkileri hakkında bir ön analiz yapmak için temeldir. Bitkisel uçucu yağların doğru kullanımı için ilk zorunlu adımdır.

Araştırmamızda *in vitro* testlerde, 10, 5, 2.5 ve 1 µl/ml konsantrasyonlarında uygulanan nane (*M. piperita*) ile limon (*C. limon*) uçucu yağları ve 10, 5, 2.5, 1 ve 0.5 µl/ml konsantrasyonlarında uygulanan çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağı *Dactylogyrus* sp.'e karşı değişen düzeylerde antiparazitik etki göstermiştir. *In vitro* deneylerde antiparazitik etkinin artan yağ konsantrasyonu ile ve artan uygulama süresi ile arttığı tespit edilmiştir. Uçucu yağ konsantrasyonu ve parazit ortalama ölüm süresi arasındaki korelasyon nane ve limon (*C. limon*) yağlarında önemli ( $p < 0.05$ ), çay ağacı (*M. alternifolia*) yağında önemsiz olarak ( $p > 0.05$ ) hesaplanmıştır.

*In vitro* deneylerde nane (*M. piperita*) yağı için en yüksek konsantrasyon olan 10 µl/ml'de 2 dk'nın sonunda, en düşük konsantrasyon olan 1 µl/ml'de 15 dk'nın sonunda kümülatif *Dactylogyrus* sp. mortalitesi %100 olarak saptanmıştır. Limon (*C. limon*) yağında 10 µl/ml'de 3 dk'nın sonunda, 1 µl/ml'de 10 dk'nın sonunda %100 kümülatif mortalite gözlenmiştir. Çay ağacı (*M. alternifolia*) yağında ise 10 µl/ml'de 1 dk'nın sonunda, 0.5 µl/ml'de 3 dk'nın sonunda %100 kümülatif mortalite gözlenmiştir. Her üç bitkisel uçucu yağın ortak kullanılan en düşük konsantrasyonu olan 1 µl/ml'de ortalama parazit ölüm süresi nane (*M. piperita*) yağında  $11.53 \pm 2.15$  dk, limon (*C. limon*) yağında  $5.41 \pm 3.14$  dk, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağında  $0.92 \pm 0.48$  dk olmuştur. Her üç bitkisel uçucu yağın ortak kullanılan en yüksek konsantrasyonu olan 10 µl/ml'de ortalama parazit ölüm süresi nane (*M. piperita*) yağında  $0.36 \pm 0.28$  dk, limon (*C. limon*) yağında  $1.67 \pm 0.64$  dk, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağında  $0.25 \pm 0.15$  dk olmuştur. Denenen tüm konsantrasyonlarda nane (*M. piperita*) yağında 15 dk'nın sonunda, limon (*C. limon*) yağında 10 dk'nın sonunda, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağında 3 dk'nın sonunda kümülatif parazit mortalitesi %100'e ulaşmıştır. *In vitro* deney sonucu verilerinden hesaplanan LC50 değerlerinin listelendiği Çizelge 4.7'den görüleceği üzere, aynı uygulama sürelerinde en yüksek LC50 değeri nane (*M. piperita*) yağına, en düşüğü ise çay ağacı (*M. alternifolia*) yağına ait olmuştur. Diğer bir deyişle, çalışılan uçucu yağların *Dactylogyrus* sp. üzerindeki eşit uygulama sürelerinde aynı sayıdaki paraziti öldürmek için gerekli olan yağ konsantrasyonu en çok nane (*M. piperita*) yağına en az da çay ağacı (*M. alternifolia*) yağına aittir. Bu durumda, *in vitro* *Dactylogyrus* sp. üzerindeki öldürücü etkisi en çok olan yağ çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı, sonra limon (*C. limon*) yağı olmuş, en az öldürücü etki ise nane (*M. piperita*)

yağında gözlemlenmiştir. *In vitro* antiparazitik etki çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı > limon (*C. limon*) > nane (*M. piperita*) yağı olarak sıralanabilir.

Araştırmamızda *in vitro* deneylerde üç bitkisel yağın da antiparazitik etkilerini saptadıktan sonra, *in vivo* deneylere geçilmiş, her bir bitkisel yağ için 10'ar adet balığa, nane (*M. piperita*) yağı ve limon (*C. limon*) yağı için 5 dk'lık LC50 değeri, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı için 2 dk'lık LC50 değeri uygulanmıştır. Sazan balıklarından alınan solungaç mukus örneklerindeki ortalama parazit yoğunluğunda balıkların her üç bitkisel yağ ile banyo işleminden sonra önemli ( $p < 0.05$ ) azalma gerçekleşmiştir. *In vivo* deneylerde de, incelediğimiz bitkisel uçucu yağların antiparazitik etkisi gözlenmiş, antiparazitik etkililik nane (*M. piperita*) yağında %28.23±2.12, limon (*C. limon*) yağında %30.95±2.78, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağında %35.31±9.94 olmuştur.

dos Anjos ve Isaac (2020), tilapya (*Oreochromis niloticus*) balıkları üzerinde nane (*M. piperita*) uçucu yağını 20, 25, 30, 35, 40, 45 ve 50 mg/l konsantrasyonlarda kullanarak 48 saat süre ile yaptıkları toksisite testlerinde 35 mg/l üzerindeki konsantrasyonlara tilapya balıklarının tolerans göstermediklerini gözlemlemişlerdir. Çalışmamızın parçası olan *in vivo* deneylerde kullanılan konsantrasyon ve uygulama sürelerinde test ettiğimiz her üç bitkisel uçucu yağda da herhangi balık davranışı değişimi ya da balık ölümü olmamıştır. dos Anjos ve Isaac (2020), *O. niloticus*'u toksisite gözlenmeyen maksimum konsantrasyon olan 35 mg/l'de nane (*M. piperita*) yağı ile 1 saat süre ile banyo işlemine tabi tutarak yaptıkları *in vivo* deneylerde herhangi parazit ölümü olmadığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızın parçası olan *in vivo* deneylerde kullandığımız 2.53 µl/ml konsantrasyonundaki nane (*M. piperita*) yağında 5 dk'lık tek banyo sonucunda ise parazit sayısında %28.23 azalma olmuştur. Burada dos Anjos ve Isaac (2020)'ın toksisite testini 48 saat süre ile yapması ve bunun sonucunda düşük bir maksimum tolere edilebilir (35 mg/l) konsantrasyon bulması bu düşük konsantrasyondaki nane (*M. piperita*) yağının *in vivo* deneylerde etkisiz kalması gözlemine sebebiyet vermiş olabilir. Diğer yandan *in vivo* testlerimizde balık ölümü olmadan parazit ölümleri tespit etmemiz kullandığımız balık cinsi ve üzerindeki monogenean parazit türünün farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Hashimoto vd. (2016) tarafından, 320, 160, 80, 40, 20 ve 10 mg/l konsantrasyonlarında biberiye (*Lippia sidoides*) ve nane (*M. piperita*) uçucu yağlarıyla, Nil tilapyası solungaçlarından alınan *Cichlidogyrus tilapiae*, *C. thurstonae*, *Cichlidogyrus halli*, *Scutogyrus longicornis* monogenean parazitleri üzerinde *in vitro* deneyler yapılmıştır. Araştırmacılar bu deneylerde çalışmamızla uyumlu şekilde nane yağının (*M. piperita*) zaman ve konsantrasyona bağlı antiparazitik etkisini gözlemlemişlerdir. Takip eden *in vivo* deneylere, yaptıkları toksisite testinde balıklar üzerinde toksisite oluşturmayan 40 mg/l konsantrasyonunda nane yağı (*M. piperita*) ile devam etmişlerdir. Nane yağının (*M. piperita*) (40 mg/l konsantrasyonda) 24 saat aralıklarla 10 dk'lık 3 banyo şeklinde uyguladığı *in vivo* deneylerde parazit sayısını %41.63 oranında azalttığını tespit etmişlerdir. Nane yağının (*M. piperita*) 2.53 µl/ml konsantrasyonunda 5 dk'lık tek banyo şeklinde uyguladığımız *in vivo* testlerimizde parazit sayısındaki azalma %28.23'tür. Araştırmacıların *in vivo* deneylerde kullandığı nane yağı (*M. piperita*) konsantrasyonunun çalışmamızdakinden az olmasına karşın daha yüksek parazit ölüm oranına ulaşmalarında, balık ve parazit türlerinin farklı olmasının yanında, balıklar araştırmamızda tek banyo yaptırılırken, onların 24 saat aralıklarla 3 banyo yaptırmasının etken olduğu düşünülmektedir.

Malheiros vd. (2016)'nin *Arapaima gigas* balıklarının solungaçlarında bulunan *Dawestrema cycloancistrum* ve *D. cycloancistrioides* türündeki monogenean parazitlere karşı nane (*M. piperita*) uçucu yağının antiparazitik etkisini araştırdıkları çalışmalarında yağda tespit edilen on bir ayrı kimyasal bileşenden en yoğun olanların mentol (%30.8) ve menton (%18.2) olduğu belirlenmiştir. Bitkisel uçucu yağlar tıbbi bitkilerden elde edilen çok sayıda bileşiğin uçucu karmaşık karışımlarıdır ve genelde yirmiden fazla farklı düşük molekül ağırlıklı bileşenin değişen konsantrasyonlarını içerirler (Tavares-Dias 2018). İçerdikleri birçok biyoaktif moleküllerden düşük konsantrasyonlarda bulunur (%1'den az), birkaçı ise toplam hacminin %70'ine kadarını oluşturur ve esas olarak uçucu yağın biyoaktif etkilerinden sorumludur (Bakkali vd. 2008, Cunha vd. 2017). Malheiros vd. (2016), araştırmamızla uyumlu şekilde *in vitro* deneylerde nane (*M. piperita*)'nın *A. gigas* balıklarının solungaçlarından alınan monogenean parazitlere karşı zamana ve doza bağlı antiparazitik etkilerini gözlemlemiştir. Araştırmacılar, daha yüksek dozlar balıklarda toksisite oluşturduğundan

20 ve 40 mg/ml konsantrasyonlarda nane (*M. piperita*) kullanarak gerçekleştirdikleri *in vivo* deneylerde 20 mg/ml'de 60 dk'lık tek banyoda herhangi etkinlik gözlemezken, 40 mg/ml'de 30 dk'lık tek banyoda nane yağının (*M. piperita*) antiparazitik etkinliği %15.6 olmuştur. Çalışmamızda 2.53 µl/ml konsantrasyonundaki nane yağını (*M. piperita*) 5 dk'lık tek banyo şeklinde uyguladığımız *in vivo* deneylerimizde gözlemlediğimiz antiparazitik etkinlik %28.23 olmuştur. Araştırmacılar, çalışmalarında *A. gigas* balıklarının 25 mg/l üzerindeki konsantrasyonlarda nane yağına (*M. piperita*) düşük tolerans göstermeleri, bu değer altındaki yoğunluklarda ise antiparazitik etki görülmemesinden *A. gigas*'ları *D. cycloancistrum* ve *D. cycloancistrioides*'e karşı nane yağı (*M. piperita*) ile banyo işlemine tabi tutmayı tavsiye etmemişlerdir. *In vivo* deneylerimizde balık ölümü olmadan gözlemlediğimiz antiparazitik etkinin, Malheiros vd. (2016)'nin kullandığı balık ve parazit türlerinin bizimkinden farklı olmasının yanında kullandığımız nane yağı (*M. piperita*) konsantrasyonunun görece daha yüksek ve uygulama süresinin daha kısa olmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir.

Ferreira vd. (2019), önce toksisite deneyleri ile nane (*M. piperita*) uçucu yağının *Collosoma macropomum* balıkları üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Bu deneylerde balıklara zarar vermediği tespit edilen konsantrasyonlara sahip nane (*M. piperita*) yağı çözeltileri (10, 20, 40 mg/l) *Piscinoodinium pillulare* parazitleri ile enfekte olmuş *C. macropomum* balıklarına 3 gün 24 saat aralıklarla 10 dakika boyunca banyo şeklinde *in vivo* deneylerde uygulanmıştır. Çalışmamızla benzer şekilde bu konsantrasyonlarda balıklarda herhangi ölüm olmadan nane (*M. piperita*) yağının antiparazitik etkileri tespit edilmiştir. Bu konsantrasyonlarda, solungaçlarda tespit ettikleri antiparazitik etkililik değerleri 20 mg/l nane (*M. piperita*) yağı için %42.97, 40 mg/l için %54.56 olmuştur. Daha ekonomik olması ve balıklarda daha az fizyolojik etki yaratması sebebiyle 20 mg/l konsantrasyonunda nane (*M. piperita*) yağı uygulaması tavsiye edilmiştir. Araştırmamızda 2.53 µl/ml konsantrasyonundaki nane (*M. piperita*) yağı ve 5 dk'lık tek banyo kullanarak yaptığımız *in vivo* deneylerimizde elde ettiğimiz antiparazitik etkililik %28.23'tür. Çalışmamızda gözlemlediğimiz daha düşük antiparazitik etkililiğin banyo sayısı ve süresinin optimize edilerek artırılabilmesi düşünülmektedir.

de Souza Costa vd. (2020)'nin, endoparazit olan *Neoechinorhynchus buttnerae* ile enfekte olmuş *Colossoma macropomum* balıklarında *M. piperita*, *Lippia alba* ve *Zingiber officinale* uçucu yağlarının antiparazitik etkinliğini inceledikleri araştırmaları kapsamında gerçekleştirdikleri *in vivo* deneyler, çalışmamızdan farklı olarak banyo ile değil balık yemine katkı şeklinde gerçekleştirilmiştir. Araştırma kapsamında nane (*M. piperita*) uçucu yağının *in vitro* deneylerde gösterdiği zaman ve doza bağlı antiparazitik etki çalışma sonuçlarımızı desteklemektedir. de Souza Costa vd. (2020), *in vivo* deneylerde *C. macropomum* balıklarını 30 gün boyunca günde 2 defa nane (*M. piperita*) yağı ile takviyeli (0.54 g/kg ve 2.88 g/kg) yemlerle besleyerek nane (*M. piperita*)'nın *Neoechinorhynchus*'a karşı %70 ila %85 antiparazitik etkililik gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Bu sonuçlar nane (*M. piperita*) uçucu yağının balık yemine eklendiğinde endoparazitlere karşı da etkili olabildiğini göstermektedir.

Nane (*M. piperita*) uçucu yağının gökkuşuğu alabalığındaki (*Oncorhynchus mykiss*) fungi enfeksiyonlarını kontrol etmede de etkili olduğu Mousavi vd. (2012)'nin araştırmasında belirtilmiştir.

Baba vd. (2016)'nin, *Oreochromis mossambicus* balıklarında limon (*Citrus limon*) kabuğu uçucu yağının balık yemi takviyesi olarak kullanılmasının büyüme performansına, spesifik olmayan bağışıklık sistemine ve *Edwardsiella tarda* bakterisine karşı hastalık direncine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, limon (*C. limon*) uçucu yağı takviyesinin *O. mossambicus* balıklarında büyüme performansını ve spesifik olmayan bağışıklık sistemi parametrelerini iyileştirdiği, *E. tarda* enfeksiyonuna bağlı ölüm oranını da düşürdüğü belirtilmiştir.

Zenner vd. (2003)'nin çalışmasında, limon (*C. limon*), *Cinnamomum aromaticum* ve *Allium sativum* uçucu yağlarının kümes hayvanlarının bağırsaklarında bulunan *Tetratrichomonas gallinarum* ve *Histomonas meleagridis* parazitleri üzerine öldürücü etkileri *in vitro* deneylerle araştırılmıştır. Limon (*C. limon*) uçucu yağının *in vitro* deneylerimizde *Dactylogyryus* sp.'e gösterdiği antiparazitik etkileri, Zenner vd. (2003) araştırmalarında kümes hayvanlarında *T. gallinarum* ve *H. Meleagridis*'e karşı gözlemlemişlerdir. *In vitro* deneylerimizde 1 µl/ml konsantrasyonundaki limon (*C.*

*limon*) uçucu yağı *Dactylogyrus* sp.'e karşı 10 dk'da %100 lethal etkiye ulaşırken, aynı konsantrasyonda limon (*C. limon*) yağı Zenner vd. (2003)'nin araştırmalarındaki *in vitro* deneylerde *H. meleagridis*'e karşı %100 lethal etkiye 24 saat'te ulaşmaktadır. Bu sonuçlar limon (*C. limon*) yağının *Dactylogyrus* sp.'e karşı *H. meleagridis*'e karşı olduğundan daha fazla öldürücü etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Ngugi vd. (2017)'nin çalışmasında, *Labeo victorianus* balıklarında limon (*C. limon*) uçucu yağının balıklarda büyümeye, biyokimyasal ve immünolojik parametrelere etkisi ve *Aeromonas hydrophila* bakterisine karşı etkililiği incelenmiştir. Limon (*C. limon*) yağının antibakteriyel etkilerinin araştırıldığı *in vivo* deneylerde bu bitkisel yağ *L. victorianus* balıklarına yem ilavesi olarak verilmiştir. Araştırmacılar çalışmalarında limon (*C. limon*) uçucu yağının *A. hydrophila*'e karşı öldürücü etkisinin yanında balıklarda büyümeye, immünolojik ve stres parametrelerine olumlu etkisini gözlemlemişlerdir.

Son araştırmalar çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağının *Gyrodactylus* spp. (Steverding vd. 2005) platihelminthe ve *Ichthyophthirius multifiliis* (Valladão vd. 2016) protozoanına karşı etkili olduğunu göstermiştir.

Steverding vd. (2005), çalışmamıza benzer şekilde çay ağacı yağının (*M. alternifolia*) balıklarda monogenean parazitlere karşı antiparazitik etkilerini araştırmışlardır. Çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının *Gasterosteus aculeatus* balıklarında *Gyrodactylus* spp.'e karşı antiparazitik etkilerini inceledikleri *in vivo* deneylerde, 2 günlük süre sonunda 30 ppmv'lik çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı'nın parazit sayısını sadece su bulunan kontrol grubuna göre %90 azalttığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar deneylerimizde olduğu gibi herhangi balık ölümü gözlememişlerdir. Kullandığımız balık türlerinin farklı olmasının yanında, *in vivo* deneylerimizde kullandığımız konsantrasyon ( $0.243 \pm 0.239$  µl/ml) ve uygulama süresinin (2 dk) daha az olmasının gözlediğimiz antiparazitik etkililiğin (%35.31) daha az olmasından sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Lam vd. (2020)'nin çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağının çeşitli omurgalılarda parazitik protozoan (*Plasmodium falciparum*, *Leishmania* spp., *Trypanosoma* spp.,

*Acanthamoeba castellanii*, *Trichomonas vaginalis*, *Eimeria* ve *Ichthyophthirius multifiliis*), nematod (*Haemonchus contortus* ve *Anisakis simplex*), cestod (*Echinococcus ortleppi*) ve monogeneanlara (*Gyrodactylus spp.* ve *Dactylogyrus minutus*) karşı öldürücü etkilerini inceleyen araştırmaları derlediği çalışmasında çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının veya bileşenlerinin protozoan ve helmint enfeksiyonlarına karşı etkin olduğunu belirtilmiş ve araştırmamızda gördüğümüz antiparazitik özellik vurgulanmıştır.

Gómez-Rincón vd. (2014)'nin, çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağının insanda anisakiasis hastalığına sebep olan *Anisakis simplex* üçüncü evre larvalarına (L3) karşı antiparazitik aktivitesini *in vitro* deneylerle inceleyen araştırması, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının çalışmamızda sazan balıklarında *Dactylogyrus sp.*'i etkilediği şekilde süre ve konsantrasyona bağlı antiparazitik etkisini göstermiştir. Araştırmamızda *in vitro* deneylerde 2.5 µl/ml konsantrasyonda çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı *Dactylogyrus sp.*'i 1 dk'da %100 oranında öldürmüştür. Gómez-Rincón vd. (2014)'ün çalışmasında ise 10 µl/ml konsantrasyonda çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı *A. simplex* üçüncü evre larvalarını (L3) 24 saatte, 7 µl/ml konsantrasyonda 48 saatte %100 öldürmüştür. Bu sonuçlar çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağının, sazan balıklarındaki *Dactylogyrus sp.*'e karşı olan antiparazitik etkisinin, insanda anisakiasis'e sebep olan *A. simplex* üçüncü evre larvalarına (L3) olan antiparazitik etkisinden daha fazla olduğunu göstermektedir.

da Costa vd. (2017) alışmalarında nane (*M. piperita*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağlarının ve *Copaifera duckei* oleoresinin, *Piaractus mesopotamicus* balıklarının solungaçlarında bulunan monogenean parazitlere (*Anacanthorus penilabiatus* ve *Mymarothecium viatorum*) antiparazitik etkisini önce *in vitro* deneyler ile incelemişler ve araştırma sonuçlarımızla uyumlu şekilde yağların uygulama süresine ve konsantrasyona bağlı antiparazitik etkilerini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da nane (*M. piperita*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağlarının monogenean parazitlere karşı antiparazitik etkilerinin araştırılmasına karşı, üzerinde çalıştığımız parazit farklı olarak *Dactylogyrus sp.* dir. Yaptığımız *in vitro* deneylerde *Dactylogyrus sp.*'e karşı çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı, nane (*M. piperita*) yağından daha etkili olmuştur.

Araştırmacıların yaptığı *in vitro* deneylerde nane (*M. piperita*) yağı, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağına göre *A. penilabiatus* ve *M. viatorum* parazitleri üzerinde daha etkili olmuştur. Yani iki araştırmadan nane (*M. piperita*) yağının *A. penilabiatus* ve *M. viatorum* parazitleri üzerinde, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının da *Dactylogyrus* sp. zerinde daha etkili olduğu sonucuna ulaşılması mümkündür. da Costa vd. (2017)'nin araştırma sonuçlarından yaptıkları *in vitro* deneylerde 100 ve 200 mg/l konsantrasyonlarda 240 dk sonra çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı ve nane (*M. piperita*) yağının henüz parazitleri %100 yok edemediği gözlenmektedir. Araştırmamızda ise 2.5 l/ml konsantrasyonda nane (*M. piperita*) yağının *Dactylogyrus* sp.'i 8 dk'da, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının ise 1 dk'da %100 öldürdüğü tespit edilmiştir. Buradan *A. penilabiatus* ve *M. viatorum*'un *Dactylogyrus* sp.'e göre çay ağacı (*M. alternifolia*) ve nane (*M. piperita*) yağına karşı daha dirençli olduğu anlaşılmaktadır.

Vallado vd. (2016)'nin çalışmasında, *M. alternifolia*, *Lavandula angustifolia* ve *M. piperita* bitkisel uçucu yağlarının *Ichthyophthirius multifiliis* protozoanına karşı öldürücü etkileri önce *in vitro* deneyler ile araştırılmıştır. Her üç uçucu yağın da 57, 114, 227 ve 455 l/l konsantrasyonlarının 4 saat boyunca kullanıldığı bu *in vitro* deney sonuçları çalışmamızla uyumlu şekilde çay ağacı (*M. alternifolia*) ve nane (*M. piperita*)'nin konsantrasyon ve uygulama süresine bağlı öldürücü etkilerini göstermiştir. 57 l/l'de 2 saat'lik uygulama sonucu *M. alternifolia* protozoanların %54'n, *M. piperita* %45.16'sını, 4 saat'in sonunda *M. alternifolia* protozoanların %80'ini, *M. piperita* %68.52'sini, 114 l/l'de 3 saat'lik uygulama sonucu *M. alternifolia* protozoanların %87.14'n, *M. piperita* %72.14'n, 4 saat'in sonunda *M. alternifolia* protozoanların %93.32'sini, *M. piperita* %84.34'n yok etmiştir. En yüksek konsantrasyon olan 455 l/l'de tüm yağlar birinci saatte tüm protozoanları ldrmştir. Bu *in vitro* deney sonuçları deneylerimizle uyumlu şekilde çay ağacı (*M. alternifolia*)'nin nane (*M. piperita*)'ya göre *Dactylogyrus* sp.'e karşı olduğu gibi *I. multifiliis* protozoanına karşı da daha yüksek öldürücü etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Araştırmamızda *in vitro* deneylerde çok kısa sürede 2.5 l/ml konsantrasyonda nane (*M. piperita*) yağının *Dactylogyrus* sp.'i 8 dk'da, çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının ise 1 dk'da %100 öldürdüğü tespit edilmiştir. Buradan *I. multifiliis* protozoanının *Dactylogyrus* sp.'e göre çay ağacı (*M. alternifolia*) yağı ve nane (*M.*

*piperita*) yağına karşı daha dirençli olduğu anlaşılmaktadır. Araştırmacıların *in vitro* deneyleri takip eden *in vivo* deneylerinde *I. multifiliis* ile enfekte *P. mesopotomicus* balıkları 50 µl/l konsantrasyonunda çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağı ile 5 gün boyunca günde 2 saat banyoya tabi tutulmuş ve balıkların %53.33'ü hayatta kalmış, hayatta kalanlarda %100'e yakın oranda protozoanlara karşı etkililik gözlenmiştir. Araştırmamızdaki *in vivo* deneylerimizde gözlediğimiz çay ağacı (*M. alternifolia*)'nın tek banyodaki antiparazitik etkililiğini (%35.31), bu çalışmada olduğu gibi birden fazla banyo ile artırmamız mümkün görünmektedir.

Valladão vd. (2017)'nin çalışmasında çalışmamızdan farklı olarak nane (*M. piperita*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağları balıklara banyo şeklinde değil 100 ve 250 mg/kg miktarlarında balık yemine ilave olarak kullanılmıştır. Çalışma sonucunda bu yağların yem ilavesi olarak kullanıldıklarında bağışıklık parametreleri ve balık sağlığına olumlu etkileri anlaşılmaktadır.

Baldissera vd. (2017)'nin araştırmasında, *in vivo* deneylerde 50 µl/l konsantrasyonunda çay ağacı (*M. alternifolia*) uçucu yağıyla gümüş yayın balıkları (*Rhamdia quelen*) 4 gün, her gün 1 saat boyunca banyoya tabi tutulduğunda *Ichthyophthirius multifiliis* trofonlarında %94.87 azalma gözlemlenmiştir. Böylece çalışmamızla benzer şekilde çay ağacı (*M. alternifolia*) yağının antiparazitik özellikleri gözlenmiştir. Ek olarak, tedavinin enfekte olmuş balıklardaki hepatik oksidatif stresi de düşürdüğü tespit edilmiştir.

Schelkle vd. (2011) araştırmalarında değişik tuzluluk oranlarının lepestes balıklarında *G. bullatarudis* ve *G. turnbulli* monogenean parazitlerine karşı öldürücü etkisini *in vitro* ve *in vivo* deneyler ile araştırmışlardır. Araştırma kapsamında 3, 5, 7 ve 33 g/L tuzluluk oranlarının kullanıldığı *in vitro* deneylerde, artan tuzluluk ile ters korelasyon içerisinde, klorsuz akvaryum suyunda 17.6 – 18 saat olan ortalama parazit hayatta kalma süresinin, 33 g/L tuzlulukta 15-20 dk'ya düştüğü gözlenmiştir. Bitkisel uçucu yağlarla gerçekleştirdiğimiz araştırmamızda ise nane yağında (*M. piperita*) 15 dk, limon yağında (*C. limon*) 10 dk, çay ağacı yağında (*M. alternifolia*) 3 dk içerisinde *in vitro* %100 ölüm oranına ulaşılmıştır. Araştırmada, hem düşük konsantrasyonda sürekli, hem de yüksek

konsantrasyonda kısa süreli banyo şeklinde uygulamalarda su tuzluluğunun öldürücü etkileri gözlenmiştir. Tespit edilen antiparazitik etkililik 25 g/L tuzlulukta (yavru balıklar için 5 dk'lık, yetişkin balıklar için 15 dk'lık banyolarda) *G. turnbulli*'ye karşı %100, *G. bullatarudis*'e karşı %73.3 olmuştur. Araştırmamızda *in vivo* deneylerde tespit ettiğimiz antiparazitik etkililikler ise nane yağı (*M. piperita*) için %28.23, limon yağı (*C. limon*) için %30.95, çay ağacı yağı (*M. alternifolia*) için ise %35.31'tir. Optimum doz ve süre ile maksimize edilebilecek bu antiparazitik etkililiklerin, kısmi antiparazitik etkililik gösteren tuzlu su banyolarıyla beraber kullanılarak yükseltilebileceği değerlendirilebilir. Her ne kadar sodyum klorür (tuz), tatlı su balık kültürlerinde birçok parazite karşı ekonomik bir tedavi yöntemi olsa da, kullanımı Schelkle vd. (2011)'in araştırmasında tespit edildiği gibi değişken sonuçlar verebilmektedir. Bazı monogeneanlar tuzlu suya diğer monogeneanlara göre daha dayanımlıdır. Tatlı su balıklarında bulunan değişik monogenean türlerinin tuzluluğa toleranslarındaki büyük değişkenlik, su tuzluluk oranını artırmanın bu parazitleri kontrol etmede etkili olmayabileceği anlamına gelmektedir (Reed vd. 2009).

Tatlı su balıklarını tuzlu suya maruz bırakmak gibi, deniz balıklarını tatlı suya maruz bırakmak da antiparazitik potansiyel açısından araştırılmıştır. Fajer-Ávila vd. (2007)'nin praziquantel, tatlı su ve formalin banyolarının kırlangıç balıklarındaki (*Lutjanus guttatus*) *Haliotrema* sp. ve *Euryhaliotrema* sp. monogenean parazitleri üzerindeki öldürücü etkilerini araştırdıkları çalışmalarında formalinin %72, tatlı su ile praziquantel'in ise %100'e yakın antiparazitik etkisi tespit edilmiştir. Araştırmamızda *in vivo* deneylerde tespit edilen nane yağı (*M. piperita*) için %28.23, limon yağı (*C. limon*) için %30.95, çay ağacı yağı (*M. alternifolia*) için ise %35.31 olan, optimum doz ve süre ile maksimize edilebilecek antiparazitik etkililiklerin, deniz balıklarında tatlı su banyolarıyla beraber kullanılarak yükseltilebileceği değerlendirilebilir.

Kimyasallardan formalin, parazit enfeksiyonlarına karşı etkili olsa da ana bileşeni olan formaldehit Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı tarafından insanlar için kanserojen olarak (Grup 1) sınıflandırılmıştır (Cogliano vd. 2005, Bianchi vd. 2007). Şu an ABD'de su ürünleri yetiştiriciliğinde bazı spesifik kullanımlar için onaylanmış olsa da, Avrupa Birliği'nde bu amaçla kullanımı yasaktır. Rowland vd. (2008)'in araştırmasında

formaline alternatif olarak bakır sülfat'ın gümüş levrek balıklarında (*Bidyanus bidyanus*) *Ichthyophthirius multifiliis*'e karşı antiparazitik potansiyeli araştırılmıştır. Araştırmada 0.25 mg/L konsantrasyonunda bakır sülfat solüsyonunda onbeşinci günde balıkların %82.5'i hayatta kalmış ve bu balıklarda herhangi parazit gözlenmemiştir. Buna karşın bakırın gümüş levrek balıklarında (*Bidyanus bidyanus*) *I. multifiliis*'e karşı düşük bir terapötik indeksi vardır. Bunun yanında bakır sülfat suda çabuk çözünür ve sonrasında suda oluşan bakır iyonları balıklara ve çevreye karşı toksik etkiler barındırır (Boyd 1990).

Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi'nce glasiel asetik asitin 1000-2000 mg/L konsantrasyonlarında 1-10 dakika süreli banyolar ile balıklara antiparazitik tedavi olarak uygulanmasına onay verilmiştir. Meira-Filho vd. (2017)'nin araştırmasında balığa ve çevreye düşük yan etkileri olan glasiel asetik asitin kefal'deki (*Mugil liza*) metazoan ektoparazitlere karşı antiparazitik kapasitesi *in vitro* ve *in vivo* deneylerle araştırılmıştır. Bu araştırmada, 360.65 mg/L konsantrasyonda glasiel asetik asitin *M. liza*'daki ektoparazitlere karşı etkili bir tedavi olduğu gözlenmiştir. *S. cf. platyorchis*, *Ligophorus spp.* ve *E. lizae* ektoparazitlerine karşı sırasıyla %100, %91.47 ve %73.57 olarak tespit edilen antiparazitik etkinin asitin kendinden mi yoksa düşen pH'tan mı kaynaklandığıyla ilgili yeni araştırmaların gerekliliği belirtilmiştir. Araştırmamızda *in vivo* deneylerde antiparazitik etkililikleri sırasıyla %28.23, %30.95 ve %35.31 olarak tespit edilen nane (*M. piperita*), limon (*C. limon*) ve çay ağacı (*M. alternifolia*) yağları optimum doz ve uygulama süresi ile antiparazitik etkilerinin maksimize edilebilme potansiyelini taşımaktadır ve insan, balık ve çevre için taşıdıkları riskler nedeniyle kullanımları yasaklanan veya sınırlanan kimyasallardan farklı olarak bilinen herhangi kullanım riski taşımamaktadırlar. Kimyasallarla yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi kimyasalların da kesin %100 antiparazitik etkisi söz konusu değildir. Bu durum kimyasalların zararlı etkileri göz önünde bulundurulduğunda, bitkisel uçucu yağlarla tedavinin balık sağlığını ve çevreyi koruyan potansiyelerinin oluşu, tedavi amaçlı daha çok tercih edilme sebebi olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, incelediğimiz her üç bitkisel uçucu yağın da (nane yağı (*M. piperita*), limon yağı (*C. limon*) ve çay ağacı yağı (*M. alternifolia*)) sazan balıklarının (*C. carpio*)

solungaçlarından alınan *Dactylogyrus* sp.'e karşı antiparazitik etkileri tespit edilmiştir. *In vitro* deneylerde *Dactylogyrus* sp.'e karşı en yüksek antiparazitik etkinin çay ağacı (*M. alternifolia*)'ya, en düşüğün de nane (*M. piperita*)'ya ait olduğu görülmüştür. Gerçekleştirdiğimiz *in vivo* deneyler de bu antiparazitik etkileri doğrulamıştır. Sonuç olarak, balıklardaki monogenean enfeksiyonlarıyla mücadelede, organik maddelerden oluştukları için kimyasallarla tedaviye göre balık, insan ve çevreye çok daha az yan etkisi olacak bu bitkisel uçucu yağlarla tedavinin alternatif bir antiparazitik tedavi olarak kullanılabilceği düşünülmektedir. Tüm balık üretim sistemlerinde ve ayrıca RAS veya akuaponik gibi kapalı devre üretim sistemlerinde kimyasal olmayan, bitkisel ürünlerle parazit tedavisi üzerine yoğunlaşmak gerekliliği açıktır. Balıklarda toksisite veya olumsuz yan etkiye sebep olmaksızın maksimum parazit mortalitesini verecek optimum doz ve süreyi tespit edecek yeni araştırmalar gereklidir.

## KAYNAKLAR

- Anonim. 2020. Su ürünleri istatistikleri, 2020. Web Sitesi: [https://tuikweb.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt\\_id=1005](https://tuikweb.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1005). Erişim tarihi 30.11.2020
- Anonymous. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. <http://www.fao.org/documents/card/en/c/ca9229en>. Erişim tarihi 30.11. 2020
- Baba, E., Acar, Ü., Öntaş, C., Kesbiç, O. S., ve Yılmaz, S. 2016. Evaluation of *Citrus limon* peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture*, 465, 13-18.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- Baldissera, M. D., Souza, C. F., Moreira, K. L., da Rocha, M. I. U., da Veiga, M. L., and Baldisserotto, B. 2017. *Melaleuca alternifolia* essential oil prevents oxidative stress and ameliorates the antioxidant system in the liver of silver catfish (*Rhamdia quelen*) naturally infected with *Ichthyophthirius multifiliis*. *Aquaculture*, 480, 11-16.
- Bauer, O., Musselius, V., and Strelkov, Y.A. 1973. Diseases of pond fishes. John Wiley Ltd.
- Bianchi, F., Careri, M., Musci, M., & Mangia, A. (2007). Fish and food safety: Determination of formaldehyde in 12 fish species by SPME extraction and GC–MS analysis. *Food Chemistry*, 100(3), 1049-1053.
- Blumenthal, M., Goldberg, A., and Brinckmann, J. (2000). Herbal medicine. Expanded commission E monographs. Integrative Medicine Communications.
- Boyd, C. E. (1990). Water Quality in Ponds for Aquaculture. Auburn University. *Alabama Agricultural Experiment Station*.
- Bruno, D.W., Nowak, B., and Elliott, D.G. (2006). Guide to the identification of fish protozoan and metazoan parasites in stained tissue sections. *Diseases of Aquatic Organisms*, 70, 1-36.
- Buchmann, K., and Bresciani, J. 2006. Monogenea (Phylum Platyhelminthes). *Fish diseases and disorders*, 1, 297-344.
- Bulfon, C., Volpatti, D., and Galeotti, M. 2015. Current research on the use of plant-derived products in farmed fish. *Aquaculture Research*, 46(3), 513-551.
- Cabello, F. C. (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental microbiology*, 8(7), 1137-1144.
- Chakraborty, S. B., and Hancz, C. (2011). Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture. *Reviews in Aquaculture*, 3(3), 103-119.

- Citarasu, T. (2010). Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18(3), 403-414.
- Cogliano, V. J., Grosse, Y., Baan, R. A., Straif, K., Secretan, M. B., Ghissassi, F. E., & Working Group for Volume 88. (2005). Meeting report: summary of IARC monographs on formaldehyde, 2-butoxyethanol, and 1-tert-butoxy-2-propanol. *Environmental health perspectives*, 113(9), 1205-1208.
- Cunha, J.A., Scheeren, C.A., Salbego, J., Gressler, L.T., Madaloz, L.M., Junior, G.B., Bianchini, A.E., Pinheiro, C.G., Bordignon, S.A.L., Heinzmann, B.M. and Baldisserotto, B. 2017. Essential oils of *Cunila galioides* and *Origanum majorana* as anesthetics for *Rhamdia quelen*: efficacy and effects on ventilation and ionoregulation. *Neotropical Ichthyology*, 15(1).
- da Costa, J. C., Valladão, G. M. R., Pala, G., Gallani, S. U., Kotzent, S., Crotti, A. E. M., Fracarolli, L., da Silva, J.J.M. and Pilarski, F. 2017. *Copaifera duckei* oleoresin as a novel alternative for treatment of monogenean infections in pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture*, 471, 72-79.
- de Souza Costa, C. M., da Cruz, M. G., Lima, T. B. C., Ferreira, L. C., Ventura, A. S., Brandão, F. R., Chagas, E.C., Chaves, F.C.M., Martins, M.L. and Jerônimo, G. T. 2020. Efficacy of the essential oils of *Mentha piperita*, *Lippia alba* and *Zingiber officinale* to control the acanthocephalan *Neoechinorhynchus buttnerae* in *Colossoma macropomum*. *Aquaculture Reports*, 18, 100414.
- Deveney, M. R., Chisholm, L. A., and Whittington, I. D. (2001). First published record of the pathogenic monogenean parasite *Neobenedenia melleni* (Capsalidae) from Australia. *Diseases of Aquatic Organisms*, 46(1), 79-82.
- dos Anjos, A. C. P., and Isaac, A. 2020. The efficacy and dosage of *Mentha piperita* essential oil in the control of Monogenean parasites in *Oreochromis niloticus*. *Journal of Parasitic Diseases* 44,597–606.
- Eiras, J. C., Segner, H., Wahli, T., and Kapoor, B. G. (2008). *Fish diseases, Volume 2*. Science Publishers, Inc.. Enfield, NH, USA, 683-816.
- Engle RC, D'Abramo L, Ponniah AG, Slater M. 2017. Global aquaculture 2050. *J World Aquac Soc* 48, 3–6.
- Ernst, I., Whittington, I., Corneillie, S. And Talbot, C. 2002. Monogenean parasites in sea-cage aquaculture. *Austasia Aquacult* 16:46–48
- Ernst, I., Whittington, I. D., Corneillie, S., and Talbot, C. (2005). Effects of temperature, salinity, desiccation and chemical treatments on egg embryonation and hatching success of *Benedenia seriolae* (Monogenea: Capsalidae), a parasite of farmed *Seriola* spp. *Journal of Fish Diseases*, 28(3), 157-164.
- Fajer-Ávila, E. J., Velásquez-Medina, S. P., & Betancourt-Lozano, M. (2007). Effectiveness of treatments against eggs, and adults of *Haliotrema* sp. and *Euryhaliotrema* sp. (Monogenea:

- Ancyrocephalinae) infecting red snapper, *Lutjanus guttatus*. *Aquaculture*, 264(1-4), 66-72.
- Ferreira, L. C., da Cruz, M. G., Lima, T. B. C., Serra, B. N. V., Chaves, F. C. M., Chagas, E. C., Ventura, A.S. and Jerônimo, G. T. 2019. Antiparasitic activity of *Mentha piperita* (Lamiaceae) essential oil against *Piscinoodinium pillulare* and its physiological effects on *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). *Aquaculture*, 512, 734343.
- Finney, D.J. 1971. Probit Analysis. 3. baskı. Cambridge University Press. 333p.
- Forwood, J. M., Harris, J. O., and Deveney, M. R. (2013). Efficacy of bath and orally administered praziquantel and fenbendazole against *L. epidotrema bidyana* M urray, a monogenean parasite of silver perch, *B. idyanus bidyanus* (M itchell). *Journal of fish diseases*, 36(11), 939-947.
- Freire, M. M., Jham, G. N., Dhingra, O. D., Jardim, C. M., Barcelos, R. C., and Valente, V. M. M. 2012. Composition, antifungal activity and main fungitoxic components of the essential oil of *Mentha piperita* L. *Journal of Food Safety*, 32(1), 29-36.
- Gómez-Rincón, C., Langa, E., Murillo, P., Valero, M. S., Berzosa, C., and López, V. 2014. Activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil against L3 larvae of *Anisakis simplex*. *BioMed research international*, 2014.
- Hashimoto, G.S.O., Marinho Neto, F., Ruiz, M.L., Acchile, M., Chagas, E.C., Chaves, F.C.M. and Martins, M.L. 2016. Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. *Aquaculture* 450, 182–186.
- Kierner, M. C., and Black, K. D. (1997). The effects of hydrogen peroxide on the gill tissues of Atlantic salmon, *Salmo solar* L. *Aquaculture*, 153(3-4), 181-189.
- Klinger, R., and Floyd, R. F. (2002). Introduction to freshwater fish parasites. Document CIR716. *Institute of Food and Agricultural Science. University of Florida, Florida*.
- Kumar, Kalpna V., and D. D. Patra. "Alteration in yield and chemical composition of essential oil of *Mentha piperita* L. plant: effect of fly ash amendments and organic wastes." *Ecological engineering* 47 (2012): 237-241.
- Lam, N. S., Long, X., Su, X. Z., and Lu, F. 2020. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its monoterpene constituents in treating protozoan and helminthic infections. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 110624.
- Lieke, T., Meinelt, T., Hoseinifar, S. H., Pan, B., Straus, D. L., and Steinberg, C. E. (2020). Sustainable aquaculture requires environmental-friendly treatment strategies for fish diseases. *Reviews in Aquaculture*, 12(2), 943-965.
- Lim, L. 1998. Diversity of monogeneans in Southeast Asia. *Int J Parasitol* 28,1495–1515.

- Ling, F., Jiang, C., Liu, G., Li, M., and Wang, G. 2015. Anthelmintic efficacy of cinnamaldehyde and cinnamic acid from cortex cinnamon essential oil against *Dactylogyrus intermedius*. *Parasitology* 142, 1744–1750.
- Logambal, S. M., Venkatalakshmi, S., and Michael, R. D. (2000). Immunostimulatory effect of leaf extract of *Ocimum sanctum* Linn. in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Hydrobiologia*, 430(1-3), 113-120.
- Lu, C., Zhang, H.Y., Ji, J. and Wang, G.X. 2012. *In vivo* anthelmintic activity of *Dryopteris crassirhizoma*, *Kochia scoparia*, and *Polygala tenuifolia* against *Dactylogyrus intermedius* (Monogenea) in goldfish (*Carassius auratus*). *Parasitology Research* 110(3), 1085–1090. doi.org/10.1007/s00436-011-2592-0.
- Lucas, J.S., Appleford, P., and Southgate, P.C. 2012. General principles. *Aquaculture: farming aquatic animals and plants*, 2nd edn. Wiley-Blackwell, Chichester, 18-51.
- Malheiros, D.F., Maciel, P.O., Videira, M.N., and Tavares-Dias, M. 2016. Toxicity of the essential oil of *Mentha piperita* in *Arapaima gigas* (pirarucu) and antiparasitic effects on *Dawestrema* spp. (Monogenea). *Aquaculture* 455,81–86.
- Malmberg, G. (1970). The excretory system and the marginal hooks as a basis for the systematics of *Gyrodactylus* (Trematoda, Monogenea). *Arkiv for Zoologi*, 23:235.
- Meira-Filho, M. R. C., Rosas, V. T., Vianna, R. T., & Júnior, J. P. (2017). Toxicity and parasiticidal in vivo and in vitro evaluation of acetic acid on metazoan ectoparasites in juvenile *Mugil liza*. *Aquaculture*, 476, 1-7.
- Militz, T. A., Southgate, P. C., Carton, A. G., and Hutson, K. S. (2013). Dietary supplementation of garlic (*Allium sativum*) to prevent monogenean infection in aquaculture. *Aquaculture*, 408, 95-99.
- Mousavi, S. M., Mirzargar, S. S., Mousavi, H. E., Omidbaigi, R., Khosravi, A., and Bahonar, A. 2012. Antifungal and toxicity effects of new combined essential oils on *Oncorhynchus mykiss* in comparison with malachite green. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 4(2), 1-8.
- Naylor, R. L., Goldberg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H. and Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405(6790), 1017-1024.
- Ngugi, C. C., Oyoo-Okoth, E., and Muchiri, M. 2017. Effects of dietary levels of essential oil (EO) extract from bitter lemon (*Citrus limon*) fruit peels on growth, biochemical, haemato-immunological parameters and disease resistance in Juvenile *Labeo victorianus* fingerlings challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Research*, 48(5), 2253-2265.
- Obiekezie, A.I., and Taege, M. 1991. Mortalities in hatchery-reared fry of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell) caused by *Gyrodactylus groschafti*, Ergens, 1973. *Bull Eur Ass Fish Pathol* 11,82–85

- Olusola, S. E., Emikpe, B. O., and Olaifa, F. E. (2013). The potentials of medicinal plant extracts as bio-antimicrobials in aquaculture. *Int. J. Med. Aromat. Plants*, 3(404), e412.
- Quesada, S. P., Paschoal, J. A. R., and Reyes, F. G. R. (2013). Considerations on the aquaculture development and on the use of veterinary drugs: special issue for fluoroquinolones—a review. *Journal of food science*, 78(9), R1321-R1333.
- Ramudu, K.R, and Dash, G. 2013. A review on herbal drugs against harmful pathogens in aquaculture. *American Journal of Drug Discovery and Development* 3(4), 209-219. doi.org/10.3923/ajdd.2013.209.219.
- Raut, J. S., and Karuppayil, S. M. 2014. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial crops and products*, 62, 250-264.
- Reed, P., Francis-Floyd, R., Klinger, R., and Petty, D. 2009. Monogenean parasites of fish. *Fisheries and aquatic sciences*. University of Florida UF, IFAS Extension. FA28, USA, 4, 1-4.
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., and Sasal, P. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433, 50-61.
- Rico, A., Phu, T. M., Satapornvanit, K., Min, J., Shahabuddin, A. M., Henriksson, P. J., Murray, J. F., Little, C. D., Dalsgaard, A. and Van den Brink, P. J. (2013). Use of veterinary medicines, feed additives and probiotics in four major internationally traded aquaculture species farmed in Asia. *Aquaculture*, 412, 231-243.
- Romero, J., Feijoó, C. G., and Navarrete, P. (2012). Antibiotics in aquaculture—use, abuse and alternatives. *Health and environment in aquaculture*, 159.
- Rowland, S. J., Mifsud, C., Nixon, M., Read, P., & Landos, M. (2008). Use of formalin and copper to control ichthyophthiriosis in the Australian freshwater fish silver perch (*Bidyanus bidyanus* Mitchell). *Aquaculture research*, 40(1), 44-54.
- Schelkle, B., Doetjes, R., & Cable, J. (2011). The salt myth revealed: Treatment of gyrodactylid infections on ornamental guppies, *Poecilia reticulata*. *Aquaculture*, 311(1-4), 74-79.
- Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G.C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., Tundis, R., Sharifi-Rad, M., Loizzo, M.R., Ademiluyi, A.O., Sharifi-Rad, R., Ayatollahi, S.A., and Iriti, M. 2017. Biological activities of essential oils: from plant chemoecology to traditional healing systems. *Molecules* 22, 70. OI:10.3390/molecules22010070.
- Shinn, A., Pratoomyot, J., Bron, J., Paladini, G., Brooker, E., and Brooker, A. 2015. Economic impacts of aquatic parasites on global finfish production. *Glob Aquac Advocate*, 82–84.
- Soares, B.V., and Tavares-Dias, M. 2013. Espécies de *Lippia* (Verbenaceae), seu potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. *Biota Amaz* 3: 109–123.
- Soares, B.V., Neves, L.R., Oliveira, M.S.B., Chaves, F.C.M., Dias, M.K.R., Chagas, E.C., and Tavares-Dias, M. 2016. Antiparasitic activity of the essential oil of *Lippia alba* on

- ectoparasites of *Colossoma macropomum* (tambaqui) and its physiological and histopathological effects. *Aquaculture* 452: 107–114.
- Soares, B.V., Neves, L.R., Ferreira, D.O., Oliveira, M.S.B., Chaves, F.C.M., Chagas, E.C., Gonçalves, R.A., and Tavares-Dias, M. 2017a. Antiparasitic activity, histopathology and physiology of *Colossoma macropomum* (tambaqui) exposed to the essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae). *Vet Parasitol* 234: 49–56.
- Soares, B.V., Cardoso, A.C.F., Campos, R.R., Gonçalves, B.B., Santos, G.G., Chaves, F.C.M., Chagas, E.C., and Tavares-Dias, M. 2017b. Antiparasitic, physiological and histological effects of the essential oil of *Lippia origanoides* (Verbenaceae) in native freshwater fish *Colossoma macropomum*. *Aquaculture* 469: 72–78.
- Soler-Jiménez, L.C., Paredes-Trujillo, A.I., Vidal-Martínez, V.M. 2017. Helminth parasites of finfish commercial aquaculture in Latin America. *J Helminthol* 91: 110–136.
- Steverding, D., Morgan, E., Tkaczynski, P., Walder, F., and Tinsley, R. 2005. Effect of Australian tea tree oil on *Gyrodactylus* spp. infection of the three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus*. *Diseases of aquatic organisms*, 66(1), 29-32.
- Tavares-Dias, M. 2018. Current knowledge on use of essential oils as alternative treatment against fish parasites. *Aquatic Living Resources*, 31, 13.
- Thomsen, P.S., Jensen, T.M., Hammer, K.A., Carson, C.F., Mølgaard, P., Riley, T.V., 2011. Survey of the antimicrobial activity of commercially available Australian tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil products *in vitro*. *J. Altern. Complement. Med.* 17:835–841. <http://dx.doi.org/10.1089/acm.2010.0508>.
- Thoney, D., and Hargis, W. J. 1991. Monogenea (Platyhelminthes) as hazards for fish in confinement. *Annu Rev Fish Dis* 1:133–153
- Tsai, M. L., Wu, C. T., Lin, T. F., Lin, W. C., Huang, Y. C., and Yang, C. H. 2013. Chemical composition and biological properties of essential oils of two mint species. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(4), 577-582.
- Valladão, G.M.R., Gallani, S.U. and Pilarski, F. 2015. Phytotherapy as an alternative for treating fish disease. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 38(5), 417–428. [doi.org/10.1111/jvp.12202](http://doi.org/10.1111/jvp.12202).
- Valladão, G. M. R., Gallani, S.U., Ikefuti, C.V., da Cruz N Levy-Pereira, C., Rodrigues, M.V.N., and Pilarski, F. 2016. "Essential oils to control ichthyophthiriasis in pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg): special emphasis on treatment with *Melaleuca alternifolia*." *Journal of fish diseases* 39.10, 1143-1152.
- Valladão, G. M., Gallani, S. U., Pala, G., Jesus, R. B., Kotzent, S., Costa, J. C., Silve, T.F.A., and Pilarski, F. 2017. Practical diets with essential oils of plants activate the complement system and alter the intestinal morphology of Nile tilapia. *Aquaculture research*, 48(11), 5640-5649.

- Wang, Y., Wu, Z.F., Wang, G.X., Wang, F., Liu, Y.T., Li, F.Y., and Han, J. 2011. *In vivo* anthelmintic activity of *bruceine A* and *bruceine D* from *Brucea javanica* against *Dactylogyrus intermedius* (Monogenea) in goldfish (*Carassius auratus*). *Veterinary Parasitology* 177(1–2), 127–133. doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.040.
- Whittington, I., Chisholm, L. 2008. Diseases caused by Monogenea. In: Eiras JC, Segner H, Wahli T, Kapoor GB (eds) *Fish Diseases*. p. 683–816.
- Whittington, I. D. (2012). 13 *Benedenia seriola* and *Neobenedenia* Species. *Fish Parasites*, 225.
- Woo, P.T.K., Bruno, D.W., Lim, L.H.S., 2002. *Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture*. CABI.
- Wu, T. Y. 2011. Fish swimming and bird/insect flight. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 43, 25-58.
- Wu, Z. F., Zhu, B., Wang, Y., Lu, C., and Wang, G. X. (2011). *In vivo* evaluation of anthelmintic potential of medicinal plant extracts against *Dactylogyrus intermedius* (Monogenea) in goldfish (*Carassius auratus*). *Parasitology research*, 108(6), 1557-1563.
- Yavuzcan Yildiz, H., Phan Van, Q., Parisi, G., and Dam Sao, M. (2019). Anti-parasitic activity of garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*) juice against crustacean parasite, *Lernantropus kroyeri*, found on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Italian Journal of Animal Science*, 18(1), 833-837.
- Yavuzcan Yildiz, H., and Bekcan, S. (2020). Control of ectoparasitosis in carp (*Cyprinus carpio*) induced by *Gyrodactylus elegans* (Monogenea) with garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*) extracts. *Ecocycles*, 6(1), 10-17.
- Zenner, L., Callait, M. P., Granier, C., and Chauve, C. 2003. *In vitro* effect of essential oils from *Cinnamomum aromaticum*, *Citrus limon* and *Allium sativum* on two intestinal flagellates of poultry, *Tetratrichomonas gallinarum* and *Histomonas meleagridis*. *Parasite*, 10(2), 153-157.
- Zhang, Q., Xu, D. H., and Klesius, P. H. (2013). Evaluation of an antiparasitic compound extracted from *Galla chinensis* against fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Veterinary Parasitology*, 198(1-2), 45-53.
- Zoral, M. A., Futami, K., Endo, M., Maita, M., and Katagiri, T. (2017). Anthelmintic activity of *Rosmarinus officinalis* against *Dactylogyrus minutus* (Monogenea) infections in *Cyprinus carpio*. *Veterinary parasitology*, 247, 1-6.
- Zorin, B., Gibson-Kueh, S., and Zilberg, D. 2019. A novel treatment against the monogenean parasite, *Gyrodactylus turnbulii*, infecting guppies (*Poecilia reticulata*), using a plant-based commercial insecticide Timor C. *Aquaculture*, 501, 313-318.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Bilgenur HARMANŞA YILMAZ

Doğum Yeri: Elazığ

Doğum Tarihi: 18.11.1990

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dili: İngilizce

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise: Balakgazi Lisesi, Elazığ (2007)

Lisans: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü (2014)

Tezsiz Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı (2014 –2017) (Dönem projesi: Dolaşımli sistemlerde görülen hastalık problemleri)

Tezli Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı (2018-2020)

### Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Araştırma Görevlisi: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü(2020- )

### Hakemli Dergiler

Harmansa Yılmaz, B., Phan Van, Q. ve Yavuzcan Yıldız, H. (2020). *In vitro* Antiparasitic Activity of Ginger (*Zingiber officinale*) Bulb and Pomegranate (*Punica granatum*) Peel Against Monogenean Fish Parasite., *Dactylogyru*s sp. *Acta Aquatica Turcica* (In publish)